

การย่อยสลายน้ำมันดิบโดยกลุ่มจุลินทรีย์ที่คัดเลือกไว้ในระบบบำบัดแผ่นหมุนชีวภาพ



นางสาวสกุลรัตน์ พุกกะวรรณ

สถาบันวิทยบริการ

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม (สหสาขาวิชา)

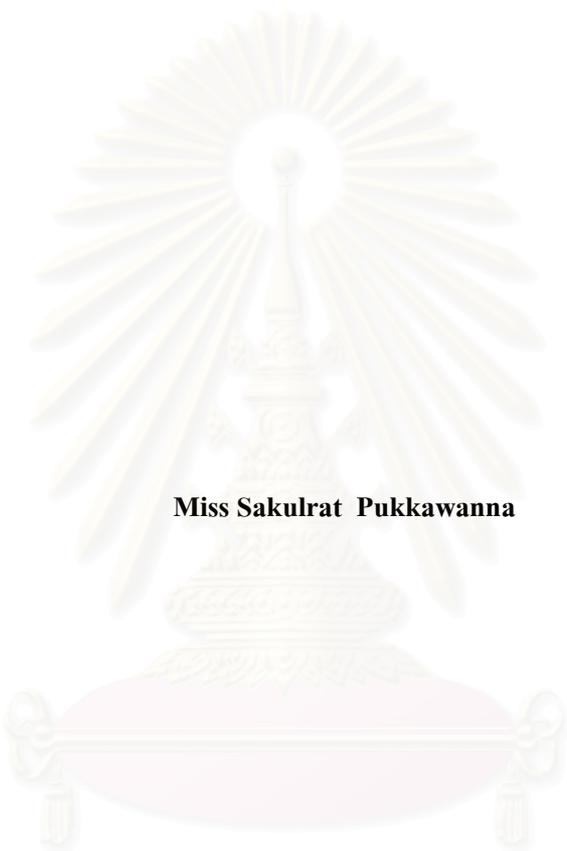
บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2548

ISBN 974-53-2822-7

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

**CRUDE OIL DEGRADATION USING SELECTED MICROBIAL CONSORTIUM  
IN ROTATING BIOLOGICAL CONTACTOR SYSTEM**



**Miss Sakulrat Pukkawanna**

**สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย**

**A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements  
for the Degree of Master of Science Program in Environmental Science**

**( Inter – department )**

**Graduate School**

**Chulalongkorn University**

**Academic Year 2005**

**ISBN 974-53-2822-7**



สฤตรัตน์ พุกกะวรรณะ : การย่อยสลายน้ำมันดิบโดยกลุ่มจุลินทรีย์ที่คัดเลือกไว้ในระบบบำบัดแผ่นหมุนชีวภาพ (CRUDE OIL DEGRADATION USING SELECTED MICROBIAL CONSORTIUM IN ROTATING BIOLOGICAL CONTACTOR SYSTEM) อ.ที่ปรึกษา : ผ.ศ. ดร.ชาญวิทย์ โฆษิตานนท์ , 121 หน้า . ISBN 974-53-2822-7

วัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้คือ เพื่อศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการย่อยสลายน้ำมันดิบของจุลินทรีย์ในระบบบำบัดแผ่นหมุนชีวภาพขนาด 4 ลิตร ซึ่งถูกออกแบบขึ้นมาเพื่อใช้ในการวิจัยครั้งนี้

จากผลการทดลองการย่อยสลายน้ำมันดิบ (Tapis crude oil) พบว่าการสลายตัวทางกายภาพ โดยไม่เติมเชื้อจุลินทรีย์ของไฮโดรคาร์บอนในน้ำมันดิบ ที่ระดับความเร็วรอบของแผ่นหมุนชีวภาพ 2 รอบต่อนาที ระดับการจมตัวของแผ่นหมุนชีวภาพ 20 เปอร์เซ็นต์ กับที่ ระดับความเร็วรอบของแผ่นหมุนชีวภาพ 4 รอบต่อนาที ระดับการจมตัวของแผ่นหมุนชีวภาพ 40 เปอร์เซ็นต์ ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยใช้สถิติ Pair Samples Test เป็นตัวทดสอบ พบว่าอัตราการสลายตัวทางกายภาพโดยไม่เติมเชื้อจุลินทรีย์ของไฮโดรคาร์บอนในน้ำมันดิบเท่ากับ 41.46 เปอร์เซ็นต์ และ 41.38 เปอร์เซ็นต์ ภายในระยะเวลา 7 วัน ตามลำดับ ดังนั้นจึงทำการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการย่อยสลายไฮโดรคาร์บอนในน้ำมันดิบในระบบบำบัด โดยทำการแปรผันความเร็วรอบในการหมุนของแผ่นหมุนชีวภาพ และระดับการจมตัวของแผ่นหมุนชีวภาพ และจากการทดลองพบว่าทั้งระดับการจมตัวและความเร็วรอบในการหมุนของแผ่นหมุนชีวภาพมีผลต่ออัตราการย่อยสลายของน้ำมันดิบและสภาวะที่เหมาะสมที่สุดของระบบบำบัดที่ใช้ คือ ที่ระดับความเร็วรอบ 4 รอบต่อนาที และระดับการจมตัวของแผ่นหมุนชีวภาพ 40 เปอร์เซ็นต์ โดยระบบสามารถย่อยสลายไฮโดรคาร์บอนได้ 87.35 เปอร์เซ็นต์ ภายในระยะเวลา 5 วัน ดังนั้นใช้สภาวะที่เหมาะสมทำการศึกษาต่อในระบบต่อเนื่องพบว่าระบบสามารถย่อยสลายน้ำมันดิบได้ 91.96 เปอร์เซ็นต์ ภายในระยะเวลา 5 วัน

สาขาวิชา วิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม (สหสาขาวิชา)  
ปีการศึกษา 2548

ลายมือชื่อนิสิต...สุกฤษิณี พุกกะวรรณะ  
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา...*[Signature]*

## 4689208720 : MAJOR INTER – DEPARTMENT OF ENVIRONMENTAL SCIENCE

KEY WORD : CRUDE OIL , ROTARY BIOLOGICAL CONTACTOR

SAKULRAT PUKKAWANNA : CRUDE OIL DEGRADATION USING SELECTED  
MICROBIAL CONSORTIUM IN ROTATING BIOLOGICAL CONTACTOR  
SYSTEM. THESIS ADVISOR : ASST.PROF.CHANWIT CHOSITANON, Ph.D. 121 pp.  
ISBN 974-53-2822-7

The objective of this research is to find the optimal conditions for crude oil degradation in 4 liter rotary biological contactor system.

Experimental results of crude oil degradation show that the system performance on physical degradation when the contactor operated (a) at the speed of 2 rpm with immersion level of 20% and (b) the speed of 4 rpm with the immersion level of 40% are not different. The comparison was based on pairwise test method with 95% confidence level. The rate of physical degradation were 41.46% and 41.38% within 7 days for parameter sets (a) and (b) respectively. The appropriate parametric configuration was further investigated in biological system by varying the rotational speeds and the immersion levels of the contactor. The result indicated that the biological degradation set (b) gave better performance. With this configuration, 87.35% of the hydrocarbon component was degraded within 5 days. The system was extended to be operated in continuous mode under set (b) operating condition. The rate of biological degradation in continuous system could reach 91.96% within 5 days.

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Field of Study Environmental Science (Inter-Department)

Academic year 2005

Student's signature..... Sakunrat . P.

Advisor's signature..... Ch. Kositanon

## กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จได้ด้วยการให้คำปรึกษาแนะนำและความช่วยเหลืออย่างดีจาก ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ชาญวิทย์ โหมยิตานนท์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ผู้วิจัยจึงใคร่ขอกราบ ขอบพระคุณอย่างสูงมา ณ โอกาสนี้

ขอกราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ม.ร.ว.กัลยา ดิงศภัทย์ คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย และขอกราบขอบพระคุณอีกครั้งสำหรับ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ชาญวิทย์ โหมยิตานนท์ ผู้อำนวยการหลักสูตร สาขาวิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ให้ความอนุเคราะห์จัดหาทุนสนับสนุน และทุนผู้ช่วยสอนแก่ผู้วิจัย เมื่อปี การศึกษา 2546 และ ปีการศึกษา 2547 ผู้วิจัยจึงใคร่ขอกราบขอบพระคุณด้วยความเคารพเป็น อย่างสูงมา ณ โอกาสนี้

ขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.สมใจ เพ็งปรีชา ประธานกรรมการสอบ วิทยานิพนธ์ รองศาสตราจารย์ ดร.พรพจน์ เปี่ยมสมบูรณ์ และ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ชวลิต รัตนธรรมสกุล คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ที่ได้ให้คำแนะนำตลอดจนข้อคิดเห็นต่าง ๆ อันเป็น ประโยชน์อย่างยิ่งต่องานวิจัย ตลอดจนแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอกราบขอบพระคุณสาขาวิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม บัณฑิตวิทยาลัย ที่ให้ความ อนุเคราะห์ด้านสถานที่ เครื่องมืออุปกรณ์ และสารเคมีที่ใช้ในงานวิจัย ตลอดจนรวมถึงเจ้าหน้าที่ ห้องปฏิบัติการและเจ้าหน้าที่ห้องธุรการทุกท่าน โดยเฉพาะอย่างยิ่ง คุณสุนันทา ภัทรไทยวัฒนา และ คุณพรพิทักษ์ มิอม ที่ช่วยให้คำแนะนำช่วยเหลือและอำนวยความสะดวกยามเมื่อผู้วิจัยมีปัญหา ในการทำวิจัย ทำให้ผู้วิจัยสามารถดำเนินงานวิจัยจนสำเร็จลุล่วงได้ดี

ขอกราบขอบพระคุณทบวงมหาวิทยาลัย , บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย และ โรงแรมบันยันทรี กรุงเทพ ที่ให้ทุนการศึกษา และทุนวิจัยในการทำวิทยานิพนธ์ฉบับนี้

สุดท้ายนี้ขอกราบขอบพระคุณ คุณยายประสพศรี พานารถ คุณพ่อสุรจิต พุกกะวรรณะ และ คุณแม่ อดิษฐ์ พุกกะวรรณะ ที่ให้การสนับสนุน ทุ่มเทแรงกายแรงใจ ส่งเสียให้การศึกษา ให้ความ ช่วยเหลือและกำลังใจแก่ผู้วิจัยในการทำวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ตลอดมา และขอขอบพระคุณพี่น้อง ๆ เพื่อนๆ และญาติพี่น้องทุกคนที่ให้ความช่วยเหลือ ความห่วงใย แก่ผู้วิจัยมา ณ โอกาสนี้ด้วย

## สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญ .....	ช
สารบัญตาราง.....	ญ
สารบัญรูป.....	ฎ
บทที่	
1. บทนำ.....	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา.....	1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย.....	2
1.3 ขอบเขตของงานวิจัย.....	2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	2
2. เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	3
2.1 ลักษณะและองค์ประกอบของน้ำมันดิบ.....	3
2.2 แหล่งกำเนิดของมลภาวะจากน้ำมันหรือสารไฮโดรคาร์บอน.....	9
2.3 การปนเปื้อนของน้ำมันดิบในสิ่งแวดล้อม.....	10
2.4 ผลกระทบของน้ำมันต่อสิ่งแวดล้อม.....	19
2.5 การกำจัดคราบน้ำมัน.....	21
2.6 ระบบบำบัดแผ่นหมุนชีวภาพ.....	24
2.7 จุลินทรีย์ที่ย่อยสลายไฮโดรคาร์บอน.....	26
2.8 ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการย่อยสลายของไฮโดรคาร์บอนของจุลินทรีย์.....	30
2.9 หลักเกณฑ์ที่บ่งชี้ถึงการย่อยสลายไฮโดรคาร์บอนของจุลินทรีย์.....	36
2.10 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	37
3. วิธีดำเนินการวิจัย.....	40
3.1 เครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย.....	40
3.2 เคมีภัณฑ์ที่ใช้ในงานวิจัย.....	40
3.3 จุลินทรีย์ที่ใช้ในงานวิจัย.....	41
3.4 น้ำมันดิบ.....	42
3.5 ส่วนประกอบของระบบบำบัดแผ่นหมุนชีวภาพที่ใช้.....	42

บทที่	หน้า
3.6 การเก็บตัวอย่างจากระบบบำบัดแผ่นหมุนชีวภาพ.....	43
3.7 การเตรียมหัวเชื้อสำหรับระบบบำบัดแผ่นหมุนชีวภาพ.....	44
3.8 การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับระบบบำบัดแผ่นหมุนชีวภาพ.....	44
3.9 การหาสภาวะที่เหมาะสม ในการย่อยสลายน้ำมันดิบของกลุ่มจุลินทรีย์ใน ระบบบำบัดแผ่นหมุนชีวภาพ.....	45
3.10 การวิเคราะห์ปริมาณไฮโดรคาร์บอน.....	45
3.11 การวิเคราะห์หาจำนวนจุลินทรีย์.....	46
4. ผลการวิจัย.....	48
4.1 องค์ประกอบที่มีอยู่ในน้ำมันดิบที่ใช้ในงานวิจัยนี้.....	48
4.2 การสลายตัวของน้ำมันดิบเมื่อไม่เติมเชื้อจุลินทรีย์.....	49
4.3 การศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการย่อยสลายน้ำมันดิบ ของกลุ่ม จุลินทรีย์ในระบบบำบัดแผ่นหมุนชีวภาพ.....	51
4.4 การศึกษาหาอัตราการย่อยสลายนของไฮโดรคาร์บอนในน้ำมันดิบ ในการ ทดลองแบบต่อเนื่อง.....	62
5. สรุปผลการวิจัย อภิปรายผลการทดลอง และข้อเสนอแนะ.....	69
5.1 สรุปผลการวิจัย และอภิปรายผล.....	69
5.2 ข้อเสนอแนะ.....	73
รายการอ้างอิง.....	75
ภาคผนวก.....	83
ภาคผนวก ก สูตรและวิธีเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ.....	84
ภาคผนวก ข สีย้อมและสารเคมีที่ใช้ในการทดลอง.....	86
ภาคผนวก ค วิธีการย้อมแกรม.....	88
ภาคผนวก ง องค์ประกอบบางประการของน้ำมันดิบ.....	89
ภาคผนวก จ คำศัพท์และมาตรฐานที่ใช้ด้านน้ำมันบางคำ.....	90
ภาคผนวก ฉ ตัวอย่างการคำนวณหาปริมาณไฮโดรคาร์บอนที่เหลืออยู่ในระบบ บำบัดแผ่นหมุนชีวภาพ.....	91
ภาคผนวก ช โครมาโทแกรมจากการทดลองที่สภาวะการทดลองต่าง ๆ .....	98
ภาคผนวก ซ ปริมาณไฮโดรคาร์บอนที่สามารถย่อยได้ในระบบบำบัดแผ่นหมุน ชีวภาพ.....	112

ภาคผนวก ฉ	สถิติที่ใช้ในการแปรผลเปรียบเทียบ ปริมาณไฮโดรคาร์บอน ทั้งหมด ที่สลายตัวได้ ที่ภาวะความเร็วรอบ 2 รอบต่อนาที ระดับการจมตัว 20 เปอร์เซ็นต์กับที่ภาวะความเร็วรอบ 4 รอบต่อนาที ระดับการจมตัว 40 เปอร์เซ็นต์ ในชุดการทดลองที่ไม่มีการเติมเชื้อจุลินทรีย์.....	113
ภาคผนวก ช	สถิติที่ใช้ในการแปรผลเปรียบเทียบความสัมพันธ์ทางสถิติในรูปแบบ ของสมการเชิงเส้นถดถอยระหว่างค่าจำนวนเซลล์ของสิ่งมีชีวิต กับ ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร.....	116
ภาคผนวก ข	สถิติที่ใช้ในการแปรผลเปรียบเทียบความสำคัญระหว่างความเร็วรอบ ที่ใช้ในการหมุนของแผ่นหมุนชีวภาพ กับ ระดับการจมตัวของแผ่น หมุนชีวภาพ.....	117
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์.....		121



สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 2.1 ลักษณะและองค์ประกอบของน้ำมันดิบ.....	3
ตารางที่ 2.2 ความสามารถในการละลายน้ำของไฮโดรคาร์บอนอิ่มตัว และ อะโรมาติกที่ อูณหภูมิห้อง.....	18
ตารางที่ 2.3 สรุปข้อดีและข้อเสียของแต่ละวิธีในการกำจัดคราบน้ำมันออกจากสิ่งแวดล้อม	23
ตารางที่ 2.4 จุลินทรีย์ที่พบมากในแหล่งน้ำที่มีการปนเปื้อนของน้ำมัน และสามารถย่อย สลายปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอน และ/หรือ สารอนุพันธ์ของไฮโดรคาร์บอน...	27
ตารางที่ 4.1 ค่า Retention Time ของนอร์มอล-อัลเคนมาตรฐาน.....	48
ตารางที่ 4.2 เปรียบเทียบปริมาณไฮโดรคาร์บอนที่ถูกย่อยสลายในอาหารเลี้ยงเชื้อ ที่มีการ ผสมน้ำมันดิบ 0.5 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร ที่สภาวะความเร็วในการหมุนของ แผ่นหมุนชีวภาพ 2 รอบต่อนาที ระดับการจมตัวของแผ่นหมุนชีวภาพ 20 เปอร์เซ็นต์ กับ ที่ความเร็วในการหมุนของแผ่นหมุนชีวภาพ 4 รอบต่อนาที ระดับการจมตัวของแผ่นหมุนชีวภาพ 40 เปอร์เซ็นต์ ในชุดควบคุมที่ไม่มีสาร เติมจุลินทรีย์.....	50
ตารางภาคผนวก	
ตารางที่ 1-ง แสดงองค์ประกอบบางประการของน้ำมันดิบ.....	89
ตารางที่ 1-ฉ พื้นที่ได้ฟีกของไฮโดรคาร์บอนและองค์ประกอบต่าง ๆ ที่พบในน้ำมันดิบ 0.5 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตรต่อปริมาตรของชุดควบคุมที่ไม่มีสารเติมเชื้อจุลินทรีย์...	92
ตารางที่ 1-ช แสดงปริมาณไฮโดรคาร์บอนที่สามารถย่อยได้ (เปอร์เซ็นต์) ที่สภาวะ ที่มี การผสมน้ำมัน 0.5 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร ความเป็นกรด - ด่าง เริ่มต้น เท่ากับ 8.0 อัตราส่วน ระหว่าง แบคทีเรียที่ผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ ต่อ กลุ่มจุลินทรีย์ที่สามารถย่อยสลายน้ำมันดิบได้เป็น 2 : 1 ที่ สภาวะความเร็ว ในการหมุนของแผ่นหมุนชีวภาพ 2 รอบต่อนาที 3 รอบต่อนาที และ 4 รอบต่อนาที และ ระดับการจมตัวของแผ่นหมุนชีวภาพ 20 เปอร์เซ็นต์ 30 เปอร์เซ็นต์ และ 40 เปอร์เซ็นต์.....	112
ตารางที่ 1-ฅ Paired Samples Statistics.....	113
ตารางที่ 1-ฉ Paired Samples Correlation.....	113
ตารางที่ 1-ค Paired Samples Test.....	114
ตารางที่ 1-ฅ Paired Samples Correlation.....	116

## หน้า

ตารางที่ 1-ฉ Descriptives of ANOVA.....	117
ตารางที่ 2-ฉ Descriptives of ANOVA.....	118



สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## สารบัญรูป

	หน้า
รูปที่ 2.1 ตัวอย่างของพาราฟิน.....	4
รูปที่ 2.2 ตัวอย่างของแนฟทีน.....	4
รูปที่ 2.3 ตัวอย่างของสารพวอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอน.....	6
รูปที่ 2.4 สารประกอบของกำมะถันที่พบในน้ำมันดิบ.....	6
รูปที่ 2.5 สารประกอบออกซิเจนที่พบในน้ำมันดิบ.....	7
รูปที่ 2.6 สารประกอบไนโตรเจน.....	8
รูปที่ 2.7 การกระจายตัวของน้ำมันดิบสู่สิ่งแวดล้อมทางบก.....	12
รูปที่ 2.8 ลักษณะการกระจายตัวของน้ำมันลงสู่สิ่งแวดล้อมทางน้ำ.....	14
รูปที่ 2.9 ระบบบำบัดแผ่นหมุนชีวภาพ.....	24
รูปที่ 2.10 โครงสร้างของสารลดแรงตึงผิว.....	35
รูปที่ 3-1 ระบบบำบัดแผ่นหมุนชีวภาพที่ใช้ในการทดลอง.....	42
รูปที่ 3-2 กลไกการปรับระดับความเร็วรอบ และระดับการจมตัวของแผ่นหมุนชีวภาพ.....	43
รูปที่ 3-3 เครื่องสูบน้ำแบบปริดสาย (Peristaltic pump).....	43
รูปที่ 4.1 เปรียบเทียบปริมาณไฮโดรคาร์บอนที่ละลายตัวในอาหารเลี้ยงเชื้อ ที่มีการผสมน้ำมันดิบ (Tapis crude oil) 0.5 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร สภาวะความเร็วในการหมุนของแผ่นหมุนชีวภาพ 2 รอบต่อนาที ระดับการจมตัวของแผ่นหมุนชีวภาพ 20 เปอร์เซ็นต์กับที่ภาวะความเร็วในการหมุนของแผ่นหมุนชีวภาพ 4 รอบต่อนาที ระดับการจมตัวของแผ่นหมุนชีวภาพ 40 เปอร์เซ็นต์โดยไม่มีการเติมจุลินทรีย์.....	51
รูปที่ 4.2 แสดงปริมาณไฮโดรคาร์บอนที่ย่อยสลายได้ (มิลลิกรัม) , ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น และ จำนวนเซลล์ที่มีชีวิต ที่สภาวะความเร็วในการหมุนของแผ่นหมุนชีวภาพ 2 รอบต่อนาที ระดับการจมตัวของแผ่นหมุนชีวภาพ 20 เปอร์เซ็นต์ , 30 เปอร์เซ็นต์ และ 40 เปอร์เซ็นต์.....	54
รูปที่ 4.3 แสดงปริมาณไฮโดรคาร์บอนที่ย่อยสลายได้ (มิลลิกรัม) , ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น และจำนวนเซลล์ที่มีชีวิต (log CFU/ml.) ที่สภาวะความเร็วในการหมุนของแผ่นหมุนชีวภาพ 3 รอบต่อนาที ระดับการจมตัวของแผ่นหมุนชีวภาพ 20 เปอร์เซ็นต์ , 30 เปอร์เซ็นต์ และ 40 เปอร์เซ็นต์.....	56

รูปที่ 4.4 แสดงปริมาณไฮโดรคาร์บอนที่ย่อยสลายได้ (มิลลิกรัม), ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น และจำนวนเซลล์ที่มีชีวิต (log CFU/ml.) ที่สภาวะความเร็วในการหมุนของแผ่นหมุนชีวภาพ 4 รอบต่อนาที ระดับการจมตัวของแผ่นหมุนชีวภาพ 20 เปอร์เซ็นต์, 30 เปอร์เซ็นต์ และ 40 เปอร์เซ็นต์.....	59
รูปที่ 4.5 แสดงปริมาณไฮโดรคาร์บอนที่สามารถย่อยได้ (มิลลิกรัม) ที่สภาวะที่มีการผสมน้ำมันดิบ 0.5 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร ความเป็นกรด-ด่างเริ่มต้นเท่ากับ 8.0 อัตราส่วน ระหว่างแบคทีเรียที่ผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ ต่อกลุ่มจุลินทรีย์ที่สามารถย่อยสลายน้ำมันดิบได้เป็น 2:1 ที่สภาวะความเร็วในการหมุนของแผ่นหมุนชีวภาพ 2 รอบต่อนาที 3 รอบต่อนาที และ 4รอบต่อนาที ระดับการจมตัวของแผ่นหมุนชีวภาพ 20 เปอร์เซ็นต์ 30 เปอร์เซ็นต์ และ 40 เปอร์เซ็นต์.....	61
รูปที่ 4.6 แสดงปริมาณไฮโดรคาร์บอนที่ติดค้างสายยาง (มิลลิกรัม) ที่เข้าสู่ระบบและออกจากระบบเมื่อทำการทดลองในระบบต่อเนื่อง.....	64
รูปที่ 4.7 แสดงปริมาณไฮโดรคาร์บอนทั้งหมดที่ย่อยได้ (มิลลิกรัม) ในการทดลองแบบต่อเนื่อง ที่ความเร็วรอบในการหมุนของแผ่นหมุนชีวภาพ 4 รอบต่อนาที ระดับการจมตัวของแผ่นหมุน 40 เปอร์เซ็นต์ ในสภาวะที่มีการผสมน้ำมันดิบ 0.5 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตรความเป็นกรด-ด่างเริ่มต้นเท่ากับ 8.0 อัตราส่วนระหว่างแบคทีเรียที่ผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ ต่อกลุ่มจุลินทรีย์ที่สามารถย่อยสลายน้ำมันดิบได้เป็น 2:1.....	65
รูปที่ 4.8 เปรียบเทียบปริมาณไฮโดรคาร์บอนทั้งหมดที่ย่อยได้ ( มิลลิกรัม) , ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร และ ค่าจำนวนเซลล์ที่มีชีวิต ในการทดลองแบบต่อเนื่องที่ความเร็วรอบในการหมุนของแผ่นหมุนชีวภาพ 4 รอบต่อนาที ระดับการจมตัวของแผ่นหมุน 40% ในสภาวะที่มีการผสมน้ำมันดิบ 0.5 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร ความเป็นกรด-ด่างเริ่มต้นเท่ากับ 8.0 อัตราส่วนระหว่างแบคทีเรียที่ผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ ต่อกลุ่มจุลินทรีย์ที่สามารถย่อยสลายน้ำมันดิบได้เป็น 2:1.....	66
รูปที่ 4.9 เมื่อชีวภาพที่เกิดขึ้นในระบบแผ่นหมุนชีวภาพ.....	68
รูปที่ 4.10 เซลล์จุลินทรีย์ที่เกิดจากการย้อมสี methylene blue ที่กำลังขยาย 40 เท่า.....	68

## หน้า

## ภาคผนวก

รูปที่ 1-ข	โครมาโทแกรมของน้ำมันดิบ เมื่อวิเคราะห์ด้วยก๊าซโครมาโทกราฟี ของลำดับส่วนในน้ำมันดิบซึ่งละลายในตัวทำละลายเฮกเซน.....	98
รูปที่ 2-ข	โครมาโทแกรมของสารมาตรฐานผสมของไฮโดรคาร์บอนเมื่อวิเคราะห์ด้วยโครมาโทกราฟี.....	99
รูปที่ 3-ข	โครมาโทแกรมของปริมาณไฮโดรคาร์บอนทั้งหมดที่เหลือ ที่สภาวะการทดลองความเร็วรอบในการหมุนของแผ่นหมุนชีวภาพ 2 รอบต่อนาที ระดับการจมน้ำของแผ่นหมุน 20 เปอร์เซ็นต์ ในชุดควบคุมที่ไม่มีการเติมเชื้อจุลินทรีย์.....	100
รูปที่ 4-ข	โครมาโทแกรมของปริมาณไฮโดรคาร์บอนทั้งหมดที่เหลือ ที่สภาวะการทดลองความเร็วรอบในการหมุนของแผ่นหมุนชีวภาพ 4 รอบต่อนาที ระดับการจมน้ำของแผ่นหมุน 40 เปอร์เซ็นต์ ในชุดควบคุมที่ไม่มีการเติมเชื้อจุลินทรีย์.....	101
รูปที่ 5-ข	โครมาโทแกรมของปริมาณไฮโดรคาร์บอนทั้งหมดที่เหลือ ที่สภาวะการทดลองความเร็วรอบในการหมุนของแผ่นหมุนชีวภาพ 2 รอบต่อนาที ระดับการจมน้ำของแผ่นหมุน 20 เปอร์เซ็นต์.....	102
รูปที่ 6-ข	โครมาโทแกรมของปริมาณไฮโดรคาร์บอนทั้งหมดที่เหลือ ที่สภาวะการทดลองความเร็วรอบในการหมุนของแผ่นหมุนชีวภาพ 2 รอบต่อนาที ระดับการจมน้ำของแผ่นหมุน 30 เปอร์เซ็นต์.....	103
รูปที่ 7-ข	โครมาโทแกรมของปริมาณไฮโดรคาร์บอนทั้งหมดที่เหลือ ที่สภาวะการทดลองความเร็วรอบในการหมุนของแผ่นหมุนชีวภาพ 2 รอบต่อนาที ระดับการจมน้ำของแผ่นหมุน 40 เปอร์เซ็นต์.....	104
รูปที่ 8-ข	โครมาโทแกรมของปริมาณไฮโดรคาร์บอนทั้งหมดที่เหลือ ที่สภาวะการทดลองความเร็วรอบในการหมุนของแผ่นหมุนชีวภาพ 3 รอบต่อนาที ระดับการจมน้ำของแผ่นหมุน 20 เปอร์เซ็นต์.....	105
รูปที่ 9-ข	โครมาโทแกรมของปริมาณไฮโดรคาร์บอนทั้งหมดที่เหลือ ที่สภาวะการทดลองความเร็วรอบในการหมุนของแผ่นหมุนชีวภาพ 3 รอบต่อนาที ระดับการจมน้ำของแผ่นหมุน 30 เปอร์เซ็นต์.....	106

รูปที่ 10-ข	โครมาโทแกรมของปริมาณไฮโดรคาร์บอนทั้งหมดที่เหลือ ที่สภาวะการทดลองความเร็วรอบในการหมุนของแผ่นหมุนชีวภาพ 3 รอบต่อนาที ระดับการจมตัวของแผ่นหมุน 40 เปอร์เซ็นต์.....	107
รูปที่ 11-ข	โครมาโทแกรมของปริมาณไฮโดรคาร์บอนทั้งหมดที่เหลือ ที่สภาวะการทดลองความเร็วรอบในการหมุนของแผ่นหมุนชีวภาพ 4 รอบต่อนาที ระดับการจมตัวของแผ่นหมุน 20 เปอร์เซ็นต์.....	108
รูปที่ 12-ข	โครมาโทแกรมของปริมาณไฮโดรคาร์บอนทั้งหมดที่เหลือ ที่สภาวะการทดลองความเร็วรอบในการหมุนของแผ่นหมุนชีวภาพ 4 รอบต่อนาที ระดับการจมตัวของแผ่นหมุน 30 เปอร์เซ็นต์.....	109
รูปที่ 13-ข	โครมาโทแกรมของปริมาณไฮโดรคาร์บอนทั้งหมดที่เหลือ ที่สภาวะการทดลองความเร็วรอบในการหมุนของแผ่นหมุนชีวภาพ 4 รอบต่อนาที ระดับการจมตัวของแผ่นหมุน 40 เปอร์เซ็นต์.....	110
รูปที่ 14-ข	โครมาโทแกรมของปริมาณไฮโดรคาร์บอนทั้งหมดที่เหลือ ที่สภาวะการทดลองความเร็วรอบในการหมุนของแผ่นหมุนชีวภาพ 4 รอบต่อนาที ระดับการจมตัวของแผ่นหมุน 40 เปอร์เซ็นต์ ในการทดลองในระบบต่อเนื่อง.....	111
รูปที่ 1-ก	แสดงเส้นแนวโน้มและค่าความชันที่เกิดจากปัจจัยระดับการจมตัวที่ใช้ในการทดลอง.....	119
รูปที่ 2- ก	แสดงเส้นแนวโน้มและค่าความชันที่เกิดจาก ปัจจัยความเร็วรอบในการหมุนที่ใช้ในการทดลอง.....	120

# บทที่ 1

## บทนำ

### 1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ในปัจจุบันน้ำมันดิบ(Crude Oil) ถูกนำมาใช้เพื่อตอบสนองความต้องการในการใช้พลังงานที่เพิ่มขึ้นของมนุษย์ กระบวนการต่าง ๆ ในการนำน้ำมันดิบขึ้นมาใช้ตั้งแต่การขุดเจาะไปจนถึงขั้นแปรรูปไปเป็นผลิตภัณฑ์ ทำให้เกิดผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมอย่างหลีกเลี่ยงไม่ได้ และเนื่องจากน้ำมันดิบมีอัตราการย่อยสลายทางกายภาพเป็นไปอย่างช้า ๆ จึงส่งผลให้น้ำมันดิบเกิดการสะสมตัวขึ้นในสิ่งแวดล้อมและกลายเป็นแหล่งมลพิษในที่สุด

วิธีการที่ใช้ในการควบคุมและกำจัดคราบน้ำมัน และ กากปิโตรเลียมที่ปนเปื้อนอยู่ในสิ่งแวดล้อมสามารถแบ่งออกได้ทั้งหมด 3 วิธี คือ วิธีการทางกายภาพ (Physical Method) เช่น การใช้ท่อนักน้ำมัน หรือ การใช้เครื่องกวาดน้ำมัน, วิธีการทางเคมี (Chemical Method) เป็นการใช้สารเคมีเพื่อลดแรงตึงผิวน้ำมันจนน้ำมันแตกตัว (Chemical Dispersant) และแพร่กระจายในน้ำ หรือการใช้สารเคมีที่ทำให้น้ำมันรวมตัวกันแล้วตกตะกอน (Chemical Solidifier) แต่วิธีนี้ไม่นิยมใช้เนื่องจากจะมีผลกระทบตามมาหลายประการ เช่น ทำให้การย่อยสลายทางชีวภาพมีประสิทธิภาพลดลง ตะกอนน้ำมันอยู่ได้นานขึ้นในสิ่งแวดล้อม และมีผลกระทบต่อสิ่งมีชีวิตอื่น ๆ นอกจากนี้ วิธีการทางเคมียังต้องใช้ซึ่งงบประมาณในการบำบัดน้ำมันสูง เนื่องจากต้องใช้อุปกรณ์และสารเคมีที่มีราคาแพง และวิธีสุดท้ายคือ วิธีการทางชีวภาพ (Biological Method) เป็นการใช้สิ่งมีชีวิตมากำจัดสารพิษตกค้าง ซึ่งสิ่งมีชีวิตเหล่านั้นได้แก่ จุลชีพต่าง ๆ ที่มีคุณสมบัติย่อยสลายคราบน้ำมันโดยใช้น้ำมันเป็นแหล่งคาร์บอนและพลังงานสำหรับการเจริญเติบโตได้ เรียกว่า “การย่อยสลายทางชีวภาพ” (Biodegradation) ซึ่งอัตราการย่อยสลายด้วยวิธีทางชีวภาพสามารถเพิ่มขึ้นได้โดยการเติมจุลินทรีย์ที่จำเพาะ หรือ ปรับภาวะให้เหมาะสมกับความสามารถในการย่อยสลายของจุลินทรีย์ หรือ กลุ่มจุลินทรีย์ชนิดนั้น ๆ การบำบัดน้ำมันดิบด้วยวิธีการทางชีวภาพนี้มีข้อดีคือ เป็นวิธีที่สะดวก ค่าใช้จ่ายต่ำ ไม่ก่อให้เกิดปัญหามลพิษตามมา และไม่ทำให้มีสารพิษตกค้างอยู่ในสิ่งแวดล้อม เนื่องจากเป็นการใช้สิ่งมีชีวิตมาทำการบำบัดนั่นเอง (วิมล ชอบชื่นชม, 2541)

ในปี พ.ศ. 2543 คุณปัญญพล ชีโนดม ได้ทำการคัดแยกเชื้อจุลินทรีย์จากแหล่งที่ปนเปื้อนน้ำมันดิบ พบว่าจุลินทรีย์ที่สามารถย่อยสลายไฮโดรคาร์บอนได้ดี คือ *Bacillus sp.* B 1-3, *Pseudomonas sp.* C 1-2 และ *Yarrowia sp.* D 2-1 ซึ่งได้จากโรงกลั่นน้ำมันบางจาก หลังจากนั้นคุณภัทรา ศรีสุทธีวรกุล(2545) ได้ทำการทดลองโดยใช้เชื้อจุลินทรีย์ที่คุณปัญญพล ชีโนดมแยกได้คือใช้ *Bacillus sp.* B 3-1 , *Pseudomonas sp.* C1-2 , *Yarrowia sp.* D2-1 เป็นกลุ่มจุลินทรีย์ที่สามารถย่อยสลายน้ำมันดิบได้ (Tapis crude oil) ส่วน *Acinetobacter calcoaceticus* TISTR 360เป็น

สามารถสร้างสารลดแรงตึงผิวทางชีวภาพได้ มาทำการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการย่อยสลายน้ำมันดิบในถังหมัก พบว่าสภาวะที่เหมาะสมในการย่อยสลายน้ำมันดิบได้ดีที่สุด คือที่สภาวะอัตราส่วนระหว่างแบคทีเรียที่ผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ กับ กลุ่มจุลินทรีย์ที่ย่อยสลายน้ำมันดิบได้ เท่ากับ 2:1 ความเป็นกรด-เบส เริ่มต้น 8.0 อุณหภูมิ 28 ° ซ และอัตราการให้อากาศเท่ากับ 1.0 v.v.m (ปริมาตรต่อปริมาตรต่อนาที) โดยที่การเติมสารอาหารอย่างต่อเนื่องทำให้การย่อยสลายน้ำมันดิบดีกว่าเมื่อไม่มีการเติมสารอาหาร แต่การใช้ให้อากาศในถังหมักในการทดลองของ คุณภัทรา ศรีสุทธีวรกุล นั้นมีปริมาณมาก จึงทำให้เกิดต้นทุนสูง ดังนั้นในการศึกษารังนี้ จะทำการหาสภาวะที่เหมาะสมในการย่อยสลายน้ำมันดิบ โดยใช้กลุ่มจุลินทรีย์ในระบบบำบัดแผ่นหมุนชีวภาพ (Rotating Biological Contactor) ขนาด 4 ลิตร ซึ่งข้อดีของระบบบำบัดแผ่นหมุนชีวภาพ คือ ต้นทุนในการบำบัดน้ำมันดิบจะต่ำลงในระยะยาว อีกทั้งยังสามารถพัฒนาระบบนี้ให้มีประสิทธิภาพมากขึ้นในระดับอุตสาหกรรมต่อไป

## 1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

เพื่อศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการย่อยสลายน้ำมันดิบของกลุ่มจุลินทรีย์ในระบบบำบัดแผ่นหมุนชีวภาพขนาด 4 ลิตร

## 1.3 ขอบเขตของการวิจัย

1.3.1 กลุ่มจุลินทรีย์ที่ใช้ในการศึกษารังนี้ คือ *Acinetobacter calcoaceticus* TISTR 360 เป็นจุลินทรีย์ที่ผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพได้ และ *Bacillus sp.* B3-1 , *Pseudomonas sp.* C1-2 , *Yarrowia sp.* D2-1 ซึ่งเป็นกลุ่มจุลินทรีย์ที่ย่อยสลายน้ำมันดิบได้ (ปัญญาพล ชิโนคม, 2543)

1.3.2 ทำการทดลองในระบบบำบัดแผ่นหมุนชีวภาพขนาด 4 ลิตร

1.3.3 ใช้น้ำมันดิบ (Tapis Crude Oil) จาก โรงกลั่นน้ำมันบางจากเป็นแหล่งคาร์บอนหลัก

## 1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ใช้เป็นแนวทางในการออกแบบระบบบำบัดน้ำมันแบบแผ่นหมุนชีวภาพ ในระดับอุตสาหกรรมให้มีประสิทธิภาพสูงขึ้น

## บทที่ 2

### เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

#### 2.1 ลักษณะและองค์ประกอบของน้ำมันดิบ

น้ำมันปิโตรเลียมดิบ หรือ น้ำมันดิบเป็นสารผสมที่สลับซับซ้อน องค์ประกอบส่วนใหญ่ ได้แก่ ไฮโดรคาร์บอนประเภทต่าง ๆ ตั้งแต่โมเลกุลเล็กที่สุดจนถึงพวกโมเลกุลใหญ่ นอกจากนั้นยังมีสารอินทรีย์ที่มี กำมะถัน ออกซิเจน และไนโตรเจน เป็นองค์ประกอบอีกหลายชนิด น้ำมันดิบอาจจะพบว่ามีกำมะถัน และ สารประกอบของโลหะบางชนิดปนอยู่ด้วยเล็กน้อย ดังตารางที่ 2.1 น้ำมันดิบจะมีลักษณะและคุณสมบัติแตกต่างกันออกไปมาก ทั้งนี้เพราะสัดส่วนของไฮโดรคาร์บอนประเภทต่างๆ ที่มีอยู่จะผิดแผกกันออกไปเป็นมากแล้วแต่แหล่งที่มา ซึ่งจัดเป็นเรื่องที่สำคัญในการกำหนดคุณค่าของน้ำมัน การกำหนดวิธีการและกระบวนการการผลิตที่เหมาะสมในการกลั่นน้ำมัน สำหรับน้ำมันดิบที่นำมากลั่นด้วยกรรมวิธีต่าง ๆ กันนั้น จะแยกสารออกมาได้ต่างกัน โดยสามารถแบ่งประเภทของน้ำมันดิบอย่างหยาบได้ 3 ประเภท คือ

- น้ำมันดิบชนิดเบา (Light Crude) หรือน้ำมันดิบใส ซึ่งโดยทั่วไปแล้วจะมีองศาเอพิไอยู่มากกว่า 34 ขึ้นไป โดยน้ำมันดิบชนิดนี้ เมื่อนำมากลั่นจะให้ผลิตภัณฑ์ที่มีจุดระเหยต่ำ เช่น น้ำมันเบนซิน น้ำมันก๊าด เป็นสัดส่วนสูงกว่าน้ำมันดิบที่มีองศาเอพิไอยูต่ำ
- น้ำมันดิบชนิดปานกลาง (Medium Crude) หรือน้ำมันดิบกึ่งใส ซึ่งโดยทั่วไปแล้วจะมีองศาเอพิไอยูอยู่ระหว่าง 30-33 โดยน้ำมันดิบชนิดนี้เมื่อนำมากลั่น จะให้ผลิตภัณฑ์ที่มีจุดระเหยต่ำเป็นสัดส่วนต่ำกว่าที่ได้จากชนิดแรก
- น้ำมันดิบชนิดหนัก (Heavy Crude) หรือน้ำมันดิบขุ่น ซึ่งโดยทั่วไปแล้วจะมีองศาเอพิไอยูต่ำกว่า 30 โดยน้ำมันดิบชนิดนี้ เมื่อนำมากลั่น จะให้ผลิตภัณฑ์ที่มีจุดระเหยสูง เช่น น้ำมันเตา เป็นสัดส่วนสูงกว่าน้ำมันดิบทุกประเภท

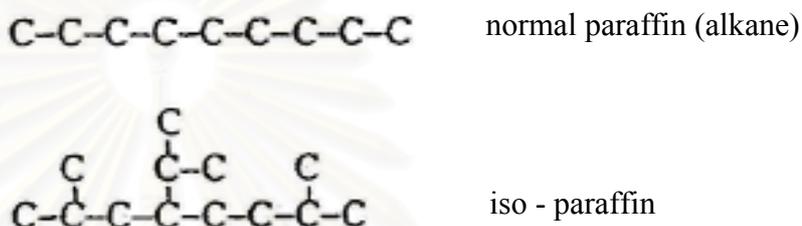
ตารางที่ 2.1 ธาตุที่เป็นองค์ประกอบในน้ำมันดิบ (Kinghorn,1983)

แร่ธาตุ (Element)	เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก (Weight percentage)
คาร์บอน	83.0 - 87.0
ไฮโดรคาร์บอน	10.0 - 14.0
ไนโตรเจน	0.1 - 2.0
ออกซิเจน	0.05 - 1.5
ซัลเฟอร์	0.05 - 2.0

### 2.1.1 สารประกอบไฮโดรคาร์บอน

ดังที่กล่าวมาแล้ว น้ำมันดิบมีไฮโดรคาร์บอน ซึ่งเป็นสารประกอบระหว่างคาร์บอนกับไฮโดรเจนอยู่เป็นส่วนใหญ่ ไฮโดรคาร์บอนที่มีอยู่ในน้ำมันดิบทุกชนิดมีอยู่ 4 ประเภท คือ

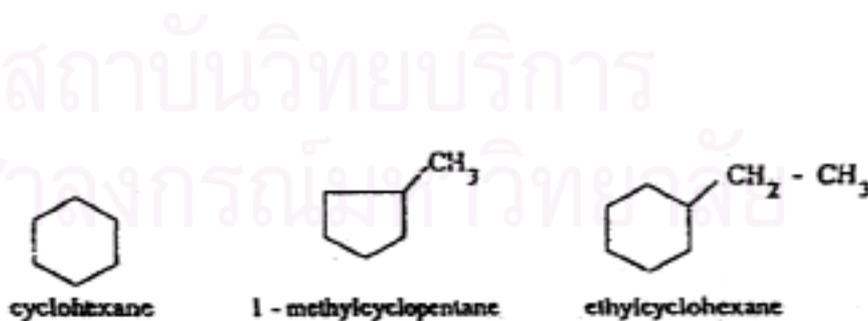
2.1.1.1 พาราฟิน เป็นสารพวกไฮโดรคาร์บอนที่อิ่มตัวประเภทอัลเคนซึ่งสูตรโมเลกุลคือ  $C_nH_{2n+2}$  และโครงสร้างของโมเลกุลเป็นสายตรง (Straight chain) หรือสายที่มีกิ่ง (Branched chain)



รูปที่ 2.1 ตัวอย่างของพาราฟิน

ที่มา : Ampai (1999)

2.1.1.2 แนฟทีน เป็นไฮโดรคาร์บอนอิ่มตัวที่ประกอบด้วยวงไซโคลอัลเคน(cycloalkane) 1 วงหรือมากกว่า โดยแนฟทีน มีสูตรโมเลกุลคือ  $C_nH_{2n}$  สารประกอบที่มีวงไซโคลอัลเคน 5-6 วง ส่วนใหญ่จะพบได้ในน้ำมันดิบ ซึ่งแนฟทีนที่พบในน้ำมันดิบส่วนใหญ่จะมีหมู่อัลคิลต่ออยู่ (alkyl side chain)



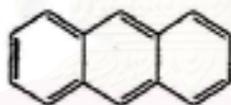
รูปที่ 2.2 ตัวอย่างของแนฟทีน

ที่มา : ปัญจพล ชิโนคม (2543)

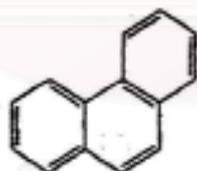
2.1.1.3 อะโรมาติก เป็นไฮโดรคาร์บอนที่ประกอบไปด้วยวงเบนซีนอย่างน้อย 1 วง ตัวอย่างเช่น เบนซีน แนฟทาลีน และ ฟิแนนทรีน ซึ่งมีสูตรโมเลกุลคือ  $C_nH_{2n-6R}$  โดยที่ R คือ จำนวนของวงอะโรมาติก ในน้ำมันดิบจะมีสารประกอบพวกอะโรมาติกในสัดส่วนที่หลากหลายตั้งแต่ 10 -50 % หรือมากกว่านั้น ขึ้นอยู่กับชนิดของน้ำมันดิบ (Atlas,1995) สัดส่วนปริมาณของ อะโรมาติกจะเพิ่มขึ้นตามความหนาแน่นของน้ำมันดิบ อะโรมาติกที่ไม่มีหมู่ฮัลลิลที่วงแนฟทีนจะมีจุดเดือดต่ำสุด ตัวอย่างเช่น โทลูอินและไซลีน ซึ่งจะพบได้ในลำดับส่วนของน้ำมันเบนซีน (gasoline fraction) ลำดับส่วนของอะโรมาติกที่ปราศจากวงแนฟทีนจะพบได้ในน้ำมันปิโตรเลียม เช่น น้ำมันหล่อลื่น (lubricating oil) สารประกอบพวกอะโรมาติกส่วนมากจะพบได้ในลำดับส่วน แอสฟัลท์ (asphalt fraction) (Wilson และ Jones, 1993) ตัวอย่างเช่น แนฟทาลีน ฟิแนนทรีน และแอนทราซีน ซึ่งสามารถแบ่งอะโรมาติก ออกได้เป็น 2 กลุ่มตามความสามารถในการละลายในเพนเทน ส่วนประกอบของแอสฟัลท์ที่ละลายได้ในเพนเทนเรียกว่า เรซิน และส่วนประกอบที่ไม่ละลายในเพนเทน จะเรียกว่า แอสฟัลทีน (asphaltenes)



Naphthalene



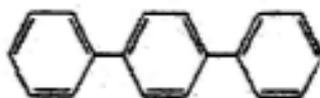
Anthracene



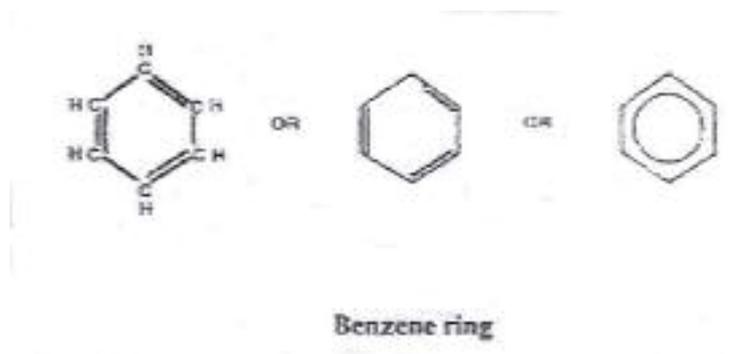
Phenanthrene



Biphenyl



Terphenyl



รูปที่ 2.3 ตัวอย่างของสารพวกอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอน

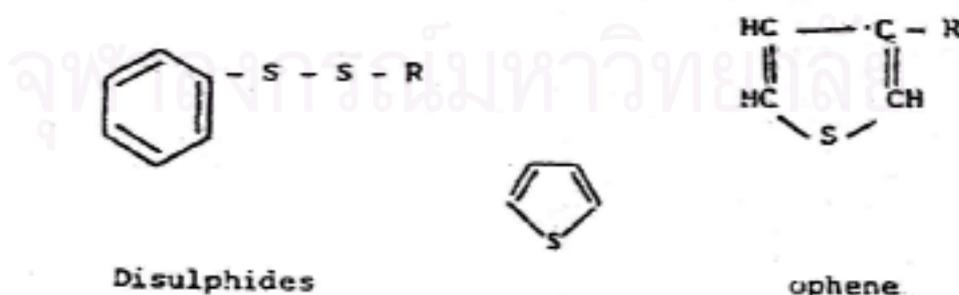
ที่มา : Ampai(1999)

2.1.1.4 ไฮโดรคาร์บอนที่ไม่อิ่มตัว (unsaturated hydrocarbon) คือ ไฮโดรคาร์บอนหลายๆตัวมาต่อกันเป็นลำดับ ได้แก่ โอลิฟิน (olefins,  $C_nH_{2n}$ ) และอัลไคน์ (alkyne,  $C_nH_{2n-2}$ ) โอลิฟิน พบค่อนข้างน้อยในน้ำมันดิบเนื่องจากเกิดปฏิกิริยาทางเคมีกับพันธะที่ไม่อิ่มตัว

2.1.2 สารประกอบอื่นๆ ที่ไม่ใช่ไฮโดรคาร์บอนเพียงอย่างเดียว (Ampai, 1999) สารพวกนี้มักเรียกว่า สิ่งปนื้อกมล มีหลายประเภททั้งที่อยู่ในน้ำมันดิบและเกิดขึ้นได้ในกระบวนการกลั่น ตัวที่สำคัญ คือ สารประกอบของกำมะถัน สารประกอบของไนโตรเจน และสารประกอบของออกซิเจน สารพวกนี้แม้จะมีปริมาณไม่มาก แต่ก็มักมีอิทธิพลมากต่อคุณภาพของผลิตภัณฑ์ และเป็นตัวที่กำหนดว่าในการกลั่นจะต้องใช้กระบวนการผลิตอันใดบ้างจึงจะเหมาะสม

2.1.2.1 สารประกอบของกำมะถัน (Sulfur-containing compound)

ปริมาณกำมะถันทั้งหมด (Total sulfur) มีตั้งแต่ 0.4 เปอร์เซ็นต์ สำหรับพาราฟินชนิดเบา (Light paraffin oil) จนถึง 5 เปอร์เซ็นต์



รูปที่ 2.4 สารประกอบของกำมะถันที่พบในน้ำมันดิบ

ที่มา : Cookson (1995)

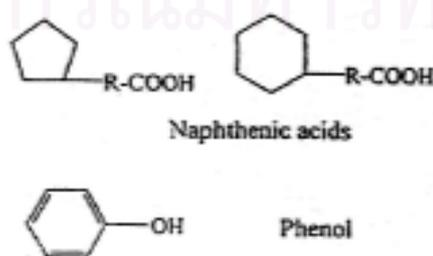
สำหรับน้ำมันดิบที่มีกำมะถันสูง เมื่อวิเคราะห์ปริมาณเนื้อกำมะถันอาจพบว่าไม่สูงมากนัก แต่จำนวนสารประกอบที่มีกำมะถันอยู่อาจมีมากทีเดียว ดังตัวอย่างเช่น น้ำมันดิบที่มีเนื้อกำมะถันเป็นองค์ประกอบอยู่ 5 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก อาจมีจำนวนโมเลกุลของสารประกอบอยู่ด้วยมากถึง 50 เปอร์เซ็นต์ของสารประกอบทั้งหมดที่มีอยู่ในน้ำมัน และมักปรากฏว่าน้ำมันที่มีความถ่วงจำเพาะสูงจะมีปริมาณกำมะถันสูงตามไปด้วย แต่ก็ไม่แน่นอนนักสารประกอบกำมะถันที่มีอยู่ในน้ำมันดิบส่วนใหญ่จะมีจุดเดือดสูงจึงมักอยู่ในส่วนหนัก ๆ เช่น ส่วนของน้ำมันดีเซล และน้ำมันเตา ในทางอุตสาหกรรมน้ำมันจะแบ่งสารประกอบกำมะถันแบ่งออกเป็น 2 ประเภท คือ ประเภทที่มีฤทธิ์กัดกร่อน ได้แก่ ก๊าซไข่เน่า ( $H_2S$ ) และประเภทที่ไม่มีฤทธิ์กัดกร่อน ได้แก่ ซัลไฟด์ ไคซัลไฟด์ ไทโอฟิน เป็นต้น

#### 2.1.2.2 สารประกอบที่มีออกซิเจน (Oxygen-containing compounds)

โดยปกติน้ำมันดิบจะมีออกซิเจนเป็นองค์ประกอบน้อยกว่า 2 เปอร์เซ็นต์ หรือประมาณ 0.5 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก แต่อย่างไรก็ตามส่วนที่เหลือที่สามารถระเหยได้อาจมีองค์ประกอบของออกซิเจนสูงถึง 8 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก

สารประกอบของออกซิเจนสามารถบ่งชี้ได้ในรูปของกรดแนฟทีนิก เพราะไฮโดรคาร์บอนที่ต่ออยู่กับหมู่กรดมักเป็นแนฟทีน ดังนั้นจึงเป็นกรดอินทรีย์ซึ่งมีหมู่คาร์บอกซิลิก (Carboxylic) 1 หมู่หรือหลายหมู่ต่อติดอยู่กับกลุ่มไฮโดรคาร์บอน โดยที่มีฤทธิ์เป็นกรด ถ้ามีอยู่มากในน้ำมันดิบก็จะทำให้เกิดการกัดกร่อนในเครื่องกลั่นได้ ดังนั้นจึงต้องทำให้เป็นกลางด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ ออกซิเจนอาจถูกกำจัดได้ด้วยกระบวนการ Hydrotreating ซึ่งออกซิเจนจะรวมตัวกับไฮโดรเจนกลายเป็นน้ำ

นอกจากอยู่ในรูปของกรดแนฟทีนิก แล้วยังอยู่ในรูปของสารประกอบฟีนอล (Phenolic compound) และสารอื่น ๆ ที่ไม่ใช่กรด เช่น คีโตน (Ketones) , เอสเทอร์ (Esters) , อีเทอร์ (Ethers) และแอนไฮไดรด์ (Anhydrides) แต่มีปริมาณน้อยมาก ถ้ามีอยู่ในน้ำมันดิบมักพบอยู่ในส่วนที่เป็นน้ำมันก๊าด สารพวกนี้ทำให้สีของน้ำมันก๊าดเสื่อมลง ส่วนใหญ่ฟีนอลมักเกิดเป็นจำนวนมาก จากที่สารประกอบของออกซิเจนกับไฮโดรคาร์บอนที่มีโมเลกุลใหญ่ ๆ แตกตัวออกในกระบวนการ Crackink



รูปที่ 2.5 สารประกอบออกซิเจนที่พบในน้ำมันดิบ

ที่มา : Ampai (1999)

### 2.1.2.3 สารประกอบของไนโตรเจน (Nitrogen-containing compounds)

ปริมาณสารประกอบของไนโตรเจนพบน้อยมากในน้ำมันดิบ โดยทั่วไปพบอยู่ในช่วง 0.1-0.9 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก แต่น้ำมันดิบบางประเภทอาจพบได้สูงถึง 2 เปอร์เซ็นต์ ส่วนมากจะพบสารประกอบของไนโตรเจนสูงมาก ในส่วนของแอสฟัลต์ (Asphaltic) และสารประกอบของไนโตรเจนจะอยู่ในรูปของไนโตรเจนที่เป็นด่าง(Nitrogen base) และสารประกอบที่เป็นกลาง (Neutral compound) ไนโตรเจนที่เป็นด่างมักทำให้น้ำมันเบนซินและน้ำมันก๊าดเปลี่ยนเป็นสีคล้ำลงโดยเฉพาะเมื่อมีฟีนอลปนอยู่ด้วย ถ้าอยู่ในน้ำมันเครื่องสารประกอบไนโตรเจนมักจะทำให้เกิดยางเหนียวขึ้นระหว่างใช้ สารประกอบไนโตรเจนสามารถกำจัดได้โดยใช้กรดกำมะถันหรือใช้ไฮโดรเจนในกระบวนการ Hydrotreating เพื่อเปลี่ยนไนโตรเจนให้เป็นก๊าซแอมโมเนีย



รูปที่ 2.6 สารประกอบไนโตรเจน

ที่มา : ปิณฑุพล ชิโนดม (2543)

### 2.1.2.4 สารประกอบอนินทรีย์ (Inorganic compound)

ในน้ำมันดิบมีสารประกอบอนินทรีย์ 2 อย่าง คือ น้ำและเกลือ ในน้ำมันดิบจะมีน้ำอยู่ด้วยเสมอ เพราะเป็นไปตามสภาพธรรมชาติของแหล่งน้ำมันซึ่งมักจะมีน้ำใต้ดินอยู่ใกล้ นอกจากนั้นน้ำมันมักจะติดมากอยู่กับเรือบรรทุกน้ำมันดิบเนื่องจากการล้างเรือ ส่วนเกลืออนินทรีย์ที่มีอยู่เล็กน้อยมักจะละลายน้ำ ที่พบทั่วไปจะเป็นเกลือคลอไรด์ของโซเดียม แมกนีเซียมและแคลเซียม แต่เกลือของทองแดง สังกะสี เหล็ก และวานาเดียม พบเพียงเล็กน้อย และในเกลือดังกล่าวข้างต้น เกลือของแมกนีเซียมคลอไรด์ไม่พึงประสงค์ที่สุด เนื่องจากเมื่อมีอุณหภูมิสูงขึ้นแล้วมีน้ำรวมอยู่ด้วยจะแตกตัวออกเป็นกรดเกลือกัดกร่อนท่อในเตาและเครื่องกลั่นอื่น ๆ จึงจำเป็นต้องทำให้เป็นกลางโดยการเติมโซดาไฟลงไปก่อนเข้าเตา เกลือทุกชนิดทำอันตรายเครื่องมือ โดยเฉพาะเตา เพราะก่อให้เกิดคราบตะกรันและโค้ก (Coke) ในท่อเป็นสาเหตุให้การถ่ายเทความร้อนไม่สะดวกท่ออาจร้อนเกินไปจนแตกได้ ดังนั้นทางที่ดีต้องกำจัดเกลือให้หมดก่อน โดยการล้างน้ำมันดิบด้วยน้ำที่ละลายเกลือออกไปโดยเครื่องกำจัดเกลือ (Desalter)

### 2.1.2.5 สารประกอบอินทรีย์ที่มีโลหะ (Metallic compound)

สารประกอบอินทรีย์ที่มีโลหะ เช่น โลหะหนักพวกวานาเดียม (Vanadium) นิกเกิล (Nickel) และเหล็ก (Iron) มีอยู่ในน้ำมันดิบในปริมาณเพียงเล็กน้อยแต่มีความสำคัญมากโดยจะรวมตัวกับสารอินทรีย์เป็นสารประกอบที่มีโมเลกุลซับซ้อนซึ่งมักจะประกอบด้วยวงแหวนแนฟทีนหรือวงแหวนอะโรมาติกพร้อมทั้งมีแชนเป็นพาราฟินร่วมด้วย สารพวกนี้มีจุดเดือดสูง ไม่สามารถกำจัดด้วยวิธีการ Desalting เพราะเป็นเกลือที่ไม่ละลายน้ำ ซึ่งมักจะอยู่ในส่วนของกากที่เป็นน้ำมันเตา ถ้ามีเกลือชนิดนี้มากเกินไปจะก่อให้เกิดปัญหาน้ำมันเตามีเถ้าสูง และเกิดการกัดกร่อนของปล่องไฟได้

## 2.2 แหล่งกำเนิดของมลภาวะจากน้ำมันหรือสารไฮโดรคาร์บอน

การปนเปื้อนของสารไฮโดรคาร์บอน สามารถจำแนกแหล่งกำเนิดได้เป็น 2 แหล่งใหญ่ ๆ คือ

### 2.2.1 การปนเปื้อนของไฮโดรคาร์บอนจากกระบวนการธรรมชาติ

ในกระบวนการตามธรรมชาติ พบว่าโครงสร้างไฮโดรคาร์บอนสามารถย่อยสลายได้เอง โดยแบคทีเรียและไฟโตแพลงก์ตอนบางชนิดสามารถสังเคราะห์อัลเคนที่จำนวนคาร์บอนอะตอม  $C_{15}$ ,  $C_{17}$ ,  $C_{19}$  และ  $C_{21}$  ได้ (Farrington และ Meyer, 1975 ; Risebrough และคณะ, 1983 ) หรือ การสังเคราะห์อัลเคนกลุ่ม  $C_{25}$ ,  $C_{27}$ ,  $C_{29}$  และ  $C_{31}$  ของพืชพวก Marsh grasses (Jones, 1983; Risebrough และคณะ, 1983 ) นอกจากนี้ยังมีการปล่อยไฮโดรคาร์บอนสู่แหล่งน้ำโดยกระบวนการทางธรณีเคมี (Geochemistry) เช่น การผุพังของตะกอน การซึมผ่านตามธรรมชาติ เป็นต้น และรวมถึงกระบวนการตามธรรมชาติอื่น ๆ ที่สำคัญ เช่น การเกิดไฟไหม้ป่า (จรรยา สารินทร์, 2537)

### 2.2.2 การปนเปื้อนของไฮโดรคาร์บอนจากกิจกรรมของมนุษย์

การใช้้ำมันในกิจกรรมของโรงงานอุตสาหกรรมและกิจกรรมอื่น ๆ ของมนุษย์ย่อมเกิดผลกระทบต่อสภาพแวดล้อม โดยเฉพาะแหล่งน้ำต่างๆ ซึ่งรองรับน้ำมันที่หล่อลื่นอย่างหลีกเลี่ยงไม่ได้ เนื่องจากปัจจุบันความต้องการใช้พลังงานทั้งในโรงงานอุตสาหกรรม ยานพาหนะ และกิจกรรมอื่น ๆ ทั้งองค์กรภาครัฐและเอกชน มีความจำเป็นต้องใช้น้ำมันและผลิตภัณฑ์จากน้ำมันเพื่อนำมาใช้ในกระบวนการผลิตต่าง ๆ มาก ดังนั้นความต้องการใช้น้ำมันจะเพิ่มเป็นเงาตามตัว และเมื่อมีการใช้มากขึ้น จะส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมมากขึ้นเช่นกัน ซึ่งการปนเปื้อนของน้ำมันสู่แหล่งน้ำอันเกิดจากกิจกรรมของมนุษย์สามารถสรุปได้ดังนี้

2.2.2.1 การระบายน้ำทิ้งที่มีน้ำมันปนเปื้อน เช่น จากโรงงานอุตสาหกรรม โรงกลั่นน้ำมัน น้ำทิ้งจากชุมชน เป็นต้น

2.2.2.2 การรั่วไหลของน้ำมันลงสู่แหล่งน้ำจากอุบัติเหตุในการขนถ่าย และขนส่งน้ำมัน เช่น ท่อขนถ่ายน้ำมันชำรุด เรือขนส่งน้ำมันชนกัน และจากถังเก็บน้ำมันใต้ดินเก่า ๆ เป็นต้น

2.2.2.3 การเททิ้งน้ำมันที่ใช้แล้วเช่น จากเรือ โรงงานอุตสาหกรรม และบ้านเรือนที่ตั้งอยู่ริมน้ำ

2.2.2.4 กิจกรรมการขุดเจาะน้ำมันและกระบวนการกลั่นน้ำมัน

2.2.2.5 การชะล้างคราบน้ำมันโดยน้ำฝนแล้วระบายลงสู่แหล่งน้ำ เช่น บริเวณถนนในเขตชุมชน โรงงานอุตสาหกรรม หรือ สถานบริการขายน้ำมัน เป็นต้น

ซึ่งกิจกรรมดังกล่าว เป็นสาเหตุให้เกิดการแพร่กระจายของน้ำมันดิบสู่สิ่งแวดล้อม และ สร้างความเสียหายและระบบนิเวศเนื่องจากเกิดการปนเปื้อนต่อสิ่งแวดล้อมทั้งทางบกและทางน้ำ

## 2.3 การปนเปื้อนของน้ำมันดิบในสิ่งแวดล้อม (Contamination of crude oil in the environmental)

2.3.1 การปนเปื้อนของน้ำมันดิบสู่สิ่งแวดล้อมทางบก ( Contamination of crude oil in the terrestrial )

แหล่งที่มาของน้ำมันดิบที่สำคัญ คือ มาจากพฤติกรรมของมนุษย์ และสามารถสรุปแบ่งออกเป็น 3 แหล่งใหญ่ ๆ ที่เข้าสู่สิ่งแวดล้อม คือ แหล่งแรกเป็นการปนเปื้อนในระดับต่ำอย่างต่อเนื่อง เช่น จากพื้นผิวถนน น้ำทิ้งจากบ้านเรือน โรงงานอุตสาหกรรมและการไหลซึมอย่างช้า ๆ จากถังเก็บน้ำมันใต้ดินเก่า ๆ แหล่งที่สอง คือ การปนเปื้อนในปริมาณมากซึ่งมาจากการเกิดอุบัติเหตุที่เกิดขึ้นระหว่างการขนส่ง และการรั่วไหลออกจากท่อขนส่ง และสุดท้ายแหล่งที่สามเป็นการไหลซึมของน้ำมันดิบจากแหล่งน้ำมันตามธรรมชาติ ซึ่งทำให้เกิดการกระจายตัวของน้ำมันดิบเข้าสู่สิ่งแวดล้อมทางบก ซึ่งการปนเปื้อนของน้ำมันดิบลงสู่ดิน สามารถแบ่งออกเป็นประเภทต่าง ๆ ได้ 3 ประเภท (Ampai, 1999)

### 2.3.1.1 การแพร่กระจาย (Dispersion)

การแพร่กระจายของน้ำมันดิบในดิน ขึ้นอยู่กับปริมาณของคราบน้ำมัน ความหนืดของน้ำมัน อุณหภูมิของสิ่งแวดล้อม ความสูงต่ำของภูมิประเทศ ความพรุนของดิน ความขรุขระของพื้นผิว พืชปกคลุมดิน และสภาวะการย่อยสลายผุพังอื่น ๆ ซึ่งการแพร่กระจายแบ่งเป็น 2 ระยะ คือ การแพร่กระจายตามแนวราบ (Horizontal) และการแพร่กระจายตามแนวตั้ง (Vertical) เช่น น้ำมันดิบที่มีค่าความหนืดสูง ได้แก่ น้ำมันชนิดหนักจะแพร่กระจายตามแนวราบ แต่ในขณะที่น้ำมันที่มีค่าความหนืดต่ำจะแทรกตัวเข้าสู่ดินในแนวตั้งได้มากกว่าการแพร่กระจายตามแนวราบ แต่ในเวลาเดียวกันจะเกิดกระบวนการของการระเหยช่วยในการกำจัดไฮโดรคาร์บอน ที่มีมวลโมเลกุลต่ำ เมื่อมีการรั่วไหลของน้ำมัน น้ำมันจะเข้าร่วมกับแร่ธาตุต่างๆ ในดิน ซึ่งจะมี

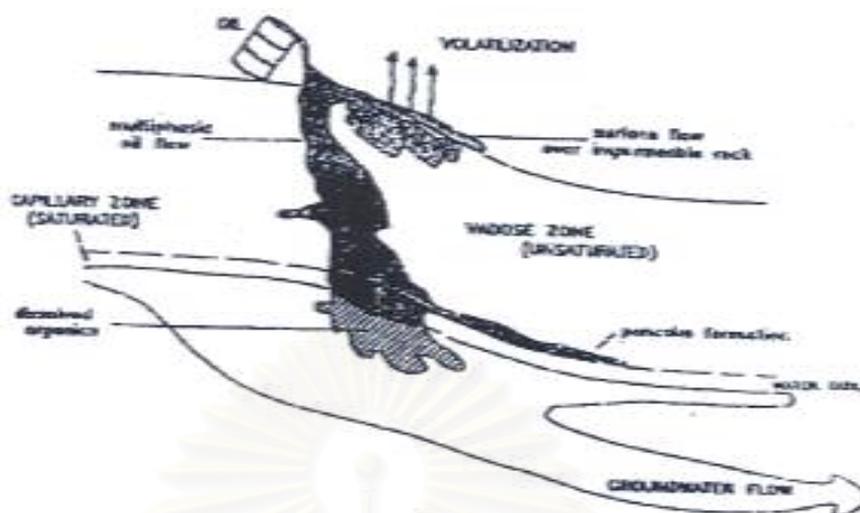
แนวโน้มน้ำที่ถูกดูดซับกลายเป็นหินแข็ง (Solid matrix) แต่ถ้ามีปริมาณไฮโดรคาร์บอนเพียงพอเข้าสู่ความจุของดินที่เหลือ (Residual capacity of soil) ได้มากกว่า และมีแนวโน้มน้ำที่จะแพร่กระจายตามแนวตั้งโดยน้ำสามารถซึมผ่านได้ต่ำ จนมีการสะสมเป็น “Pancake” และแพร่กระจายต่อไป ความสัมพันธ์ที่สำคัญที่สำคัญของพื้นที่ผิวของดินกับการแปรผันปริมาณการรั่วไหลมีผลต่อมลพิษในแหล่งน้ำใต้ดิน ชนิดของดิน และสภาพแวดล้อมต่างๆ การแพร่กระจายอย่างช้า ๆ และปริมาณไม่มากมีผลต่อมลพิษแหล่งน้ำใต้ดินมากกว่าพื้นที่ผิวของผิวดิน แต่ในทางตรงกันข้ามการแพร่กระจายอย่างรวดเร็วและมีปริมาณมากมีผลต่อการปนเปื้อนพื้นที่ผิวดิน การที่ฝนตกก่อนและระหว่างการรั่วไหลของน้ำมันจะช่วยลดการแพร่กระจายตามแนวตั้ง และ ช่วยล้างคราบน้ำมันสู่แหล่งน้ำธรรมชาติ

### 2.3.1.2 การระเหยกลายเป็นไอ (Volatilization)

การระเหยกลายเป็นไอ สามารถเกิดขึ้นภายในอนุภาคดินและสามารถที่จะเปลี่ยนรูปจากแร่ธาตุออกจากดินไปสู่บรรยากาศ และสามารถสะสมในรูปไอระเหยของสารอินทรีย์ในบรรยากาศเป็นผลให้อากาศเกิดการปนเปื้อน น้ำมันดิบสามารถระเหยกลายเป็นไอจากดินสู่อากาศได้ถึง 20-40 เปอร์เซ็นต์ แต่อย่างไรก็ตามการระเหยกลายเป็นไอของน้ำมันดิบจะแปรผันตามความเข้มข้นของน้ำมัน องค์ประกอบของน้ำมัน ทิศทางการแพร่กระจาย (Lateral spreading) พื้นที่ผิวของดิน ความชื้น อุณหภูมิ สารอินทรีย์ในดิน ความพรุนของดิน ความเร็วลม การแผ่รังสีของแสงอาทิตย์ ความหนาของชั้นน้ำมัน แต่ความเร็วลม การแผ่รังสีของแสงอาทิตย์ และความหนาของชั้นน้ำมันมีผลกระทบเล็กน้อยต่อการระเหยกลายเป็นไอภายในอนุภาคดิน

### 2.3.1.3 การชะละลาย (Leaching)

สารที่มีแนวโน้มน้ำที่จะถูกชะล้างลงสู่แหล่งน้ำใต้ดิน ซึ่งการไหลของน้ำอยู่ภายใต้แรงโน้มถ่วง การชะล้างของไฮโดรคาร์บอนบนพื้นดิน ในน้ำ และน้ำใต้ดินขึ้นอยู่กับความสามารถในการละลายในน้ำของไฮโดรคาร์บอนแต่ละตัว เนื้อดิน ความพรุนของดิน ความสามารถของเนื้อดินที่จะให้น้ำซึมผ่านได้ จำนวนและความเข้มข้นของน้ำฝน แต่อย่างไรก็ตามความสามารถในการละลายในน้ำของไฮโดรคาร์บอนที่เป็นของเหลวลดลง ในขณะที่มวลโมเลกุลเพิ่มขึ้น สารอินทรีย์ที่อยู่ในดินอาจจะมีผลต่อการละลาย และการรวมตัวกันของสารพวกไฮโดรคาร์บอน (Atlas, 1984 ; Baker และคณะ) การชะล้างของไฮโดรคาร์บอนเป็นกลไกที่ทำให้เกิดการปนเปื้อนต่อน้ำกินน้ำใช้ของแหล่งน้ำใต้ดิน ไฮโดรคาร์บอนจะเข้าสู่แหล่งน้ำใต้ดินและสร้างส่วนที่มีความเข้มข้นมาก ๆ หรือเรียกว่า “Smear zone” ซึ่งขึ้น ๆ ลง ๆ ตามระดับน้ำ ความสามารถในการละลายและการชะละลายของไฮโดรคาร์บอนในดินถูกสนับสนุนโดยกิจกรรมของจุลินทรีย์ ดังรูปที่ 2.7 แสดงการกระจายตัวของน้ำมันดิบสู่สิ่งแวดล้อมทางบก



รูปที่ 2.7 การกระจายตัวของน้ำมันดิบสู่สิ่งแวดล้อมทางบก

ที่มา : Bossert และ Compeau (1995)

2.3.2 การปนเปื้อนของน้ำมันดิบเข้าสู่สิ่งแวดล้อมทางน้ำ (Contamination of crude oil the aquatic environment)

น้ำมันดิบที่พบในสิ่งแวดล้อมทางน้ำจะมีอยู่ด้วยกัน 4 ลักษณะ คือ ฟิล์ม (Film) , สารละลาย (Solution) , อิมัลชัน (Emulsion) , ทาร์บอล (Tar balls) และมีการแพร่กระจายตัวของน้ำมันดิบเข้าสู่สิ่งแวดล้อมทางน้ำ ดังนี้ คือ

2.3.2.1 การแพร่กระจาย (Film spreading) น้ำมันดิบสามารถแพร่กระจายได้อย่างรวดเร็วในลักษณะของฟิล์มบาง ๆ ซึ่งเรียกว่า ฟิล์มน้ำมัน (Oil slick) และความหนาของฟิล์มน้ำมันที่ร่วนไหลออกมาขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของน้ำมัน ส่วนพื้นที่ของฟิล์มน้ำมันขึ้นอยู่กับค่าแรงตึงผิว (Surface tension) ระหว่างน้ำมันกับน้ำ และพบว่าลมมีผลต่ออัตราการแพร่กระจายของน้ำมัน

2.3.2.2 การละลาย (Dissolution or Solubilization) ลำดับส่วนในน้ำมันดิบที่ละลายน้ำได้นั้นเป็นสารประกอบพวกอะลิฟาติกชนิดเบา (Light aliphatic) และสารประกอบที่เป็นวงเดี่ยว (Single-ring compound) สารประกอบพวกอะลิฟาติกที่มีความยาวของสายคาร์บอนตั้งแต่ 17 อะตอมขึ้นไปจะสามารถละลายน้ำได้เพียงเล็กน้อยเท่านั้น ซึ่งสถานะของน้ำจะมีผลต่อปริมาณของสารละลายของน้ำมันดิบ แต่อย่างไรก็ตามอัตราการเกิดการละลายจะต่ำกว่าการระเหย

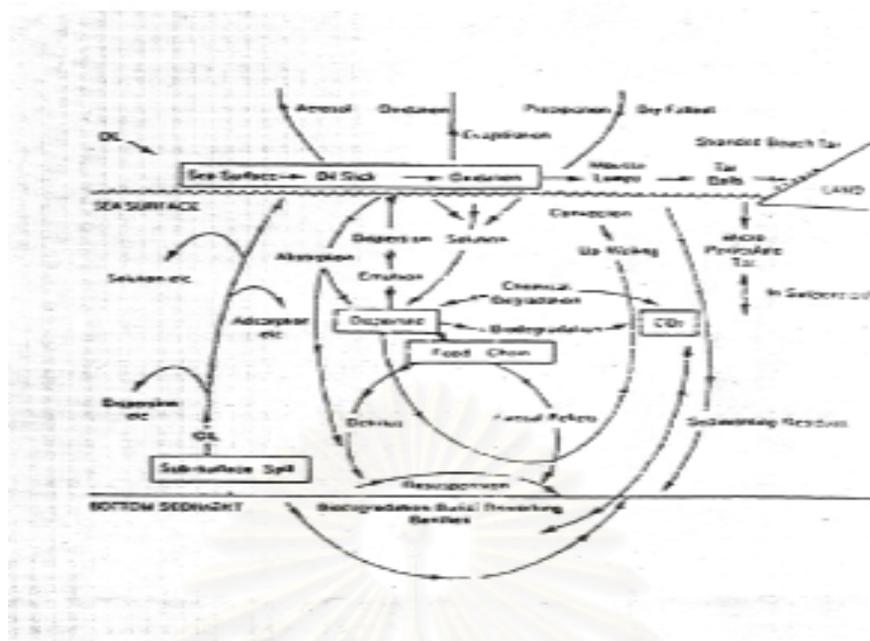
2.3.2.3 การเกิดอิมัลชันของน้ำมัน (Oil emulsification) การปั่นป่วนของคลื่นหรือกระแสน้ำ (Wave agitation) ทำให้เกิดหยดน้ำมันที่มีขนาดเล็กมากหรือเรียกว่าอิมัลชัน โดยกระบวนการนี้เพิ่มขึ้นจะช่วยบับดฟิล์มน้ำมัน ด้วยสารลดแรงตึงผิว ซึ่งสามารถเกิดในรูปของน้ำมันในน้ำ (Oil in water) หรือน้ำในน้ำมัน (Water in oil emulsion) ขนาดของหยดน้ำมันประมาณ

0.5-1.0 ไมโครเมตร น้ำมันในน้ำสามารถพบเห็นได้ในพื้นที่ที่มีความเข้มข้นของน้ำมัน ในขณะที่ความเข้มข้นของน้ำมันสูงจะทำให้พื้นที่บริเวณนั้นเกิดความอยู่ตัวอย่างมากของอิมัลชัน ส่วนน้ำในน้ำมันเรียกว่าช็อกโกแลตมูส (Chocolate mousse or mousse) ช็อกโกแลตมูสขนาดใหญ่จะลดการย่อยสลายทางชีวภาพ เพราะมีพื้นที่ผิวน้อยลงที่จะให้จุลินทรีย์เข้าไปจับกับน้ำมัน อีกทั้งออกซิเจนและสารอาหารจะผ่านเข้าไปได้ยากในช็อกโกแลตมูส

2.3.2.4 การเกิดทาร์บอล (Tarball formation) ทาร์บอลหรือก้อนน้ำมันที่ลอยน้ำ เกิดจากการผสมผสานกันของแรงคลื่น อากาศและการย่อยสลาย ขนาดของทาร์บอลจะมีตั้งแต่ 2 - 3 มิลลิเมตร จนถึง 30 เซนติเมตร ความเป็นไปได้ในการเกิดทาร์บอลขนาดใหญ่เกิดจากการม้วนตัวเป็นวงกลมของคลื่นที่แตกกระจาย หลังจากนั้นน้ำมันจะเข้าไปจับตัวกับทรายและชิ้นส่วนของวัสดุที่แข็ง ทำให้น้ำหนักเพิ่มขึ้นและเกิดการตกตะกอนในเวลาต่อมา

แต่การระเหย (Evaporation) เป็นกระบวนการที่สำคัญใน 2-3 วันแรก หลังจากที่เกิดการปนเปื้อนของน้ำมันในแหล่งน้ำ น้ำมันจะเกิดการระเหยเป็นจำนวน 1/3 ถึง 2/3 และหลังจากนั้นอัตราการระเหยจะลดลงอย่างรวดเร็ว ซึ่งอัตราเหล่านี้ขึ้นอยู่กับองค์ประกอบของน้ำมัน พื้นที่ของน้ำมัน คุณสมบัติทางกายภาพของน้ำมัน และสภาพภูมิอากาศ เช่น สภาพของน้ำ ความเข้มข้นของแสงอาทิตย์ และ ความเร็วลม อุณหภูมิต่ำจะลดอัตราการย่อยสลาย น้ำมันที่มีองค์ประกอบของโลหะ นิเกิลและวานาเดียมเป็นส่วนใหญ่ มีแวกซ์ และแอสฟัลต์มากกว่าส่วนอื่น ๆ หลังจากเกิดการระเหย ก็จะทำให้เพิ่มความหนืดแก่น้ำมัน

อีกทั้งยังมีกระบวนการอื่นๆ ของน้ำมันในน้ำได้แก่ การตกตะกอน (Sedimentation) และการย่อยสลาย (Degradation) การตกตะกอนเกิดเพราะน้ำหนักของน้ำมันเพิ่มขึ้น และการย่อยสลายสามารถเกิดได้ทั้งทางกายภาพ (Abiotic Degradation) และทางชีวภาพ (Biotic Degradation) แต่การตกตะกอนของน้ำมันสู่พื้นน้ำจะสะสมอยู่เป็นเวลานาน ซึ่งการย่อยสลายจะสามารถเกิดขึ้นได้เพียงเล็กน้อย และตะกอนของน้ำมันจะสะสมและเป็นพิษต่อสิ่งมีชีวิตที่อาศัยอยู่พื้นน้ำ ดังรูปที่ 2.8 แสดงลักษณะการกระจายตัวของน้ำมันลงสู่สิ่งแวดล้อมทางน้ำ



รูปที่ 2.8 ลักษณะการกระจายตัวของน้ำมันลงสู่สิ่งแวดล้อมทางน้ำ

ที่มา : Floodagt (1984)

การเปลี่ยนแปลงของน้ำมันในแหล่งน้ำสามารถสรุปได้สองประเด็นใหญ่ๆ คือ

(1) การเปลี่ยนแปลงของน้ำมันในน้ำ

น้ำมันดิบเมื่อรั่วไหลลงสู่แหล่งน้ำ จะเปลี่ยนแปลงไปเป็นสารแขวนลอยอยู่ในน้ำ เป็นอิมัลชันลอยกระจายอยู่ในน้ำ ถูกดูดซับอยู่ในตะกอนใต้แหล่งน้ำ ละลายอยู่ในน้ำ สะสมอยู่ในอวัยวะของสิ่งมีชีวิตที่อาศัยอยู่ในแหล่งน้ำมัน โดยกระบวนการแรกที่เกิดขึ้นทันที คือ การแผ่กระจายตัวไปตามผิวหน้าน้ำเป็นฝ้าน้ำมันบาง ๆ เป็นวงกว้างจนกระทั่งเป็นฝิวบางที่สุดหนาประมาณไม่กี่มิลลิเมตรหรือน้อยกว่า ในขณะที่เกิดการแผ่กระจายนั้น สารประกอบไฮโดรคาร์บอน จะเกิดการระเหยง่ายเช่น อัลเคน ที่มีคาร์บอนอะตอมต่ำ ๆ และอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอน จะเกิดการระเหยในช่วงระยะเวลาสั้น ๆ ส่วนน้ำมันที่ไม่ระเหย ( Non-Volatile oil ) จะถูกพัดเข้าสู่ฝั่ง เปลี่ยนรูปเป็น Tarball ขนาดต่าง ๆ กันบางส่วนจะกลายเป็นคราบน้ำมัน ( Oil slick ) ล่องลอยไปตามกระแสน้ำ ซึ่งความเร็วขึ้นอยู่กับอิทธิพลของกระแสน้ำ บางส่วนละลายอยู่ในน้ำ ขบวนการนี้เกิดขึ้นทันที และตลอดขบวนการของการเปลี่ยนแปลงของน้ำมันพวกที่ละลายน้ำได้ดีที่สุดคือพวกไฮโดรคาร์บอนอิ่มตัวที่มีโมเลกุลต่ำ ๆ และ อะโรมาติกไฮโดรคาร์บอน ซึ่งเป็นพวกที่มีพิษที่สุดต่อสัตว์น้ำ ความสามารถในการละลายจะมากหรือน้อยขึ้นอยู่กับชนิดของน้ำมัน ระยะเวลาในการผสมและความหนืดของน้ำมัน นอกจากนี้อุณหภูมิและความเค็มมีผลต่อการละลายเช่นกัน บางส่วนน้ำมันผสมกับน้ำกลายเป็นสารแขวนลอย อาจอยู่ในรูปของ Oil - in - water - emulsion หรือ Water - in - oil - emulsion ซึ่งอิมัลชันเหล่านี้จะถูกทำให้กระจุกกระจายไปบนผิวน้ำด้วยความ

ปั่นป่วนและกระแสน้ำถ้าเกิดคลื่นแรงน้ำมันอาจอยู่ในรูปหยดน้ำมันเล็ก ๆ นอกจากนี้ กระบวนการผสม (Mixing process) อาจทำให้น้ำมันรวมตัวเป็นก้อนน้ำมันกึ่งแข็ง (Semi – solid lumps) เป็นที่รู้จักกันในชื่อของ Chocolate mousse ซึ่งมีความคงตัวและอยู่ในน้ำได้เป็นเวลานานนับเดือน บางส่วนก็จมตัวลง เกิดการรวมตัวเข้าไปสะสมในดินตะกอน (Sedimentation) บางส่วนของน้ำมันที่สัมผัสกับออกซิเจนและรังสีอุลตราไวโอเล็ตจากแสงอาทิตย์ จะเกิดการออกซิเดชันเป็นขบวนการสลายตัวทางเคมีส่วนใหญ่ผลที่ได้จากการออกซิเดชันจะละลายน้ำได้ดี ทำให้การอิมัลชันเพิ่มขึ้น ขบวนการนี้มีกระแสน้ำและกระแสลมเป็นตัวช่วย ( สุจิตรา เชาว์ปรีชา, 2530 )

น้ำมันที่ปั่นเป็อนลงสู่แหล่งน้ำจะเกิดเป็นคราบปกคลุมผิวน้ำอยู่ เนื่องจากองค์ประกอบของน้ำมันส่วนใหญ่จะมีคุณสมบัติไม่ละลายน้ำหรือละลายน้ำได้น้อยมาก อิทธิพลจากคลื่น กระแสน้ำและลม จะเป็นปัจจัยที่ทำให้คราบน้ำมันแพร่กระจายออกเป็นแผ่นฟิล์มบางๆ นอกจากนี้การแพร่กระจายของคราบน้ำมันยังขึ้นอยู่กับปัจจัยอื่น ๆ เช่น ปริมาณน้ำมันที่รั่วไหล คุณสมบัติของน้ำมัน ระยะเวลาเป็นต้น กระบวนการที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของคราบน้ำมันได้แก่ การระเหย การละลาย การเกิดอิมัลชัน โฟโตเคมีคัล ออกซิเดชัน และการย่อยสลายโดยจุลชีพ ซึ่งความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของน้ำมันที่เปลี่ยนแปลงไปเนื่องจากกระบวนการต่างๆ เมื่อเวลาผ่านไป สามารถแสดงได้โดยสมการแบบ First Order Equation ดังนี้ ( Geyer, 1980 อ้างถึงในเชาวน์ นกอยู่, 2538 )

$$dc / dt = ( K_v , K_e , K_d , K_p , K_b ) C$$

โดยที่	$K_v$	หมายถึง	สัมประสิทธิ์การระเหย
	$K_e$	หมายถึง	สัมประสิทธิ์การเกิดอิมัลชัน
	$K_d$	หมายถึง	สัมประสิทธิ์การละลาย
	$K_p$	หมายถึง	สัมประสิทธิ์การเกิดปฏิกิริยาโฟโตเคมีคัลออกซิเดชัน
	$C$	หมายถึง	ความเข้มข้นของสารประกอบไฮโดรคาร์บอน

อัตราการเกิดกระบวนการต่าง ๆ เหล่านี้จะเกิดขึ้นไม่เท่ากัน ขึ้นอยู่กับปัจจัยต่าง ๆ เช่น องค์ประกอบของไฮโดรคาร์บอนในน้ำมัน สภาพอุทกวิทยาของแหล่งน้ำ เช่น คลื่น ลมกระแสน้ำ อุณหภูมิ เป็นต้น แต่โดยทั่วไปกระบวนการทางกายภาพและเคมีจะเกิดขึ้นอย่างรวดเร็วแทบจะทันทีเมื่อเกิดการปนเปื้อนของน้ำมัน เช่น การแพร่กระจาย การระเหย การละลาย และการเกิดอิมัลชัน ส่วนกระบวนการทางชีวภาพ มักจะเกิดขึ้นในภายหลังจากที่มีการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพและเคมีของน้ำมันแล้ว ( เกศินี สรรวานิช, 2534 ) นอกจากนี้ยังมีจุลชีพ เช่น แบคทีเรียบางชนิด สามารถย่อยสลายสารไฮโดรคาร์บอนที่ประกอบอยู่ในน้ำมัน การย่อยสลายไฮโดรคาร์บอนโดย จุลชีพเหล่านี้

จะเกิดบริเวณผิวหนังน้ำในสภาวะที่มีออกซิเจน โดยชั้นแรกแบคทีเรียจะเปลี่ยนไฮโดรคาร์บอน โมเลกุลให้เป็นกรดไขมัน ( Fatty acid ) ผลที่ได้จะอยู่ในรูป Chocolate mousse และสารแขวนลอย ( Colloidal ) จุลชีพเหล่านี้ได้แก่ Pseudomonas sp., Mycobacterium, Nocardia, Candida, และ penicillin เป็นต้น น้ำมันดิบที่มีสารประกอบพวกไฮโดรคาร์บอน ซัลเฟอร์ออกซิเจน ในโตรเจน ซึ่งจุลชีพเหล่านี้สามารถนำไปใช้ในการเจริญเติบโตได้ โดยเฉพาะไนโตรเจน และฟอสฟอรัส จุลชีพต่างชนิดกัน มีความสามารถในการย่อยสลายไฮโดรคาร์บอน โมเลกุลต่างๆกันไป พบว่าพวกอะลิฟาติกไฮโดรคาร์บอน ถูกย่อยสลายได้ดีกว่าพวกสารประกอบแนฟทาติก และ สารประกอบอะโรมาติก อุณหภูมิต่ำๆ เป็นตัวทำให้การย่อยสลายของน้ำมันลดลง

## (2) การเปลี่ยนแปลงของน้ำมันในดินตะกอน

เมื่อน้ำมันที่ปนเปื้อนในแหล่งน้ำเกิด การระเหย การละลาย และกระบวนการต่างๆ แล้วข้างต้น สารที่เหลือจากกระบวนการเหล่านั้นจะมีลักษณะเป็นก้อนแข็งหรือน้ำมันดิน ( tar ball ) ลอยอยู่บนผิวน้ำ น้ำมันดินเหล่านี้จะแตกออกเป็นอนุภาคเล็กๆ ด้วยอิทธิพลของคลื่นลม กระแสน้ำ รวมทั้งอุณหภูมิ เป็นต้นและจะจมลงสู่ท้องน้ำ ส่วนอนุภาคของน้ำมันที่กระจายในน้ำในรูปแบบต่างๆ เช่นสารละลาย อิมัลชัน จะถูกดูดซับโดยสารแขวนลอยและตกตะกอนลงสู่ท้องน้ำได้ โดยกระบวนการดูดซับและดูดซึมบนอนุภาคแขวนลอยนั้นและพบว่าอนุภาคที่มีขนาดเล็กละเอียด จะสามารถดูดซับและดูดซึมไฮโดรคาร์บอนได้ดี โดยเฉพาะอนุภาคดินเหนียว ( clay )

จากการศึกษาการสะสมของน้ำมันในตะกอน พบว่าน้ำมันสามารถซึมผ่านลงไป ในชั้นตะกอนได้โดยที่ความสามารถในการซึมผ่านตะกอนนั้น จะขึ้นอยู่กับลักษณะของตะกอน กล่าวคือตะกอนที่ประกอบด้วยทรายและกรวดมากจะมีการซึมของน้ำมันได้ดีกว่า ตะกอนที่มีขนาดอนุภาคเล็ก เนื่องจากอนุภาคเล็ก ๆ จะมีพื้นที่ผิวในการดูดซับได้มากกว่า ส่วนตะกอนที่มีอนุภาคขนาดใหญ่ นอกจากจะซึมผ่านได้ดีแล้วยังมีอัตราการย่อยสลายโดยจุลชีพได้สูงอีกด้วย เนื่องจาก ตะกอนขนาดใหญ่จะมีการไหลเวียนของธาตุอาหารและอากาศได้ดี ปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อการ คงสภาพของน้ำมันในชั้นตะกอนนั้นคือ อัตราการย่อยสลายทางชีวภาพ โดยบริเวณผิวของชั้น ตะกอน จะเกิดการย่อยสลายสารไฮโดรคาร์บอนได้เร็วกว่าในชั้นที่ลึกลงไปซึ่งอยู่ในสภาพไร้ออกซิเจน ทำให้การย่อยสลายเกิดได้ช้า จึงเป็นเหตุให้น้ำมันที่อยู่ในชั้นที่ลึกลงไปสามารถ คงสภาพอยู่ได้เป็นเวลานานหลายปี ( เซาว์ นกอยู่, 2538 )

เมื่อน้ำมันรั่วไหลลงสู่แหล่งน้ำจะเกิดการเปลี่ยนแปลงในลักษณะต่าง ๆ กันทั้ง ทางกายภาพ เคมี และชีวภาพต่อน้ำมัน ทำให้น้ำมันเกิดการเปลี่ยนแปลงในลักษณะต่าง ๆ ซึ่งอัตราการเปลี่ยนแปลงในแต่ละกระบวนการนั้นจะแตกต่างกันไปตามปัจจัยต่าง ๆ เช่น องค์ประกอบไฮโดรคาร์บอน สภาพแวดล้อม ซึ่งได้แก่

(ก) จะถูกกระแสนลม กระแสน้ำ หรือคลื่นพัดพาให้แพร่กระจายสู่บริเวณใกล้เคียง ทั้งนี้เพราะน้ำมันมีแรงตึงผิวมากกว่าน้ำ จึงกลายเป็นคราบน้ำมันที่ผิวน้ำ

(จ) ไฮโดรคาร์บอนที่ระเหยได้ จะเริ่มระเหยทันทีที่รั่วไหลโดยน้ำมันเบา (Light oil) จะระเหยได้เร็วกว่าน้ำมันหนัก (Heavy oil) เช่น ที่อุณหภูมิ 20 °C ในเวลา 7-8 นาที น้ำมันเบนซินจะระเหยได้ประมาณ 50 เปอร์เซ็นต์ ส่วนน้ำมันดิบ ภายในเวลา 12 ชั่วโมง จะระเหยได้ประมาณ 20 เปอร์เซ็นต์ ของปริมาณน้ำมันที่รั่วไหล

(ค) เกิดการละลายและกระจายตัวของน้ำมันเข้ากับน้ำจากศึกษาความสามารถในการละลายพบว่า น้ำมันละลายในน้ำได้ดีกว่าน้ำทะเล อะโรมาติกไฮโดรคาร์บอนสามารถละลายในน้ำได้ดีกว่าไฮโดรคาร์บอนอิ่มตัวและไฮโดรคาร์บอนโซ่ตรง ความสามารถในการละลายของไฮโดรคาร์บอนแสดงดังตารางที่ 2.2 ซึ่งความสามารถในการละลายนี้ขึ้นอยู่กับโครงสร้างของโมเลกุล และความดันไอ (Vapour pressure) ของไฮโดรคาร์บอน ไฮโดรคาร์บอนที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูงขึ้นจะมีการละลายลดลง

(ง) เกิดการผสมของน้ำมันและน้ำ ( Emulsification ) ซึ่งมีสองรูปแบบคือน้ำมันในน้ำ ( Oil water ) ซึ่งส่วนใหญ่เป็นน้ำ มีน้ำมันกระจายอยู่ในลักษณะเป็นหยด มีอนุภาคตั้งแต่ 5 ไมโครเมตร จนถึงหลายมิลลิเมตร และน้ำในน้ำมัน (Water in oil) ประกอบด้วยน้ำประมาณ 70 - 80 เปอร์เซ็นต์ในน้ำมัน

(ฉ) น้ำมันที่มีความหนาแน่นสูงบางส่วนจะเป็นตะกอนดินน้ำมัน ( Tar ball or oil ball ) พัดเข้าสู่ฝั่งทำให้ชายฝั่งสกปรก และบางส่วนจะตกตะกอน น้ำมันดิบที่ไม่มีไนโตรเจน กำมะถัน และ ออกซิเจนเป็นองค์ประกอบ หรือ มีเพียงเล็กน้อยจะไม่เกิดตะกอนดินน้ำมัน แต่โดยทั่วไปปริมาณตะกอนดินน้ำมันจะเกิดขึ้นประมาณ 30 เปอร์เซ็นต์ ของปริมาณน้ำมันที่รั่วไหล

(ช) เมื่อน้ำมันมีความหนาแน่นมากขึ้น อันเนื่องมาจากการระเหย การละลาย การรวมกันของอนุภาคที่กระจายอยู่ในน้ำ การดูดซึม และ การดูดซับไฮโดรคาร์บอนของอนุภาคแขวนลอย สารที่เหลือจะมีลักษณะเป็นของแข็งหรือเป็นตะกอนดินน้ำมันลอยอยู่ที่ผิวน้ำ และแตกตัวจมลงสู่ท้องน้ำ

(ซ) เกิดการออกซิเดชัน (Oxidation) ที่ผิวของน้ำมันทันทีที่น้ำมันแพร่กระจายบนผิวน้ำ น้ำมันจะทำปฏิกิริยากับอากาศโดยมีเกลือแร่ในน้ำทะเลและรังสีอุตราไวโอเลตในแสงอาทิตย์เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา โดยสารพวกอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอนจะถูกเปลี่ยนสภาพโดยแสงอาทิตย์ได้เร็วกว่าพวกอะลิฟาติก นอกจากนั้นสารประกอบที่มีกำมะถันหรือฟีนอลเป็นองค์ประกอบจะเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ในขณะที่สารประกอบเมธาริกเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา

(ฌ) เกิดการย่อยสลายโดยจุลินทรีย์ ซึ่งจะแตกต่างกันไปแล้วแต่ชนิดของไฮโดรคาร์บอน เช่น การย่อยสลายอะโรมาติกและอะลิฟาติกไฮโดรคาร์บอนในระยะแรก อะโรมาติก จะถูกเปลี่ยนเป็นไดออล จากนั้นจะมีการแตกของวงแหวนได้เป็นกรดและอัลดีไฮด์ ส่วนอัลเคนจะถูกออกซิไดซ์ได้แอลกอฮอล์และกรดไขมัน ซึ่งเป็นแหล่งอาหารใช้ในการ

เจริญเติบโตของ จุลินทรีย์ ให้ผลสุดท้ายเป็นก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ จุลินทรีย์เหล่านี้ ได้แก่ *Pseudomonas* , *Mycobacter* , และ *Norcadia* เป็นต้น

ตารางที่ 2.2 ความสามารถในการละลายน้ำของไฮโดรคาร์บอนอิ่มตัว และ อะโรมาติกที่ อุณหภูมิห้อง (McAuliffe, 1963 )

ไฮโดรคาร์บอน	ความสามารถในการละลาย (กรัมไฮโดรคาร์บอนในน้ำ 10 <sup>4</sup> กรัม)
Methane	24.4 ± 1.0
Ethane	60.4 ± 1.3
Propane	62.4 ± 2.1
n-butane	61.4 ± 2.6
Isobutene	48.9 ± 2.1
n- Pentane	38.5 ± 2.0
Isopentane	47.8 ± 1.6
n- Hexane	9.5 ± 1.3
2- Methylpentane	13.8 ± 0.9
2, 2 – Dimethylbutane	18.4 ± 1.3
n- Heptane	2.93 ± 0.20
2, 4 – Dimethylpentane	3.62 ± 0.10
n- octane	0.66 ± 0.06
2,2,4 – Trimethylpentane	2.44 ± 0.12
Cyclopentane	156.0 ± 9
Cyclohexane	55.0 ± 2.3
Methylcyclopentane	42.6 ± 1.6
Methylcyclohexane	14.0 ± 1.2
Benzene	1,780.0 ± 45
Toluene	538.0 ± 17
O- Xylene	175.0 ± 8
Ethylbenzene	159.0 ± 8
Isopropylbenzene	53.0 ± 5

## 2.4 ผลกระทบของน้ำมันต่อสิ่งแวดล้อม

เมื่อน้ำมันรั่วไหลลงสู่แหล่งน้ำย่อมก่อให้เกิดผลกระทบ หรือ ก่อให้เกิดผลเสียหายแก่ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อมด้านต่างๆ โดยระดับความรุนแรงของผลกระทบจะมากหรือน้อยเพียงใดขึ้นอยู่กับปัจจัยต่าง ๆ หลายด้าน เช่น ปริมาณน้ำมันที่รั่วไหลออกมา ชนิดของน้ำมัน ระยะเวลาที่น้ำมันอยู่ในน้ำ หรือสิ่งแวดล้อม ชนิดและความอุดมสมบูรณ์ ของทรัพยากรสิ่งแวดล้อม สภาพภูมิประเทศของพื้นที่ สภาพทางอุทกนิเวศวิทยา สภาพทางอุทกวิทยา เป็นต้น ซึ่งผลกระทบที่เกิดขึ้นพอสรุปได้ดังนี้

### 2.4.1 ผลกระทบทางชีวภาพ

ไฮโดรคาร์บอนชนิดที่มีอันตรายค่อนข้างสูง เมื่อละลายอยู่ในน้ำจะสามารถทำให้สิ่งมีชีวิตหลายชนิดตายได้ ซึ่งชนิดและปริมาณของสิ่งมีชีวิตที่ได้รับผลกระทบจากน้ำมันจะมีอัตราการตายสูง และจะส่งผลกระทบต่อความสมดุลของระบบนิเวศได้ ในกรณีที่สิ่งมีชีวิตได้รับไฮโดรคาร์บอนเข้าไปในปริมาณน้อยจะเกิดการสะสมในร่างกายและถ่ายทอดสู่ห่วงโซ่อาหารดังนี้

ปิโตรเลียม -----> แพลงก์ตอน -----> ปลาเล็ก -----> ปลาใหญ่ -----> มนุษย์

ไฮโดรคาร์บอนในน้ำมันดิบอาจเข้าไปสะสมในเนื้อเยื่อได้โดยกระบวนการเปลี่ยนแปลงในเมตาโบลิซึม มีการศึกษาพบว่า กระบวนการเมตาโบลิซึมของไฮโดรคาร์บอนทำให้เกิดสารพิษเพิ่มมากขึ้น เช่น สารพวกนอร์มัลพาราฟิน โดยปกติเป็นสารที่แทบจะไม่มีอันตรายต่อมนุษย์ แต่เมื่อผ่านไปตามห่วงโซ่อาหารหลาย ๆ ชั้นแล้วอาจเกิดอนุพันธ์ที่เป็นอันตรายได้ (เชาว์ นกอยู่, 2538)

ผลกระทบของน้ำมันดิบต่อสิ่งมีชีวิต (Duffus, 1982) ได้แบ่ง ผลกระทบของน้ำมันดิบที่มีต่อสิ่งมีชีวิตเป็น 2 ประเภท คือ

2.4.1.1 ผลกระทบทางด้านกายภาพ ได้แก่ การที่คราบน้ำมันจับติดบนขนนกทะเลทำให้หมดสภาพที่ดีใน การบิน การพักผ่อน การดำน้ำ และ นกพยายามจะไชร้ความสกปรกออกทำให้กลิ่นสารพิษเข้าไปส่วนหนึ่งเป็นเหตุให้ตายได้ คราบน้ำมันที่เคลือบเป็นแผ่นฟิล์มบนผิวหนังทำให้สัตว์สำลัก (Asphyxia) ตาย นอกจากนี้ยังเป็นตัวทำให้ปริมาณแสงที่ส่องผ่านลงน้ำลดลงมีผลต่อการสังเคราะห์แสงของพืชน้ำ เป็นเหตุให้ปริมาณออกซิเจนต่ำลงมาก ทำให้เกิดการตายในสัตว์หลายชนิด เนื่องจากเมื่อเกิดการปนเปื้อนในแหล่งน้ำ จะมีผลกระทบต่อแพลงตอนพืชและ สาหร่ายทั้งขนาดใหญ่และขนาดเล็ก โดยเฉพาะแพลงค์ตอนพืชมีความสำคัญในการตรึงพลังงานแสงอาทิตย์มาใช้ในระบบนิเวศของแหล่งน้ำนั้น ดังนั้น เมื่อมีคราบน้ำมันบริเวณผิวหนังของแหล่งน้ำ น้ำมันจะไปปิดบังแสงอาทิตย์ไม่ให้ส่องผ่านลงไปแหล่งน้ำ เนื่องจากน้ำมันจะ

ดูดซับแสงอาทิตย์เอาไว้ จึงทำให้เกิดการสังเคราะห์แสงโดยแสงที่ค่อนข้างน้อยและความเป็นพิษของน้ำมันก็จะส่งผลกระทบต่ออัตราการลดลงของประชากรแพลงก์ตอนพืช

2.4.1.2 ผลกระทบด้านเคมี ขึ้นอยู่กับองค์ประกอบในน้ำมันนั้น ๆ คือ

(ก) พวกไฮโดรคาร์บอนที่อิ่มตัวมีจุดเดือดต่ำ ๆ ทำให้สัตว์สลบ (Anaesthesia) หรือเกิดอาการมึนงง (Narcosis)

(ข) พวกอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอนที่มีจุดเดือดต่ำ ๆ เป็นพวกที่มีความเป็นพิษมากที่สุดและละลายน้ำได้ดีที่สุด เช่น เบนซีน, โทลูอิน, แนฟทาลีน, ฟีนานทริน จะไปยับยั้งการสร้างเม็ดเลือด มีผลต่อระบบการหายใจ และ กระตุ้นหรือกดระบบประสาทส่วนกลาง นอกจากนี้ยังมีสารพวก Mutagen และ Carcinogen ทำให้เกิดการกลายพันธุ์และเนื้องอกด้วย

(ค) พวกอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอนและไฮโดรคาร์บอนที่อิ่มตัวที่มีจุดเดือดสูง ไม่ค่อยเป็นพิษมากนัก แต่อาจจะมีผลต่อพฤติกรรมบางอย่าง เช่น การรับรู้และการตอบสนองต่อเพศสืบปกติไป

(ง) โพลีไซคลิกอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอน เช่น 3,4 benzopyrene และ 1,2-benzanthracene พบว่าในพวกนี้มีสารก่อมะเร็งแบบเดียวกับในบุหรี่ และมี Mutagen เป็นผลให้เกิดการกลายพันธุ์

#### 2.4.2 ผลกระทบทางด้านกายภาพ

เมื่อน้ำมันรั่วไหลลงสู่แหล่งน้ำ น้ำมันจะลอยอยู่บนผิวน้ำ เนื่องจากความถ่วงจำเพาะ (Specific gravity) ของน้ำมันต่ำกว่าของน้ำ ดังนั้นผลกระทบทางด้านกายภาพที่จะเกิดขึ้นต่อสิ่งแวดล้อม ได้แก่

2.4.2.1 แสงส่องผ่านสู่ท้องน้ำไม่ได้ น้ำมันที่ลอยอยู่บนผิวน้ำจะกั้นแสงอาทิตย์ไม่ให้ส่องผ่านลงไปใต้น้ำได้สะดวก น้ำมันที่ลอยอยู่บนผิวน้ำของแหล่งน้ำจะทำให้เกิดผลกระทบต่ออัตราการสังเคราะห์แสงของพืช โดยบริเวณที่มีน้ำมันหนาเกิน 1 มิลลิเมตร จะมีการสังเคราะห์แสงของพืชลดลง 1-10 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนั้นยังทำให้ปริมาณออกซิเจนละลายน้ำลดลง 27 เปอร์เซ็นต์ (Smith, 1973)

2.4.2.2 ปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำลดลงเนื่องจากน้ำมันจะทำหน้าที่คล้ายแผ่น หรือ เกาะบัง (Physical barrier) ระหว่างน้ำกับอากาศซึ่งจะมีผลทำให้ก๊าซออกซิเจนจากอากาศไม่สามารถละลายลงสู่แหล่งน้ำได้

2.4.2.3 ความร้อนของน้ำสูงขึ้น น้ำมันชนิดมีสีทึบ เช่น น้ำมันเตา เป็นต้น จะสามารถดูดความร้อน (Heat absorption) จากแสงอาทิตย์ได้ดีทำให้อุณหภูมิของน้ำสูงขึ้น เนื่องจากมีการส่งผ่านความร้อน (Heat transfer) ของน้ำมันสู่มวลของน้ำ

### 2.4.3 ผลกระทบทางด้านเศรษฐกิจและสังคม (ซรัตัน รุ่งเรืองศิลป์, 2533 )

เป็นผลกระทบที่เกิดขึ้นต่อเนื่องมาจากผลกระทบทางกายภาพและทางชีวภาพ คือ ผลกระทบทางด้านเศรษฐกิจและสังคม ได้แก่

2.4.3.1 น้ำมันที่รั่วไหลลงสู่แหล่งน้ำ จะทำให้คุณภาพน้ำในบริเวณนั้นต่ำลงจนทำให้สัตว์น้ำและแหล่งเพาะเลี้ยง เช่น กุ้ง หอย ปู ปลา ไม่สามารถดำรงชีวิตและให้ผลผลิตได้อีกต่อไป หรือให้ผลผลิตลดลง กรณีที่น้ำมันถูกพัดพาเข้าสู่แหล่งท่องเที่ยว เช่น ชายหาดจะทำให้สุนทรียภาพและความงามของแหล่งท่องเที่ยวนั้นลดลง สำหรับป่าชายเลนซึ่งจัดว่าเป็นแหล่งอาหารและที่อยู่อาศัย รวมไปถึงเป็นแหล่งเพาะพันธุ์ที่สำคัญของสัตว์น้ำนานาชนิด น้ำมันจะแทรกซึมเข้าสู่ร่างกายของต้นไม้ในป่าชายเลน เช่น ต้นโกงกาง โดยเฉพาะ Lenticle ซึ่งเป็นเซลล์หายใจของพืชได้มากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ ลักษณะเช่นนี้จะทำให้ต้นโกงกางตาย และตะกอนดินที่มีน้ำมันตกค้างอยู่ ก็จะทำให้เมล็ดของต้นโกงกางไม่เจริญเติบโตเป็นต้นโกงกาง

2.4.3.2 ผลกระทบเกี่ยวกับความเดือดร้อนรำคาญจากคราบสกปรกของน้ำมันที่ลอยไปติดและก่อความเสียหายต่อทรัพย์สินของมนุษย์

2.4.3.3 ผลกระทบด้านสุนทรียภาพ และ ความงามของแหล่งท่องเที่ยว เช่น ชายหาด ปะการัง ป่าชายเลน เป็นต้น โดยเกิดจากคราบน้ำมันและก้อนน้ำมันดิน ถูกพัดพาเข้าสู่แหล่งท่องเที่ยวเหล่านั้น ทำให้สุนทรียภาพและความงามของแหล่งท่องเที่ยวในบริเวณนั้นลดลงจนไม่เหมาะสมต่อการท่องเที่ยวหรือพักผ่อน ซึ่งลักษณะดังกล่าวจะมีเสียดต่อบรรยากาศและรายได้ของประชาชนในท้องถิ่นนั้น และโดยส่วนรวมของประเทศที่จะได้จากการท่องเที่ยว

## 2.5 การกำจัดคราบน้ำมัน

### 2.5.1 วิธีทางกายภาพ

2.5.1.1 ทูนกักน้ำมัน เป็นอุปกรณ์ชนิดแรกที่ถูกนำมาใช้เพื่อจำกัดบริเวณของน้ำมันไม่ให้แพร่กระจายออกไป ทูนกักน้ำมันแบ่งตามประเภทการใช้งานเป็น 3 ประเภท คือ ใช้ในแม่น้ำ (Inshore Boom หรือ River Boom) มีขนาดค่อนข้างเล็ก ใช้งานง่าย ใช้ในบริเวณชายฝั่ง (Harbor Boom) และใช้กลางทะเล (Offshore Boom) ซึ่งต้องแข็งแรงและทนทานต่อสภาพคลื่นสูงได้

2.5.1.2 เครื่องเก็บกวาดน้ำมัน (Oil Spill Recovery Skimmers) มักใช้เก็บกวาดน้ำมันที่ลอยอยู่ที่ผิวน้ำหลังจากล้อมด้วยทูนแล้ว มีหลักการทำงานที่อาศัยความแตกต่างของความถ่วงจำเพาะระหว่างน้ำมันกับน้ำ โดยเครื่องจะแยกน้ำมันเข้าสู่ถังเก็บน้ำมันและแยกน้ำให้ไหลออกไป

2.5.1.3 วัสดุดูดซับ (Sorbents) อาจเป็นสารสังเคราะห์หรือเส้นใยพืช เช่น ฟางข้าว หญ้าแห้ง เศษผ้า มีหลักการการทำงานคือ จุ่มวัสดุดูดซับลงในน้ำที่มีน้ำมัน น้ำมันจะแทรกซึมและดูดซับติดกับวัสดุแล้วจึงนำวัสดุนั้นไปกำจัดอีกครั้งหนึ่ง

2.5.1.4 วัสดุทำให้จมลง (Sinking) โดยการฉีดพ่นอนุภาคที่มีขนาดเล็ก เช่น ทรายละเอียด ยิบซัม ให้น้ำมันเกาะตัวและจมลงสู่ท้องน้ำ

2.5.1.5 วัสดุดักจับ (Netting) เช่น ตาข่าย ดักจับคราบน้ำมันที่ลอยอยู่ในน้ำ ใช้ได้ดีกับน้ำมันที่มีความหนืดสูง

## 2.5.2 วิธีทางเคมี

2.5.2.1 การใช้สารเคมีทำให้แตกตัว (Chemical Dispersant) หรือเรียกว่า Dispersant ซึ่งเมื่อนิกลงไปในคราบน้ำมันแล้ว จะทำให้แรงตึงผิวของน้ำมันมีค่าใกล้เคียงกับน้ำและคราบน้ำมันจะถูกคลื่นตีแตกกระจายเป็นหยดเล็ก ๆ แยกออกจากกัน นอกจากนี้ยังช่วยป้องกันการรวมตัวของหยดน้ำมันที่แตกกระจายออกไปแล้ว ไม่ให้รวมตัวขึ้นมาได้อีก

2.5.2.2 การใช้สารเคมีทำให้น้ำมันรวมตัวกัน (Chemical solidifier) หรือที่เรียกว่า Solidifier ซึ่งเมื่อนิกลงไปบนคราบน้ำมันแล้ว จะทำให้น้ำมันเกิดการรวมตัวกันกลายเป็นก้อนและจมลงสู่ท้องน้ำ

2.5.2.3 การเผา (Burning) เป็นวิธีที่เสียค่าใช้จ่ายน้อยที่สุด แต่ไม่นิยมใช้ เนื่องจากอาจก่อให้เกิดผลเสียต่อสิ่งมีชีวิตในน้ำ และถ้าจำกัดบริเวณไม่ได้จะทำให้เกิดความเสียหายต่อทรัพย์สิน นอกจากนี้ยังทำให้เกิดมลพิษทางอากาศและอุณหภูมิของน้ำสูงขึ้นอีกด้วย

## 2.5.3 วิธีทางชีวภาพ

2.5.3.1 การย่อยสลายโดยธรรมชาติ (Biodegradation) เป็นกระบวนการที่ใช้จุลินทรีย์ที่มีอยู่แล้วตามธรรมชาติ เช่น ยีสต์ รา แพลงตอน ย่อยสลายไฮโดรคาร์บอนและนำไปใช้ในขบวนการเมตาบอลิซึม (Metabolism) ของตัวเอง น้ำมันที่ปนเปื้อนจะทำหน้าที่เป็นสารอาหารที่ใช้ในการเจริญเติบโตของสิ่งมีชีวิตนั้น ๆ โดยที่สารประกอบเหล่านั้นจะไม่เหลืออยู่อีกต่อไป หรือ อาจเกิดการเปลี่ยนแปลงเป็นสารอื่นที่ไม่เป็นพิษ (Cookson, 1995) ซึ่งกระบวนการนี้จะเป็นไปอย่างช้า ๆ และใช้เวลานานกว่าจะกำจัดคราบน้ำมันได้หมด และจะก่อให้เกิดผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมน้อยมากหรือแทบไม่เกิดขึ้นเลย

การย่อยสลายทางชีวภาพของสารประเภทปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนเป็นประเด็นที่มีผู้ให้ความสนใจศึกษาวิจัยกันอย่างกว้างขวาง เนื่องจากสารประเภทนี้ไม่ว่าจะเป็นน้ำมันหรือสารประกอบไฮโดรคาร์บอนอื่น ๆ ล้วนแต่เป็นสารมลพิษและก่อให้เกิดมลภาวะในสิ่งแวดล้อมปัจจุบันเป็นอย่างมาก (Yerushalmi และ Guiot, 1998) หลักการย่อยสลายทางชีวภาพในการบำบัดพื้นที่บริเวณที่มีการปนเปื้อนของสารประกอบไฮโดรคาร์บอนนี้ได้มีการทำกันอย่าง

แพร่หลาย เพราะเป็นวิธีที่ใช้ได้ผลดี และ มีความเป็นพิษน้อยกว่า วิธีการทางกายภาพและวิธีการทางเคมี (Selano และคณะ, 1999)

2.5.3.2 การเร่งโดยธรรมชาติ (Bioremediation) เป็นเทคนิคหนึ่งสำหรับการกำจัดคราบน้ำมัน โดยการเพิ่ม และ ปรับปรุงประสิทธิภาพของการย่อยสลายทางชีวภาพตามธรรมชาติ แบ่งเป็น 2 วิธี คือ

(ก) การเติมธาตุอาหาร (Nutrient Enrichment หรือ Fertilization) เช่น ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส ลงไปในน้ำที่มีคราบน้ำมัน เพื่อให้เชื้อตามธรรมชาติเจริญเติบโตและเพิ่มจำนวนได้รวดเร็วยิ่งขึ้น Atlas(1998) พบว่าการเติมสารอาหารพวกไนโตรเจนและฟอสฟอรัส ช่วยเพิ่มการย่อยสลายของสารไฮโดรคาร์บอนอิ่มตัวมากกว่าอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอน ซึ่งสอดคล้องกับ Cooney และ คณะ (1985) พบว่าไนโตรเจนและฟอสฟอรัสที่จำกัดในการย่อยสลายไฮโดรคาร์บอนในทะเลสาบน้ำจืดโอไฮโอ การเพิ่มโปแทสเซียมไนเตรท ( $KNO_3$ ) 0.3 กรัมต่อลิตร และไดโปแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต ( $K_2HPO_4$ ) 0.1 กรัมต่อลิตรในน้ำทะเลสาบตัวอย่าง ช่วยเพิ่มการย่อยสลายเฮกซะเดคเคน และ mineral oil หลังจาก 21 วัน

(ข) การเติมเชื้อจุลินทรีย์ (Seeding) ที่สามารถย่อยสลายไฮโดรคาร์บอนลงไปในน้ำที่ปนเปื้อนคราบน้ำมันช่วยเพิ่มอัตราการย่อยสลายทางชีวภาพ โดยการเติมเชื้อจุลินทรีย์ที่มีอยู่ตามธรรมชาติหรือจุลินทรีย์ที่ผ่านการตัดต่อยีน ( Genetically engineered microorganisms : GEMs) เหน็บข้างซึ่งถึงประสิทธิภาพของเชื้อจุลินทรีย์ที่เติมลงไป คือความสามารถในการย่อยสลายองค์ประกอบส่วนใหญ่ของปิโตรเลียม เสถียรภาพของพันธุศาสตร์ของจุลินทรีย์ ความสามารถในการมีชีวิตรอดของจุลินทรีย์ระหว่างการเก็บรักษา การเติบโตอย่างรวดเร็วและมีกิจกรรมของเอนไซม์ขั้นสูงในสิ่งแวดล้อม ความสามารถที่สมบูรณ์กับจุลินทรีย์ท้องถิ่น และเป็นเชื้อที่ไม่ก่อให้เกิดโรค อีกทั้งจะต้องไม่ผลิตสารที่เป็นพิษหลังการเกิดการย่อยสลายทางชีวภาพแล้ว (Atlas, 1977)

ตารางที่ 2.3 สรุปข้อดีและข้อเสียของแต่ละวิธีในการกำจัดคราบน้ำมันออกจากสิ่งแวดล้อม

วิธีการ	ข้อดี	ข้อเสีย
วิธีการทางกายภาพ (Physical method)	ราคาถูก เป็นวิธีการขั้นต้นในการกำจัดคราบน้ำมันและใช้กับคราบน้ำมันที่มีจำนวนน้อย	ไม่เหมาะสมที่จะใช้ในการกำจัดคราบน้ำมันที่มีจำนวนมากหรือในสถานการณ์ที่จำกัด
วิธีการทางเคมี (Chemical method)	สามารถกำจัดคราบน้ำมันออกจากสิ่งแวดล้อมได้อย่างรวดเร็ว และเหมาะกับการกำจัดคราบน้ำมันที่มีจำนวนมาก	ราคาแพง ไม่สามารถย่อยสลายทางชีวภาพได้ และอาจเป็นสาเหตุให้เกิดผลกระทบอย่างอื่นตามมา

วิธีการ	ข้อดี	ข้อเสีย
วิธีการเผา	เป็นวิธีที่มีราคาถูกมาก	ทำให้เกิดมลภาวะทางอากาศ ซึ่งมีสารประกอบพวก Carcinogen เป็นอันตรายต่อ สุขภาพ
วิธีการทางชีวภาพ (Biological method)	ราคาถูกและมีความปลอดภัย และไม่เกิดผลกระทบต่อ สิ่งแวดล้อม	ใช้เวลานานในการกำจัด คราบน้ำมันออกจาก สิ่งแวดล้อม

ที่มา : Nitas (1998)

## 2.6 ระบบบำบัดแผ่นหมุนชีวภาพ (Rotating Biological Contactor , RBC)

ระบบบำบัดแผ่นหมุนชีวภาพระบบนี้ประกอบด้วยถังปฏิกรณ์ซึ่งมีแผ่นตัวกลางที่มีลักษณะเป็นแผ่นหมุนกลมจำนวนมากวางเรียงซ้อนกันบนเพลากลางที่ติดตั้งในถังปฏิกรณ์ เพลากลางจะหมุนในแนวอนในอัตราเร็วประมาณ 2-5 รอบต่อนาที โดยทั่วไปจะให้มีระยะจมตัวของแผ่นหมุนในน้ำเสียประมาณ 40 เซนติเมตร ระบบแผ่นหมุนชีวภาพนี้แสดงในรูปที่ 2.9 วัสดุที่ใช้ทำแผ่นตัวกลางมีหลายชนิดเช่น ยาง พลาสติก พีวีซี โพลีเอทิลีน เป็นต้น และหลังจากเดินเครื่องเป็นเวลา 1-2 สัปดาห์จะพบว่าเมื่อชีวภาพเกาะติดอยู่ที่ผิวแผ่นวงกลมมีความหนาตั้งแต่ 1-4 มิลลิเมตร (นวลพรรณ, 2542)



รูปที่ 2.9 ระบบบำบัดแผ่นหมุนชีวภาพ

ที่มา : ชีระ เกรอด (2539)

เมื่อแผ่นวงกลมถูกหมุน เมื่อชีวภาพจะสัมผัสกับน้ำเสียที่ถูกป้อนเข้ามาสู่ระบบตลอดเวลา โดยขณะที่จานหมุนจะพาเอาฟิล์มของน้ำเสียขึ้นสู่อากาศและจะไหลไปตามผิวหน้าของแผ่นวงกลม ออกซิเจนจากอากาศจะถ่ายเข้าไปในฟิล์มของน้ำเสีย ทำให้จุลินทรีย์ได้รับทั้งอาหารและออกซิเจน การลดปริมาณสารอินทรีย์จึงเกิดขึ้นอย่างต่อเนื่องเมื่อแผ่นวงกลมหมุนกลับลงไปในถังที่มีน้ำเสียอยู่ ออกซิเจนที่ไม่ถูกใช้จะผสมกับน้ำเสียในถัง ในขณะที่ความปั่นป่วนที่เกิดจากการหมุนของแผ่นวงกลมทำให้เพิ่มการละลายของออกซิเจนในน้ำเสียได้ การหมุนของแผ่นตัวกลางที่มีเมือกชีวภาพทำให้เกิดแรงเฉือน (Shear force) ทำให้เมือกชีวภาพบางส่วนหลุดออกจากแผ่นตัวกลาง กลายเป็นสารแขวนลอยในปฏิกิริยา ดังนั้นจึงจำเป็นต้องมีถังตกตะกอนเพื่อแยกเมือกชีวภาพออกจากระบบ ระบบบำบัดแผ่นหมุนชีวภาพมีประสิทธิภาพในการลดบีโอดีและสารแขวนลอยในน้ำเสียได้ ประมาณ 90 เปอร์เซ็นต์ (ธีระ, 2539)

จุลินทรีย์ที่มีบทบาทในการย่อยสลายสารในระบบบำบัดแผ่นหมุนชีวภาพ มีทั้งแบคทีเรียสาหร่าย และโปรโตซัว โดยจุลินทรีย์เหล่านี้จะทำให้เกิดเมือกชีวภาพบนแผ่นตัวกลาง ซึ่งลักษณะของเมือกจะแบ่งออกเป็นสองชั้น ชั้นนอกเป็นชั้นที่มีอากาศ (aerobic zone) ส่วนชั้นในเป็นบริเวณที่ไม่มีอากาศ (anaerobic zone) ภายในชั้นนี้จะเป็นสีดำ เนื่องจากพบสารพวกเหล็กซัลไฟด์เป็นส่วนใหญ่ (นวลพรรณ, 2542)

### 2.6.1 ข้อดีและข้อเสียของระบบบำบัดแผ่นหมุนชีวภาพ

ข้อดีของระบบบำบัดแผ่นหมุนชีวภาพ

- สำหรับระบบบำบัดแผ่นหมุนชีวภาพ ชีวมวลจะเคลื่อนที่ผ่านน้ำทิ้ง ทำให้จุลินทรีย์มีความเปียกเพียงพอไม่ว่าอัตราการไหลของน้ำทิ้งจะมากหรือน้อยจึงไม่มีความจำเป็นต้องเวียนกลับ
- เวลาสัมผัสระหว่างชีวมวลกับน้ำทิ้ง สามารถปรับเปลี่ยนได้โดยการปรับรอบหมุนของแผ่นจาน ทำให้ควบคุมความหนาของแผ่นฟิล์มได้โดยตรง การปรับรอบการหมุนสามารถเปลี่ยนอัตราการถ่ายเทออกซิเจน แต่ในบางกรณีควรมีเครื่องเติมอากาศเสริม
- ในระบบบำบัดแผ่นหมุนชีวภาพ ไม่ต้องการหมุนเวียนตะกอนกลับ ทำให้เกิดประโยชน์หลายอย่างคือ ข้อแรก ไม่มีการสะสมของของแข็งเฉื่อยในระบบ ข้อสองคือ ตะกอนที่ก้นถังสามารถทำให้เข้มข้นมากกว่ากรณีที่มีการเวียนกลับ
- ต้องการพลังงานต่ำ เนื่องจากแผ่นจานหมุนมีการลอยตัวและแรงเสียดทานเพลลาเกิดน้อยมาก กำลังงานส่วนใหญ่ที่ต้องการก็เพื่อหมุนเอาชนะแรงลากระหว่างแผ่นจานกับของเหลวเท่านั้น

ซึ่งสารพิษสามารถไหลผ่านถึงปฏิกิริยาอย่างรวดเร็วพอที่ชีวมวลจะไม่ถูกฆ่าทั้งหมด ดังนั้นระบบจึงสามารถฟื้นตัวได้อย่างรวดเร็ว

ข้อเสียของระบบบำบัดแผ่นหมุนชีวภาพ

- ข้อเสียที่สำคัญของระบบบำบัดแผ่นหมุนชีวภาพ คือ การขาดความจุสำรอง จากผลการทดลองของ ริระ (2539) ในสภาวะไม่คงตัวพบว่า อาร์บีซีไวต่อการเปลี่ยนอัตราไหลและความเข้มข้นของกระแสเข้า มีความจุสำรองน้อยมากในการลดการขึ้นลงคุณภาพกระแสออก ดังนั้นในกรณีที่กระแสเข้าแปรเปลี่ยนมากและต้องการควบคุมคุณภาพกระแสออกอย่างเข้มงวด ก็ควรใช้การปรับให้เท่ากัน (equalization) หรือเผื่อความจุในการบำบัด
- การขาดความยืดหยุ่นในการควบคุมการปฏิบัติการ เมื่อทำการติดตั้งระบบแล้ว จะทำการปรับการทำงานเพื่อให้เหมาะกับการเปลี่ยนคุณสมบัติของกระแสเข้าหรือข้อกำหนดของกระแสออกทำได้น้อยมาก
- ข้อเสียอีกข้อหนึ่งก็คือ อัตราการถ่ายเทออกซิเจนจากการหมุนของแผ่นงาน จำกัด อัตราการรับสารอินทรีย์ เช่น ถ้าความเข้มข้นของน้ำทิ้งสูง ออกซิเจนที่ได้จากการหมุนอย่างเดียวอาจไม่พอที่จะรักษาสภาพแอโรบิกเต็มที่ของถังปฏิกิริยาไว้ได้ ทำให้เกิดกลิ่น หรือการเจริญเติบโตของจุลชีพไปรบกวนการใช้ระบบขับเคลื่อนด้วยอากาศ

## 2.7 จุลินทรีย์ที่ย่อยสลายไฮโดรคาร์บอน ( Petroleum Hydrocarbon Degrading Microorganism )

การย่อยสลายคราบน้ำมันหรือปิโตรเลียม โดยจุลินทรีย์เป็นกระบวนการที่ต้องใช้เวลานาน แต่สร้างผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมน้อยที่สุด ซึ่งความสามารถในการย่อยสลายนี้อาจไม่จำกัดอยู่ในกลุ่มแบคทีเรียเท่านั้น แต่รวมถึงพวกรา ยีสต์ และสาหร่ายด้วยดังตารางที่ 2.4

ส่วนใหญ่จุลินทรีย์ที่มาจากบริเวณที่มีการปนเปื้อนของน้ำมันดิบเป็นเวลานาน จะมีความสามารถในการย่อยสลายน้ำมันดิบได้ดีกว่า (Braddock และคณะ, 1995) เนื่องจากจุลินทรีย์จะปรับตัวเพื่อให้ดำรงชีวิตอยู่ในบริเวณที่มีการปนเปื้อนน้ำมันดิบได้ ดังนั้นจุลินทรีย์จึงต้องมีกลไกการย่อยสลายไฮโดรคาร์บอนเพื่อนำไปใช้เป็นพลังงาน และคาร์บอนสำหรับการเจริญเติบโต (Sexstone และ Atlas, 1977) การย่อยสลายไฮโดรคาร์บอนในธรรมชาติเกิดขึ้นจากจุลินทรีย์หลายชนิด (Johns และ Edington, 1968) ซึ่งการใช้กลุ่มจุลินทรีย์หรือจุลินทรีย์ผสม จะมีประสิทธิภาพสูงกว่าจุลินทรีย์บริสุทธิ์เพียงชนิดเดียว (Walker และ Colwell, 1975) เนื่องจากน้ำมันดิบมีองค์ประกอบที่มีความซับซ้อนสูง นอกจากนี้ยังสอดคล้องกับ El และ Moursy (1962) แสดงให้เห็นว่า *Faecal Streptococci* มีความสำคัญต่อการย่อยสลายทางชีวภาพของไฮโดรคาร์บอนและพบว่า *Streptococcus faecalis* และ *Escherichia Coli* สามารถมีชีวิตรอดได้ในน้ำทะเลเขตร้อนที่

ปนเปื้อนด้วยปิโตรเลียม และเชื้อผสมจะมีประสิทธิภาพมากกว่าเชื้อบริสุทธิ์ ในการย่อยสลายทางชีวภาพของน้ำเสียที่มีปิโตรเลียมปนเปื้อน จะสามารถบ่งชี้ถึงความแตกต่างของสารประกอบอินทรีย์และสารประกอบพวกอนินทรีย์ในน้ำเสีย ดังนั้นจะพบว่าชนิดของแบคทีเรียมีความต้องการที่ต่างกันในการย่อยสลายทางชีวภาพ โดยใช้สารประกอบอินทรีย์และสารประกอบพวกอนินทรีย์ในน้ำเสียเป็นแหล่งพลังงานสำหรับจุลินทรีย์เหล่านั้น

โดยจุลินทรีย์ที่สามารถย่อยสลายน้ำมันได้ จำเป็นจะต้องมีคุณสมบัติสำคัญ 2 ประการคือ จะต้องมีเซลล์เมมเบรน (Membrane bound) และมีระบบเอนไซม์ออกซิจีเนส (Oxygenase) ซึ่งทั้งสองส่วนนี้ เป็นกลไกเหมาะสมสำหรับการสัมผัสระหว่างจุลินทรีย์กับไฮโดรคาร์บอนที่ไม่ชอบน้ำ (Water-insoluble hydrocarbon) และได้ศึกษาพบว่า *Acinetobacter calcoaceticus* RAC-1 มีกลไกในการดูดซับและนำไปใช้โดยการจับตัวกับหยดน้ำมัน เมื่อเซลล์เข้าไปสัมผัสกับหยดน้ำมันหรือก้อนน้ำมันก็จะปล่อยแคปซูล (Capsules) ซึ่งเป็นสารพวกอิมัลชัน (Emulsan) โดยสารเหล่านี้จะเข้าไปจับกับพื้นผิวระหว่างน้ำกับไฮโดรคาร์บอน ทำให้เซลล์ของแบคทีเรียสามารถเข้าไปเกาะผิวด้านนอกของหยดน้ำมันโดย รอบ ๆ ซึ่งเป็นการป้องกันไม่ให้หยดน้ำมันหลุดออกไป (Rosenberg และคณะ, 1992)

ตารางที่ 2.4 จุลินทรีย์ที่พบมากในแหล่งน้ำที่มีการปนเปื้อนของน้ำมันและสามารถย่อยสลายปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอน (Petroleum hydrocarbon) และ/หรือ สารอนุพันธ์ของไฮโดรคาร์บอน (Derivatives)

Bacteria	Yeast	Filamentous fungi	Cyanobacteria and Algae
<i>Achrombacter spp.</i>	<i>Sporoboromyces spp.</i>	<i>Acremonium spp.</i>	<i>Agmenellum spp.</i>
<i>Achrombacter xylooxidans</i>	<i>Sporidiobolus spp.</i>	<i>Aspergillus versicolor</i>	<i>Amphoro spp.</i>
<i>Achrombacter cycloclastes</i>	<i>Torulopsis spp.</i>	<i>Allescheria spp.</i>	<i>Anabaena spp.</i>
<i>Acinetobacter spp.</i>	<i>Trichoderma spp.</i>	<i>Aureobasidium spp.</i>	<i>Aphanocapsa spp.</i>
<i>Actinomyces spp.</i>	<i>Trichosporon spp.</i>	<i>Beauveria spp.</i>	<i>Chlamydomonas spp.</i>
<i>Aeromonas spp.</i>	<i>Yarrowia spp.</i>	<i>Botrytis spp.</i>	<i>Chlorella spp.</i>
<i>Alcaligenes spp.</i>		<i>Cephalosporium acremonium</i>	<i>Coccochloris spp.</i>
<i>Alcaligenese denitrificans</i>		<i>Chrysosporium spp.</i>	<i>Dunaliella spp.</i>

Bacteria	Yeast	Filamentous fungi	Cyanobacteria and Algae
<p><i>Alcaligenese eutrophus</i></p> <p><i>Arthobacter spp.</i></p> <p><i>Bacillus naphthalenicum</i></p> <p><i>Beijerinikia spp.</i></p> <p><i>Beneckea spp.</i></p> <p><i>Brevibacterium</i></p> <p><i>Brevibacterium healtii</i></p> <p><i>Cellulomonas galba</i></p> <p><i>Corynebacterium spp.</i></p> <p><i>Cytophaga spp.</i></p> <p><i>Desulfomonile tiedjei</i></p> <p><i>Erwinia spp.</i></p> <p><i>Flavobacterium spp.</i></p> <p><i>Hyphomicrobium spp.</i></p> <p><i>Inonotus circinatus</i></p> <p><i>Methylobacter spp.*</i></p> <p><i>Methylobacterium spp.*</i></p> <p><i>Methylicoccus spp.*</i></p> <p><i>Methylocystic spp.*</i></p> <p><i>Methylomonas spp.*</i></p> <p><i>Methylosonus spp.*</i></p> <p><i>Methanosarcinna mazei</i></p> <p><i>Methanosarcina spp.</i></p> <p><i>Micrococcus aerificans</i></p>		<p><i>Cladosporium resinae</i></p> <p><i>Cochliobolus spp.</i></p> <p><i>Cunningham elegans</i></p> <p><i>Cylindrocarpon spp.</i></p> <p><i>Fusarium spp.</i></p> <p><i>Geotrichum spp.</i></p> <p><i>Gliocladium spp.</i></p> <p><i>Graphium spp.</i></p> <p><i>Helminthosporium spp.</i></p> <p><i>Humicola spp.</i></p> <p><i>Monilia spp.</i></p> <p><i>Mortierella spp.</i></p> <p><i>Paecilomyces spp.</i></p> <p><i>Penicillium zonatum</i></p> <p><i>Penicillium ocor-chlorens</i></p> <p><i>Phoma spp.</i></p> <p><i>Scolecobasidium spp.</i></p> <p><i>Sphaerosidales spp.</i></p> <p><i>Sprotrichum spp.</i></p> <p><i>Spicaria spp.</i></p> <p><i>Tolypocladium spp.</i></p> <p><i>Trichoderma spp.</i></p> <p><i>Verticillium spp.</i></p>	<p><i>Microcoleus spp.</i></p> <p><i>Nostoc spp.</i></p> <p><i>Oscillatoria spp.</i></p> <p><i>Prothotheca zophi</i></p> <p><i>Petalonia spp.</i></p> <p><i>Porphyridium spp.</i></p> <p><i>Scenedesmus spp.</i></p> <p><i>Ulva spp.</i></p>

Bacteria	Yeast	Filamentous fungi	Cyanobacteria and Algae
<p><i>Micromonospora spp.</i></p> <p><i>Mycobacterium spp.</i></p> <p><i>Mycobacterium vaccae</i></p> <p><i>M. rhodochrou</i></p> <p><i>Nitrosomonas eurupaca</i></p> <p><i>Nocardia spp.</i></p> <p><i>Nocardia coeliaca</i></p> <p><i>Nocardia coralina</i></p> <p><i>Nocardia minima</i></p> <p><i>Nocardia opaca</i></p> <p><i>Nocardia salmonicolor</i></p> <p><i>Phanerochaete laevis</i></p> <p><i>Phanerochaete sanguinea</i></p> <p><i>Phanerochaete filamentosa</i></p> <p><i>Phanerochaete chrysorhiza</i></p> <p><i>Pseudomonas spp.</i></p> <p><i>Pseudomonas aeruginosa</i></p> <p><i>Pseudomonas desmolyticum</i></p> <p><i>Pseudomonas fluorescens</i></p> <p><i>Pseudomonas ligustri</i></p> <p><i>Pseudomonas mendocina</i></p> <p><i>Pseudomonas methanica</i></p> <p><i>Pseudomonas oleovorans</i></p> <p><i>Pseudomonas orvilla</i></p>			

Bacteria	Yeast	Filamentous fungi	Cyanobacteria and Algae
<i>Pseudomonas paucimobilis</i>			
<i>Pseudomonas pseudomallei</i>			
<i>Pseudomonas putida</i>			
<i>Pseudomonas stutzeri</i>			
<i>Pseudomonas testosterini</i>			
<i>Pseudomonas vesicularis</i>			
<i>Proteus spp.</i>			
<i>Sarcina spp.</i>			
<i>Serratia marioruba</i>			
<i>Serratia marcescens</i>			
<i>Sphaerotilus spp.</i>			
<i>Streptomyces spp.</i>			
<i>Thermomicrobium spp.</i>			
<i>Trametes hirsuta</i>			
<i>Vibrio spp.</i>			
<i>Xanthobacter autotrophcus</i>			

หมายเหตุ \* ใช้มีเทนเป็นแหล่งคาร์บอนเพียงอย่างเดียว

## 2.8 ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการย่อยสลายของไฮโดรคาร์บอนของจุลินทรีย์

ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่ออัตราการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ และ กิจกรรมของเอนไซม์ (enzymatic activities) ที่มีผลกระทบต่ออัตราการย่อยสลายของไฮโดรคาร์บอน มีดังนี้

2.8.1 ประเภทและคุณสมบัติทางกายภาพของน้ำมัน (Type and physical state of oil) อัตราการย่อยสลายทางชีวภาพของน้ำมันดิบขึ้นอยู่กับโครงสร้างของไฮโดรคาร์บอนที่เป็นองค์ประกอบที่อยู่ในน้ำมันดิบจากรายงานวิจัยต่าง ๆ พบว่าอัตราการย่อยสลายของอัลเคนสายตรงจะมีค่าสูงกว่าอัตราการย่อยสลายของอัลเคนสายกิ่ง อะโรมาติกที่มีมวล โมเลกุลต่ำ และ

ไซโคลอัลเคน และจากรายงานของ Sugiura และคณะ (1997) แสดงให้เห็นว่า น้ำมันที่มาจากแหล่งกำเนิดต่าง ๆ กัน มักจะมีองค์ประกอบต่างกันด้วย จึงเป็นผลให้ความหนืดของน้ำมันแต่ละแหล่งไม่เท่ากัน ซึ่งมีผลต่อความสามารถในการถูกย่อยสลายโดยจุลินทรีย์ไม่เท่ากันด้วย นอกจากนี้พื้นที่ผิวของน้ำมันดิบมีผลต่อการย่อยสลายของน้ำมันดิบโดยจุลินทรีย์ เนื่องจากการปนเปื้อนของน้ำมันดิบในน้ำ จะเกิดการแพร่กระจายและจับตัวกันเป็นก้อน โดยลมและคลื่น Fought และคณะ (1989) กล่าวว่า เมื่อเกิดอิมัลชันของน้ำมันจะช่วยลดความหนืดและช่วยเพิ่มพื้นที่ผิวในการสัมผัสกับจุลินทรีย์ได้ดีขึ้น และสอดคล้องกับ Singer และ Finnerty (1984) กล่าวว่า การเกิดอิมัลชันโดยการสร้างสารลดแรงตึงผิวชีวภาพของจุลินทรีย์เป็นกระบวนการที่สำคัญในการนำเอาไฮโดรคาร์บอนไปใช้ของจุลินทรีย์ เช่น แบคทีเรียและรา Colwell และคณะ (1978) และ Davies และ Gibbs (1975) กล่าวว่า ก้อนน้ำมันที่มีขนาดใหญ่จะมีพื้นที่ผิวสัมผัสน้อยซึ่งเป็นผลให้เกิดการยับยั้งการย่อยสลายทางชีวภาพ

#### 2.8.2 ความเข้มข้นของน้ำมัน (Concentration of oil)

ปัญญาพล ชีโนคม (2543) กล่าวว่า อัตราการนำเข้าและการใช้ไฮโดรคาร์บอนของจุลินทรีย์ในสิ่งแวดล้อมทางน้ำจะเป็นสัดส่วนกับความเข้มข้นของน้ำมันดิบ คือในกรณีที่น้ำมันดิบมีความเข้มข้นสูงจะทำให้มีน้ำหนักรวมมากและไม่เกิดการแตกตัว ซึ่งเป็นสาเหตุให้ไปยับยั้งการย่อยสลาย เนื่องจากปริมาณออกซิเจนและสารอาหารถูกจำกัด รวมทั้งความเป็นพิษขององค์ประกอบในน้ำมันดิบ และนอกจากนี้ยังพบว่าความสามารถในการย่อยสลายยังขึ้นอยู่กับความสามารถในการละลายของน้ำมันดิบ

ที่ความเข้มข้นของปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนต่ำ ๆ จะเกิดการละลายน้ำได้หมดและจุลินทรีย์จะย่อยสลายได้ทั้งหมด แต่ที่ความเข้มข้นสูงขึ้นจุลินทรีย์จะเลือกย่อยองค์ประกอบที่สามารถย่อยได้เท่านั้น นอกจากนั้นเมื่อความเข้มข้นเพิ่มขึ้น ความเป็นพิษของน้ำมันจะเพิ่มขึ้นด้วย ทำให้จุลินทรีย์ย่อยได้ช้าลง

จุลินทรีย์จะย่อยอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอนที่มีลักษณะเป็นของเหลว (Liquid Aromatic Hydrocarbons) แต่จะไม่ย่อยสลายอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอนที่เป็นของแข็ง (Solid Aromatic Hydrocarbons) เช่นเดียวกับที่อุณหภูมิ 30°C ซึ่ง diphenylmethane เป็นของเหลว และสามารถถูกจุลินทรีย์ย่อยสลายได้ แต่ที่อุณหภูมิ 20°C diphenylmethane เป็นของแข็งและจะไม่ถูกย่อยสลาย จุลินทรีย์จะไม่ย่อย naphthalene ที่เป็นของแข็ง แต่จะย่อยเมื่อนำไปละลายในตัวทำละลาย (Atlas, Schofield, Morelli และ Camerron, 1976)

ไฮโดรคาร์บอนที่อยู่ในรูป Tar ball จะถูกย่อยสลายโดยจุลินทรีย์ได้ยาก ทั้งนี้เนื่องจากโครงสร้างทางเคมีของ Tar ball ซับซ้อนและจุลินทรีย์ไม่สามารถใช้เอนไซม์เข้าสลายพันธะและผิวหน้าของ Tar ball เองมีจุลินทรีย์อยู่น้อย เพราะ Tar ball มักถูกพัดพามาติดชายหาดซึ่งเป็นบริเวณที่น้ำท่วมไม่ถึง ทำให้จุลินทรีย์ขาดสารอาหารและแร่ธาตุที่จะช่วยในการเจริญเติบโต

### 2.8.3 ความเป็นกรด – เบส

Song และ Bartha (1990) กล่าวว่า โดยทั่วไปพบช่วงความเป็นกรด – เบส ที่เหมาะสมของ จุลินทรีย์ส่วนใหญ่อยู่ในช่วง 6.5-7.5 แต่จุลินทรีย์ไม่สามารถอยู่รอดได้เมื่อค่าความเป็นกรด-เบส มีค่าสูงกว่า 9.5 หรือมีค่าต่ำกว่า 4.0 ซึ่งสอดคล้องกับ Dibble และ Bartha (1979) และ Atlas (1975) พบว่า ช่วงความเป็นกรด-เบส ซึ่งสามารถย่อยสลายไฮโดรคาร์บอนได้อย่างเร็วมากอยู่ในช่วง 6.0 และ 8.0 เช่น การปรับค่าความเป็นกรด-เบส ในดินในช่วง 6.0 และ 8.0 จะช่วยเพิ่มอัตราการย่อยสลาย อีกทั้ง Zobbel (1969) พบว่าระบบทางชีวภาพส่วนใหญ่จะมีความไวต่อค่าความเป็นกรด-เบส ดังนั้นจึงจำเป็นต้องควบคุมค่าความเป็นกรด-เบส ให้อยู่ในช่วง 6.5-8.0 นอกจากนี้ Fan และ Tafuri (1994) ยังพบว่า อัตราการย่อยสลายทางชีวภาพทั้งหมดภายใต้สภาวะความเป็นเบสเล็กน้อยจะมีอัตราการย่อยสลายสูงกว่าในสภาวะที่มีสภาพความเป็นกรด

### 2.8.4 อุณหภูมิ (Temperature)

อุณหภูมิมีผลกระทบต่ออัตราการย่อยสลายทางชีวภาพของไฮโดรคาร์บอน ซึ่งกระบวนการดังกล่าวเกิดขึ้นได้ที่อุณหภูมิในช่วงกว้าง ๆ โดยปกติกระบวนการทางชีวภาพ (Biological process) จะเพิ่มขึ้นเมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้น และอัตราการย่อยสลายจะลดลงเมื่ออุณหภูมิลดลง หรืออาจกล่าวได้ว่า กระบวนการทางชีวภาพจะแปรผันโดยตรงกับอุณหภูมิ ซึ่งในประเด็นดังกล่าวเชื่อว่าเป็นผลมาจากอัตราการทำงานของเอนไซม์ในชั้นดิน (Leahy และ Colwell, 1990) อุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการย่อยสลายทางชีวภาพของไฮโดรคาร์บอนถูกพบว่า ที่อุณหภูมิปานกลาง (Mesophilic temperature) (Rainwater และ Scholze, 1991 ; Dibble และ Bartha, 1979) ดังนั้น Dibble และ Bartha จึงสรุปได้ว่าอัตราการย่อยสลายทางชีวภาพจะเกิดได้สูงที่สุดที่อุณหภูมิมากกว่า 20 °ซ และการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์จะดีที่สุดเมื่ออยู่ในอุณหภูมิที่เหมาะสมแต่น้ำในทะเลลึกมีอุณหภูมิประมาณ 4 °ซ หรือต่ำกว่านั้น (90 เปอร์เซ็นต์ของประเทศในเขตนานา) แม้ว่าจะมีจุลินทรีย์ที่สามารถเจริญในอุณหภูมิเข้าใกล้ 0 °ซ ได้ แต่ในสภาวะเช่นนั้น กิจกรรมการย่อยสลายไฮโดรคาร์บอนเกิดขึ้นได้ช้ามาก และ จะย่อยสลายได้ดีที่สุดที่อุณหภูมิ 25 - 30 °ซ (Horowitz และ Atlas, 1979) ซึ่งสอดคล้องกับ Margesin และ Schinner (1997) ได้สรุปว่า อุณหภูมิที่เหมาะสมจะอยู่ระหว่าง 20-40 °ซ

อีกทั้งยังสอดคล้องกับ morgan และ watkinson ( 1989 ) พบว่า อุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการย่อยสลายทางชีวภาพของปิโตรเลียม โดยทั่วไปอยู่ในช่วง 30- 40 ° ซ และ นอกจากนี้ hoff ( 1993 ) พบว่า อัตราการย่อยสลายปิโตรเลียมที่เหมาะสมโดยจุลินทรีย์ ในสภาวะที่ใช้ออกซิเจนอยู่ในช่วง 15-30 ° ซ ซึ่งสอดคล้องกับ sono และ futaka ( 1966 ) พบว่า จำนวนหรือปริมาณของของเสียปิโตรเลียมซึ่งมีมากเกินไป จะทำให้เป็นพิษต่อระบบทางชีวภาพ อุณหภูมิที่สูงอาจทำอันตรายต่อแบคทีเรียและสิ่งมีชีวิตในน้ำ แต่ในขณะที่อุณหภูมิต่ำจะลดกิจกรรมกลไกการย่อยสลายไป และผลการทดลองของ Zobbel (1969) แสดงให้เห็นว่าจุลินทรีย์ที่ใช้ออกซิเจนจะทำ

ให้เกิดการย่อยสลายได้อย่างรวดเร็ว เมื่อโมเลกุลของไฮโดรคาร์บอนผสมกันอย่างสมบูรณ์กับน้ำที่ช่วงอุณหภูมิ 15 – 35 °ซ นอกจากนี้ Bossert และ Bartha ( 1984 ) Rosenberg และคณะ ( 1992 ) ; Margesin และ Schinner ( 1997 ) รายงานว่าช่วงของอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการย่อยสลายน้ำมันดิบของจุลินทรีย์มีค่าอยู่ในช่วง 20 – 40 °ซ แต่ทั้งนี้ทั้งนั้นขึ้นอยู่กับลักษณะสมบัติของน้ำมัน และจากการทดลองของ Mulkins และ Steward ( 1974) พบว่าน้ำมันเครื่อง ( Motor oil ) มีการย่อยสลายได้ 20 – 30 เปอร์เซ็นต์ , 30 – 50 เปอร์เซ็นต์ และ 50 -80 เปอร์เซ็นต์ ภายในหนึ่งสัปดาห์ ที่อุณหภูมิ 10 °ซ, 20°ซ, 30 °ซ ตามลำดับ ส่วนที่อุณหภูมิ 4 °ซ มีการย่อยสลายน้อยมากจนวัดไม่ได้

#### 2.8.5 สารอาหาร ( Nutrient )

คราบน้ำมันที่ลอยอยู่ในน้ำสามารถเป็นแหล่งอาหารของจุลินทรีย์ แต่เป็นแหล่งที่จำกัด เนื่องจากจุลินทรีย์ต้องการ ไนโตรเจนและฟอสฟอรัสในการเจริญเติบโตด้วย ซึ่ง Atlas และ Bartha (1972) พบว่าไนโตรเจนที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัม/ ลิตร และฟอสฟอรัสที่ความเข้มข้น 0.07 มิลลิกรัม /ลิตร มีความเหมาะสมที่สุดสำหรับจุลินทรีย์ที่ย่อยสลายน้ำมันดิบ Sweden ที่มีความเข้มข้น 8 กรัม / ลิตร ในปีเดียวกัน Reisfeld และคณะ (1972) รายงานค่าความเข้มข้นที่เหมาะสมที่สุดของไนโตรเจนและฟอสฟอรัส คือ 11 และ 2 มิลลิกรัม / ลิตร สำหรับย่อยสลายน้ำมันดิบ Iranian I กรัม / ลิตร ในน้ำทะเล Mediteranean

สารอาหารที่ความเข้มข้นพอเหมาะจะช่วยให้จุลินทรีย์เจริญเติบโตได้ดีขึ้น และเป็นส่วนประกอบที่สำคัญของกรดอะมิโน แต่ถ้าความเข้มข้นสูงเกินไปก็จะทำให้การย่อยสลายเกิดได้ช้าลง ซึ่งสามารถจะวัดการย่อยสลาย ได้ทั้งจากปริมาณในการใช้ออกซิเจน (Oxygen Uptake) ปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ที่เกิดขึ้น ( CO<sub>2</sub> Production ) การเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ หรือ การเปลี่ยนแปลงของค่าความเป็นกรด – เบส

#### 2.8.6 ออกซิเจน ( Oxygen )

ออกซิเจนเป็นส่วนประกอบที่สำคัญปัจจัยหนึ่ง ในการวัดอัตราการย่อยสลายทางชีวภาพของสารมลพิษซึ่งในการย่อยสลายไฮโดรคาร์บอน เพื่อให้ได้คาร์บอนไดออกไซด์และน้ำ จุลินทรีย์ต้องใช้ออกซิเจนอิสระหรือออกซิเจนละลายน้ำ ( Free or Dissolved Oxygen) 3 - 4 มิลลิกรัม / มิลลิกรัม ของไฮโดรคาร์บอนซึ่ง Bossert ( 1995 ) กล่าวว่า ในสภาวะที่มีออกซิเจน ( Aerobic condition ) จะมีอัตราการย่อยสลายที่สูงขึ้น โดยออกซิเจนจะเป็นตัวรับอิเล็กตรอนในกระบวนการเมตาบอลิซึมของจุลินทรีย์ แต่มีแบคทีเรียไม่มากนักที่สามารถใช้ซัลเฟตเป็นแหล่งพลังงาน และพบค่าแบคทีเรียเหล่านี้มีอัตราการสลายไฮโดรคาร์บอนต่ำ ตรงข้ามกับแบคทีเรียที่ใช้ไนโตรเจนเป็นพลังงานแบคทีเรียเหล่านี้จะมีอัตราการย่อยสลายไฮโดรคาร์บอนสูงขึ้นเมื่อเติมออกซิเจน

การย่อยสลายปิโตรเลียม ไฮโดรคาร์บอนสามารถเกิดขึ้นได้ในภาวะขาดออกซิเจนหรือโดยจุลินทรีย์ ที่ไม่ต้องการออกซิเจนแต่ประสิทธิภาพจะไม่ดี การเติมสารอาหารอย่างเคียวไม่ได้เติมออกซิเจนไม่ทำให้การย่อยสลายเพิ่มขึ้นแต่เมื่อเติมทั้งสารอาหารและออกซิเจน คาดว่าสามารถกำจัดน้ำมันเบนซินได้ถึง 1,000 บาร์เรล ( Jamison , Taymand และ Hudson , 1975 ) แต่บางครั้งการเติมออกซิเจนก็ทำได้ยากถ้าเป็นพื้นที่เปิด ซึ่งมีกระแสน้ำไหลและลมพัดตลอดเวลา เนื่องจากจะทำให้ออกซิเจนกระจายออกไปหมด

นอกจากนี้ Liky และคณะ (1994) ได้กล่าวว่า การเติมอากาศ ( Air was supplied ) หรือการเติมออกซิเจน มีความสำคัญ 2 ประการคือ

(ก) เพื่อช่วยเพิ่มกิจกรรมของจุลินทรีย์  
 (ข) การให้อากาศช่วยสร้างกระแสปั่นป่วน (Turbulence) จำเป็นต่อการผสมอย่างสมบูรณ์ของสารอาหารซึ่งสอดคล้องกับ Jobson และคณะ(1972) และ Wilson และ Bradley (1996) ได้รายงานว่าการให้อากาศ ( Aeration ) และคุณภาพของน้ำมัน มีผลต่อการเกิดอิมัลชัน ของน้ำมันและการย่อยสลายอัลเคน และ Floodgate ( 1984 ) ; Robson และคณะ ( 1972 ) พบว่าการเพิ่มอัตราการให้อากาศจะช่วยกระตุ้นอัตราการเจริญเติบโตและประสิทธิภาพในการย่อยสลายน้ำมันให้สูงขึ้นอีกทั้ง Davies และ Hughes ( 1968 ) พบว่าทั้งการเกิดการปั่นป่วนและการเติมอากาศให้แก่ระบบจะช่วยเพิ่มการย่อยสลายน้ำมัน เพราะการเกิดการปั่นป่วนจะช่วยเพิ่มพื้นที่ผิวของหยดน้ำมันและเกิดการละลายของออกซิเจน เพราะ โมเลกุลของออกซิเจนมีส่วนสำคัญ และจำเป็นสำหรับกระบวนการแรก ในการย่อยสลายไฮโดรคาร์บอน โดยเอ็นไซม์ออกซิจีเนส ( Oxygenase enzymes )

#### 2.8.7 ความเค็มและความดัน ( Salinity and pressure )

นอกจากปัจจัยดังกล่าวมาแล้ว ความเค็มของน้ำหรือความลึก ( ความดัน , hydrostatic ) มีผลต่อการย่อยสลายน้ำมันด้วย ในน้ำเค็มอย่างที่เป็น Hypersaline มีความเค็มตั้งแต่ 3.3 – 28.4 เปรอร์เซ็นต์ เมื่อเติมไฮโดรคาร์บอนลงไป จะพบว่าอัตราการเมตาบอลิซึม จะลดลงเมื่อเห็นความเค็มเพิ่มขึ้น(ward และ brock, 1978 ) จุลินทรีย์ในน้ำทะเลส่วนใหญ่จะเจริญเติบโตได้ดีที่สุดเมื่อมีความเค็มระหว่าง 2.5-3.5 เปรอร์เซ็นต์ และเจริญได้น้อย หรือแทบจะไม่เจริญเลยในที่มีความเค็มต่ำกว่า 1.5 -2.0 เปรอร์เซ็นต์

การเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่ความดันบรรยากาศ และความดันใต้ทะเล จะพบการย่อยสลายแตกต่างกัน คือ ที่ความดัน 1 บาร์ เฮกซะเฮคเคน จะถูกย่อยสลายไป 94 เปรอร์เซ็นต์ ภายใน 8 สัปดาห์ แต่ที่ความดัน 500 บาร์ ต้องใช้เวลาถึง 10 สัปดาห์ในการย่อยสลาย และสรุปได้ว่าไฮโดรคาร์บอนที่อยู่ในทะเลลึกจะอยู่นานและย่อยสลายได้อย่างช้า

2.8.8 สารลดแรงตึงผิวจากธรรมชาติ ( biological surfactants ) หรือสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ(Biosurfactants)หรือ สารอิมัลซิไฟเออร์จากชีวภาพ (Bioemulsifiers)เป็นสารประกอบ

ประเภทชอบน้ำ (Hydrophilic) และไม่ชอบน้ำ (Hydrophobic) ดังรูปที่ 2.10 ซึ่งเป็น โมเลกุลแอมฟิฟิลิก (Amphiphilic) ทำให้เกิดการรวมตัวกันระหว่างพื้นผิวของสารสองชนิดที่มีขั้วต่างกันเช่น น้ำกับน้ำมัน หรืออากาศกับน้ำเป็นต้น กลไกการทำงานของสารลดแรงตึงผิวจากธรรมชาติ ยังไม่เป็นที่ทราบแน่นอน แต่สารประเภทนี้ช่วยในการลำเลียงสารอาหารในจุลินทรีย์ให้ ดีจีน (Jennings และ Tanner, 2001) ซึ่งสอดคล้องกับ Crathorne และ Dobbs (1990) กล่าวว่าสารลดแรงตึงผิวทั้งกายภาพและชีวภาพ ซึ่งรู้จักกันในฐานะที่เป็นสารสำหรับช่วยเพิ่มอัตราการย่อยสลายทางชีวภาพของไฮโดรคาร์บอนที่เกิดจากการปนเปื้อนของน้ำมัน โดยการลดแรงตึงผิวและทำให้อนุภาคของน้ำมันมีขนาดเล็กลง ซึ่งเป็นการช่วยเพิ่มอัตราการละลาย สารเหล่านี้ถูกสร้างโดยจุลินทรีย์หลายชนิดที่สามารถย่อยสลายสารประกอบไฮโดรคาร์บอนได้ เช่น *Bacillus sp.*, *Pseudomonas sp.*, เป็นต้น (Lepo และ Cripe, 1999) จากการศึกษาของ Cassidy (2001) ได้รายงานว่า ความเข้มข้นของไบโอเซอร์แฟกแทนต์ พบว่าจะเพิ่มขึ้นตามอัตราความเข้มข้นของสารตั้งต้น และนอกจากนี้ Rosenberg และ Rosenberg (1981); Rosenberg และ Rosenberg (1985) ยังพบว่า *Acinetobacter calcoaceticus* RAG - 1 สามารถเจริญและผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพเมื่อเลี้ยงในภาวะที่มีเฮกซะเดเคน และน้ำมันดิบเป็นแหล่งคาร์บอนทำให้เกิดอิมัลชันและการจับตัวกันระหว่างเชื้อกับน้ำมันมากขึ้น และ Mattei และ Bertrand (1985); Mattei และคณะ (1986); Foght และคณะ (1989); Bruheim และคณะ (1999) ทำการศึกษาพบว่า กลุ่มประชากรจุลินทรีย์สามารถผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพได้เมื่อทำการเลี้ยงเชื้อในน้ำมันดิบและมีประสิทธิภาพในการย่อยสลายองค์ประกอบบางชนิดของน้ำมัน ได้มากกว่าเชื้อเพียงชนิดเดียว



รูปที่ 2.10 โครงสร้างของสารลดแรงตึงผิว  
ที่มา : Ampai (1999)

## 2.9 หลักเกณฑ์ที่บ่งชี้ถึงการย่อยสลายไฮโดรคาร์บอนของจุลินทรีย์

เกณฑ์ที่ใช้ในการบ่งชี้การย่อยสลายของจุลินทรีย์หรือไฮโดรคาร์บอนที่ถูกย่อยสลายมีความแตกต่างกันไป เกณฑ์ส่วนใหญ่ไม่สามารถบอกปริมาณ ขั้นตอน หรือองค์ประกอบที่ถูกย่อยสลายได้ เกณฑ์บางอย่างถ้าอุณหภูมิหรือปัจจัยสำคัญทางสิ่งแวดล้อมอื่น ๆ คงที่เท่ากัน วัดปริมาณการใช้ออกซิเจน การเจริญเติบโต หรือปริมาณเกลือแร่ แต่ไม่สามารถวัดปริมาณไฮโดรคาร์บอนที่จุลินทรีย์ใช้ ผลที่ได้จากแต่ละวิธีจะแตกต่างกันในเชิงปริมาณอย่างมาก

การหายไปของน้ำมัน คือ การหายไปของน้ำมันที่ผิวหน้าอันเนื่องมาจากการเกิดอิมัลชันหรือการย่อยสลายสามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า แต่ไม่สามารถวัดออกมาเป็นปริมาณที่แน่นอนจากการดูด้วยตาได้ การวัดมักจะดูจากน้ำหนักของน้ำมันที่หายไปเปรียบเทียบกับตัวควบคุม เครื่องมือที่ใช้วัดคือเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟซึ่งสามารถใช้วัดปริมาณของไฮโดรคาร์บอนแต่ละชนิดที่หายไป ในการทดลองแต่ละครั้งควรมีชุดควบคุมเพื่อใช้ศึกษาการระเหยการเกิดออกไซด์ออกซิเดชัน ( Autoxidation ) และการดูดซับ ( Adsorption ) โดยจุลินทรีย์หรือของแข็งอื่น ๆ ที่อยู่ในสิ่งแวดล้อม

อุณหภูมิ แสงแดด และการเร่งการเกิดปฏิกิริยาของสารอินทรีย์ ล้วนมีอิทธิพลต่อการเกิดออกไซด์ออกซิเดชัน น้ำมันที่เกิดอิมัลชันหรือฟิล์มน้ำมันที่ลอยอยู่เป็นแผ่นบางๆ บนผิวน้ำสามารถเกิดออกไซด์ออกซิเดชันได้เร็วกว่าน้ำมันที่เกาะกันเป็นก้อนใหญ่ ที่จริงแล้วองค์ประกอบของน้ำมันเองเป็นอุปสรรคต่อการเกิดออกไซด์ออกซิเดชัน ( Schwarz , waler และ Colwell , 1975 ) ซึ่งจะให้ผลผลิตเป็นไฮโดรเปอร์ออกไซด์ ( Hydroperoxide ) กรดอินทรีย์ แอลกอฮอล์ เอสเตอร์ คีโตน และอื่นๆ ในแหล่งน้ำแบบปิด ออกไซด์ออกซิเดชันของน้ำมันดิบสามารถเกิดได้เร็วประมาณ 10 – 50 เปอร์เซ็นต์ใกล้เคียงกับอัตราการเกิดไบโอเคมีคัลออกซิเดชัน ( Biochemical Oxidation Rate ) ( Frank , 1950 ) อัตราการเกิดออกไซด์ออกซิเดชันคล้ายๆ กับการระเหย คือปริมาณจะลดลงเมื่อเวลาผ่านไป ขบวนการทั้งสองชนิดจะเริ่มขึ้นทันทีเมื่อน้ำมันดิบ หรือน้ำมันกลั่นสัมผัสกับอากาศ และจะเกิดขึ้นอย่างต่อเนื่องไม่มีที่สิ้นสุด ( ยูเรสน์ เอ็มแฮม , 2537 )

การใช้ออกซิเจน ( Oxygen uptake ) ถ้าแหล่งน้ำไม่มีการละลายของออกซิเจนที่อิ่มตัวอย่างยิ่งยวด ( Supersaturated ) ละลายในน้ำ น้ำมันจะไม่มีออกซิเจนเพียงพอที่จะใช้ย่อยจุลินทรีย์จะย่อยสลายไฮโดรคาร์บอนได้เล็กน้อยอัตราการใช้ออกซิเจนจะเป็นตัวชี้ถึงความเร็วในการออกซิไดซ์น้ำมัน ไม่สามารถบอกหรือบอกได้เพียงเล็กน้อยเกี่ยวกับการออกซิไดซ์ที่เกิดขึ้น ตัวอย่างเช่น ไม่สามารถบอกได้ว่าออกซิเจน 14 โมเลกุล ( 28 อะตอม ) จะเปลี่ยนไฮโดรคาร์บอน 28 โมเลกุลให้เป็นสารประกอบโมโนไฮดรอกซี หรือออกซิเจนจำนวนเดียวกันนี้จะออกซิไดซ์ในน้ำ 1 โมเลกุล แล้วเปลี่ยนให้เป็นคาร์บอนไดออกไซด์และน้ำ

การเกิดอิมัลชัน คือ การเกิดอิมัลชันของน้ำมันในตัวกลางที่เป็นของเหลวและการลดลงของแรงดึงดูดของพื้นผิว เป็นสัญญาณแรกและสำคัญที่สุดที่บ่งถึงกิจกรรมของจุลินทรีย์ แต่มีจุลินทรีย์บางชนิดที่ไม่ทำให้เกิดอิมัลชัน และน้ำมันบางชนิด ไม่มีการเกิดอิมัลชัน นอกจากนั้นเวลาในการเกิดอิมัลชันก็เป็นตัวบ่งชี้ถึงอัตราการเกิดปฏิกิริยาได้ด้วย

การวัดปริมาณผลผลิตที่เกิดจากการออกซิเดชันของผลิตภัณฑ์ โดยวัดจากปริมาณคาร์บอกซิล อัลดีไฮด์ สารประกอบไฮดรอกซี เอสเตอร์ คาร์บอนไดออกไซด์ และผลิตภัณฑ์ที่เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันอื่นๆ แต่การวัดปริมาณผลิตภัณฑ์เหล่านี้ก็ไม่สามารถบอกได้ว่าน้ำมันหรือไฮโดรคาร์บอนถูกออกซิไดซ์ไปเท่าไรเนื่องจากการเกิดปฏิกิริยาเช่นนี้ จุลินทรีย์จะทำให้ค่าความเป็นกรด-ด่าง ลดลง ซึ่งสามารถบอกได้แต่เพียงว่ามีปฏิกิริยาออกซิเดชันเกิดขึ้นเท่านั้น

## 2.10 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

อรรณวดี อิมพลูทรัพย์ (2537) ศึกษาความสามารถในการย่อยสลายน้ำมันดิบของเชื้อจุลินทรีย์ซึ่งแยกได้จากสิ่งแวดล้อมจำนวน 127 ชนิด โดยคัดเลือกในอาหาร Bushnell and Hass (BH) ที่มีน้ำมันดิบ Tapis ร้อยละ 1 และตรวจวิเคราะห์หาปริมาณไฮโดรคาร์บอนที่เหลืออยู่โดยใช้ Capillary Gas Chromatography และการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ด้วยวิธี Plate Count พบว่า *Acinetobacter baumannii* และ *Pseudomonas aeruginosa* มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายน้ำมันดิบได้ดีตามลำดับ และในการศึกษาประสิทธิภาพในการย่อยสลายน้ำมันดิบของจุลินทรีย์กลุ่มต่าง ๆ คือ (1) *Acinetobacter baumannii* และ *Pseudomonas aeruginosa* ที่ใช้เลี้ยงร่วมกัน (2) กลุ่มจุลินทรีย์ในบ่อบำบัดน้ำของโรงกลั่นน้ำมันบางจาก (3) ยีสต์ MU15Y ซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่แยกได้ในประเทศไทย และมีรายงานว่า มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายน้ำมันดิบได้ดี ผลจากการทดลองพบว่า การย่อยสลายน้ำมันดิบของกลุ่มจุลินทรีย์ทั้ง 3 กลุ่มไม่แตกต่างกันที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 95

มณี ผลิตผลการพิมพ์ (2538) ศึกษาการย่อยสลายน้ำมันดิบโดยจุลินทรีย์จากดินที่ปนเปื้อนน้ำมันในกรุงเทพมหานคร โดยทำการใส่ดินลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ Mineral Salt Medium (MSM) ที่มี 0.5 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตรต่อปริมาตร Tapis Crude Oil เป็นสารอาหารที่ให้คาร์บอนเพียงอย่างเดียว จากการทดลอง พบเชื้อจุลินทรีย์ที่สามารถย่อยสลายน้ำมันได้ 5 ชนิด โดย 3 ชนิดเป็นแบคทีเรีย คือ MU8B , MU11B , MU14B และอีก 2 ชนิดเป็นยีสต์ คือ MU7Y และ MU15Y ซึ่งเชื้อแต่ละชนิดมีความสามารถในการย่อยสลายน้ำมันได้แตกต่างกัน เชื้อที่ย่อยสลายน้ำมันได้ดีที่สุดคือยีสต์ MU15Y ซึ่งสามารถย่อยสลายน้ำมันได้ดีที่ pH 4.0 - 8.0 แต่ย่อยสลายน้ำมันได้น้อยลงที่ pH 3.0 และ MU15Y สามารถย่อยสลายน้ำมันดิบได้ดีในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มี NaCl สูงถึง 3 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งเป็นความเข้มข้นที่พบได้ในน้ำทะเลทั่วไป แต่ MU15Y ไม่สามารถย่อยสลายน้ำมัน

ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีปริมาณไนโตรเจนต่ำ (มีแอมโมเนียมไนเตรทน้อยกว่า 0.25 กรัมต่อลิตร) หรือ มีฟอสฟอรัสต่ำ (มีไดโปแตสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟตน้อยกว่า 1 กรัมต่อลิตร) อีกทั้งยังพบว่า แอมโมเนียมไนเตรทปริมาณสูง (32 กรัมต่อลิตร) จะลดการย่อยสลายน้ำมันของ MU15Y แต่ ไดโปแตสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟตปริมาณสูง (32 กรัมต่อลิตร) กลับไม่มีผลในการลดการย่อยสลายน้ำมันของ MU15Y และเมื่อวิเคราะห์หาสปีชีส์ของ MU15Y โดยวิธีทางชีวเคมีพบว่า เป็น *Candida parapsolosis* ซึ่งไม่ก่อโรคในคน

Nitas (1998) ศึกษาคุณสมบัติการกำจัดกราบน้ำมันดิบของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่แยกได้ใน ประเทศไทย โดยการตรวจหาเชื้อสายพันธุ์พื้นเมืองที่มีความสามารถในการกำจัดกราบน้ำมันดิบ พบเชื้อหลายสายพันธุ์ที่มีคุณสมบัติในการกำจัดกราบน้ำมันดิบ แต่สายพันธุ์ที่มีประสิทธิภาพสูงสุด จัดอยู่ในกลุ่ม *Pseudomonas* โดยกำหนดสายพันธุ์เป็น JM-5 ซึ่งพบว่าเชื่อดังกล่าวสามารถเจริญ และกำจัดกราบน้ำมันดิบได้ดีในสภาวะแวดล้อมที่แตกต่างกัน ทั้งในน้ำจืด และในน้ำเค็ม ในช่วง pH ตั้งแต่ 6.0-8.0 และในอุณหภูมิตั้งแต่ช่วง 25 -37 °C ซึ่งเป็นภูมิอากาศพื้นเมือง แต่ไม่เจริญในที่ อุณหภูมิต่ำ ประมาณ 4 °C ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญและความสามารถในการกำจัดกราบน้ำมัน ได้แก่ ความเร็วในการเขย่า และปริมาณของไนโตรเจน – ฟอสเฟต ซึ่งจะไม่พบการเจริญของเชื้อ เมื่อทำการเพาะเลี้ยงในสภาวะที่ไม่มีการเขย่า หรือในอาหารที่ไม่มีไนโตรเจนและฟอสฟอรัส ส่วน แร่ธาตุที่เป็นองค์ประกอบสำคัญของน้ำทะเล และมีผลต่อการเจริญของเชื้อ คือ แมกนีเซียม ส่วนแร่ ธาตุที่สำคัญอีก 2 ชนิด คือ โซเดียมและโปแตสเซียม ไม่มีผลต่อการเจริญของเชื่อดังกล่าว ส่วน ความสามารถในการกำจัดกราบน้ำมันดิบของเชื้อ JM-5 เป็นผลมาจากการสร้างสารลดแรงตึงผิว ชีวภาพ ซึ่งจัดจำแนกอยู่ในกลุ่ม ไกลโคไลปิด โดยจะมีความสามารถในการกำจัดองค์ประกอบ แต่ละส่วนของน้ำมันดิบได้แตกต่างกัน โดยกำจัดได้ดีในส่วนไฮโดรคาร์บอนชนิดอิ่มตัว ตามด้วย ชนิดไม่อิ่มตัว และพวกที่เป็นอะโรมาติกตามลำดับ

ปัญญา ชีโนดม (2543) ทำการศึกษาจุลินทรีย์ที่สามารถย่อยสลายไฮโดรคาร์บอนบาง ชนิดที่มีอยู่ในน้ำมันดิบซึ่งคัดแยกได้จากตัวอย่างดินที่ปนเปื้อนน้ำมัน และกากตะกอนจากบ่อบำบัด น้ำเสีย พบว่าเชื้อจุลินทรีย์ที่ย่อยสลายน้ำมันดิบได้ดีของสายพันธุ์คัดแยกได้จากดินที่ปนเปื้อน คือ *Bacillus sp.* B 1-3 และ *Pseudomonas sp.* C 1-2 ส่วนอีกหนึ่งสายพันธุ์คัดแยกได้จากกากตะกอน ของโรงบำบัดน้ำเสียของโรงกลั่นน้ำมันบางจาก คือ *Yarrowia sp.* D 2-1 โดยพบว่าทั้ง 3 สายพันธุ์ ดังกล่าวมีความสามารถย่อยส่วนประกอบของน้ำมันดิบได้ต่างกันดังนี้ คือ *Bacillus sp.* B 1-3 สามารถย่อยสลายพริสเทนได้ดีที่สุดคิดเป็น 66 เปอร์เซ็นต์ภายในระยะเวลา 7 วัน *Pseudomonas sp.* C 1-2 สามารถย่อยสลาย n-Tetradecane ได้ดีที่สุดคิดเป็น 89 เปอร์เซ็นต์ ภายในระยะเวลา 7 วัน ส่วน *Yarrowia sp.* D 2-1 สามารถย่อยสลายฟิแนนทรินได้ดีที่สุดคิดเป็น 90 เปอร์เซ็นต์ ภายใน ระยะเวลา 7 วัน นอกจากนี้ยังได้ทำการศึกษาต่อไปว่า เมื่อน้ำทั้ง 3 สายพันธุ์มาเลี้ยงรวมกันใน อัตราส่วน 1:1:1 ตามความขุ่นที่ 600 นาโนเมตร พบว่ามีประสิทธิภาพในการย่อยสลายน้ำมันดิบได้

85 เปอร์เซ็นต์ ภายในระยะเวลา 7 วัน ซึ่งดีกว่าเชื้อแต่ละตัว และสารที่เหลือส่วนใหญ่ คือ ฟอสเฟต และเมื่อมีการปรับสภาวะให้เหมาะสม คือ ที่ความเป็นกรด-ด่างเริ่มต้น 8.0 อุณหภูมิ 20 °ซ และใช้ความเร็วในการเขย่า 250 รอบต่อนาที พบว่าเชื้อสามารถย่อยสลายน้ำมันดิบได้ 90 เปอร์เซ็นต์ ภายในระยะเวลา 7 วัน

Sirawaris (2000) ศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการย่อยสลายน้ำมันดิบ โดยสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตจากแบคทีเรียสายพันธุ์ *Pseudomonas J-75* และศึกษาคุณสมบัติของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตได้ โดยการแยกการทำให้บริสุทธิ์ ซึ่ง *Pseudomonas J-75* เป็นแบคทีเรียที่แยกได้จากบริเวณที่มีการปนเปื้อนน้ำมันในประเทศไทย พบว่าแบคทีเรียชนิดนี้สามารถเจริญ และย่อยสลายน้ำมันดิบได้ดีในสภาวะแวดล้อมต่างๆ เช่นที่อุณหภูมิตั้งแต่ 25- 37 °ซ อัตราเติมอากาศ 0.25 -1.0 v.v.m และใช้น้ำทะเลเป็นแหล่งแร่ธาตุ ซึ่งพบว่าสภาวะที่เหมาะสมในการย่อยสลายน้ำมันดิบ ( 1 เปอร์เซ็นต์ ในอาหารเหลว 8 ลิตร ในถังหมักขนาด 10 ลิตร ) ได้ดีที่สุดคือ 100 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 °ซ และการเติมอากาศ 1v.v.m และที่สภาวะนี้แรงตึงผิวจะมีค่าต่ำสุดและพบว่าปริมาณสารลดแรงตึงผิวชีวภาพนี้จัดอยู่ในกลุ่มของกลัยโคลิปิด พบว่า มีน้ำตาลแรมโนสเป็นส่วนประกอบและสารลดแรงตึงผิวชีวภาพนี้สามารถคงตัวได้ดีในช่วง ความเป็นกรด – ด่างกว้าง ตั้งแต่ pH 6.0 – 12.0 โดยมีประสิทธิภาพสูงสุดที่ pH 8.0 และมีความคงตัวที่อุณหภูมิตั้งแต่ 55 – 80 °ซ ได้ 3 ชั่วโมง

ภัทรา ศรีสุทธีวรกุล (2545) ได้ทดลองใช้กลุ่มจุลินทรีย์ย่อยสลายน้ำมันดิบทาบิส (Tapis Crude Oil) โดยใช้ *Bacillus sp. B 3-1* , *Pseudomonas sp. C1-2* , *Yarrowia sp. D2-1* เป็นกลุ่มจุลินทรีย์ที่สามารถย่อยสลายน้ำมันดิบได้ (Tarpis crude oil) ส่วน *Acinetobacter calcoaceticus* TISTR 360 เป็นแบคทีเรียที่สามารถสร้างสารลดแรงตึงผิวทางชีวภาพได้ (ปัญญาพล ชีโนดม, 2543) ในถังหมักระดับ 3 ลิตร ทำการศึกษาหาสภาวะเหมาะสมในการย่อยสลายน้ำมันดิบในถังหมัก พบว่าสภาวะที่เหมาะสมในการย่อยสลายน้ำมันดิบได้ดีที่สุด คือที่สภาวะอัตราส่วนระหว่างแบคทีเรียที่ผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ กับ กลุ่มจุลินทรีย์ที่ย่อยสลายน้ำมันดิบได้ เท่ากับ 2:1 ความเป็นกรดด่างเริ่มต้น 8.0 อุณหภูมิ 28 °ซ และอัตราการให้อากาศเท่ากับ 1.0 v.v.m (ปริมาตรต่อปริมาตรต่อเวลา) โดยที่การเติมสารอาหารอย่างต่อเนื่องทำให้การย่อยสลายน้ำมันดิบดีกว่าเมื่อไม่มีการเติมสารอาหาร

### บทที่ 3

#### วิธีดำเนินการวิจัย

##### 3.1 เครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย

- (1) เครื่องวัดการดูดกลืนแสง (Spectrophotometer) รุ่น SP-300 ของบริษัท Optima, Japan.
- (2) เครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิ (Incubator Shaker) ของบริษัท Memmert, Germany.
- (3) กระดาษกรอง (Millipore membrane) รุ่น GF/A pore size 0.45 ไมครอน ของบริษัท Whatman International Ltd., England.
- (4) กระดาษกรอง Whatman NO.40 ของบริษัท Whatman International Ltd., England.
- (5) เครื่องวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH meter) รุ่น BA-350 ของบริษัท EDT direct ION Ltd.
- (6) เครื่องถ่ายเชื้อแบบ Laminar flow ของบริษัท Asian Chemical & Engineering, Thailand.
- (7) หม้อนึ่งฆ่าเชื้อความดันไอน้ำ (Autoclave) รุ่น SS-325 ของบริษัท Tomy.
- (8) เครื่องชั่ง รุ่น BP-211D ของบริษัท Sartorius, U.S.A.
- (9) ตู้เย็น ของบริษัท Sanyo Electric.Co.,Ltd., Japan.
- (10) เครื่องผสมสาร (Vortex mixer) รุ่น ME-20 ของบริษัท Aris, Germany.
- (11) กล้องจุลทรรศน์
- (12) เครื่องก๊าซโครมาโทกราฟี (Gas Chromatography) รุ่น Varian CP-3800 ของบริษัท Varian, U.S.A.
- (13) คอลัมน์ชนิด Capillary column model CP 850 (เส้นผ่าศูนย์กลางภายในของคอลัมน์เท่ากับ 0.25 มิลลิเมตร ความยาว 30 เมตร ความหนาของ film thickness เท่ากับ 0.25 ไมครอนเมตร)
- (14) เครื่องสูบน้ำแบบรีดสาย (Peristaltic pump) รุ่น SJ-1211H ของบริษัท Atto
- (15) เครื่องระเหยแห้งแบบสุญญากาศ (Vacuum rotary evaporator) ของบริษัท Eyela, Japan.
- (16) ขวดแก้ว (Vial) ที่มีฝาเกลียวปิดสนิท
- (17) ออโตปิเปต (Autopipette) ขนาด 20-2,000 ไมโครลิตร ของบริษัท Appendorf, Canada.
- (18) ออโตปิเปต (Autopipette) ขนาด 50-5,000 ไมโครลิตร ของบริษัท Appendorf, Canada.
- (19) Parafilm M

##### 3.2 เคมีภัณฑ์ที่ใช้ในงานวิจัย

- (1) แอมโมเนียมไนเตรท (Ammonium nitrate,  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ ) ของบริษัท E.Merck, Germany.
- (2) แคลเซียมคลอไรด์ (Calcium chloride,  $\text{CaCl}_2$ ) ของบริษัท E.Merck, Germany.

- (3) คลอโรฟอร์ม (Chloroform,  $\text{CHCl}_3$ ) ของบริษัท E.Merck, Germany.
- (4) ไดโพแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (Dipotassium hydrogen phosphate,  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ ) ของบริษัท E.Merck, Germany.
- (5) เอทานอล (Ethanol) ของบริษัท E.Merck, Germany.
- (6) ก๊าซ Air Zero ของบริษัท Praxair, Thailand.
- (7) ก๊าซไฮโดรเจน (Hydrogen,  $\text{H}_2$ ) 99.99% ของบริษัท Praxair, Thailand.
- (8) ก๊าซไนโตรเจน (Nitrogen,  $\text{N}_2$ ) 99.99% ของบริษัท Praxair, Thailand.
- (9) กรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น (Hydrochloric acid,  $\text{HCl}$ ) ของบริษัท E.Merck, Germany.
- (10) เฟอริกคลอไรด์ (Feric (III) chloride,  $\text{FeCl}_3$ ) ของบริษัท Fluka chemical, Switzerland.
- (11) แมกนีเซียมซัลเฟต (Magnesium sulfate,  $\text{MgSO}_4$ ) ของบริษัท E.Merck, Germany.
- (12) เมทานอล (Methanol) ของบริษัท E.Merck, Germany.
- (13) อาหารแข็งนิวเตรียนท์ (Nutrient broth) ของบริษัท Himedia, India.
- (14) อาหารเหลวนิวเตรียนท์ (Nutrient broth) ของบริษัท Difco Laboratories, U.S.A.
- (15) โพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (Potassium dihydrogen phosphate,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ) ของบริษัท E.Merck, Germany.
- (16) โซเดียมคลอไรด์ (Sodium chloride,  $\text{NaCl}$ ) ของบริษัท E.Merck, Germany.
- (17) โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide,  $\text{NaOH}$ ) ของบริษัท E.Merck, Germany.
- (18) โซเดียมซัลเฟต (Sodium sulfate anhydrous,  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ) ของบริษัท E.Merck, Germany.
- (19) น้ำมันดิบ (Tapis Crude Oil) จากบริษัทบางจาก (มหาชน) จำกัด
- (20) 1-อีโคซีน (1-Ecosene,  $\text{C}_{20}\text{H}_{42}$ ) ของบริษัท Sigma, U.S.A.
- (21) นอร์มอลโดเดคเคน (n - Dodecane,  $\text{C}_{12}\text{H}_{26}$ )
- (22) นอร์มอลเตตระเดคเคน (n - Tetradecane,  $\text{C}_{14}\text{H}_{30}$ )
- (23) นอร์มอลออกตระโคเซน (n - Octacosane,  $\text{C}_{28}\text{H}_{58}$ ) ของบริษัท Alltech Associates Inc.
- (24) น้ำกลั่น

### 3.3 จุลินทรีย์ที่ใช้ในงานวิจัย

- (1) *Bacillus sp.* B 3-1
- (2) *Pseudomonas sp.* C 1-2
- (3) *Yarrowia sp.* D 2-1

หมายเหตุ : *Bacillus sp.* B 3-1 , *Pseudomonas sp.* C 1-2 และ *Yarrowia sp.* D 2-1 ได้จาก คุณภัทรา ศรีสุทธีวรกุล (2545)

- (4) *Acinetobacter calcoaceticus* TISTR 360 จากสถาบันวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ โดย *Bacillus sp.*B 3-1 , *Pseudomonas sp.*C 1-2 และ *Yarrowia sp.* D 2-1 เป็นกลุ่มจุลินทรีย์ที่สามารถย่อยสลายน้ำมันดิบได้ (Tapis Crude oil) ส่วน *Acinetobacter calcoaceticus* TISTR 360 ใช้เป็นแบคทีเรียที่สามารถสร้างสารลดแรงตึงผิวทางชีวภาพได้

### 3.4 น้ำมันดิบ (Tapis Crude Oil)

น้ำมันดิบที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้ได้รับความอนุเคราะห์จากบริษัทบางจาก (มหาชน) จำกัด (Bangchak oil refinery) ถนนสุขุมวิท ซอย 64 กรุงเทพฯ มีองค์ประกอบของน้ำมันดิบดังตารางที่ 1-ง ในภาคผนวก ง

### 3.5 ส่วนประกอบของระบบบำบัดแผ่นหมวนชีวภาพที่ใช้

ระบบบำบัดแผ่นหมวนชีวภาพที่สร้างขึ้นจะประกอบด้วยถังปฏิกริยาขนาด 4 ลิตร แผ่นตัวกลางจะมีลักษณะเป็นแผ่นพลาสติกหนาวงกลมเรียงซ้อนกัน 5 แผ่นบนเพลากลางที่ติดตั้งในถังปฏิกริยาขนาด 4 ลิตร เพลากลางจะหมุนในแนวอน ซึ่งอัตราการหมุนและระดับการจมตัวของแผ่นหมวนชีวภาพจะถูกออกแบบมาเพื่อให้สามารถปรับระดับได้ โดยอัตราหมุนของแผ่นหมวนจะปรับระดับได้เป็น 2 , 3 และ 4 รอบต่อนาที ส่วนระดับการจมตัวของแผ่นหมวนสามารถปรับระดับได้เป็น 20 เปอร์เซ็นต์ , 30 เปอร์เซ็นต์ และ 40 เปอร์เซ็นต์ ดังรูป 3-1 และ รูปที่ 3-2



รูปที่ 3-1 ระบบบำบัดแผ่นหมวนชีวภาพที่ใช้ในการทดลอง



รูปที่ 3-2 กลไกการปรับระดับความเร็วรอบ และระดับการจมตัวของแผ่นหมุนชีวภาพ

สำหรับการทดลองแบบต่อเนื่องจะใช้ค่าปริมาณไฮโดรคาร์บอนทั้งหมดที่เหลือ และ ค่าเวลาดักเก็บ (Retention Time) จากการทดลองแบบ Batch มาคำนวณหาอัตราการไหล (Flow Rate) สำหรับใช้กับระบบแบบต่อเนื่อง และจะทำการควบคุมอัตราการไหลและค่าเวลาดักเก็บโดยใช้เครื่องสูบน้ำแบบปริดสาย (Peristaltic pump) ดังรูปที่ 3-3



รูปที่ 3-3 เครื่องสูบน้ำแบบปริดสาย (Peristaltic pump)

### 3.6 การเก็บตัวอย่างจากระบบบำบัดแผ่นหมุนชีวภาพ

ในการเก็บตัวอย่างจากระบบบำบัดแผ่นหมุนชีวภาพ จะทำการเก็บตัวอย่างทุกวันที่ 0 , 1, 3 , 5 และ 7 ซึ่งมีขั้นตอนการเก็บตัวอย่างดังต่อไปนี้

(1) ในการเก็บตัวอย่างแต่ละครั้งจะต้องใช้ข้อโตะเปิดตะแกรงน้ำมันบางส่วน ที่ติดอยู่ข้างถังปฏิบัติการลงมาให้หมด

(2) จากนั้นใช้เครื่องกวนที่ตัดแปลงขึ้นมา กวนเพื่อให้เกิดการผสมกันอย่างทั่วถึงและทำให้อุณหภูมิของน้ำมันที่จับเป็นก้อนแตกออกเป็นชิ้นเล็ก ๆ เป็นเวลาประมาณ 2-3 นาที

(3) เก็บตัวอย่างน้ำปริมาตร 5 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลองที่ปราศจากเชื้อเพื่อวิเคราะห์หาค่า optical density ( $OD_{600}$ ) และ วัดปริมาณจุลินทรีย์ที่มีชีวิต (Viable Cell Count)

(4) เก็บตัวอย่างน้ำปริมาตร 20 มิลลิลิตร ใส่ในขวดเก็บตัวอย่างเพื่อวิเคราะห์หาปริมาณไฮโดรคาร์บอนของน้ำมันดิบที่เหลือในอาหารเลี้ยงเชื้อ สะดวกอย่างที่ดีอยู่กับอุปกรณ์ตัวอย่างอีกครั้งด้วยตัวทำละลาย ซึ่งที่นี่ใช้เฮกเซนเป็นตัวทำละลาย และเก็บรักษาตัวอย่างไว้ที่อุณหภูมิ 4 °C เพื่อรอทำการสกัดน้ำมันดิบออกจากอาหารเลี้ยงเชื้อต่อไป

### 3.7 การเตรียมหัวเชื้อสำหรับระบบบำบัดแผ่นหมุนชีวภาพ

เตรียมหัวเชื้อของเชื้อบริสุทธิ์แต่ละชนิดทำโดยเจือเชื้อจุลินทรีย์ทั้ง 4 สายพันธุ์จากหลอดอาหารเลี้ยง (Nutrient agar slant ) อายุ 24 ชั่วโมง ลงในอาหารเหลว BH broth (ภาคผนวก ก) ปริมาตร 50 มิลลิลิตรที่ผสมน้ำมันดิบ 0.5 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร บรรจุอยู่ในขวดแก้วทรงกรวยขนาด 250 มิลลิลิตร บ่มเชื้อบนเครื่องเขย่าด้วยอัตราเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จนได้ความหนาแน่นของเชื้อที่ต้องการ โดยเมื่อนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร ( $OD_{600}$ ) ให้ได้อยู่ในช่วง 1-2 จากนั้นนำเชื้อทั้ง 4 สายพันธุ์ผสมกันตามอัตราส่วนที่ต้องการเพื่อใช้เป็นหัวเชื้อปริมาตร 10 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาตรต่อปริมาตร) แล้วนำหัวเชื้อไปเลี้ยงในอาหารเหลว BH broth ในถังปริมาตร 4 ลิตรที่ผสมน้ำมันดิบโดยปริมาตร

### 3.8 การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับระบบบำบัดแผ่นหมุนชีวภาพ

เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ Bushnell-Hass (BH broth) ซึ่งแสดงในภาคผนวก ก ให้ได้ปริมาตรรวม 3,600 มิลลิลิตร ปรับค่าความเป็นกรด – เบสเริ่มต้นตามที่ต้องการด้วย 1N NaOH และ 1 N HCL และบรรจุอยู่ในขวดแก้วทรงกรวยขนาด 1,000 มิลลิลิตร นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิและความดันมาตรฐาน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว 121 °C เป็นเวลานาน 15-20 นาที และใช้หัวเชื้อในการทดลอง 10 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร (เท่ากับ 400 มิลลิลิตร) ซึ่งใช้วิธีเตรียมหัวเชื้อตามข้อ 3.7 ดังนั้นในถังหมักจะมีปริมาตรรวม 4 ลิตร

### 3.9 การหาสภาวะที่เหมาะสมในการย่อยสลายน้ำมันดิบของกลุ่มจุลินทรีย์ในระบบบำบัดแผ่นหมุนชีวภาพ

3.9.1 วิเคราะห์หาอัตราการย่อยสลายทางกายภาพของน้ำมันดิบเมื่อไม่เติมจุลินทรีย์ โดยกำหนดให้สภาวะที่ใช้ในการทดลอง คือ ความเข้มข้นของน้ำมันดิบ 0.5 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตรในอาหารเหลว 4,000 มิลลิลิตร ความเป็นกรด-เบสเริ่มต้นเท่ากับ 8.0 (ภัทรา ศรีสุทธีวรกุล, 2545) ความเร็วรอบของแผ่นหมุนชีวภาพเท่ากับ 2 รอบต่อนาที ระดับการจมตัวของแผ่นหมุนชีวภาพเท่ากับ 20 เปอร์เซ็นต์ และที่ความเร็วรอบของแผ่นหมุนชีวภาพเท่ากับ 4 รอบต่อนาที ระดับการจมตัวของแผ่นหมุนชีวภาพเท่ากับ 40 เปอร์เซ็นต์ ทำการเก็บตัวอย่างวันที่ 0, 1, 3, 5 และ 7 ตามลำดับ วิเคราะห์ปริมาณไฮโดรคาร์บอนในน้ำมันดิบที่สามารถย่อยได้ โดยเครื่อง Gas Chromatography

3.9.2 ศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการย่อยสลายน้ำมันดิบในระบบบำบัดแผ่นหมุนชีวภาพขนาด 4 ลิตร โดยกำหนดให้สภาวะที่ใช้ในการทดลอง คือ ใช้ความเข้มข้นของน้ำมันดิบ 0.5 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตรในอาหารเหลว 4,000 มิลลิลิตร โดยใช้ *Acinetobacter calcoaceticus* TISTR 360 ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่สามารถสร้างสารลดแรงตึงผิวทางชีวภาพได้และ *Bacillus sp.* B 3-1, *Pseudomonas sp.* C1-2, *Yarrowia sp.* D 2-1 ซึ่งเป็นกลุ่มจุลินทรีย์ที่สามารถย่อยสลายน้ำมันดิบได้ โดยให้อัตราส่วนระหว่างแบคทีเรียที่ผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพได้ กับกลุ่มจุลินทรีย์ที่ย่อยสลายน้ำมันดิบได้เท่ากับ 2 : 1 ความเป็น กรด-เบสเริ่มต้นเท่ากับ 8.0 (ภัทรา ศรีสุทธีวรกุล, 2545) โดยทำการแปรผันความเร็วรอบของแผ่นหมุนชีวภาพเท่ากับ 2 , 3 และ 4 รอบต่อนาที และแปรผันระดับการจมตัวของแผ่นหมุนชีวภาพเท่ากับ 20, 30 และ 40 เปอร์เซ็นต์ ทำการเก็บตัวอย่างวันที่ 0, 1, 3, 5 และ 7 ตามลำดับ และทำการวิเคราะห์โดยวัดค่า optical density ( $OD_{600}$ ), วัดจุลินทรีย์ที่มีชีวิต (Viable Cell Count) และวิเคราะห์หาปริมาณไฮโดรคาร์บอนของน้ำมันดิบที่สามารถย่อยได้ โดยเครื่อง Gas Chromatography

3.9.3 ทำการศึกษาอัตราการย่อยสลายน้ำมันดิบโดยการทดลองแบบต่อเนื่องโดยใช้ค่าปริมาณไฮโดรคาร์บอนทั้งหมดที่สามารถย่อยได้ และ ค่าเวลาการกักเก็บ (Retention Time) จากการทดลองแบบ Batch ที่สภาวะเหมาะสม มาหาค่าอัตราการไหล (Flow Rate) สำหรับใช้กับระบบต่อเนื่อง และเก็บตัวอย่างมาวิเคราะห์ทุกวันจนถึงภาวะคงที่โดยคำนวณหาอัตราการไหลจากสูตร

$$F = \frac{V}{DT}$$

โดย F คือ อัตราการไหล (Flow Rate) หน่วยเป็นมิลลิกรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง

V คือ ปริมาตรของน้ำเสีย (Volumn) หน่วยเป็นมิลลิลิตร

DT คือ เวลาการกักเก็บ (Detention Time) หน่วยเป็นชั่วโมง

### 3.10 การวิเคราะห์ปริมาณไฮโดรคาร์บอน

#### 3.10.1 การสกัดน้ำมันดิบออกจากอาหารเลี้ยงเชื้อ (ปัญญาพล ชีโนดม, 2543)

นำตัวอย่างสารละลายปริมาตร 20 มิลลิลิตรที่เลี้ยงเชื้อได้ตามเวลาที่ต้องการ เติมสารละลาย 1-อีโคเซน (Eicosane) ในคลอโรฟอร์ม ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร(w/v) จำนวน 1 มิลลิลิตร ลงในอาหารก่อนเพื่อสกัดเป็น Internal Standard (IS) จากนั้นจึงใส่อาหารลงในกรวยแยก (Separating funnel) เติมคลอโรฟอร์มปริมาตร 80 มิลลิลิตร แล้วเขย่าเป็นเวลา 2 นาที จากนั้นตั้งทิ้งไว้ให้สารละลายแยกชั้น โดยแยกคลอโรฟอร์มที่มีน้ำมันอยู่ในชั้นล่างลงในขวดแก้วทรงกรวยขนาด 250 มิลลิลิตร แล้วเทสารละลายน้ำมันลงในคลอโรฟอร์มที่สกัดได้ผ่านโซเดียมซัลเฟต 20 กรัม บนกระดาษกรอง Whatman NO. 40 เพื่อคั่นน้ำออกจากสารละลายแล้วสกัดน้ำมันที่เหลืออยู่อีกครั้งโดยใช้คลอโรฟอร์ม ปริมาตร 20 มิลลิลิตร ทำการเขย่าและตั้งทิ้งไว้และกรองด้วยกระดาษกรองเช่นเดิม จากนั้นนำสารละลายที่ได้ไประเหยแยกคลอโรฟอร์มออกด้วยเครื่องระเหยแห้งแบบสูญญากาศ ที่ความดันอากาศ 160 mmHg ในน้ำที่มีอุณหภูมิ 35<sup>o</sup>ซ จนกระทั่งคลอโรฟอร์มระเหยหมด จากนั้นนำน้ำมันดิบที่ได้มาเติมเฮกเซน 5 มิลลิลิตร เพื่อละลายน้ำมันดิบแล้วกรองด้วยกระดาษกรอง GF/A บรรจุเก็บไว้ในขวดที่มีฝาเกลียวปิดสนิท(Vial) นำไปเก็บไว้ที่ -20<sup>o</sup>ซ เพื่อรอการนำไปวิเคราะห์หาองค์ประกอบไฮโดรคาร์บอนในน้ำมันดิบที่เหลือด้วยเครื่องก๊าซโครมาโทกราฟี

#### 3.10.2 การวิเคราะห์ไฮโดรคาร์บอนในน้ำมันดิบที่สกัดได้โดยใช้ Capillary Gas Chromatography

นำสารละลายน้ำมันดิบในเฮกเซนที่ผ่านการสกัดแล้วจากข้อ 3.10.1 ปริมาตร 1 ไมโครลิตร ฉีดลงในเครื่อง Gas Chromatography รุ่น Varian CP-3800 ของบริษัท Varian, U.S.A. ซึ่งมี Flame Ionization Detector (FID) เป็นตัวตรวจวัด คอลัมน์ที่ใช้คือ Capillary column model CP 850 เส้นผ่าศูนย์กลางภายในของคอลัมน์เท่ากับ 0.25 มิลลิเมตร ความยาว 30 เมตร ความหนาของ film thickness เท่ากับ 0.25 ไมโครเมตร โดยมีการตั้งค่าโปรแกรมดังนี้ อุณหภูมิของ Injector เท่ากับ 280<sup>o</sup>ซ อุณหภูมิของ Detector 310<sup>o</sup>ซ โดยอุณหภูมิเริ่มต้นของคอลัมน์เท่ากับ 100<sup>o</sup>ซ รักษาอุณหภูมิให้คงที่เป็นเวลา 2 นาที จากนั้นเพิ่มอุณหภูมิเป็น 250<sup>o</sup>ซ โดยมีอัตราเพิ่มอุณหภูมิเป็น 8<sup>o</sup>ซ ต่อนาที และรักษาอุณหภูมิให้คงที่เป็นเวลา 1 นาที จากนั้นเพิ่มอุณหภูมิเป็น 270<sup>o</sup>ซ โดยมีอัตราการเพิ่มอุณหภูมิเป็น 2<sup>o</sup>ซ ต่อนาที รักษาอุณหภูมิให้คงที่เป็นเวลา 5 นาที ใช้ก๊าซไนโตรเจน (N<sub>2</sub>) เป็น Carrier Gas โดยมีอัตราการไหลเท่ากับ 1 มิลลิลิตรต่อนาที มีโปรแกรมเวลาทั้งหมด 36.67 นาที

### 3.11 การวิเคราะห์หาจำนวนจุลินทรีย์ (อรรถวุฒิ อิมพฐทรัพย์, 2537)

#### 3.11.1 การวิเคราะห์หาค่า Optical density (OD)

นำตัวอย่างสารละลายเชื้อที่เลี้ยงในอาหารเหลว BH ที่มีน้ำมันดิบ 0.5 เปอร์เซ็นต์ เป็นแหล่งคาร์บอน มาวัดค่า Optical density ใน Cuvette ที่มีขนาดทางเดินแสง 10 มิลลิเมตร ด้วยเครื่อง Spectrophotometer ที่มีความยาวคลื่นแสง 600 นาโนเมตร เทียบกับน้ำกลั่น

#### 3.11.2 การวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ที่มีชีวิต

นำสารละลายเชื้อที่เลี้ยงในอาหารเหลว BH ที่มีน้ำมันดิบ 0.5 เปอร์เซ็นต์ เป็นแหล่งคาร์บอน 1 มิลลิลิตร มาทำการเจือจางให้ได้ค่าที่เหมาะสมในน้ำกลั่นปริมาตร 9 มิลลิลิตร ซึ่งผ่านการทำให้ปราศจากเชื้อแล้ว นำ 0.1 มิลลิลิตรของสารละลายที่ทำการเจือจางเหมาะสมแล้วไปเกลี่ยบนอาหารรูนิวเทรียนท์ (ภาคผนวก ก) บ่มที่ 30°C จนกระทั่งเห็นโคโลนีขึ้นอย่างชัดเจน จากนั้นนับจำนวนโคโลนีที่ขึ้น โดยในแต่ละเพลทจะต้องมีค่าอยู่ในช่วง 30-300 โคโลนี และคำนวณหาปริมาณเชื้อตามสูตร ดังนี้

$$\text{ปริมาณเชื้อ (Viable Cell Count ; CFU/ml)} = \frac{\text{จำนวนโคโลนีที่นับได้} \times \text{ค่าการเจือจาง}}{\text{ปริมาตรที่เกลี่ยบนอาหาร}}$$

## บทที่ 4

### ผลการวิจัย

#### 4.1 องค์ประกอบที่มีอยู่ในน้ำมันดิบ (Tapis crude oil) ที่ใช้ในงานวิจัยนี้

น้ำมันดิบที่ใช้ในงานวิจัยครั้งนี้ คือ น้ำมันดิบทาพิส (Tapis Crude Oil) คุณสมบัติของน้ำมันดิบชนิดนี้ จะมีค่าความหนาแน่นจำเพาะ API (American Petroleum Institute gravity) เท่ากับ 45.5 จึงจัดเป็นน้ำมันดิบชนิดเบา (Light crude oil) ดังตารางที่ 1-จ ในภาคผนวก จ ซึ่งแสดงองค์ประกอบบางประการของน้ำมันดิบ (crude oil) และจากการวิเคราะห์น้ำมันดิบ (Tapis Crude oil) ด้วยก๊าซโครมาโทกราฟีหลังจากการสกัดน้ำมันดิบด้วยตัวทำละลายเฮกเซน ( $C_6H_{14}$ ) และนำโครมาโทแกรมที่ได้มาเปรียบเทียบกับค่า Retention Time กับโครมาโทแกรมของสารมาตรฐานดังตารางที่ 4.1 และดังรูปที่ 2-ข ในภาคผนวก ข พบว่าน้ำมันดิบ Tapis มีปริมาณไฮโดรคาร์บอนมากที่สุดในช่วง  $C_{10}$ - $C_{28}$  คิดเป็นประมาณ 94 เปอร์เซ็นต์ของไฮโดรคาร์บอนทั้งหมดที่มีอยู่ในน้ำมันดิบ (Tapis crude oil) ส่วน นอร์มอล- เฮกเซน ซึ่งใช้เป็นตัวทำละลายในงานวิจัยครั้งนี้เป็นพีกแรกที่มีพื้นที่ของพีก (Peak area) ขนาดใหญ่ที่สุด และมีค่า Retention time ( $R_t$ ) เท่ากับ 0.880 และสารมาตรฐานภายใน (Internal Standard) ซึ่งในงานวิจัยนี้ใช้ 1- อีโคซีน (1-Eicosene) มีค่า Retention time เท่ากับ 14.694

การคำนวณปริมาณไฮโดรคาร์บอนทั้งหมด (Total Hydrocarbons) จะคิดในรูปของเปอร์เซ็นต์ของพื้นที่ใต้พีก ซึ่งพื้นที่ใต้พีกของไฮโดรคาร์บอนจะมีค่าเท่ากับ อัตราส่วนของผลรวมของพื้นที่ใต้พีกของไฮโดรคาร์บอนทั้งหมดที่มีอยู่ในโครมาโทแกรมกับค่าพื้นที่ใต้พีกของสารมาตรฐานในการสกัด (Muell และคณะ, 1992) ดังแสดงในภาคผนวก จ และจากการคำนวณหาปริมาณไฮโดรคาร์บอน พบว่าวันที่ 0 ของการทดลองจะมีปริมาณไฮโดรคาร์บอนเริ่มต้นทั้งหมดในระบบ 16,053.95 มิลลิกรัม (100 เปอร์เซ็นต์)

ตารางที่ 4.1 ค่า Retention time ของนอร์มอล-อัลเคนมาตรฐาน

นอร์มอล-อัลเคน มาตรฐาน	Retention time , $R_t$ (นาที)
$C_{10}$ (n-Decane)	1.990
$C_{12}$ (n- Dodacane)	4.115
$C_{14}$ (n- Tetradecane)	6.966
$C_{16}$ (n- Hexadecane)	9.803
$C_{20}$ (n- Eicosane)	14.694
$C_{28}$ (n- Octacosane)	23.206

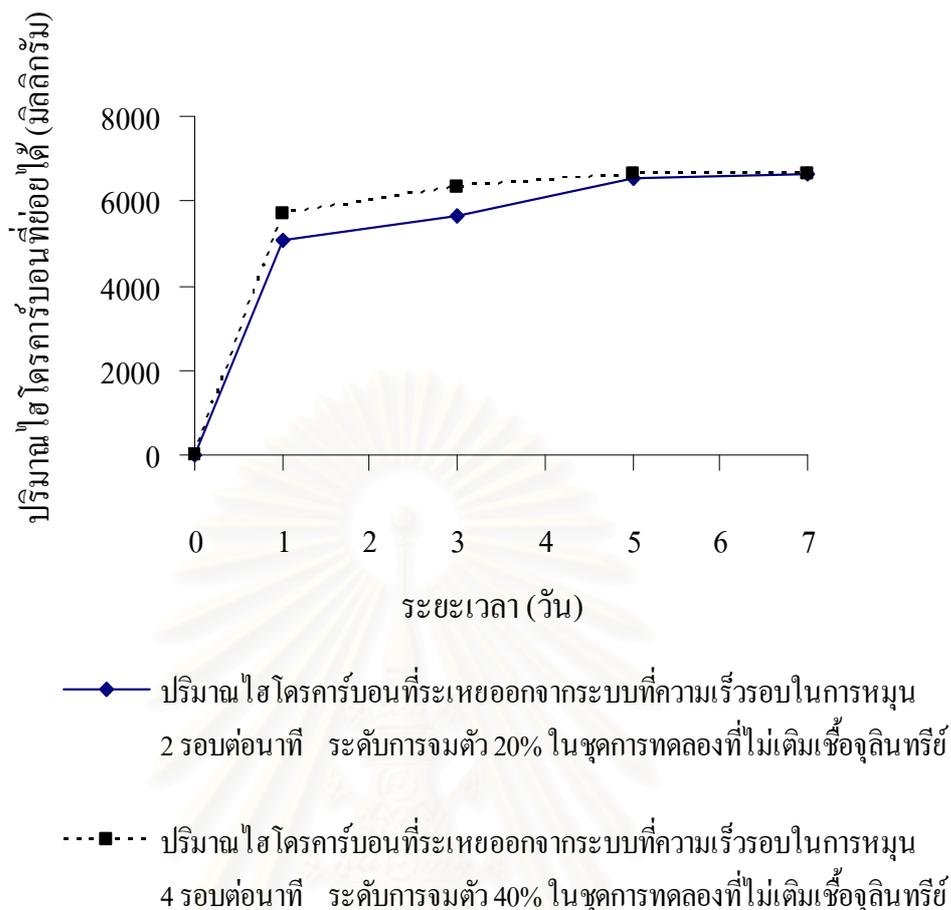
#### 4.2 การย่อยสลายของน้ำมันดิบเมื่อไม่เติมจุลินทรีย์ (Abiotic loss of Tapis crude oil)

การลดลงของน้ำมันดิบโดยไม่เติมเชื้อจุลินทรีย์ จัดเป็นการลดลงของน้ำมันดิบ (Tapis crude oil) ทางกายภาพ จากการทดลองใช้น้ำมันดิบ 0.5 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตรในอาหารเหลว BH broth 50 มิลลิลิตร ณ อุณหภูมิห้อง ความเป็นกรด-เบสเริ่มต้นเท่ากับ 8.0 เปรียบเทียบสภาวะที่ความเร็วในการหมุนของแผ่นหมุนชีวภาพ 2 รอบต่อนาที ระดับการจมตัวของแผ่นหมุนชีวภาพ 20 เปอร์เซ็นต์ กับ ที่ความเร็วในการหมุนของแผ่นหมุนชีวภาพ 4 รอบต่อนาที ระดับการจมตัวของแผ่นหมุนชีวภาพ 40 เปอร์เซ็นต์ โดยไม่มีการเติมจุลินทรีย์ ในระยะเวลา 7 วัน พบว่าที่สภาวะความเร็วในการหมุนของแผ่นหมุนชีวภาพ 2 รอบต่อนาที ระดับการจมตัวของแผ่นหมุนชีวภาพ 20 เปอร์เซ็นต์ จะมีปริมาณไฮโดรคาร์บอนในน้ำมันดิบลดลงน้อยกว่าที่สภาวะความเร็วในการหมุนของแผ่นหมุนชีวภาพ 4 รอบต่อนาที ระดับการจมตัวของแผ่นหมุนชีวภาพ 40 เปอร์เซ็นต์ นั่นคือที่ สภาวะความเร็วในการหมุนของแผ่นหมุนชีวภาพ 2 รอบต่อนาที ระดับการจมตัวของแผ่นหมุนชีวภาพ 20 เปอร์เซ็นต์ มีการลดลงของน้ำมันดิบสูงสุดได้ 38.46 เปอร์เซ็นต์ คิดเป็น 6,655.97 มิลลิกรัมในวันที่ 7 ของการทดลอง และที่สภาวะความเร็วในการหมุนของแผ่นหมุนชีวภาพ 4 รอบต่อนาที ระดับการจมตัวของแผ่นหมุนชีวภาพ 40 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณไฮโดรคาร์บอนในน้ำมันดิบลดลงได้สูงสุดในวันที่ 7 ของการทดลองเช่นกัน ซึ่งสามารถลดลงได้ 38.38 เปอร์เซ็นต์ คิดเป็น 6,643.12 มิลลิกรัม แต่การลดลงของไฮโดรคาร์บอนของทั้งสองสภาวะนี้ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ (ภาคผนวก ก)

จากการทดลองการลดลงของน้ำมันดิบทางกายภาพ โดยไม่มีการเติมเชื้อจุลินทรีย์ในข้อ 4.2 ทำให้เห็นว่าในการทดลองการย่อยสลายน้ำมันดิบโดยกลุ่มจุลินทรีย์ที่คัดเลือกไว้ในระบบบำบัดแผ่นหมุนชีวภาพครั้งนี้ การลดลงของน้ำมันดิบทั้งหมด จะเกิดได้จาก 2 ทางด้วยกัน นั่นคือเกิดจากการลดลงทางกายภาพของน้ำมันดิบเอง กับ เกิดจากการย่อยสลายโดยกลุ่มจุลินทรีย์ที่เติมลงในระบบ ซึ่งจากผลการทดลองในข้อ 4.2 แสดงว่า น้ำมันดิบมีการระเหยออกไปจากระบบได้ โดยตัวเองอยู่แล้วส่วนหนึ่งโดยไม่ต้องอาศัยการย่อยสลายจากจุลินทรีย์ ซึ่งในภาวะที่ความเร็วรอบในการหมุนของแผ่นหมุนชีวภาพเร็วขึ้น และ ระดับการจมตัวของแผ่นหมุนชีวภาพมากขึ้น มีผลทำให้น้ำมันระเหยออกไปจากระบบเร็วขึ้นและมากขึ้น แต่การระเหยของน้ำมันดิบที่เกิดขึ้นกับทั้ง 2 สภาวะในการทดลองที่ไม่เติมเชื้อจุลินทรีย์ ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งก็แสดงให้เห็นว่า การลดลงของน้ำมันดิบทางกายภาพที่ภาวะการทดลองต่างๆ ไม่ส่งผลกระทบต่อผลการทดลองในหัวข้อ 4.2 ต่อไป

ตารางที่ 4.2 เปรียบเทียบปริมาณไฮโดรคาร์บอนที่ระเหยออกจากอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีการผสมน้ำมันดิบ (Tapis crude oil) 0.5 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร ที่สภาวะความเร็วในการหมุนของแผ่นหมุนชีวภาพ 2 รอบต่อนาที ระดับการจมตัวของแผ่นหมุนชีวภาพ 20 เปอร์เซ็นต์ กับ ที่ความเร็วในการหมุนของแผ่นหมุนชีวภาพ 4 รอบต่อนาที ระดับการจมตัวของแผ่นหมุนชีวภาพ 40 เปอร์เซ็นต์ ในชุดควบคุมที่ไม่มีการเติมจุลินทรีย์

ระยะเวลาในการทดลอง (วัน)	ปริมาณไฮโดรคาร์บอนที่ระเหยออกจากระบบ (%)	
	ที่ความเร็วในการหมุนของแผ่น หมุนชีวภาพ 2 รอบต่อนาที ระดับ การจมตัวของแผ่นหมุนชีวภาพ 20 เปอร์เซ็นต์	ที่ความเร็วในการหมุนของแผ่น หมุนชีวภาพ 4 รอบต่อนาที ระดับ การจมตัวของแผ่นหมุนชีวภาพ 40 เปอร์เซ็นต์
0	0%	0%
1	31.75%	33.52%
3	35.09%	35.52%
5	37.56%	38.38%
7	38.46%	39.52%



รูปที่ 4.1 เปรียบเทียบปริมาณไฮโดรคาร์บอนที่ระเหยออกจากอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีการผสมน้ำมันดิบ (Tapis crude oil) 0.5 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร สภาวะความเร็วในการหมวนของแผ่นหมวนชีวภาพ 2 รอบต่อนาที ระดับการจมน้ำของแผ่นหมวนชีวภาพ 20 เปอร์เซ็นต์ กับ สภาวะความเร็วในการหมวนของแผ่นหมวนชีวภาพ 4 รอบต่อนาที ระดับการจมน้ำของแผ่นหมวนชีวภาพ 40 เปอร์เซ็นต์ ในชุดการทดลองที่ไม่เติมเชื้อจุลินทรีย์

#### 4.3 การศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการย่อยสลายน้ำมันดิบของกลุ่มจุลินทรีย์ในระบบบำบัดแผ่นหมวนชีวภาพ

การศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการย่อยสลายน้ำมันดิบในระบบบำบัดแผ่นหมวนชีวภาพ ขนาด 4 ลิตร โดยกำหนดให้สภาวะที่ใช้ในการทดลอง คือใช้ความเข้มข้นของน้ำมันดิบ 0.5 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร โดยใช้ *Acinetobacter calcoaceticus* TISTR 360 ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่สามารถสร้างสารลดแรงตึงผิวทางชีวภาพได้และ *Bacillus sp.* B 3-1 , *Pseudomonas sp.* C1-2 , *Yarrowia sp.* D 2-1 ซึ่งเป็นกลุ่มจุลินทรีย์ที่สามารถย่อยสลายน้ำมันดิบได้ โดยให้อัตราส่วนระหว่างแบคทีเรียที่ผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพได้ กับกลุ่มจุลินทรีย์ที่ย่อยสลายน้ำมันดิบได้เท่ากับ 2 : 1 ความเป็น กรด-ด่างเริ่มต้นเท่ากับ 8.0 (ภัทรา ศรีสุทธีวรกุล , 2545) โดยทำการแปรผัน

ความเร็วรอบของแผ่นหมุนชีวภาพเท่ากับ 2 , 3 และ 4 รอบต่อนาที และแปรผันระดับการจมตัวของแผ่นหมุนชีวภาพเท่ากับ 20 , 30 และ 40 เปอร์เซ็นต์ ทำการเก็บตัวอย่างวันที่ 0, 1, 3, 5 และ 7 ตามลำดับ

#### 4.3.1 ผลของการย่อยสลายน้ำมันดิบที่สภาวะการทดลอง ที่ความเร็วรอบในการหมุนของแผ่นหมุนชีวภาพ 2 รอบต่อนาที ระดับการจมตัวของแผ่นหมุน 20 เปอร์เซ็นต์ ,30 เปอร์เซ็นต์ และ 40 เปอร์เซ็นต์

จากการศึกษาเบื้องต้นเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการลดลงของน้ำมันดิบทางกายภาพโดยไม่เติมเชื้อจุลินทรีย์ โดยทำการเปรียบเทียบที่สภาวะความเร็วในการหมุนของแผ่นหมุนชีวภาพ 2 รอบต่อนาที ระดับการจมตัวของแผ่นหมุนชีวภาพ 20 เปอร์เซ็นต์ กับ ที่ความเร็วในการหมุนของแผ่นหมุนชีวภาพ 4 รอบต่อนาที ระดับการจมตัวของแผ่นหมุนชีวภาพ 40 เปอร์เซ็นต์ พบว่า การลดลงของน้ำมันดิบทางกายภาพหรือการระเหยของน้ำมันดิบที่ทั้งสองสภาวะไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 95 เปอร์เซ็นต์

จากนั้นจะทำการศึกษาต่อเพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมในการย่อยสลายน้ำมันดิบโดยกลุ่มจุลินทรีย์ในระบบบำบัดแผ่นหมุนชีวภาพขนาด 4 ลิตร โดยทำการแปรผันความเร็วรอบในการหมุนของแผ่นหมุนชีวภาพ 2 รอบต่อนาที , 3 รอบต่อนาที และ 4 รอบต่อนาที รวมทั้งแปรผันระดับการจมตัวของแผ่นหมุนชีวภาพที่ระดับ 20 เปอร์เซ็นต์, 30 เปอร์เซ็นต์ และ 40 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งทั้งสองปัจจัยนี้เป็นปัจจัยที่มีผลต่อการลดลงน้ำมันดิบ โดยสภาวะที่กำหนดให้ใช้ในการทดลอง คือ ความเข้มข้นของน้ำมันดิบ 0.5 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตรในอาหารเหลว BH Broth 4 ลิตร ความเป็นกรด-เบสเริ่มต้นเท่ากับ 8.0 อัตราส่วนระหว่างแบคทีเรียที่ผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพต่อกลุ่มจุลินทรีย์ที่สามารถย่อยสลายน้ำมันดิบได้เป็น 2:1 (ภัทรา ศรีสุทธีวรกุล , 2545) และทำการเก็บตัวอย่างทุกวันที 0, 1, 3, 5 และ 7

จากการทดลองที่ระดับความเร็วรอบในการหมุนของแผ่นหมุนชีวภาพ 2 รอบต่อนาที ระดับการจมตัวของแผ่นหมุนชีวภาพ 20 เปอร์เซ็นต์ พบว่าระบบสามารถย่อยสลายน้ำมันดิบได้ 6,602.99 มิลลิกรัม (41.13 เปอร์เซ็นต์) , 8,386.58 มิลลิกรัม (52.24 เปอร์เซ็นต์) , 9,014.29 มิลลิกรัม (56.15 เปอร์เซ็นต์) ในวันที่ 1 ,3 ,5 ของการทดลอง และ ในวันที่ 7 ของการทดลองระบบสามารถย่อยสลายน้ำมันดิบได้มากที่สุด 9,216.57 มิลลิกรัม (57.41 เปอร์เซ็นต์) ทั้งนี้ค่าการเจริญเติบโตของกลุ่มจุลินทรีย์เท่ากับ  $88 \times 10^6$  CFU/มิลลิลิตร ,  $57 \times 10^7$  CFU/มิลลิลิตร ,  $118 \times 10^7$  CFU/มิลลิลิตร และ  $210 \times 10^8$  CFU/มิลลิลิตร ในวันที่ 1 , 3 , 5 และ 7 ตามลำดับ สำหรับค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตรมีค่าสูงที่สุดในวันที่ 7 ของการทดลองเท่ากับ 0.916 และมีค่าเท่ากับ 0.416 , 0.688 , 0.750 ในวันที่ 1 , 3 และวันที่ 5 ของการทดลองตามลำดับ

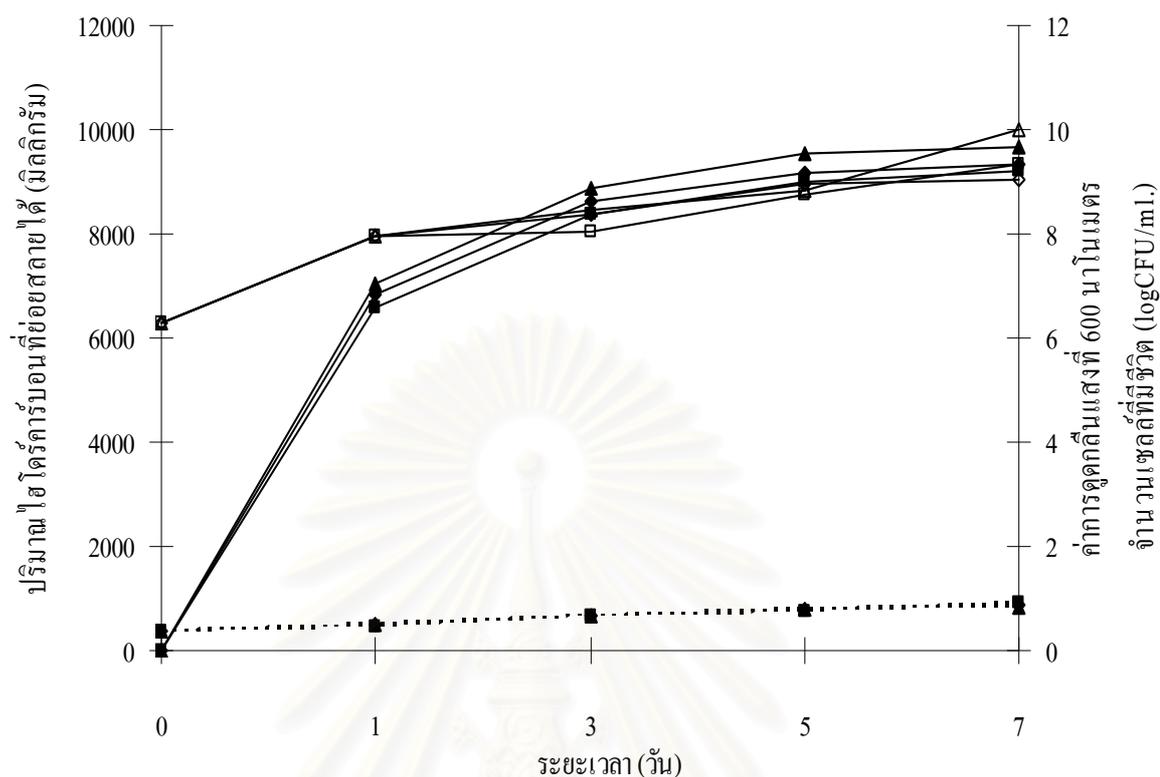
จากการทดลองที่ความเร็วรอบ 2 รอบต่อนาที ระดับการจมตัว 30% พบว่า ระบบ สามารถย่อยสลายน้ำมันดิบได้ 6,848.62 มิลลิกรัม (42.66 เปอร์เซ็นต์) , 8,632.21 มิลลิกรัม

(53.77 เปอร์เซ็นต์) , 9,160.38 มิลลิกรัม (57.06 เปอร์เซ็นต์) ในวันที่ 1 ,3 ,5 ของการทดลอง และในวันที่ 7 ของการทดลองระบบสามารถย่อยสลายน้ำมันดิบได้มากที่สุด 9,312.90 มิลลิกรัม (58.01 เปอร์เซ็นต์) ทั้งนี้ค่าการเจริญเติบโตของ กลุ่ม จุลินทรีย์เท่ากับ  $92 \times 10^6$  CFU/มิลลิลิตร ,  $24 \times 10^7$  CFU/มิลลิลิตร ,  $88 \times 10^7$  CFU/มิลลิลิตร และ  $107 \times 10^8$  CFU/มิลลิลิตร ในวันที่ 1 , 3 , 5 และ 7 ตามลำดับ สำหรับค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตรมีค่าสูงที่สุดในวันที่ 7 ของการทดลองเท่ากับ 0.884 และมีค่าเท่ากับ 0.494 , 0.684 , 0.775 ในวันที่ 1 , 3 และวันที่ 5 ของการทดลองตามลำดับ

และจากการทดลองที่ความเร็วรอบ 2 รอบต่อนาที และระดับการจมตัว 40% พบว่าระบบสามารถย่อยสลายน้ำมันดิบได้ 7,030.02 มิลลิกรัม (43.79 เปอร์เซ็นต์) , 8,873.02 มิลลิกรัม (55.27 เปอร์เซ็นต์) , 9,558.52 มิลลิกรัม (59.54 เปอร์เซ็นต์) ในวันที่ 1 ,3 , 5 ของการทดลอง และในวันที่ 7 ของการทดลองระบบสามารถย่อยสลายน้ำมันดิบได้มากที่สุด 9,680.53 มิลลิกรัม (60.30 เปอร์เซ็นต์) ทั้งนี้ค่าการเจริญเติบโตของ กลุ่มจุลินทรีย์เท่ากับ  $88 \times 10^6$  CFU/มิลลิลิตร ,  $30 \times 10^7$  CFU/มิลลิลิตร ,  $68 \times 10^7$  CFU/มิลลิลิตร และ  $98 \times 10^8$  CFU/มิลลิลิตรในวันที่ 1 , 3 , 5 และ 7 ตามลำดับ สำหรับค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตรมีค่าสูงที่สุดในวันที่ 7 ของการทดลองเท่ากับ 0.817 และมีค่าเท่ากับ 0.520 , 0.687 , 0.795 ในวันที่ 1 , 3 และวันที่ 5 ของการทดลองตามลำดับ ดังภาพที่ 4.2

จะสังเกตได้ว่าจากวันที่ 1 ถึง วันที่ 7 ของการทดลอง ที่ภาวะความเร็วรอบ 2 รอบต่อนาที ระดับการจมตัว 20 เปอร์เซ็นต์ , 30 เปอร์เซ็นต์ และ 40 เปอร์เซ็นต์ การเจริญเติบโตของกลุ่มจุลินทรีย์เป็นไปในทิศทางเดียวกันคือ เพิ่มมากขึ้นเรื่อย ๆ ทั้งนี้อาจเป็นเพราะว่าแหล่งคาร์บอนซึ่งในที่นี้คือ น้ำมันดิบ (Tapis crude oil) ยังถูกย่อยสลายไม่หมด จึงทำให้มีแหล่งคาร์บอนเพียงพอต่อการเจริญเติบโตของกลุ่มจุลินทรีย์

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



- ปริมาณไฮโดรคาร์บอนที่ย่อยสลายได้ (มิลลิกรัม) ที่ความเร็วรอบในการทดลอง 2 รอบต่อนาที ระดับการจมน้ำ 20%
- ◆— ปริมาณไฮโดรคาร์บอนที่ย่อยสลายได้ (มิลลิกรัม) ที่ความเร็วรอบในการทดลอง 2 รอบต่อนาที ระดับการจมน้ำ 30%
- ▲— ปริมาณไฮโดรคาร์บอนที่ย่อยสลายได้ (มิลลิกรัม) ที่ความเร็วรอบในการทดลอง 2 รอบต่อนาที ระดับการจมน้ำ 40%
- ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร ที่ความเร็วรอบในการทดลอง 2 รอบต่อนาที ระดับการจมน้ำ 20%
- ◆··· ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร ที่ความเร็วรอบในการทดลอง 2 รอบต่อนาที ระดับการจมน้ำ 30%
- ▲··· ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร ที่ความเร็วรอบในการทดลอง 2 รอบต่อนาที ระดับการจมน้ำ 40%
- จำนวนเซลล์ที่มีชีวิต (CFU/ml) ที่ความเร็วรอบในการทดลอง 2 รอบต่อนาที ระดับการจมน้ำ 20%
- ◇— จำนวนเซลล์ที่มีชีวิต (CFU/ml) ที่ความเร็วรอบในการทดลอง 2 รอบต่อนาที ระดับการจมน้ำ 30%
- ▲— จำนวนเซลล์ที่มีชีวิต (CFU/ml) ที่ความเร็วรอบในการทดลอง 2 รอบต่อนาที ระดับการจมน้ำ 40%

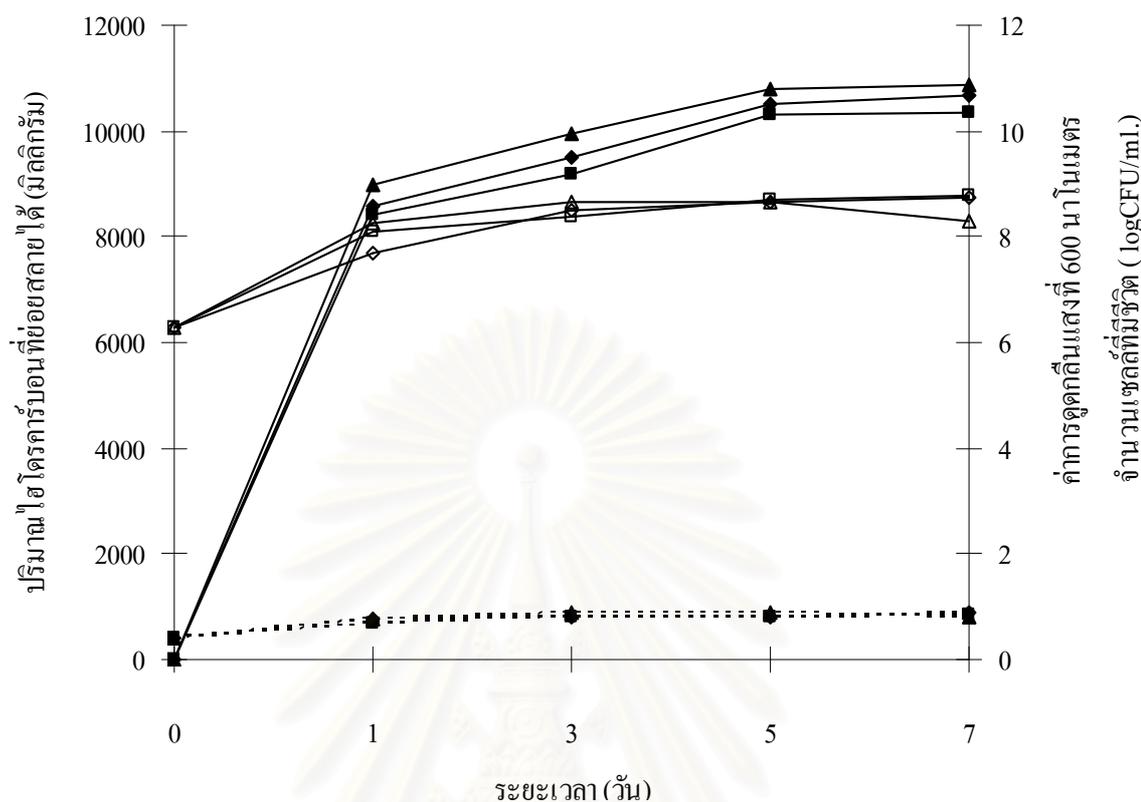
รูปที่ 4.2 แสดงปริมาณไฮโดรคาร์บอนที่ย่อยสลายได้ (มิลลิกรัม) , ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร และจำนวนเซลล์ที่มีชีวิต (log CFU/ml) ที่สภาวะความเร็วในการหมุนของแผ่นหมุนชีวภาพ 2 รอบต่อนาที ระดับการจมน้ำของแผ่นหมุนชีวภาพ 20 เปอร์เซ็นต์ , 30 เปอร์เซ็นต์ และ 40 เปอร์เซ็นต์ในชุดการทดลองที่เดิมเชื้อจุลินทรีย์

#### 4.3.2 ผลของการย่อยสลายน้ำมันดิบที่สถานะการทดลอง ที่ความเร็วรอบในการหมุนของแผ่นหมุนชีวภาพ 3 รอบต่อนาที ระดับการจมตัวของแผ่นหมุน 20 เปอร์เซ็นต์ , 30 เปอร์เซ็นต์ และ 40 เปอร์เซ็นต์

การทดลองที่ระดับความเร็วรอบในการหมุนของแผ่นหมุนชีวภาพ 3 รอบต่อนาที ระดับการจมตัวของแผ่นหมุนชีวภาพ 20 เปอร์เซ็นต์ พบว่าระบบสามารถย่อยสลายน้ำมันดิบได้ 8,397.82 มิลลิกรัม (52.31 เปอร์เซ็นต์) , 9,179.65 มิลลิกรัม(57.18 เปอร์เซ็นต์) , 10,303.43 มิลลิกรัม (64.18 เปอร์เซ็นต์) ในวันที่ 1 , 3 , 5 ของการทดลอง และ ในวันที่ 7 ของการทดลองระบบสามารถย่อยสลายน้ำมันดิบได้มากที่สุด 10,358.01 มิลลิกรัม (64.52 เปอร์เซ็นต์) ทั้งนี้ค่าการเจริญเติบโตของกลุ่มจุลินทรีย์เท่ากับ  $12 \times 10^7$  CFU/มิลลิลิตร ,  $23 \times 10^7$  CFU/มิลลิลิตร ,  $50 \times 10^7$  CFU/มิลลิลิตร และ  $62 \times 10^7$  CFU/มิลลิลิตร ในวันที่ 1 , 3 , 5 และ 7 ตามลำดับ สำหรับค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตรมีค่าสูงที่สุดในวันที่ 7 ของการทดลองเท่ากับ 0.853 และมีค่าเท่ากับ 0.702 , 0.792 , 0.814 ในวันที่ 1 , 3 และวันที่ 5 ของการทดลองตามลำดับ

จากการทดลองที่ความเร็วรอบ 3 รอบต่อนาที ระดับการจมตัว 30% พบว่า ระบบสามารถย่อยสลายน้ำมันดิบได้ 8,590.47 มิลลิกรัม (53.51 เปอร์เซ็นต์) , 9,502.33 มิลลิกรัม (59.19 เปอร์เซ็นต์) , 10,499.28 มิลลิกรัม (65.40 เปอร์เซ็นต์) ในวันที่ 1 , 3 , 5 ของการทดลอง และ ในวันที่ 7 ของการทดลองระบบสามารถย่อยสลายน้ำมันดิบได้มากที่สุด 10,680.69 มิลลิกรัม (66.53 เปอร์เซ็นต์) ทั้งนี้ค่าการเจริญเติบโตของ กลุ่มจุลินทรีย์เท่ากับ  $5 \times 10^7$  CFU/มิลลิลิตร ,  $32 \times 10^7$  CFU/มิลลิลิตร ,  $46 \times 10^7$  CFU/มิลลิลิตร และ  $54 \times 10^7$  CFU/มิลลิลิตร ในวันที่ 1 , 3 , 5 และ 7 ตามลำดับ สำหรับค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตรมีค่าสูงที่สุดในวันที่ 7 ของการทดลองเท่ากับ 0.895 และมีค่า เท่ากับ 0.756 , 0.801 , 0.819 ในวันที่ 1 , 3 และวันที่ 5 ของการทดลองตามลำดับ

และจากการทดลองที่ความเร็วรอบ 3 รอบต่อนาที และระดับการจมตัว 40% พบว่า ระบบสามารถย่อยสลายน้ำมันดิบได้ 8,970.95 มิลลิกรัม (55.88 เปอร์เซ็นต์) , 9,947.03 มิลลิกรัม (61.96 เปอร์เซ็นต์) , 10,786.65 มิลลิกรัม (67.19 เปอร์เซ็นต์) ในวันที่ 1 , 3 , 5 ของการทดลอง และ ในวันที่ 7 ของการทดลองระบบสามารถย่อยสลายน้ำมันดิบได้มากที่สุด 10,881.37 มิลลิกรัม (67.78 เปอร์เซ็นต์) ทั้งนี้ค่าการเจริญเติบโตของ กลุ่มจุลินทรีย์เท่ากับ  $18 \times 10^7$  CFU/มิลลิลิตร ,  $44 \times 10^7$  CFU/มิลลิลิตร ,  $47 \times 10^7$  CFU/มิลลิลิตร และ  $20 \times 10^7$  CFU/มิลลิลิตร ในวันที่ 1 , 3 , 5 และ 7 ตามลำดับ สำหรับค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตรมีค่าสูงที่สุดในวันที่ 3 ของการทดลองเท่ากับ 0.892 และมีค่า เท่ากับ 0.783 , 0.867 , 0.813 ในวันที่ 1 , 3 และวันที่ 7 ของการทดลองตามลำดับ ดังภาพที่ 4.3



- ปริมาณไฮโดรคาร์บอนที่ย่อยสลายได้ (มิลลิกรัม) ที่ความเร็วรอบของแผ่นหมุนชีวภาพ 3 รอบต่อนาที ระดับการจมน้ำ 20%
- ◆— ปริมาณไฮโดรคาร์บอนที่ย่อยสลายได้ (มิลลิกรัม) ที่ความเร็วรอบของแผ่นหมุนชีวภาพ 3 รอบต่อนาที ระดับการจมน้ำ 30%
- ▲— ปริมาณไฮโดรคาร์บอนที่ย่อยสลายได้ (มิลลิกรัม) ที่ความเร็วรอบของแผ่นหมุนชีวภาพ 3 รอบต่อนาที ระดับการจมน้ำ 40%
- ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร ที่ความเร็วรอบของแผ่นหมุนชีวภาพ 3 รอบต่อนาที ระดับการจมน้ำ 20%
- ◆--- ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร ที่ความเร็วรอบของแผ่นหมุนชีวภาพ 3 รอบต่อนาที ระดับการจมน้ำ 30%
- ▲--- ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร ที่ความเร็วรอบของแผ่นหมุนชีวภาพ 3 รอบต่อนาที ระดับการจมน้ำ 40%
- จำนวนเซลล์ที่มีชีวิต (log CFU/ml.) ที่ความเร็วรอบของแผ่นหมุนชีวภาพ 3 รอบต่อนาที ระดับการจมน้ำ 20%
- ◇— จำนวนเซลล์ที่มีชีวิต (log CFU/ml.) ที่ความเร็วรอบของแผ่นหมุนชีวภาพ 3 รอบต่อนาที ระดับการจมน้ำ 30%
- △— จำนวนเซลล์ที่มีชีวิต (log CFU/ml.) ที่ความเร็วรอบของแผ่นหมุนชีวภาพ 3 รอบต่อนาที ระดับการจมน้ำ 40%

รูปที่ 4.3 แสดงปริมาณไฮโดรคาร์บอนที่ย่อยสลายได้ (มิลลิกรัม) , ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร และจำนวนเซลล์ที่มีชีวิต (log CFU/ml.) ที่สภาวะความเร็วในการหมุนของแผ่นหมุนชีวภาพ 3 รอบต่อนาที ระดับการจมน้ำของแผ่นหมุนชีวภาพ 20 เปอร์เซ็นต์ , 30 เปอร์เซ็นต์ และ 40 เปอร์เซ็นต์ ในชุดการทดลองที่เดิมเชื้อจุลินทรีย์

จะสังเกตได้ว่าที่ภาวะความเร็วรอบ 3 รอบต่อนาที และระดับการจมตัว 20 เปอร์เซ็นต์ และ 30 เปอร์เซ็นต์ นั้น การเจริญเติบโตของกลุ่มจุลินทรีย์เป็นไปได้ในทิศทางเดียวกัน คือ เพิ่มขึ้นเรื่อยๆ ในวันที่ 1 ถึงวันที่ 7 ของการทดลอง ทั้งนี้อาจเป็นเพราะว่าแหล่งคาร์บอนซึ่งในที่นี้คือ น้ำมันดิบ (Tapis crude oil) ยังถูกย่อยสลายไม่หมด จึงทำให้มีแหล่งคาร์บอนเพียงพอต่อการเจริญเติบโตของกลุ่มจุลินทรีย์ แต่ที่ภาวะความเร็วรอบ 3 รอบต่อนาที ระดับการจมตัว 40 เปอร์เซ็นต์ การเจริญเติบโตของกลุ่มจุลินทรีย์จะเริ่มลดลงเรื่อยๆ ตั้งแต่วันที่ 3 ของการทดลอง จนกระทั่งลดลงต่ำสุดในวันที่ 7 ของการทดลอง ทั้งนี้อาจเป็นเพราะแหล่งคาร์บอนได้ถูกย่อยสลายจนเกือบหมดอย่างรวดเร็วภายในวันแรกของการทดลองไม่เพียงพอต่อการเจริญเติบโตของกลุ่มจุลินทรีย์

#### 4.3.3 ผลของการย่อยสลายน้ำมันดิบที่สภาวะการทดลอง ที่ความเร็วรอบในการหมุนของแผ่นหมุนชีวภาพ 4 รอบต่อนาที ระดับการจมตัวของแผ่นหมุน 20 เปอร์เซ็นต์ , 30 เปอร์เซ็นต์ และ 40 เปอร์เซ็นต์

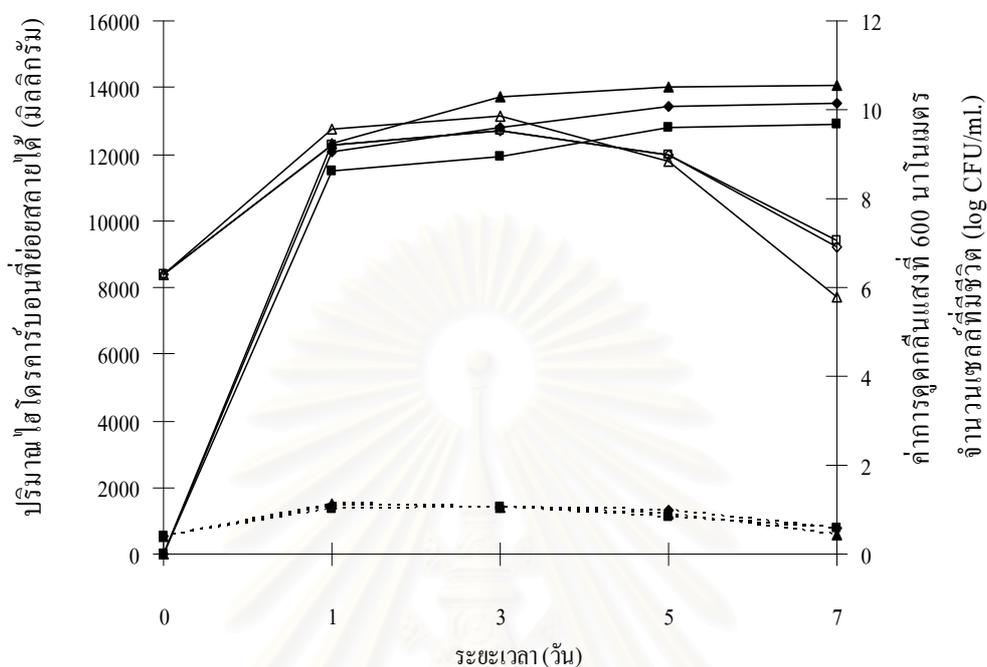
การทดลองที่ระดับความเร็วรอบในการหมุนของแผ่นหมุนชีวภาพ 4 รอบต่อนาที ระดับการจมตัวของแผ่นหมุนชีวภาพ 20 เปอร์เซ็นต์ พบว่าระบบสามารถย่อยสลายน้ำมันดิบได้ 11,481.79 มิลลิกรัม (71.52 เปอร์เซ็นต์), 11,926.48 มิลลิกรัม (74.29 เปอร์เซ็นต์) , 12,793.39 มิลลิกรัม (79.69 เปอร์เซ็นต์) ในวันที่ 1, 3, 5 ของการทดลอง และ ในวันที่ 7 ของการทดลองระบบสามารถย่อยสลายน้ำมันดิบได้มากที่สุด 12,884.90 มิลลิกรัม (80.26 เปอร์เซ็นต์) ทั้งนี้ค่าการเจริญเติบโตของกลุ่มจุลินทรีย์เท่ากับ  $35 \times 10^8$  CFU/มิลลิลิตร ,  $16 \times 10^8$  CFU/มิลลิลิตร ,  $93 \times 10^7$  CFU/มิลลิลิตร และ  $113 \times 10^7$  CFU/มิลลิลิตร ในวันที่ 1 , 3 , 5 และ 7 ตามลำดับ สำหรับค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตรมีค่าสูงที่สุดในวันที่ 1 ของการทดลองเท่ากับ 1.037 และมีค่าเท่ากับ 1.009, 0.825, 0.587 ในวันที่ 3, 5 และวันที่ 7 ของการทดลองตามลำดับ

จากการทดลองที่ความเร็วรอบ 4 รอบต่อนาที ระดับการจมตัว 30% พบว่าระบบสามารถย่อยสลายน้ำมันดิบได้ 12,077.39 มิลลิกรัม (75.23 เปอร์เซ็นต์) , 12,783.76 มิลลิกรัม (79.63 เปอร์เซ็นต์) , 13,411.47 มิลลิกรัม (83.54 เปอร์เซ็นต์) ในวันที่ 1, 3, 5 ของการทดลอง และ ในวันที่ 7 ของการทดลองระบบสามารถย่อยสลายน้ำมันดิบได้มากที่สุด 13,517.43 มิลลิกรัม (84.20 เปอร์เซ็นต์) ทั้งนี้ค่าการเจริญเติบโตของกลุ่มจุลินทรีย์เท่ากับ  $34 \times 10^8$  CFU/มิลลิลิตร ,  $16 \times 10^8$  CFU/มิลลิลิตร ,  $93 \times 10^7$  CFU/มิลลิลิตร และ  $81 \times 10^7$  CFU/มิลลิลิตร ในวันที่ 1 , 3 , 5 และ 7 ตามลำดับ สำหรับค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตรมีค่าสูงที่สุดในวันที่ 1 ของการทดลองเท่ากับ 1.082 และมีค่าเท่ากับ 1.072 , 0.982 , 0.590 ในวันที่ 3 , 5 และวันที่ 7 ของการทดลองตามลำดับ

และจากการทดลองที่ความเร็วรอบ 4 รอบต่อนาที และระดับการจมตัว 40% พบว่า ระบบสามารถย่อยสลายน้ำมันดิบได้ 12,318.20 มิลลิกรัม (76.73 เปอร์เซ็นต์) , 13,726.13 มิลลิกรัม (85.50 เปอร์เซ็นต์) , 14,023.13 มิลลิกรัม (87.35 เปอร์เซ็นต์) ในวันที่ 1 , 3 , 5 ของการทดลอง และ ในวันที่ 7 ของการทดลองระบบสามารถย่อยสลายน้ำมันดิบได้มากที่สุด 14,076.10 มิลลิกรัม (87.68 เปอร์เซ็นต์) ทั้งนี้ค่าการเจริญเติบโตของกลุ่มจุลินทรีย์เท่ากับ  $73 \times 10^8$  CFU/มิลลิลิตร ,  $38 \times 10^8$  CFU/มิลลิลิตร ,  $68 \times 10^7$  CFU/มิลลิลิตร และ  $6 \times 10^5$ CFU/มิลลิลิตร ในวันที่ 1 , 3 , 5 และ 7 ตามลำดับ สำหรับค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตรมีค่าสูงที่สุดในวันที่ 1 ของการทดลองเท่ากับ 1.114 และมีค่าเท่ากับ 1.044 , 0.919 , 0.450 ในวันที่ 3 , 5 และวันที่ 7 ของการทดลองตามลำดับ ดังภาพที่ 4.4

สังเกตได้ว่าการเจริญเติบโตของกลุ่มจุลินทรีย์ที่ภาวะความเร็วรอบของแผ่นหมุนชีวภาพ 3 รอบต่อนาที ระดับการจมตัวของแผ่นหมุนชีวภาพ 20 เปอร์เซ็นต์ , 30 เปอร์เซ็นต์ และ 40 เปอร์เซ็นต์ การเจริญเติบโตของกลุ่มจุลินทรีย์จะเป็นไปในทิศทางเดียวกันคือ จะเริ่มลดลงเรื่อย ๆ ตั้งแต่วันที่ 3 ของการทดลอง จนกระทั่งลดลงต่ำสุดในวันที่ 7 ของการทดลอง ทั้งนี้อาจเป็นเพราะน้ำมันดิบซึ่งเป็นแหล่งคาร์บอนได้ถูกย่อยสลายจนเกือบหมดอย่างรวดเร็วภายในวันแรกของการทดลองไม่เพียงพอต่อการเจริญเติบโตของกลุ่มจุลินทรีย์

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



- ปริมาณไฮโดรคาร์บอนที่ปล่อยสลายได้ (มิลลิกรัม) ที่ภาวะการทดลองความเร็วรอบในการหมუნ 4 รอบต่อนาที ระดับการจมน้ำ 20%
- ◆ ปริมาณไฮโดรคาร์บอนที่ปล่อยสลายได้ (มิลลิกรัม) ที่ภาวะการทดลองความเร็วรอบในการหมუნ 4 รอบต่อนาที ระดับการจมน้ำ 30%
- ▲ ปริมาณไฮโดรคาร์บอนที่ปล่อยสลายได้ (มิลลิกรัม) ที่ภาวะการทดลองความเร็วรอบในการหมუნ 4 รอบต่อนาที ระดับการจมน้ำ 40%
- ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร ที่ภาวะการทดลองความเร็วรอบในการหมუნ 4 รอบต่อนาที ระดับการจมน้ำ 20%
- ◇ ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร ที่ภาวะการทดลองความเร็วรอบในการหมუნ 4 รอบต่อนาที ระดับการจมน้ำ 30%
- ▲ ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร ที่ภาวะการทดลองความเร็วรอบในการหมუნ 4 รอบต่อนาที ระดับการจมน้ำ 40%
- จำนวนเซลล์ที่มีชีวิต (log CFU/mL) ที่ภาวะการทดลองความเร็วรอบในการหมუნ 4 รอบต่อนาที ระดับการจมน้ำ 20%
- ◆ จำนวนเซลล์ที่มีชีวิต (log CFU/mL) ที่ภาวะการทดลองความเร็วรอบในการหมუნ 4 รอบต่อนาที ระดับการจมน้ำ 30%
- ▲ จำนวนเซลล์ที่มีชีวิต (log CFU/mL) ที่ภาวะการทดลองความเร็วรอบในการหมუნ 4 รอบต่อนาที ระดับการจมน้ำ 40%

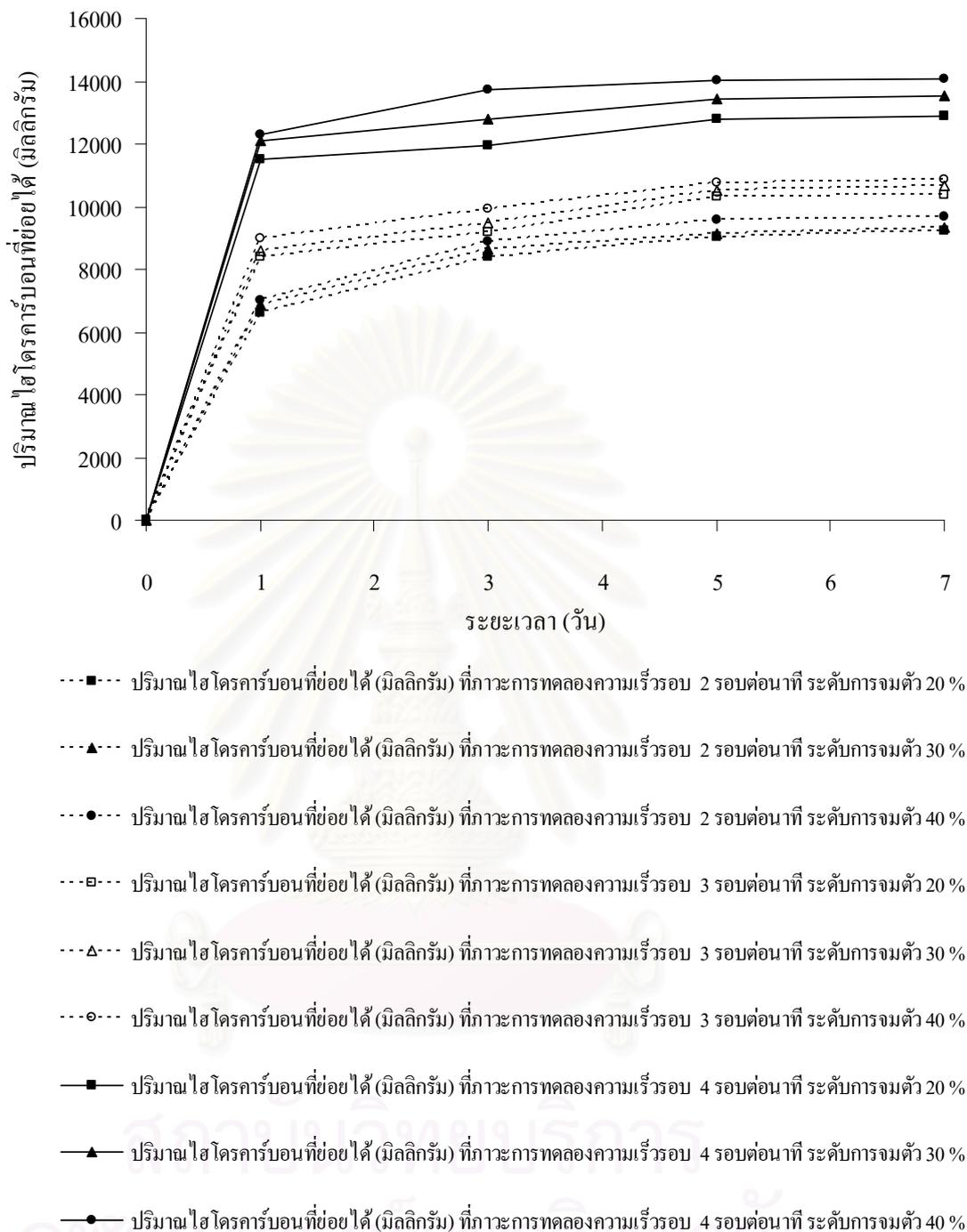
รูปที่ 4.4 แสดงปริมาณไฮโดรคาร์บอนที่ปล่อยสลายได้ (มิลลิกรัม) , ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร และจำนวนเซลล์ที่มีชีวิต (log CFU/mL) ที่สภาวะความเร็วในการหมუნของแผ่นหมუნชีวภาพ 4 รอบต่อนาที ระดับการจมน้ำของแผ่นหมუნชีวภาพ 20 เปอร์เซ็นต์ , 30 เปอร์เซ็นต์ และ 40 เปอร์เซ็นต์ ในชุดการทดลองที่เติมเชื้อจุลินทรีย์

และเมื่อทำการวิเคราะห์ค่าทางสถิติเพื่อเปรียบเทียบความสำคัญของทั้งสองปัจจัยที่ส่งผลต่อระบบบำบัด พบว่า ทั้ง 2 ปัจจัย คือ ความเร็วรอบในการหมุนของแผ่นหมุนชีวภาพ และระดับการจมตัว มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ (ภาคผนวก ก) และ เมื่อพิจารณาจากความชันของกราฟ ปัจจัยของความเร็วยรอบในการหมุนของแผ่นหมุนชีวภาพส่งผลต่อความสามารถของระบบบำบัดมากกว่า ปัจจัยของระดับการจมตัวของแผ่นหมุนชีวภาพ ดังภาคผนวก ก

#### 4.3.4 การคัดเลือกสภาวะเหมาะสมที่จะนำไปใช้ในการทดลองกับระบบต่อเนื่อง

จากภาพที่ 4.5 จะเห็นได้ว่าการย่อยสลายน้ำมันดิบในระบบบำบัดแผ่นหมุนชีวภาพขนาด 4 ลิตรนี้ จะมีประสิทธิภาพสูงสุดที่ภาวะความเร็วรอบในการหมุนของแผ่นหมุนชีวภาพ 4 รอบต่อนาที ที่ระดับการจมตัว 40 เปอร์เซ็นต์ โดยระบบสามารถย่อยสลายน้ำมันดิบได้ 14,076.10 มิลลิกรัม (87.68 เปอร์เซ็นต์) ภายในระยะเวลา 7 วัน โดยอัตราการย่อยสลายสูงสุดของน้ำมันดิบเกิดขึ้นในวันที่ 1 คือจาก 16,053.95 มิลลิกรัมในวันที่ 0 เป็น 12,318.20 มิลลิกรัม (76.73 เปอร์เซ็นต์) และ 13,726.13 มิลลิกรัม(85.50 เปอร์เซ็นต์)ในวันที่ 3 และ 14,023 มิลลิกรัม (87.35%) ในวันที่ 5 ทั้งนี้ มีการเจริญเติบโตและค่าการดูดกลืนแสงของกลุ่มจุลินทรีย์สูงสุดในวันที่ 1 ของการทดลอง คือ  $73 \times 10^8$  CFU/มิลลิลิตร และ 1.114 ตามลำดับ แต่หลังจากนั้นการเจริญเติบโตของกลุ่มจุลินทรีย์และค่าการดูดกลืนแสงก็ลดลงเรื่อย ๆ เป็น  $38 \times 10^8$  CFU/มิลลิลิตร และ  $1.044, 68 \times 10^7$  CFU/มิลลิลิตร และ 0.919 ในวันที่ 3 และวันที่ 5 ของการทดลอง จนกระทั่งวันที่ 7 ของการทดลอง ค่าจำนวนเซลล์ของสิ่งมีชีวิตและค่าการดูดกลืนแสงลดลงต่ำสุดเท่ากับ  $6 \times 10^5$  CFU/มิลลิลิตร และ 0.450 และเมื่อทำการหาความสัมพันธ์ทางสถิติในรูปแบบของสมการเชิงเส้นถดถอยระหว่างค่าจำนวนเซลล์ของสิ่งมีชีวิตกับค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร ปรากฏว่า มีความสัมพันธ์เป็นไปในทิศทางเดียวกัน (ภาคผนวก ก)

เมื่อศึกษาประสิทธิภาพการย่อยสลายน้ำมันดิบที่ความเร็วรอบในการหมุน 4 รอบต่อนาที ระดับการจมตัว 40 % พบว่าสามารถย่อยสลายน้ำมันดิบในวันที่ 5 ได้ 14,023.13 มิลลิกรัม และในวันที่ 7 สามารถย่อยได้ 14,076.10 มิลลิกรัม (87.68 เปอร์เซ็นต์) ซึ่งปริมาณไฮโดรคาร์บอนที่ย่อยสลายในวันที่ 5 และวันที่ 7 ไม่แตกต่างกันมากนัก ดังนั้นในการเลือกสภาวะที่เหมาะสมในการนำไปทดลองต่อกับระบบต่อเนื่อง ควรเลือกที่ภาวะความเร็วรอบในการหมุน 4 รอบต่อนาที ระดับการจมตัว 40 % และทำเก็บตัวอย่างทุก 24 ชั่วโมงจนถึงสภาวะคงที่ ซึ่งเมื่อนำระบบบำบัดไปใช้จริง การใช้ระยะเวลาในการกักเก็บ 5 วัน จะสามารถประหยัดค่าใช้จ่ายในการบำบัดน้ำมันดิบได้มากกว่าใช้ระยะเวลาในการกักเก็บ 7 วัน



รูปที่ 4.5 แสดงปริมาณไฮโดรคาร์บอนที่สามารถข้อยได้ (มิลลิกรัม) ที่สภาวะที่มีการผสมน้ำมันดิบ (Tapis crude oil) 0.5 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร ความเป็นกรด-เบสเริ่มต้นเท่ากับ 8.0 อัตราส่วนระหว่างแบคทีเรียที่ผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพต่อกลุ่มจุลินทรีย์ที่สามารถข้อยสลายน้ำมันดิบได้ เป็น 2:1 ที่สภาวะความเร็วในการหมุนของแผ่นหมุนชีวภาพ 2 รอบต่อนาที 3 รอบต่อนาที และ 4 รอบต่อนาที ระดับการจมน้ำของแผ่นหมุนชีวภาพ 20 เปอร์เซ็นต์ 30 เปอร์เซ็นต์ และ 40 เปอร์เซ็นต์

#### 4.4 การศึกษาหาอัตราการย่อยสลายของไฮโดรคาร์บอนในน้ำมันดิบโดยการทดลองแบบต่อเนื่อง

การทดลองแบบต่อเนื่องในระบบบำบัดแผ่นหมุนชีวภาพทำได้โดยการเติมน้ำมันดิบ 0.5 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตรในอาหารเหลว BH Broth 4 ลิตร ความเป็นกรด-เบสเริ่มต้นเท่ากับ 8.0 ผ่านทางสายยางซิลิโคน ที่สภาวะความเร็วรอบในการหมุน 4 รอบต่อนาที ระดับการจมตัวของแผ่นหมุน 40 เปอร์เซ็นต์ มีระยะเวลาการกักเก็บ 5 วัน หรือ 120 ชั่วโมง โดยอัตราการไหลเข้าสู่ระบบ และอัตราการไหลออกจากระบบสามารถคำนวณได้จาก สูตร

$$DT = \frac{V}{F}$$

เมื่อ	DT	คือ	เวลากักเก็บ (Detention Time) หน่วยเป็น ชั่วโมง
	V	คือ	ปริมาตรของน้ำเสีย (Volume) หน่วยเป็น มิลลิเมตร
	F	คือ	อัตราการไหล (Flow Rate) หน่วยเป็น มิลลิเมตรต่อชั่วโมง

เมื่อทำการแทนค่า จะได้

$$120 = \frac{4,000}{F}$$

$$F = 33.33 \text{ มิลลิเมตรต่อชั่วโมง}$$

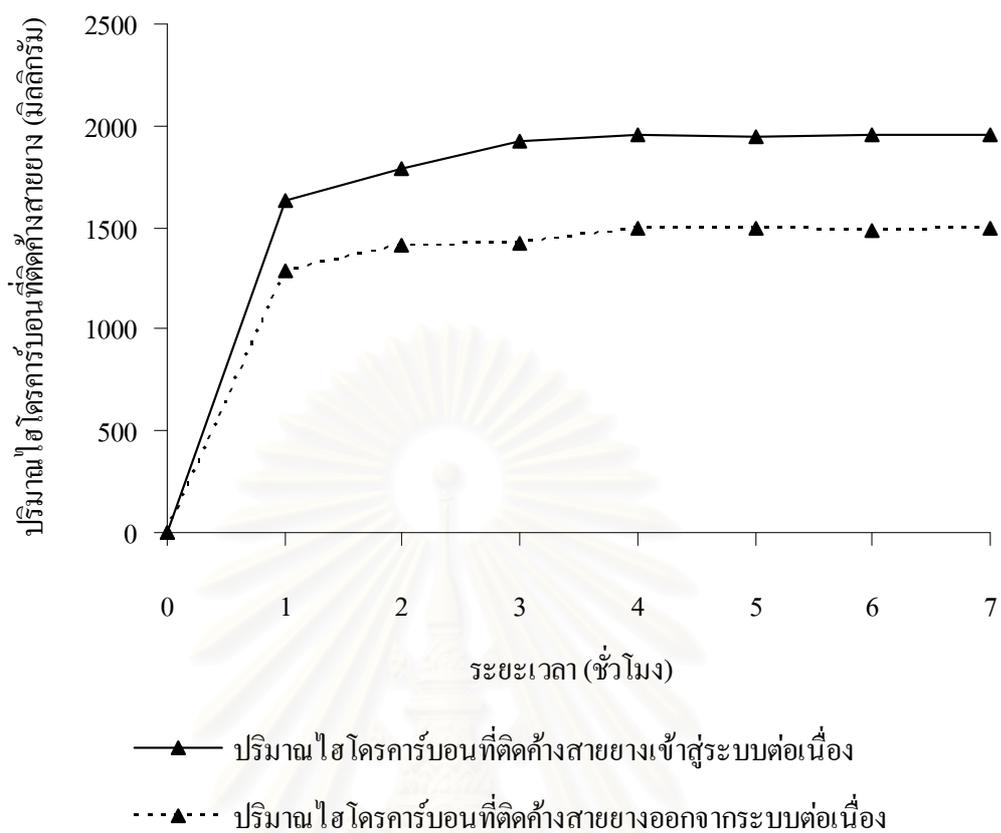
ในการทดลองกับระบบต่อเนื่อง โดยกำหนดให้มีอัตราการไหลเข้าและออกจากระบบเท่ากับ 33.33 มิลลิเมตรต่อชั่วโมง และทำการเก็บตัวอย่างทุก 24 ชั่วโมง จนกว่าจะถึงสภาวะคงที่ พบว่า มีปริมาณน้ำมันดิบที่ติดค้างสายยางที่เข้าสู่ระบบและออกจากระบบเป็นจำนวนเล็กน้อย คือในสายยางที่เข้าสู่ระบบจะพบน้ำมันดิบติดค้างอยู่ 1,633.76 มิลลิกรัม คิดเป็น 10.18 เปอร์เซ็นต์ ในชั่วโมงที่ 1 1,785.20 มิลลิกรัม (11.12 เปอร์เซ็นต์) , 1,923.80 มิลลิกรัม (11.98 เปอร์เซ็นต์) , 1,952.16 มิลลิกรัม (12.16 เปอร์เซ็นต์) และ 1,950.55 มิลลิกรัม (12.15 เปอร์เซ็นต์) ในชั่วโมงที่ 2, 3, 4 และ 5 ตามลำดับ เพราะฉะนั้น หลังจากชั่วโมงที่ 5 จะไม่พบน้ำมันดิบติดค้างสายยางอีก สายยางที่ออกจากระบบก็เช่นกัน จะพบว่า มีน้ำมันดิบติดค้างอยู่ 1,283.25 มิลลิกรัม คิดเป็น 7.99 เปอร์เซ็นต์ ในชั่วโมงที่ 1 1,412.75 มิลลิกรัม (8.80 เปอร์เซ็นต์) , 1,423.99 มิลลิกรัม (8.87 เปอร์เซ็นต์) , 1,490.88 มิลลิกรัม (9.29 เปอร์เซ็นต์) และ 1,495.69 มิลลิกรัม (9.32 เปอร์เซ็นต์) ในชั่วโมงที่ 2, 3, 4 และ 5 ตามลำดับ เพราะฉะนั้น หลังจากชั่วโมงที่ 5 จะไม่พบน้ำมันดิบติดค้างสายยางที่ออกจากระบบอีก จะเห็นได้ว่า ปัญหาน้ำมันดิบติดค้างสายยางที่เข้าสู่ระบบ และออกจากระบบไม่ส่งผลกระทบต่อการทำงานของ

ระบบต่อเนื่อง เนื่องจากสายยางที่เข้าสู่ระบบและออกจากระบบจะอึดตัวไปด้วยน้ำมันดิบใน ชั่วโมงที่ 5 ของการทดลอง แสดงดังรูปที่ 4.6

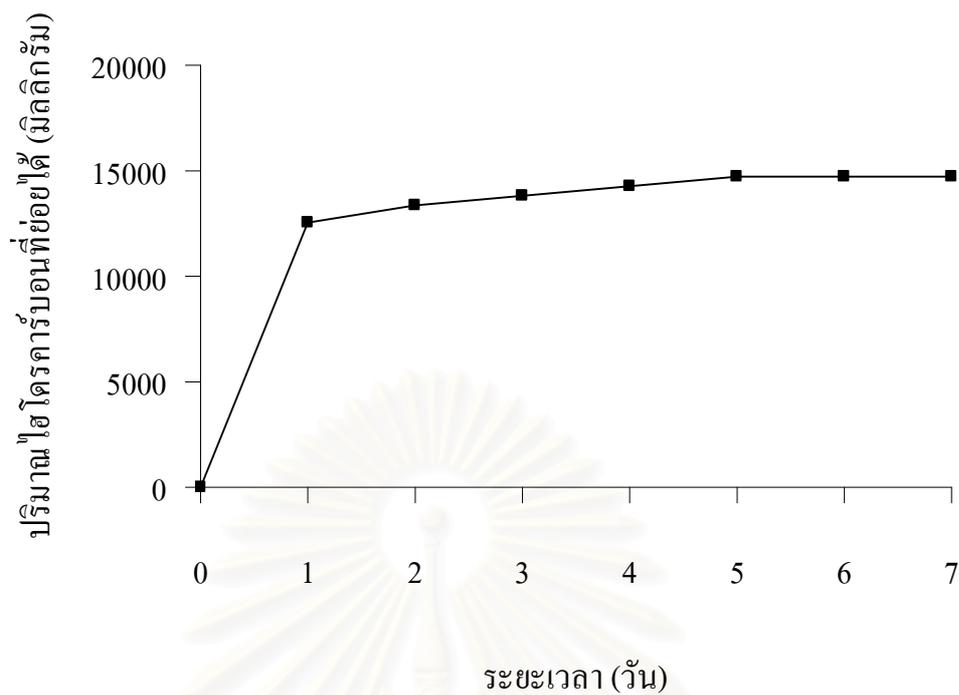
จากรูปที่ 4.7 พบว่า เมื่อทำการเติมน้ำมันดิบ 0.5 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตรในอาหารเหลว BH Broth 4 ลิตร ความเป็นกรด-เบสเริ่มต้นเท่ากับ 8.0 โดยกำหนดให้มีอัตราการไหลเข้า 33.33 มิลลิลิตรต่อชั่วโมง เริ่มต้นระบบมีน้ำมันดิบหรือไฮโดรคาร์บอนทั้งหมดเท่ากับ 16,053.95 มิลลิกรัม และเมื่อทำการเติมไฮโดรคาร์บอนหรือน้ำมันดิบเข้าไปในระบบโดยผ่านสายยางในปริมาณ 33.33 มิลลิลิตรต่อชั่วโมง 1 วันจะมีปริมาณไฮโดรคาร์บอนหรือน้ำมันดิบถูกป้อนเข้า สู่อุปกรณ์ 3,210.46 มิลลิกรัมต่อลิตรต่อวัน อย่างสม่ำเสมอเป็นเวลา 5 วัน ทำการเก็บตัวอย่างทุก 24 ชั่วโมงจนถึงสภาวะคงที่ของการทดลอง เมื่อเวลาผ่านไป 1 วัน ปริมาณน้ำมันดิบถูกย่อยสลายไป 12,508.70 มิลลิกรัม คิดเป็น 77.92 เปอร์เซ็นต์ ในวันที่ 2, 3, 4 จะมีปริมาณน้ำมันดิบถูกย่อยสลายไป 13,333.34 มิลลิกรัม (83.05 เปอร์เซ็นต์), 13,800.51 มิลลิกรัม (85.96 เปอร์เซ็นต์) และ 14,295.51 มิลลิกรัม (89.05 เปอร์เซ็นต์) ตามลำดับ และเมื่อเวลาผ่านไป 5 วัน ระบบจะเริ่มเข้าสู่สภาวะคงที่ปริมาณน้ำมันดิบถูกย่อยสลายไป 14,763.75 มิลลิกรัม คิดเป็น 91.96 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่จำนวนเซลล์ที่มีชีวิตในระบบเพิ่มขึ้นจาก  $2 \times 10^6$  CFU/มิลลิลิตร ในวันที่ 0 เป็น  $27 \times 10^8$  CFU/มิลลิลิตร และ  $36 \times 10^8$  CFU/มิลลิลิตร เมื่อเวลาผ่านไป 1 วันและ 5 วัน โดยค่าการดูดกลืนแสงที่ 600 นาโนเมตร มีค่าเพิ่มขึ้นจาก 0.356 ในวันที่ 0 เป็น 0.986 และ 0.992 ในวันที่ 1 และ วันที่ 5 ตามลำดับ โดยค่าการดูดกลืนแสงที่ 600 นาโนเมตร กับค่าจำนวนเซลล์ที่มีชีวิตทั้งหมดมีค่าค่อนข้างคงที่เมื่อเวลาผ่านไป 1 วัน และแปรผกผันกับปริมาณไฮโดรคาร์บอนทั้งหมดที่เหลือในระบบในลักษณะคงที่ดังรูปที่ 4.7 และ รูปที่ 4.8

และเมื่อพิจารณาที่สภาวะคงที่ของการทดลอง คือที่ระยะเวลา 5 วัน ระบบสามารถย่อยสลายน้ำมันดิบได้ 14,763.75 มิลลิกรัม จากที่มีปริมาณไฮโดรคาร์บอนเริ่มต้นในระบบเท่ากับ 16,053.95 มิลลิกรัม ซึ่งแสดงว่ายังคงมีปริมาณไฮโดรคาร์บอนเหลืออยู่ในระบบเท่ากับ 1,290.20 มิลลิกรัมในระบบขนาด 4 ลิตร หรือเท่ากับ 322.55 มิลลิกรัมต่อลิตร

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



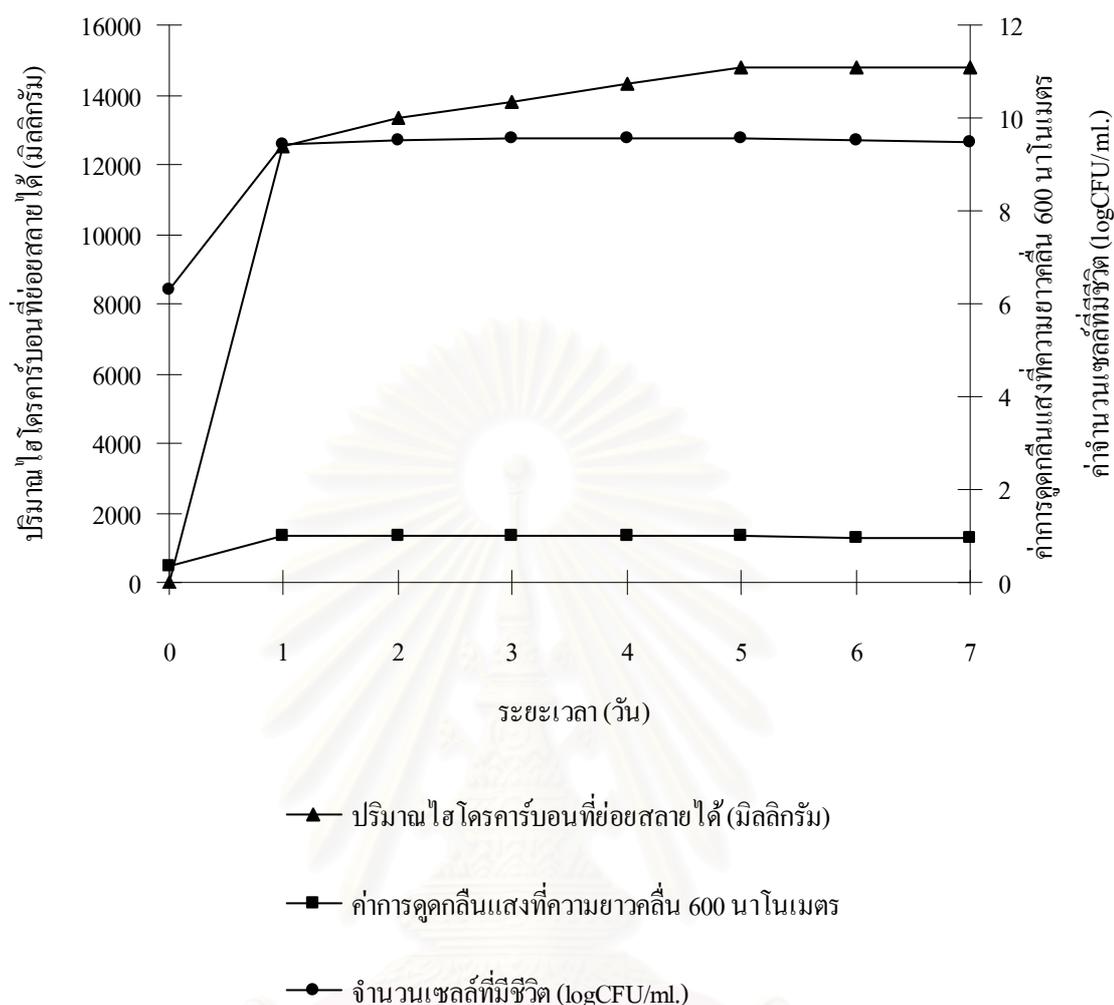
รูปที่ 4.6 แสดงปริมาณไฮโดรคาร์บอนที่ติดค้างสายยาง (มิลลิกรัม) ที่เข้าสู่ระบบและออกจากระบบเมื่อทำการทดลองในระบบต่อเนื่อง



— ปริมาณไฮโดรคาร์บอนที่ขจัดได้ (มิลลิกรัม) ในระบบแบบต่อเนื่อง

รูปที่ 4.7 แสดงปริมาณไฮโดรคาร์บอนทั้งหมดที่ขจัดได้ (มิลลิกรัม) ในการทดลองแบบต่อเนื่อง ที่ความเร็วรอบในการหมุนของแผ่นหมุนชีวภาพ 4 รอบต่อนาที ระดับการจมตัวของแผ่นหมุน 40 เปอร์เซ็นต์ ในสถานะที่มีการผสมน้ำมันดิบ (Tapis crude oil) 0.5 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร ความเป็นกรด-ด่างเริ่มต้นเท่ากับ 8.0 อัตราส่วนระหว่างแบคทีเรียที่ผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพต่อกลุ่มจุลินทรีย์ที่สามารถย่อยสลายน้ำมันดิบได้เป็น 2:1

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 4.8 เปรียบเทียบปริมาณไฮโดรคาร์บอนทั้งหมดที่ย่อยสลายได้ (มิลลิกรัม), ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร และ ค่าจำนวนเซลล์ที่มีชีวิต (logCFU/ml) ในการทดลองแบบต่อเนื่องที่ความเร็วรอบในการหมุนของแผ่นหมุนชีวภาพ 4 รอบต่อนาที ระดับการจมน้ำของแผ่นหมุน 40% ในสถานะที่มีการผสมน้ำมันดิบ (Tapis crude oil) 0.5 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร ความเป็นกรด-เบส เริ่มต้นเท่ากับ 8.0 อัตราส่วนระหว่างแบคทีเรียที่ผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพต่อกลุ่มจุลินทรีย์ที่สามารถย่อยสลายน้ำมันดิบได้เป็น 2:1

#### 4.5 การศึกษาเซลล์จุลินทรีย์ และ องค์ประกอบของเมือกชีวภาพ

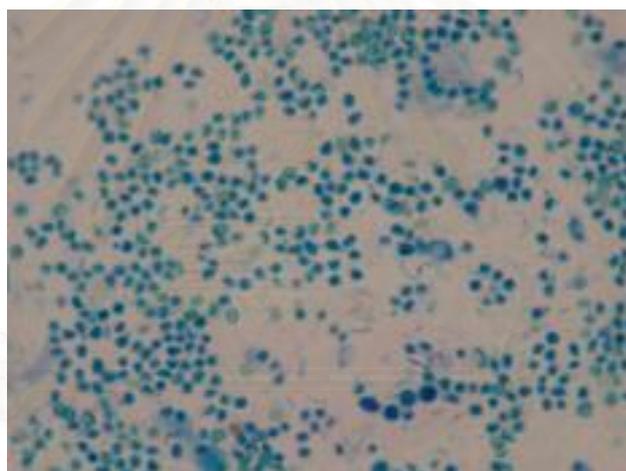
เมือกชีวภาพเป็นส่วนที่สร้างจากจุลินทรีย์ที่อยู่ในระบบบำบัด การทดสอบเมือกชีวภาพนี้ เพื่อให้แน่ใจว่าสิ่งที่ติดอยู่บนแผ่นหมุนชีวภาพเป็นเมือกชีวภาพจริงไม่ใช่เป็นเพียงแต่คราบน้ำมัน ติดอยู่บนแผ่นหมุนเท่านั้น เมือกชีวภาพที่นำมาใช้ศึกษาเป็นเมือกชีวภาพที่เกิดขึ้นจากการทดลองที่ ความเร็วรอบของแผ่นหมุนชีวภาพ 4 รอบต่อนาที ระดับการจมตัว 40 เปอร์เซ็นต์ ในวันที่ 7 ของ การทดลอง

เมือกชีวภาพที่เกิดขึ้นจากการทดลองที่ความเร็วรอบของแผ่นหมุนชีวภาพ 4 รอบ ต่อนาที ระดับการจมตัว 40 เปอร์เซ็นต์ที่ระยะเวลา 7 วัน เมือกชีวภาพจะมีความหนาประมาณ 0.59 มิลลิเมตร เมื่อนำเอาเมือกชีวภาพไปทำการทดสอบโดยการย้อม Gram stain พบว่า มีเซลล์ซึ่ง ติดทั้งสีแดงและสีน้ำเงิน แสดงว่าบริเวณแผ่นหมุนชีวภาพมีเซลล์แบคทีเรียทั้งแกรมบวกและ แกรมลบอยู่ซึ่งสอดคล้องกับเชื้อจุลินทรีย์เริ่มต้นที่ใส่ลงในระบบ นั่นคือ *Bacillus sp.* B 3-1 จัดเป็น แบคทีเรียแกรมบวก ส่วน *Pseudomonas sp.* C 1-2 และ *Acinetobacter calcoaceticus* TISTR 360 เป็นแบคทีเรียแกรมลบ จากนั้นยังนำเมือกชีวภาพไปทำการย้อมสี methylene blue พบเซลล์รูปร่าง กลมค่อนข้างใหญ่ คล้ายเซลล์ยีสต์ ซึ่งสอดคล้องกับเชื้อจุลินทรีย์เริ่มต้นที่ใส่ลงในระบบบำบัด นั่น คือ *Yarrowia sp.* D 2-1 ดังรูปที่ 4.10 จากนั้นเมือกชีวภาพขนาดไปทำการทดสอบโปรตีนโดยวิธี ของ Lowry (1995) พบว่า 1 ตารางเซนติเมตรของเมือกชีวภาพ จะมีโปรตีนหรือเซลล์จุลินทรีย์อยู่ 0.420 มิลลิกรัม หลังจากนั้นเอาเมือกชีวภาพไปทดสอบน้ำตาลโดยวิธี Benedict's Test ผลปรากฏ ว่าเกิดเป็นตะกอนสีส้มอิฐแสดงว่าเชื้อจุลินทรีย์ที่อยู่บนแผ่นหมุนชีวภาพยังได้เปลี่ยน โมเลกุลของ ไฮโดรคาร์บอนไปเป็นน้ำตาลเพื่อนำไปใช้สำหรับการเจริญเติบโต แต่ยังมีระยะเวลาที่ไม่นาน พอที่จะเปลี่ยนเป็นเซลล์ลูโลสและกลายเมือกชีวภาพที่มีขนาดหนาได้ ทั้งนี้ต้องอาศัยระยะเวลานาน ฉะนั้นในการใช้ระบบบำบัดแผ่นหมุนชีวภาพให้มีประสิทธิภาพสูงสุด ควรที่จะทิ้งระบบไว้เพื่อให้ เกิดเมือกชีวภาพที่มีความหนาที่เหมาะสม ก่อนที่จะนำมาใช้บำบัดน้ำเสียจริง

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 4.9 เมือกชีวภาพที่เกิดขึ้นในระบบแผ่นหมุนชีวภาพ



รูปที่ 4.10 เซลล์จุลินทรีย์ที่เกิดจากการย้อมสี methylene blue ที่กำลังขยาย 40 เท่า

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## บทที่ 5

### สรุปผลการวิจัย อภิปรายผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ

#### 5.1 สรุปผลการวิจัย และอภิปรายผล

น้ำมันดิบ (Tapis crude oil) ที่ใช้ในงานวิจัยนี้มีค่าความถ่วงจำเพาะ (Specific gravity) เท่ากับ 45.5 API ซึ่งสูงกว่า 45.3 API จึงจัดเป็นน้ำมันดิบชนิดเบา (Light crude oil) ประกอบไปด้วยอัลเคนไฮโดรคาร์บอนตั้งแต่  $C_{10}$ - $C_{28}$  ประมาณ 94 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก และมีองค์ประกอบที่มีจุดเดือด (Boiling point) ต่ำกว่า 149 °ซ ประมาณ 21.90 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก ซึ่งส่วนใหญ่ องค์ประกอบในส่วนนี้ ( $C_5$ - $C_{10}$ ) จะพบได้ในผลิตภัณฑ์น้ำมันเบนซิน ซึ่งจะระเหยไปได้ง่ายภายในระยะเวลาสั้น ๆ เมื่อมีการเขย่าหรือมีการให้อากาศหรือออกซิเจนแก่ระบบ ทั้งนี้คาดว่าจะเกิดกระบวนการบางอย่างขึ้น เช่น การระเหย (Evaporation) เกิดการออกซิเดชันด้วยแสง (Photooxidation) หรือเรียกว่าเกิดการสลายตัวของน้ำมันดิบทางกายภาพ (Abiotic loss) และหลังจากนั้นองค์ประกอบในน้ำมันดิบส่วนที่เหลือที่เป็นไฮโดรคาร์บอนที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูง และจุดเดือดสูง จะต้องผ่านการบำบัดหรือกำจัดออกไปจากสิ่งแวดล้อมด้วยวิธีการอื่น ๆ เช่น วิธีการทางเคมี และ/หรือวิธีการทางชีวภาพ ซึ่งเป็นการใช้จุลินทรีย์ในการย่อยสลายน้ำมันส่วนที่เหลือ (Biodegradation) ทั้งนี้ การใช้จุลินทรีย์ในการย่อยสลาย จำเป็นต้องปรับภาวะต่าง ๆ ให้เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์เพื่อเร่งให้เกิดการย่อยสลายทางชีวภาพให้เร็วขึ้น เช่น อุณหภูมิ ค่าความเป็นกรด-เบส และอัตราการให้อากาศ ฯลฯ แก่สิ่งแวดล้อม หรือระบบบำบัดนั้น ๆ การเติมเชื้อจุลินทรีย์ (Seeding) ลงในระบบหรือสิ่งแวดล้อมเป็นการเพิ่มจำนวนจุลินทรีย์ที่สามารถย่อยสลายน้ำมันให้มากขึ้น โดยคุณสมบัติของจุลินทรีย์ที่ดีควรมีลักษณะทางพันธุกรรมคงที่ (Genetic Stability) สามารถเจริญเติบโตได้รวดเร็ว สามารถคงอยู่ในระบบและทนต่อสภาวะแวดล้อมได้ดี อีกทั้งยังต้องมีระบบเอนไซม์ที่มีประสิทธิภาพสามารถที่จะแข่งขันกับจุลินทรีย์ท้องถิ่นได้ดีและที่สำคัญต้องไม่เป็นเชื้อที่ก่อโรค (Nonpathogenicity) ซึ่งหมายถึงจะต้องไม่ผลิตสารที่เป็นพิษออกมาด้วย โดยส่วนใหญ่แล้วการเติมเชื้อในธรรมชาติจะใช้เชื้อจุลินทรีย์ผสมเนื่องจากเชื้อเหล่านี้จะมีประสิทธิภาพในการย่อยสลายไฮโดรคาร์บอนในสิ่งแวดล้อมได้อย่างสมบูรณ์ (Leathy และ Cowell, 1990) ดังนั้นการบำบัดโดยวิธีทางชีวภาพจึงเป็นวิธีการหนึ่งที่จะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการบำบัดสารพิษต่าง ๆ ให้ออกไปจากสิ่งแวดล้อมรวดเร็วยิ่งขึ้น โดยกระบวนการย่อยสลายทางชีวภาพนี้ได้รับความสนใจและประยุกต์ใช้กับสิ่งแวดล้อมที่มีการปนเปื้อนปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนทั้งในน้ำและในดินเพิ่มขึ้นเมื่อ 10 ปีที่ผ่านมา (Mikael Eriksson และคณะ, 2001 อ้างถึงใน Alexander, 1999)

ปัจจุบันโลกจึงได้หันมาให้ความสนใจในการใช้การบำบัดทางชีววิทยาเพิ่มมากขึ้น ได้มีพัฒนาเทคโนโลยีให้สอดคล้องกับความต้องการของจุลินทรีย์และเหมาะสมกับการใช้งาน และจากงานวิจัยที่ผ่านมา มีการใช้กลุ่มจุลินทรีย์ในการย่อยสลายน้ำมันดิบในถังหมัก แต่การใช้อากาศปริมาณมากทำให้ต้นทุนสูง ระบบบำบัดแผ่นหมุนชีวภาพจึงเข้ามามีบทบาทมากขึ้น เนื่องจากระบบนี้มีค่าใช้จ่ายที่คุ้มทุนเมื่อใช้ไปในระยะยาว การติดตั้งระบบไม่ยุ่งยาก อีกทั้งมีประสิทธิภาพในการบำบัดสูง การย่อยสลายไฮโดรคาร์บอนของระบบบำบัดแผ่นหมุนชีวภาพนี้จะมากหรือน้อยขึ้นอยู่กับ ชนิดของจุลินทรีย์ที่ใช้ จำนวนของแผ่นหมุนชีวภาพ ระดับการจมตัวของแผ่นหมุนชีวภาพ ความเร็วรอบของแผ่นหมุนชีวภาพ และ ระยะเวลาการเก็บกัก ดังนั้นการศึกษาหาสภาวะต่าง ๆ ให้เหมาะสมกับระบบและเชื้อจุลินทรีย์ จะส่งผลกระทบต่อระบบสามารถกำจัดคราบน้ำมัน ได้อย่างมีประสิทธิภาพ

ในการเลือกสภาวะที่เหมาะสมในการย่อยสลายน้ำมันดิบในระบบบำบัดแผ่นหมุนชีวภาพนี้ เลือกใช้เป็นกลุ่มจุลินทรีย์ (Microbial consortium) คือ *Bacillus sp.* B3-1 , *Pseudomonas sp.* C1-2 และ *Yarrowia sp.* D2-1 ใช้เป็นกลุ่มจุลินทรีย์ที่มีความสามารถย่อยสลายน้ำมันดิบได้ และ *Acinetobacter calcoaceticus* TISTR 360 เป็นแบคทีเรียที่สามารถสร้างสารลดแรงตึงผิวชีวภาพได้ เนื่องจากจุลินทรีย์แต่ละสายพันธุ์มีความสามารถในการย่อยสลายองค์ประกอบของน้ำมันดิบได้แตกต่างกัน (Bossert และ Bartha, 1984 ; Sokhoh และคณะ, 1993 ; Banat, 1995 ; ปัญจพล ชีโนคม, 2543 ; ภัทรา ศรีสุทธีวรกุล, 2545) อีกทั้งจุลินทรีย์ที่สามารถสร้างสารลดแรงตึงผิวชีวภาพได้ จะช่วยให้น้ำมันแตกตัวเป็นหยดเล็ก ๆ (Emulsifying) และผสมลงมาเป็นอิมัลชันได้มากขึ้น ทำให้เพิ่มการสัมผัสของเซลล์จุลินทรีย์กับหยดน้ำมัน โดยสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ (Biosurfactant) (Lindley, 1992) และการย่อยสลายไฮโดรคาร์บอนโดยจุลินทรีย์จะเกิดขึ้นที่รอยต่อระหว่างน้ำกับน้ำมันเป็นส่วนใหญ่ (Atlas, 1981 ; Rosenberg, 1999 ; Lindley, 1992) นอกจากนี้การใช้จุลินทรีย์ผสมจะมีประสิทธิภาพในการย่อยสลายน้ำมันดิบได้ดีและเร็วกว่าการใช้จุลินทรีย์บริสุทธิ์เพียงชนิดเดียว เนื่องจากน้ำมันดิบประกอบไปด้วยองค์ประกอบหลายชนิด (Atlas, 1981) อีกทั้งจุลินทรีย์ผสมสามารถผลิตเอนไซม์และสารลดแรงตึงผิวชีวภาพได้หลากหลายในช่วงกว้าง ซึ่งสามารถใช้ในการย่อยสลายไฮโดรคาร์บอนที่มีความซับซ้อนได้ (Leathy และคณะ, 1990 ; Lai และ Khanna, 1996) ทำให้สามารถใช้ไขมันเป็นแหล่งคาร์บอนและพลังงานสำหรับการเจริญเติบโตได้รวดเร็ว และทำให้สามารถย่อยสลายไฮโดรคาร์บอนได้ในช่วงที่กว้างขึ้น

เนื่องจากน้ำมันดิบที่ใช้ในงานวิจัยครั้งนี้จัดเป็นน้ำมันดิบชนิดเบา ซึ่งสามารถระเหยได้โดยง่าย จึงทำการศึกษาหาอัตราการสลายตัวทางกายภาพของน้ำมันดิบ และจากการทดลองพบว่า การระเหยของน้ำมันดิบที่สภาวะการทดลองความเร็วรอบของแผ่นหมุน 2 รอบต่อนาที ระดับการจมตัว 20% กับที่ความเร็วรอบ 4 รอบต่อนาที ระดับการจมตัว 40% ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% และการสลายตัวทางกายภาพของน้ำมันดิบสูงสุดที่สภาวะการ

ทดลองความเร็วรอบ 4 รอบต่อนาที ระดับการจมน้ำ 40% สามารถสลายตัวทางกายภาพหรือระเหยได้ 38.46% ในวันที่ 7 ของการทดลอง

จากการศึกษาการย่อยสลายน้ำมันดิบในระบบบำบัดแผ่นหมุนชีวภาพ พบว่าประสิทธิภาพที่ดีที่สุดของระบบ คือที่ภาวะระดับการจมน้ำของแผ่นหมุนชีวภาพ 40 เปอร์เซ็นต์ ความเร็วรอบในการหมุน 4 รอบต่อนาที สามารถย่อยสลายน้ำมันดิบได้ 87.35 เปอร์เซ็นต์ หรือ 14,023.13 มิลลิกรัมภายในระยะเวลา 5 วันทั้งนี้ มีการเจริญเติบโตและค่าการดูดกลืนแสงที่ 600 นาโนเมตรของกลุ่มจุลินทรีย์สูงสุดใน วันที่ 1 จาก  $2 \times 10^6$  CFU/มิลลิลิตร ในวันที่ 0 เป็น  $73 \times 10^8$  CFU/มิลลิลิตร และ 1.114 ตามลำดับ แต่หลังจากนั้นการเจริญเติบโตของกลุ่มจุลินทรีย์ก็ลดลงเรื่อย ๆ เป็น  $38 \times 10^8$  CFU/มิลลิลิตร และ  $68 \times 10^7$  CFU/มิลลิลิตร ในวันที่ 3 และวันที่ 5 ของการทดลอง จนกระทั่งวันที่ 7 ของการทดลอง ค่าจำนวนเซลล์ของสิ่งมีชีวิตลดลงต่ำสุดเท่ากับ  $6 \times 10^5$  CFU/มิลลิลิตร ทั้งนี้อาจเป็นเพราะแหล่งคาร์บอน ในที่นี้คือน้ำมันดิบ (Tapis crude oil) ได้ถูกย่อยสลายเกือบหมดอย่างรวดเร็วภายในวันแรกของการทดลอง จึงทำให้มีแหล่งคาร์บอนไม่เพียงพอต่อการเจริญเติบโตของกลุ่มจุลินทรีย์จึงทำให้มีการลดจำนวนลงของกลุ่มจุลินทรีย์และมีปริมาณไฮโดรคาร์บอนทั้งหมดที่เหลืออยู่ในระบบของวันที่ 7 เท่ากับ 1,977.31 มิลลิกรัม คิดเป็น 12.32 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งแสดงได้ว่าประสิทธิภาพในการย่อยสลายน้ำมันดิบ เท่ากับ 87.68 เปอร์เซ็นต์ภายในระยะเวลา 7 วัน

นอกจากนี้ยังพบว่าที่ความเร็วรอบของแผ่นหมุนชีวภาพ 2 รอบต่อนาทีและระดับการจมน้ำของแผ่นหมุนชีวภาพ 20 เปอร์เซ็นต์ มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายน้ำมันดิบได้น้อยที่สุดคือ สามารถย่อยสลายน้ำมันดิบได้ 9,216.57 มิลลิกรัม ภายในระยะเวลา 7 วัน คิดเป็น 57.41 เปอร์เซ็นต์โดยมีอัตราการย่อยสลายสูงสุดของน้ำมันดิบเกิดขึ้นในวันที่ 1 คือจาก 16,053.95 มิลลิกรัมในวันที่ 0 เป็น 6,602.99 มิลลิกรัม ซึ่งคิดเป็น 41.13 เปอร์เซ็นต์ และ 8,386.58 มิลลิกรัม (52.24 เปอร์เซ็นต์) ในวันที่ 3 ทั้งนี้ มีการเจริญเติบโตและค่าการดูดกลืนแสงที่ 600 นาโนเมตรของกลุ่มจุลินทรีย์สูงสุดในวันที่ 7 จาก  $2 \times 10^6$  CFU/มิลลิลิตร ในวันที่ 0 เป็น  $21 \times 10^8$  CFU/มิลลิลิตร และ 0.916 ตามลำดับ ซึ่งจากวันที่ 0 ถึงวันที่ 7 การเจริญเติบโตของกลุ่มจุลินทรีย์ก็เพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ เป็น  $88 \times 10^6$  CFU/มิลลิลิตร ,  $11 \times 10^7$  CFU/มิลลิลิตร ,  $57 \times 10^7$  CFU/มิลลิลิตร ในวันที่ 1 วันที่ 3 และวันที่ 5 ของการทดลอง ทั้งนี้อาจเป็นเพราะแหล่งคาร์บอน ในที่นี้คือน้ำมันดิบ (Tapis crude oil) ยังคงถูกย่อยสลายไม่หมด จึงทำให้มีแหล่งคาร์บอนเพียงพอต่อการเจริญเติบโตของกลุ่มจุลินทรีย์ส่งผลทำให้มีการเพิ่มจำนวนขึ้นของกลุ่มจุลินทรีย์และมีปริมาณไฮโดรคาร์บอนทั้งหมดที่เหลืออยู่ในระบบ ในวันที่ 7 เท่ากับ 6,837.38 มิลลิกรัม คิดเป็น 42.57 เปอร์เซ็นต์ และจากการทดลองข้างต้นพบว่า ในวันที่ 7 ของการทดลอง 7 ที่ความเร็วรอบของแผ่นหมุนชีวภาพ 2 รอบต่อนาทีและระดับการจมน้ำของแผ่นหมุนชีวภาพ 20 เปอร์เซ็นต์ ยังสามารถย่อยสลายไฮโดรคาร์บอนในน้ำมันดิบได้น้อยกว่า

วันที่ 1 ที่ความเร็วรอบของแผ่นหมุนชีวภาพ 4 รอบต่อนาทีและระดับการจมตัวของแผ่นหมุนชีวภาพ 40 เปอร์เซ็นต์ เป็นปริมาณถึง 5,715.21 มิลลิกรัม

จากนั้นเมื่อได้สถานะที่เหมาะสมจึงได้ทำการศึกษาต่อ โดยทำการทดลองในระบบต่อเนื่องและใช้สถานะเดียวกันกับข้างต้น พบว่า เมื่อทำการเติมน้ำมันดิบ 0.5 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตรในอาหารเหลว BH Broth 4 ลิตร ความเป็นกรด-เบสเริ่มต้นเท่ากับ 8.0 โดยกำหนดให้มีอัตราการไหลเข้า 33.33 มิลลิลิตรต่อชั่วโมง เริ่มต้นระบบมีน้ำมันดิบหรือไฮโดรคาร์บอนทั้งหมดเท่ากับ 16,053.95 มิลลิกรัม และเมื่อทำการเติมไฮโดรคาร์บอนหรือน้ำมันดิบเข้าไปในระบบโดยผ่านสายยางในปริมาณ 33.33 มิลลิลิตรต่อชั่วโมง 1 วันจะมีปริมาณไฮโดรคาร์บอนหรือน้ำมันดิบถูกป้อนเข้า สู่อุปกรณ์ 3,210.46 มิลลิกรัมต่อลิตรต่อวัน อย่างสม่ำเสมอเป็นเวลา 5 วัน ทำการเก็บตัวอย่างทุก 24 ชั่วโมงจนถึงสถานะคงที่ของการทดลอง เมื่อเวลาผ่านไป 1 วัน ปริมาณน้ำมันดิบถูกย่อยสลายไป 12,508.70 มิลลิกรัม คิดเป็น 77.92 เปอร์เซ็นต์ ในวันที่ 2, 3, 4 จะมีปริมาณน้ำมันดิบถูกย่อยสลายไป 13,333.34 มิลลิกรัม (83.05 เปอร์เซ็นต์), 13,800.51 มิลลิกรัม (85.96 เปอร์เซ็นต์) และ 14,295.51 มิลลิกรัม (89.05 เปอร์เซ็นต์) ตามลำดับ และเมื่อเวลาผ่านไป 5 วัน ระบบจะเริ่มเข้าสู่สถานะคงที่ปริมาณน้ำมันดิบถูกย่อยสลายไป 14,763.75 มิลลิกรัม คิดเป็น 91.96 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่จำนวนเซลล์ที่มีชีวิตในระบบเพิ่มขึ้นจาก  $2 \times 10^6$  CFU/มิลลิลิตร ในวันที่ 0 เป็น  $27 \times 10^8$  CFU/มิลลิลิตร และ  $36 \times 10^8$  CFU/มิลลิลิตร เมื่อเวลาผ่านไป 1 วันและ 5 วัน โดยค่าการดูดกลืนแสงที่ 600 นาโนเมตร มีค่าเพิ่มขึ้นจาก 0.356 ในวันที่ 0 เป็น 0.986 และ 0.992 ในวันที่ 1 และ วันที่ 5 ตามลำดับ โดยค่าการดูดกลืนแสงที่ 600 นาโนเมตร กับค่าจำนวนเซลล์ที่มีชีวิตทั้งหมดมีค่าค่อนข้างคงที่เมื่อเวลาผ่านไป 1 วัน และแปรผกผันกับปริมาณไฮโดรคาร์บอนทั้งหมดที่เหลือในระบบในลักษณะคงที่

เมื่อพิจารณาที่สถานะคงที่ของการทดลองในการทดลองแบบต่อเนื่อง คือที่ระยะเวลา 5 วัน ระบบสามารถย่อยสลายน้ำมันดิบได้ 14,763.75 มิลลิกรัม จากที่มีปริมาณไฮโดรคาร์บอนเริ่มต้นในระบบเท่ากับ 16,053.95 มิลลิกรัม ซึ่งแสดงว่ายังคงมีปริมาณไฮโดรคาร์บอนเหลืออยู่ในระบบเท่ากับ 1,290.20 มิลลิกรัมในระบบขนาด 4 ลิตร หรือเท่ากับ 322.55 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งตามประกาศกระทรวงวิทยาศาสตร์ เทคโนโลยีและสิ่งแวดล้อมฉบับที่ 3 (พ.ศ.2539) ได้กำหนดค่ามาตรฐานน้ำทิ้งโรงงานอุตสาหกรรมไว้สำหรับน้ำมันและไขมันให้มีค่าไม่เกิน 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร แต่คณะกรรมการควบคุมมลพิษอาจกำหนดให้มากกว่านี้ได้แต่ไม่เกิน 15 มิลลิกรัมต่อลิตร ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับแหล่งรับน้ำทิ้งหรือประเภทอุตสาหกรรม จะเห็นได้ว่าน้ำที่ผ่านออกจากระบบบำบัดแผ่นหมุนชีวภาพที่ใช้ในการทดลองมีค่าของไฮโดรคาร์บอนในน้ำมันดิบเท่ากับ 322.55 มิลลิกรัมต่อลิตรซึ่งยังไม่ผ่านเกณฑ์มาตรฐานน้ำทิ้ง จึงไม่สามารถทิ้งลงในแหล่งน้ำธรรมชาติ ดังนั้นก่อนจะทำการทิ้งน้ำที่ออกจากระบบบำบัดจึงควรบำบัดให้มีคุณภาพตามมาตรฐานน้ำทิ้งก่อนระบายออกสู่สิ่งแวดล้อม

เมื่อทำการวิเคราะห์ค่าทางสถิติเพื่อเปรียบเทียบความสำคัญของทั้งสองปัจจัยที่ส่งผลต่อระบบบำบัด พบว่า ทั้ง 2 ปัจจัย คือ ความเร็วรอบในการหมุนของแผ่นหมุนชีวภาพ และระดับการจมตัว มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ และ เมื่อพิจารณาจากความชันของกราฟ ปัจจัยของความเร็วยรอบในการหมุนของแผ่นหมุนชีวภาพส่งผลต่อความสามารถของระบบบำบัดมากกว่า ปัจจัยของระดับการจมตัวของแผ่นหมุนชีวภาพ ดังภาคผนวก ก

และทำการทดสอบเมือกชีวภาพ พบว่าเมือกชีวภาพจะมีความหนาประมาณ 0.59 มิลลิเมตร เมื่อนำเอาเมือกชีวภาพไปทำการทดสอบโดยการย้อม Gram stain พบว่า มีเซลล์ซึ่งติดทั้งสีแดงและสีน้ำเงิน แสดงว่าบริเวณแผ่นหมุนชีวภาพมีเซลล์แบคทีเรียทั้งแกรมบวกและแกรมลบอยู่ซึ่งสอดคล้องกับเชื้อจุลินทรีย์เริ่มต้นที่ใส่ลงในระบบ นั่นคือ *Bacillus sp.* B 3-1 จัดเป็นแบคทีเรียแกรมบวก ส่วน *Pseudomonas sp.* C 1-2 และ *Acinetobacter calcoaceticus* TISTR 360 เป็นแบคทีเรียแกรมลบ จากนั้นยังนำเมือกชีวภาพไปทำการย้อมสี methylene blue พบเซลล์รูปร่างกลมค่อนข้างใหญ่ คล้ายเซลล์ยีสต์ ซึ่งสอดคล้องกับเชื้อจุลินทรีย์เริ่มต้นที่ใส่ลงในระบบบำบัด นั่นคือ *Yarrowia sp.* D 2-1 ดังรูปที่ 4.10 จากนั้นเมือกชีวภาพขนาดไปทำการทดสอบโปรตีนโดยวิธีของ Lowry (1995) พบว่า 1 ตารางเซนติเมตรของเมือกชีวภาพ จะมีโปรตีนหรือเซลล์จุลินทรีย์อยู่ 0.420 มิลลิกรัม หลังจากนั้นเอาเมือกชีวภาพไปทดสอบน้ำตาลโดยวิธี Benedict's Test ผลปรากฏว่าเกิดเป็นตะกอนสีส้มอิฐแสดงว่าเชื้อจุลินทรีย์ที่อยู่บนแผ่นหมุนชีวภาพได้เปลี่ยนโมเลกุลไฮโดรคาร์บอนในน้ำมันดิบไปเป็นน้ำตาลเพื่อใช้ในการเจริญเติบโตแต่ยังมีระยะเวลาไม่นานพอที่จะเกิดเป็นเซลล์ลูลอส และกลายเมือกชีวภาพที่มีขนาดหนาได้ ทั้งนี้ต้องอาศัยระยะเวลาอันยาวนานในการใช้ระบบบำบัดแผ่นหมุนชีวภาพให้มีประสิทธิภาพสูงสุด ควรที่จะทิ้งระบบไว้เพื่อให้เกิดเมือกชีวภาพที่มีความหนาที่เหมาะสม ก่อนที่จะนำมาใช้บำบัดน้ำเสียจริง

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## 5.2 ข้อเสนอแนะ

5.2.1 เนื่องจากการทดลองนี้เป็นระบบเปิดอาจเกิดการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ชนิดอื่น ซึ่งมีทั้งที่สามารถย่อยสลายน้ำมันดิบได้และไม่สามารถย่อยได้ นอกเหนือไปจากจุลินทรีย์ที่เดิมให้แก่ระบบ ดังนั้นในการนับจำนวนเซลล์ที่มีชีวิต (Viable cell count, CFU/ml) ควรใช้อาหารเลี้ยงเชื้อที่สามารถบ่งชี้ได้ว่าจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนในระบบชนิดใดบ้างที่สามารถย่อยสลายน้ำมันดิบได้ เพราะการใช้อาหารเลี้ยงเชื้อชนิดอาหารแข็งนิวเทรียนท์ (Nutrient Agar) ซึ่งเป็นอาหารที่จุลินทรีย์เกือบทุกชนิดส่วนใหญ่สามารถเจริญเติบโตได้ ดังนั้นผลการวิเคราะห์จะทำให้ทราบเพียงจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดที่อยู่ในระบบเท่านั้น

5.2.2 ควรศึกษาถึงผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้น (By Product) หลังจากการย่อยสลายน้ำมันดิบและจะได้สารอะไรออกมาบ้าง อยู่ในรูปโมเลกุลใด มีความเป็นพิษหรือไม่ต่อสิ่งแวดล้อม โดยใช้วิธีการสกัดที่จะต้องเก็บสารละลายทุกส่วนที่สกัดแล้วไว้ แล้วนำไปวิเคราะห์ทางโครมาโทกราฟี เนื่องจากวิธีการสกัดที่ใช้ในงานวิจัยครั้งนี้ จะสกัดได้แต่ไฮโดรคาร์บอนออกมาเท่านั้น จึงไม่เห็นผลิตภัณฑ์อื่น ๆ ที่เกิดขึ้นในโครมาโทแกรม

## รายการอ้างอิง

### ภาษาไทย

- เกศณี สรรวานิช. 2534. ปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนในน้ำ ดินตะกอนหอยแมลงภู่ (*Perna viridis*) บริเวณแม่น้ำเจ้าพระยาตอนล่าง. วิทยานิพนธ์ปริญญาโทมหาบัณฑิต บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
- จรรยา สารินทร์. 2537. การกระจายของอะลิฟาติกและอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอนในตะกอนบริเวณอ่าวไทย. วิทยานิพนธ์ปริญญาโทมหาบัณฑิต จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- ชนะชัย เลิศสุชาตวนิช. 2542. สถิติน้ำมันรั่วไหลในประเทศไทย. วารสารกรมเจ้าท่า 2 : 95 – 99
- ชรัตน์ รุ่งเรืองศิลป์. 2533. น้ำมัน: ปัญหาภาวะมลพิษจากการปนเปื้อนในน้ำและการจัดการแก้ไข. กองวิเคราะห์ผลกระทบสิ่งแวดล้อม. สำนักงานคณะกรรมการสิ่งแวดล้อมแห่งชาติ. 84-91.
- เชาว์ นกอยู่. 2538. การปนเปื้อนของปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนในน้ำตะกอนและหอยแมลงภู่ (*Perna viridis*) บริเวณแม่น้ำเจ้าพระยาตอนล่าง. วิทยานิพนธ์ปริญญาโทมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์สภาวะแวดล้อม บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
- ปัญญาพล ชิโนดม. 2543. การสร้างกลุ่มประชากรจุลินทรีย์เพื่อการย่อยสลายน้ำมันดิบ. วิทยานิพนธ์ปริญญาโทมหาบัณฑิต ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- ปราโมทย์ ไชยเวช. 2537. น้ำมันปิโตรเลียมดิบ. ปิโตรเลียมเทคโนโลยี. ภาควิชาเคมีเทคนิค คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. : 33-62.
- ภัทรา ศรีสุทธีวรกุล. 2545. การใช้กลุ่มจุลินทรีย์ย่อยสลายน้ำมันดิบในถังหมัก. วิทยานิพนธ์ปริญญาโทมหาบัณฑิต (วิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม) บัณฑิตวิทยาลัย. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- มณี ผลิตผลการพิมพ์. 2538. การย่อยสลายน้ำมันดิบโดยจุลินทรีย์จากดิน. วิทยานิพนธ์ปริญญาโทมหาบัณฑิต บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยมหิดล
- มัลลิกา ปัญญาอะโป. 2545. การบำบัดน้ำเสียทางชีวภาพ. นครปฐม: ภาควิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร.
- ยุวเรศน์ เอมเข้ม. 2537. การย่อยสลายนอร์มัล-อัลเคนในน้ำจืด โดย *Pseudomonas fluorescens* และ *Alcaligenes faecalis*. วิทยานิพนธ์ปริญญาโทมหาบัณฑิต บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยมหิดล
- วิมล ชอบชื่นชม. การย่อยสลายสารพิษตกค้างด้วยจุลชีพ. Thai Environmental Engineering Journal (พฤษภาคม-มิถุนายน). : 42-45.

- วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี. 2537. เทคโนโลยีชีวภาพช่วยแก้ปัญหาน้ำมัน (พฤษภาคม-สิงหาคม). :8-15.
- วีระ ชีรภัทร. 2528. พุดจาภาษาน้ำมัน. สำนักพิมพ์บริษัทสามัคคีสาสน์, พิมพ์ครั้งที่ 1. 1-148
- สุจิตรา เชาว์ปรีชา. 2530. ผลกระทบของน้ำมันดิบอะเรเบียนชนิดเบาในรูปละลายน้ำต่อลูกปลา กะพงขาว. วิทยานิพนธ์ปริญญาโทมหาบัณฑิต ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
- อรรณวดี อิ่มพูลทรัพย์. 2537. รายงานการวิจัยการบำบัดน้ำเสียที่ปนเปื้อนน้ำมันในประเทศไทย (Bioremediation of oil – polluted water in Thailand). ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล. 45 หน้า

### ภาษาอังกฤษ

- Ampai, S.1999. Effect of temperature and surfactant on bioremediation of crude oil in soil by *Candida tropicalis*. Master's thesis, Major of Environmental Biology, Faculty of graduate studies, Mahidol University.
- Atlas, R.M. 1975. Effect of temperature and crude oil composition on petroleum biodegradation. Appl. Microbiol 30 : 396-403
- Atlas, R.M. 1977. Stimulated petroleum biodegradation. Crit Rev in Microbiol 5 : 137-386
- Atlas, R.M. Microbial degradation of petroleum hydrocarbons: an environmental perspective. Microbiol. Rev. 45: 180-209.
- Atlas ,R.M.1984.Petroleum Microbiology.New York :Macmillam.
- Atlas , R.M. 1995. Petroleum biodegradation and oil spill bioremediation. Mar Pollut Bull 31 : 178-182
- Atlas , R.M., and Bartha , R . 1972 . Degradation and mineralization of petroleum in seawater : limitation by nitrogen and phosphorus. Biotechnology and Bioengineering 14 : 309 317
- Atlas , R .M . ; Schofield , E.A. ; Morelli , F.A. , and Cameron , R.E. 1976 . Interaction of microorganisms and petroleum in the Arctic . Environ. Pollut 10 : 35-40

- Baker, K.H.; Herson, D.S.1994. Bioremediation. New York : McGraw – Hill
- Batha, R., and Atlas , R.M. 1997. The microbiology of aquatic oil spill. Adv. Appl. Microbiol 22 : 225-266
- Bearstecher, E.1954. Petroleum Microbiology. New York Elsevier Press.
- Bossert, I., and Bartha, R. 1984. The late of petroleum in soil ecosystems In : Atlas , R.M., Editor. Petroleum Microbiology New York : Macmillan. : 434-476.
- Bossert, I.D., and Compean , G.C. 1995. Cleanup of petroleum hydrocarbon contamination in soil. In : Yong, L.Y., and Cerniglia , C.E., editors. Microbial transformation and degradation of toxic organic chemicals. New York : Wiley-Liss. : 77-125.
- Braddock, F.J. ; Linstrom, E.J., and Brown, J.E. 1995. Distribution of hydrocarbon degrading microorganisms in sediments form Prince William Sound, Alaska, Following the Exxon Valdez Oil Spill. Mar.Pollut.Bull. 30 : 125-132.
- Bruheim, P.; Bredholt, H., and Eimhjelle, K. 1997. Bacteria degradation of emulsified crude oil and the effect of various surfactants. Can.J.Microbiol 43 :17 – 22 .
- Bruheim, P.; Bredholt, H., and Eimhjelle, K. 1999. Effect of cerfactant mixtures, including Corexil 9527, on bacteria oxidation of acetate and alkanes in crude oil. Appl. Environ. Microbiol 65 : 1658 – 1661.
- Cassidy, D.P. 2001. Biological Surfactant Production in a Biological Slurry Reactor Treating Disel Fuel Contaminated Soil. Water Environ. Res. 73 : 87-94.
- Cookson, J.r. 1995. Bioremediation Engineering Design and Application.McGraw-Hill, Inc.Printed in the United States of America. pp. 524.
- Cooney, J.J. ; Silver, S.A., and Beak, E.A. 1985. Factor influencing hydrocarbon degradation in three fresheater lake. Microb.Ecol. 11 : 127-137.
- Cowell, R.R.; Mill, A.L.; Walker, J.D.; Garcia, T.P., and Compas, P.V.1987. Microbial ecology of the Metula spill in the strains of Magellan.J. Fish. Res. Board. Can. 35 : 573-580.
- Crathome, B.,and Dobbs, A.J. 1990. Chemical Pollution of the Aquatic Environment by Priortiy Pollutants and Its Control. Water Research. : 292.

- Davies, J.B., and Hughes, D.E. 1968. In Proc. Symp. Bio. Eff. Oil Pollut. Littoral, Communities, ed. J.D. Carth. Field Studies Council, London, : p. 139.
- Davies, S.J., and Gibbs, C.F. 1975. the effect of weathering on crude oil residue exposed at sea. Wat. Res. 9 : 275 – 285.
- Dibble, J.T., and Bartha, R. 1979. Effect of environmental parameters on the biodegradation of oil sludge. Applied and Environ. Microbiol 37 : 729 – 739.
- Duffus, J.H. 1982. Petroleum and Radionuclides. Environmental Toxicology. John Wiley and Sons. New York. : 94 -97. El, A.M.M., and Moursy, A.S. 1962. Envi. Int.; 7 : 309.
- Fan, C.Y., and Tafuri, A.N. 1994. Engineering application of biooxidation processes for treating petroleum contaminated soil. In Wise, D.L., and Trantolo, D.J., editors : Remediation of hazardous waste contaminated soils. New York. : p. 373 – 401
- Farrington, T.D., and Meyer, P.A.. 1975. Hydrocarbons in the marine environment. Environmental Chemistry. Specialist periodical reports. The Chemistry Society, Burlington Home, London. : 109 – 135.
- Floodgate, G.D. 1984. The fate of petroleum in marine ecosystem. In : Atlas, R.M., editor. Petroleum Microbiology. New York : Macmillan. : 355 – 397.
- Foght, J.M., Gutnick, D.L.1, and Westlake, W.S. 1989. Effect of emulsan on biodegradation of crude oil by pure and mixed bacterial cultures. Appl. Environ. Microbiol. 55: 36-42.
- Frank, C.E. 1959. Hydrocarbon autooxidation. Chem. Rev. 16 : 155 -169.
- Geyer, R.A. 1980. Hydrocarbon Amsterdam. Marine Environmental Pollution. Elsevier Scientific Publishing Company.
- Hoff, R.Z. 1993, Bioremediation : an overview of its development and use for oil spill cleanup. Mar. Pollut. Bull. 16 : 476 – 481.
- Horowitz, A. and Atlas, R.M. 1979. Response of microorganisms to an accidental gasoline spillage in an Arctic freshwater ecosystem. Appl. Environ. Microbiol. 33 : 1252-1258.
- Horowitz, A. and Atlas, R.M. 1980. Microbial seeding to enhance petroleum hydrocarbon biodegradation in aquatic arctic ecosystems. In : Proceeding of the fourth International

- Biodegradation Symposium. (Oxley, T.A.; Becker, G., and Allsopp, D., eds.), Pitman, London. : 15 – 20.
- Horowitz, A.; Gutnick, D., and Rosenberg, E. 1975. Sequential growth of bacteria on crude oil. Appl. Microbiol. 30 : 10 – 19.
- Jamison, V.M.; Taymand, R.L., and Hudson, J.O. 1975. Biodegradation of high-octane gasoline in groundwater. Dev. Ind. Microbiol. 16 : 305 – 312.
- Jennings, E.M., and Tanner, R.S. 2001. Biosurfactant-producing bacteria found in contaminated and uncontaminated soils. In : Proceedings of the 2002 Conference on Hazardous Waste Research : 299 – 306.
- Jobson, A.; Cook, F.D.; Westlake, D.W.S. 1972. Microbial utilization of crude oil. Appl. Microbiol. 23(6) : 1082 – 1089.
- Jones, D.M.; Douglas, A.G.; Parkers, R.J.; Taylor, J.; Giger, W., and Schaffner, C.. 1983. The recognition of biodegraded petroleum-derived aromatic hydrocarbons in recent marine sediments. Mar. Pollut. Bull. 14 : 103 – 108.
- Jones, J.G., and Eddington, M.A. 1968. An ecological survey of hydrocarbon oxidizing microorganism. J.Gen. Microbiol 52 ; 381 – 390.
- Kinghorn, R.R.F.1983. An Introduction to the physics and Chemistry of Petroleum. John Wiley Son Ltd., Singapore.: 69 – 113.
- Leahy, J.G.; and Colwell, R.R. 1990. Microbial degradation of hydrocarbons in the environment. Microbiol. Rev. 54(3) : 305 – 315.
- Lepo, J.E., and Cripe, C.R. 1999. Biodegradation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbon (PAH) from crude oil in sandy-beach microcosm, Atlantic Canada Society for Microbial Ecology, Halifax.
- Liky, X.U.T.; Cawley, W.A.; Colapret, J.A.; Bonner, J.S.; Ernest, A., and Verramachaneni, P.B. 1994. Field test and mathematic modeling of bioremediation of an oil - contaminated soil – part 1 : field test. Waste. Manage. 14(7) : 561 – 569.
- Liky, X.U.T.; Cawley, W.A.; Colapret, J.A.; Bonner, J.S.; Ernest, A., and Verramachaneni, P.B.

1994. Field test and mathematic modeling of bioremediation of an oil - contaminated soil – part 2 : Mathematical modeling. Waste manage 4(7) : 571 -579.
- Margasın, R., and Schinner, F. 1997. Bioremediation of diesel – oil – contaminated alpine soil at low temperatures. Appl. Microbiol. Biotechnol. 47 : 462 – 468.
- Mattei, G., and Bertrand, J.D. 1985. Production of biosurfactants by a mixed bacteria population growth in continuous culture on crude oil. Biotechnol. Lett. 7 : 317 – 222.
- Mattei, G.; Rambeloarisoa, E.; Guisti, G.; Rontani, J.F., and Bertrand, J.C. 1986. Fermentation Procedure of a crude oil in continuous culture on seawater. Appl. Microbiol. Biotechnol 23 : 302 – 304.
- McAuliffe, C. 1963. Solubility in water of C<sub>1</sub>–C<sub>2</sub> Hydrocarbon. Nature 200 : 1092 – 1093.
- Mogan, P., and Watkinson, R.J. 1989. Hydrocarbon degradation in soil and method for soil biotreatment. CRC. Crit. Rev. in Biotechnol. 8(4) : 305 -333.
- Mueller, G.M.; Resnick, M.S.; Shelton, E.M., and Pritechard, H.P. 1992. Effect of inoculation on the biodegradation of weathered Prudhoe Bay crude oil. J. Ind. Microbiol. 10 : 95 – 102.
- Mulkins, P.G.J., and Stewart, J.E. 1974. Effect of four dispersants on biodegradation and growth of bacteria on crude oil. Appl. Microbiol. 28(40) : 547 – 552.
- Mulkins-Phillips, G.L., and Stewart, J.E. 1974. Effect of environmental parameters on bacterial degradation of Bunker c oil , crude oils , hydrocarbons. Appl. Microbiol. 28: 915-922.
- Nitas, P. 1998. Crude oil degrading properties of the Bacteria Strain isolated in Thailand. Doctor's thesis, Major of Biopharmaceutical Science, Faculty of Graduate studies, Mahidol University.
- Rainwater, K.; Scholze, R.J. 1991. In situ biodegradation for treatment of contaminated soil and groundwater. In : Freeman HM, editor. Biological process vol.3 : Innovative hazardous waste treatment technology series. USA . : P.R. Sferra Technomic. : 107 – 121.
- Reisfeld, A.; Rosenberg, E., and Gutnick, D. 1972. Microbial degradation of oil : factors affecting oil dispersion in seawater by mixed and pure culture. Appl. Environ. Microbiol. 24 : 363 – 368.

- Risebrough, R.W. et al. 1983. Application of the mussel watch concept in studies of the distribution of hydrocarbon in the coastal zone of the Ebro Delta. Mar. Poll. Bull. 14 : 181 – 188.
- Robson, A.; Cook, F.D., and Westlake, D.W.S. 1972. Microbial utilization of crude oil. Appl. Microbiol. 23 : 1082 – 1089.
- Rosenberg, M. 1991. Basic and applied aspects of microbial adhesion at the hydrocarbon : water interface. CRC Crit. Rev. in Microbiol. 18 : 159 – 173.
- Rosenberg, M., and Rosenberg, E. 1981. Role of adherence in growth of *Acinetobacter calcoaceticus* RAG-1 on hexadecane. J. Bacteriol. 148 : 51 – 57.
- Rosenberg, M., and Rosenberg, E. 1985. Bacteria adherence at the hydrocarbon- water interface. Oil Petroleum. Pollut. 2 : 155 – 162.
- Rosenberg, E.; Legmann, R.; Kushmaro, A.; Adler, E.; Raube, R.; Taube, A., and Ron, E.Z. 1992. Petroleum biodegradation – a multiphase problem. Biodegrad 3 : 337 – 350.
- Schobert, H.H. 1990. The Chemistry of Hydrocarbon Fuels. Butterworth – Heinemann , Oxford. : 85 – 112.
- Schwarz, J.R.; Walker, J.D.; and Cowell RR. 1975. Deep – sea bacteria : growth and Utilization of n- hexadecane at in situ temperature and pressure. Can. J. Micobiol. 21 : 682- 687.
- Selano, S.F.; Marchal, R.; Lebeault, J.M.; and Vandecasteele, J.P. 1999. Biodegradation of gasoline : Kinetic , mass balance and fate of individual hydrocarbon. J. of Appl. Microbiol. 86 : 1008 – 1016.
- Sexstone, A.J., and Atlas, R.M. 1977. Response of microbial populations in Arctic tundra soils to crude oil. Can. J. of Microbiol. 23 : 1327 – 1333.
- Singer, M.E., and Finnerty, W.R. 1984. Microbial metabolism of straight-chain and branched alkane. In: Atlas, R.M., editor. Petroleum Microbiology. New York.: Macmillan : 1-60.
- Siriwaris, S. 2000. Crude oil biodegradation by *Pseudomonas* J-45 through biosurfactant formation. Master's thesis, Major of Environmental Sanitation, Faculty of Graduate studies, Mahidol University.

- Speight, J.G. 1990. Fuel Science and Tecnology Handbook. Marcel Dekkeer, Inc., New York. : 71 – 83.
- Song, G., and Bartha, R. 1990. Effect of jet on the microbial community soil. Appl. Environ. Microbiol. 56(3) : 646 – 651.
- Sono, K., and Futka, M. 1996. Aspects concerning the treatment of wastewater from oil refineries in Romania. Presented at 3 rd Int. Conf. on Water. Poll. Res., Munich, FRG, II-11.
- Sugiura, K.; Ishihara, M.; Shimauchi, T.; and Harayama, S. 1997. Physicochemical properties and biodegradability of crude oil. Environ. Sci. Technol. 31 : 45 – 51.
- Walker, J.D., and Colwell, R.R. 1975. Biodegradation rates of component of petroleum. Can. J. Microbiol. 22 : 1209 – 1213.
- Walker, J.D., and Colwell, R.R. 1976. Petroleum : degradation by entuarine microorganisms Proceeding of the Third International Biodegradation Symposium. London : Applied Science. Publiches Ltd.: 197 – 204.
- Ward, D.M., and Brock, T.D. 1978. Hydrocarbon biodegradation in hypersaline environments. Appl. Environ. Microbiol. 35 : 353-359.
- Wilson, N.G., and Bradley, G. 1996. Enhanced degradation of petro (Solvane diesel) in an aqueous system by immobilized *Pseudomonas fluorescens*. J. Appl. Bacteriol. 80 : 90 – 104.
- Wilson, SC., and Jones, K.C. 1993. Bioremediation of soil contaminated with polynuclear aromatic hydrocarbon in soil (PHAs) a review. Environ. Pollut. 84 ; 229 – 249.
- Yerushalmi, S., and Giot, S.R. 1998. Kinetics of biodegradation of gasoline and its hydrocarbon constituents. Appl. Microbiol Biotechnol 49 : 475 – 481.
- Zobbel, C.E. 1969. In proc. API/FWC Conf., Publ. no 4040, American petroleum Institute, Washington DC. : p.317.



ภาคผนวก

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## ภาคผนวก ก

## สูตรและวิธีเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

## การเตรียมน้ำมันดิบ

น้ำมันดิบที่ใช้ในการทดลองนี้จะต้องผ่านการฆ่าเชื้อด้วยการกรองผ่านกระดาษกรอง (Millipore membrane) รุ่น GF/A pore size 0.45 ไมครอน

## อาหาร Bushnell-Hass (BH)

เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ในการศึกษาการย่อยสลายของไฮโดรคาร์บอนโดยจุลินทรีย์ซึ่งมีองค์ประกอบดังนี้ คือ

แมกนีเซียมซัลเฟต	0.2	กรัม
แคลเซียมคลอไรด์	0.02	กรัม
โปแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต	1.0	กรัม
ไดโปแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต	1.0	กรัม
แอมโมเนียมไนเตรท	1.0	กรัม
เฟอร์ริกคลอไรด์	0.05	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร

นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิและความดันมาตรฐาน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว  $121^{\circ}\text{C}$  เป็นเวลานาน 15-20 นาที

## อาหารแชนันิวเทรียนท์ (Nutrient Agar)

เนื้อสกัด	3.0	กรัม
แบคโตเปปโตน	5.0	กรัม
วุ้นผง	20.0	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร

นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิและความดันมาตรฐาน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว  $121^{\circ}\text{C}$  เป็นเวลานาน 15-20 นาที

### อาหารเหลวนิวเทรียนท์ (Nutrient Broth)

เนื้อสกัด	3.0	กรัม
แบคโตเปปโตน	5.0	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร

นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิและความดันมาตรฐาน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว  $121^{\circ}\text{C}$  เป็นเวลานาน 15-20 นาที



สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## ภาคผนวก ข

## สีย้อมและสารเคมีที่ใช้ทดลอง

## สีย้อมที่ใช้ในการทดลอง

## สารละลายคริสตอลไวโอเลต(Crystal violet solution)

คริสตอลไวโอเลต	4.0	กรัม
น้ำกลั่น	400	มิลลิลิตร

## สารละลายสีซัลฟรานิน (Safranin Staining solution)

ซาฟรานิน	4.0	กรัม
น้ำกลั่น	200	มิลลิลิตร

## สารละลายแกรมไอโอดีน (Gram's iodine solution)

ไอโอดีนคริสตอล	10.0	กรัม
โปแทสเซียมไอโอไดด์ (KI)	0.5	กรัม
โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH)	2.0	กรัม
น้ำกลั่น	50	มิลลิลิตร

ละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ในน้ำกลั่นช้า ๆ แล้วจึงเติมไอโอดีนคริสตอลลงไปและเติมโปแทสเซียมไอโอไดด์เป็นลำดับสุดท้าย

## สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

## 1% w/v 1-Eicosene (Internal Standard)

1-Eicosene	1	กรัม
n-Hexane	100	มิลลิลิตร

**สารละลายแอลกอฮอล์ 75 เปอร์เซ็นต์ (75% Alcohol)**

แอลกอฮอล์บริสุทธิ์	75	มิลลิลิตร
เติมน้ำกลั่นจนมีปริมาตรรวม	100	มิลลิลิตร

**สารละลายแอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์ (95% Alcohol)**

แอลกอฮอล์บริสุทธิ์	95	มิลลิลิตร
เติมน้ำกลั่นจนมีปริมาตรรวม	100	มิลลิลิตร



สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## ภาคผนวก ก

### วิธีการย้อมแกรม (Gram stain)

1. Smear เชื้อ โดยหยดน้ำลงบนแผ่นสไลด์ จากนั้นใช้ลูป (loop) เขี่ยเชื้อจำนวนเล็กน้อยแล้วเกลี่ยให้เป็นแผ่นฟิล์มบางๆ โดยวนลูปไปในทิศทางเดียวกัน
2. วางแผ่นสไลด์ทิ้งไว้ให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง (Air dry) แล้วนำสไลด์ผ่านเปลวไฟ (Heat fix) ประมาณ 4-6 ครั้ง
3. นำแผ่นสไลด์ที่ผ่านการ Heat fix แล้ว ไปทำการย้อมแกรม (Gram stain) ดังวิธีต่อไปนี้
  - 3.1 หยดสารละลายคริสตอลไวโอเลต (Crystal violet solution) หรือ Gram's Crystal violet จนทั่วบริเวณรอย Smear ทิ้งไว้เป็นเวลานาน 1 นาที
  - 3.2 ล้างสีย้อมออกโดยให้น้ำไหลผ่านแผ่นสไลด์ซ้ำ ๆ แล้วย้อมต่อทันทีด้วยสารละลายแกรมไอโอดีน จนทั่วบริเวณรอย Smear ทิ้งไว้เป็นเวลานาน 1 นาที
  - 3.3 ล้างสารละลายแกรมไอโอดีนด้วยน้ำโดยให้น้ำไหลผ่านแผ่นสไลด์อย่างช้า ๆ
  - 3.4 Decolorization โดยเอียงสไลด์แล้วหยด 95% เอทานอล เป็นเวลา 10-15 วินาที หรือจนสังเกตได้ว่าไม่มีสีน้ำเงินของ Gram's Crystal violet ละลายออกมาปนกับเอทานอลอีก
  - 3.5 จากนั้นล้างแผ่นสไลด์โดยให้น้ำไหลผ่านอย่างช้า ๆ เพื่อหยุดปฏิกิริยา และย้อมด้วยสารละลายซัลฟรานิน (Safranin Staining Solution) หรือ Gram's Safranin O จนท่วม Smear ทิ้งไว้เป็นเวลานาน 20-30 วินาที
  - 3.6 ล้างแผ่นสไลด์ด้วยน้ำโดยให้น้ำไหลผ่านอย่างช้า ๆ อีกครั้ง และทิ้งไว้ให้แผ่นสไลด์แห้ง จากนั้นนำไปส่องดูลักษณะและการติดสีของเซลล์ด้วยกล้องจุลทรรศน์

## ภาคผนวก ง

## องค์ประกอบบางประการของน้ำมันดิบ

**น้ำมันดิบ (Tapis Crude Oil)** ที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้ได้รับความอนุเคราะห์จากบริษัทบางจาก (มหาชน) จำกัด (Bangchak oil refinery) ถนนสุขุมวิท ซอย 64 กรุงเทพฯ มีองค์ประกอบของน้ำมันดิบดังตาราง 1-ง

ตาราง 1-ง แสดงองค์ประกอบบางประการของน้ำมันดิบ (Tapis Crude Oil)

องค์ประกอบบางประการของน้ำมันดิบ	ค่าที่วัดได้
<u>ทางกายภาพ</u>	
ค่าความถ่วงจำเพาะ(Gravity)	45.5 API
ค่าความหนืด(Viscosity) ที่ 30 <sup>0</sup> ซ	2.39 cst
<u>ทางเคมี</u>	
ปริมาณซัลเฟอร์(Sulfur content)	0.029% wt
ปริมาณไนโตรเจน(Total nitrogen content )	ไม่มีข้อมูล
ปริมาณฟอสฟอรัส(Phosphorus content)	ไม่มีข้อมูล
แอสฟัลทีน(Asphaltene)	< 0.05% โดยน้ำหนัก (wt)
ปริมาณน้ำ(Water content)	< 0.05% โดยปริมาตร(vol.)
สัดส่วนของไฮโดรคาร์บอน(Assey yield on Crude oil Gas to C <sub>4</sub> ) ได้แก่ Ethane , Propane , Isobutane , n - butane	1.9% โดยน้ำหนัก (wt)
Light distillate to 149 <sup>0</sup> C (API)	21.90% โดยน้ำหนัก (wt)
เคโรซีน(Kerosine) 149-232 <sup>0</sup> C	21.75% โดยน้ำหนัก (wt)
ก๊าซน้ำมัน(Gas oil) 232-342 <sup>0</sup> C	28.95% โดยน้ำหนัก (wt)
ส่วนที่เหลือ(Residue) above 342 <sup>0</sup> C	25.50% โดยน้ำหนัก (wt)

ที่มา: บริษัทบางจาก (มหาชน) จำกัด

## ภาคผนวก จ

### คำศัพท์และมาตราที่ใช้ด้านน้ำมันบางคำ

**API** หมายถึง สถาบันอเมริกันปิโตรเลียม (American Petroleum Institute)

**องศาเอพีโอ** หมายถึง หน่วยที่ใช้วัดความถ่วงจำเพาะของน้ำมันดิบซึ่งแทนที่จะให้เทียบกับน้ำ (ซึ่งมีความถ่วงจำเพาะเท่ากับ 1 ) แต่ทางสถาบันอเมริกันปิโตรเลียมได้ดัดแปลงมาใช้ องศาเอพีโอแทน โดยเป็นที่ยอมรับกัน สูตรที่ใช้เป็นดังนี้

$$\text{API}^\circ \text{ ของน้ำมันดิบชนิดหนึ่ง} = \frac{141.5}{\text{ความถ่วงจำเพาะของน้ำมันดิบชนิดนั้น}} - 131.5$$

(หมายเหตุ : ณ อุณหภูมิ 60°F หรือ 16.5°C)

ดังนั้นหากกรณีของน้ำแล้วจะมีค่า API° = 10

น้ำมันดิบโดยทั่วไปจะมีความถ่วงจำเพาะอยู่ระหว่าง 17-42 API ซึ่งสามารถแบ่งประเภทของน้ำมันดิบออกได้ 3 ชนิด คือ

1. **น้ำมันดิบชนิดเบา (Light Crude)** หรือน้ำมันดิบใส ซึ่งโดยทั่วไปแล้วจะมีองศาเอพีโอมากกว่า 34 ขึ้นไป โดยน้ำมันชนิดนี้เมื่อนำมากลั่น จะให้ผลิตภัณฑ์น้ำมันที่มีจุดระเหยต่ำ เช่น เบนซิน น้ำมันก๊าด เป็นสัดส่วนสูงกว่าน้ำมันดิบที่มีองศาเอพีโอต่ำ

2. **น้ำมันดิบชนิดปานกลาง (Medium Crude)** หรือน้ำมันดิบกึ่งใส ซึ่งโดยทั่วไปแล้วจะมีองศาเอพีโออยู่ระหว่าง 30-33 โดยน้ำมันชนิดนี้เมื่อนำมากลั่นจะให้ผลิตภัณฑ์น้ำมันที่มีจุดระเหยเป็นสัดส่วนต่ำกว่าที่ได้จากชนิดแรก

3. **น้ำมันดิบชนิดหนัก (Heavy Crude)** หรือน้ำมันดิบขุ่น ซึ่งโดยทั่วไปแล้วจะมีองศาเอพีโอต่ำกว่า 30 โดยน้ำมันชนิดนี้เมื่อนำมากลั่นจะให้ผลิตภัณฑ์ที่มีจุดระเหยสูง เช่น น้ำมันเตา เป็นสัดส่วนสูงกว่าน้ำมันดิบทุกประเภทที่กล่าวมาแล้วข้างต้น

## ภาคผนวก ฉ

### ตัวอย่างการคำนวณหาปริมาณไฮโดรคาร์บอนที่เหลืออยู่ในระบบบำบัดแผ่นหมุนชีวภาพ

ปริมาณของไฮโดรคาร์บอนที่เหลืออยู่ในอาหารเลี้ยงเชื้อ นำมาวิเคราะห์หาประสิทธิภาพในการย่อยสลายน้ำมันดิบของกลุ่มจุลินทรีย์โดยคิดในรูปเปอร์เซ็นต์ของพื้นที่ได้ฟีก (Mueller และคณะ , 1992 อ้างถึงใน ปัญจพล ชีโนคม , 2543) ซึ่งพื้นที่ได้ฟีกของไฮโดรคาร์บอนจะมีค่าเท่ากับ อัตราส่วนของผลรวมของพื้นที่ได้ฟีกของไฮโดรคาร์บอนทั้งหมดในโครมาโทแกรมกับค่าพื้นที่ฟีกของสารมาตรฐานในการสกัด (Internal Standard) ซึ่งวิเคราะห์ด้วยภาวะเดียวกัน ดังสมการที่ 1

#### สมการที่ 1

$$\text{อัตราส่วนของพื้นที่ฟีกของไฮโดรคาร์บอน} = \frac{\text{ผลรวมของพื้นที่ได้ฟีกไฮโดรคาร์บอน}}{\text{พื้นที่ฟีกของสารมาตรฐานในการสกัด}}$$

#### โดยที่

- พื้นที่ของสารมาตรฐานในการสกัด = พื้นที่ใต้กราฟของฟีก Internal Standard (ซึ่งในการทดลองนี้ใช้ 1 – อีโคซิน)
- ผลรวมของพื้นที่ฟีกไฮโดรคาร์บอนทั้งหมดในน้ำมันดิบ ที่นำมาคำนวณในสมการ 1 เป็นปริมาณของไฮโดรคาร์บอนที่มีอยู่ในอาหารเลี้ยงเชื้อ
- ผลรวมของพื้นที่ได้ฟีกไฮโดรคาร์บอนทั้งหมดในน้ำมันดิบ  
= พื้นที่ทั้งหมดของโครมาโทแกรม - พื้นที่ทั้งหมดของสารประกอบที่ไม่เกี่ยวข้อง (สารประกอบที่ไม่เกี่ยวข้องทั้งหมดได้แก่ ตัวทำละลาย (Solvent : Hexane), สารปนเปื้อนอื่น ๆ ที่ในตัวทำละลาย (Impurity))

เปอร์เซ็นต์ของไฮโดรคาร์บอนที่เหลืออยู่ คำนวณได้จากสมการที่ 2 (Mueller และคณะ , 1992 อ้างถึงใน ปัญจพล ชีโนคม , 2543)

#### สมการที่ 2

$$\begin{aligned} \text{เปอร์เซ็นต์ของไฮโดรคาร์บอนที่เหลืออยู่} \\ = & \frac{\text{อัตราส่วนพื้นที่ของไฮโดรคาร์บอนที่เหลืออยู่ (สมการ 1)}}{\text{อัตราส่วนพื้นที่ของไฮโดรคาร์บอนที่เหลือของชุดควบคุมวันที่ 0}} \times 100 \\ & \text{(ซึ่งไม่มีการเติมเชื้อจุลินทรีย์ : Abiotic loss)} \end{aligned}$$

ตารางที่ 1-จ พื้นที่ใต้พีค (Peak area)ของไฮโดรคาร์บอนและองค์ประกอบต่าง ๆ ที่พบในน้ำมันดิบ (Tapis Crude oil) 0.5 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตรต่อปริมาตรของชุดควบคุมที่ไม่มีการเติมเชื้อจุลินทรีย์

ลำดับที่	เวลา (นาท)	พื้นที่ใต้พีค	ลำดับที่	เวลา (นาท)	พื้นที่ใต้พีค
	(Retention Time)	(Peak area)		(Retention Time)	(Peak area)
1	0.568	17974	28	1.986	2369
2	0.872	5626462	29	2.028	128
3	0.982	335	30	2.107	398
4	1.010	230	31	2.179	650
5	1.061	486	32	2.224	231
6	1.102	205	33	2.274	379
7	1.124	419	34	2.318	229
8	1.150	198	35	2.390	210
9	1.179	132	36	2.429	174
10	1.196	189	37	2.487	417
11	1.224	295	38	2.502	371
12	1.249	221	39	2.540	569
13	1.298	1403	40	2.602	429
14	1.324	333	41	2.647	151
15	1.381	368	42	2.718	201
16	1.423	1526	43	2.752	110
17	1.490	171	44	2.820	126
18	1.505	168	45	2.896	4005
19	1.545	352	46	2.897	84
20	1.588	583	47	3.008	122
21	1.640	234	48	3.049	139
22	1.699	557	49	3.106	300
23	1.735	1336	50	3.180	152
24	1.739	449	51	3.225	415
25	1.851	168	52	3.291	345
26	1.897	596	53	3.360	180
27	1.944	298	54	3.419	173

ลำดับที่	เวลา (นาที) (Retention Time)	พื้นที่ใต้พีค (Peak area)	ลำดับที่	เวลา (นาที) (Retention Time)	พื้นที่ใต้พีค (Peak area)
55	3.480	131	85	6.326	264
56	3.545	513	86	6.483	785
57	3.600	309	87	6.532	670
58	3.651	733	88	6.649	1684
59	3.737	393	89	6.822	649
60	3.790	155	90	6.869	486
61	3.853	180	91	6.955	5254
62	3.929	191	92	7.038	366
63	3.982	143	93	7.118	401
64	4.109	4401	94	7.238	978
65	4.175	124	95	7.388	284
66	4.321	981	96	7.446	361
67	4.378	151	97	7.570	521
68	4.432	212	98	7.683	576
69	4.517	185	99	7.734	569
70	4.606	275	100	7.818	242
71	4.657	153	101	7.890	2850
72	4.780	175	102	7.980	474
73	4.855	489	103	8.118	543
74	4.930	371	104	8.292	400
75	4.997	581	105	8.395	6098
76	5.085	598	106	8.545	234
77	5.153	1493	107	8.614	321
78	5.225	126	108	8.665	147
79	5.287	223	109	8.754	198
80	5.503	4631	110	8.851	461
81	5.787	359	111	8.918	201
82	6.070	525	112	9.052	899
83	6.248	483	113	9.141	499
84	6.288	287	114	9.230	555

ลำดับที่	เวลา (นาที) (Retention Time)	พื้นที่ใต้พีค (Peak area)	ลำดับที่	เวลา (นาที) (Retention Time)	พื้นที่ใต้พีค (Peak area)
115	9.297	569	145	14.116	367
116	9.368	522	146	14.230	3641
117	9.789	5472	147	14.252	3201
118	9.975	231	148	14.365	3652
119	10.180	81	149	14.464	214
120	10.418	1995	150	14.680	139287
121	10.491	1411	151	14.786	8000
122	10.570	169	152	14.882	138
123	10.654	329	153	15.261	378
124	10.750	342	154	15.505	817
125	10.999	149	155	15.594	242
126	11.125	5666	156	15.684	543
127	11.255	6467	157	15.899	5448
128	11.712	571	158	16.012	189
129	11.816	486	159	16.320	434
130	11.950	392	160	16.440	1033
131	12.044	249	161	16.591	673
132	12.247	2260	162	16.677	333
133	12.402	6018	163	16.871	3106
134	12.566	1290	164	16.967	4825
135	12.655	114	165	17.136	232
136	10.728	132	166	17.257	101
137	12.927	754	167	17.385	386
138	13.106	359	168	17.490	126
139	13.189	419	169	17.636	470
140	13.281	265	170	17.711	358
141	13.493	247	171	17.993	4906
142	13.619	6658	172	18.226	274
143	13.754	450	173	18.371	257
144	14.042	203	174	18.561	598

ลำดับที่	เวลา (นาที) (Retention Time)	พื้นที่ใต้พีค (Peak area)	ลำดับที่	เวลา (นาที) (Retention Time)	พื้นที่ใต้พีค (Peak area)
175	18.635	278	189	21.149	637
176	17.723	323	190	21.503	659
177	18.980	4202	191	21.623	145
178	19.090	358	192	21.912	3391
179	19.334	186	193	22.673	266
180	19.463	158	194	22.897	274
181	19.594	388	195	23.136	2740
182	19.679	610	196	24.522	2451
183	19.930	4325	197	24.989	262
184	20.288	254	198	26.066	1835
185	20.518	863	199	27.773	1784
186	20.610	191	200	29.606	1313
187	20.697	166	201	31.567	1216
188	20.848	3708	202	33.795	553

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## ตัวอย่างการคำนวณ

### สมการที่ 1

$$\text{อัตราส่วนพื้นที่ฟีกของไฮโดรคาร์บอน} = \frac{\text{ผลรวมของพื้นที่ฟีกไฮโดรคาร์บอน}}{\text{พื้นที่ฟีกของสารมาตรฐานในการสกัด}}$$

หรือ

$$\begin{aligned} & \text{พื้นที่ของไฮโดรคาร์บอนทั้งหมด} \\ &= \{ \text{พท.ทั้งหมดในโครมาโทแกรม} - (\text{พท.ตัวทำละลาย} + \text{พท.สารปนเปื้อน} + \text{พื้นที่Internal standard}) \} \\ & \text{พื้นที่ของสารมาตรฐานในการสกัด (Internal Standard)} \end{aligned}$$

จากตารางแทนค่าในสมการได้

$$\text{พื้นที่ทั้งหมดในโครมาโทแกรม} = 5,978,489$$

$$\text{พื้นที่ของตัวทำละลาย} = 5,626,462$$

$$\text{พื้นที่ของสารปนเปื้อน} = 17,974$$

$$\text{พื้นที่ของสารมาตรฐานในการสกัด} = 139,287$$

ดังนั้น

$$\text{พื้นที่ของไฮโดรคาร์บอน} = 194,766 / 139,287$$

$$= 1.398$$

### สมการที่ 2

$$\text{เปอร์เซ็นต์ของไฮโดรคาร์บอนที่เหลืออยู่} = \frac{\text{พื้นที่ของไฮโดรคาร์บอนที่เหลืออยู่ (สมการ 1)} \times 100}{\text{พื้นที่ของไฮโดรคาร์บอนที่เหลือของชุดควบคุมที่ 0}}$$

$$= (1.398 \times 100) / 1.398$$

$$= 100 \text{ เปอร์เซ็นต์}$$

### การคำนวณหาปริมาณไฮโดรคาร์บอนทั้งหมดที่เหลือจากการย่อยสลายน้ำมันดิบ (Tapis crude oil)

คำนวณโดยการหาค่าความถ่วงจำเพาะของน้ำมันดิบที่ใช้ในการทดลอง  
จากสูตร (หมายเหตุ : ณ อุณหภูมิ 60° F หรือ 165°C )

$$\text{API}^\circ \text{ ของน้ำมันดิบชนิดหนึ่ง} = \frac{141.5}{\text{ความถ่วงจำเพาะของน้ำมันดิบชนิดนั้นๆ}} - 135$$

ดังนั้น หากในกรณีของน้ำแล้ว จะมีค่าองศาเอพีไอ (API°) เท่ากับ 10

$$\text{โดยที่ API}^\circ \text{ ของน้ำมันดิบจากตาราง 1-ง} = 45$$

แทนค่าในสูตรจะได้

$$45.5 + 131.5 = \frac{141.5}{\text{ความถ่วงจำเพาะของน้ำมันดิบ}}$$

$$\text{ความถ่วงของน้ำมันดิบ} = 0.7994 \quad \text{กรัม}$$

$$\text{หรือ} = 799.4 \quad \text{มิลลิกรัม}$$

$$\text{จากวิธีการทดลองใช้กับน้ำมันดิบ} = 0.5 \quad \text{เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร}$$

ดังนั้น จึงพบว่าในถังระบบบำบัดขนาด 4 ลิตรจะมีปริมาณน้ำมันดิบเริ่มต้น

$$= 20 \times 0.7994$$

$$= 1.5988 \quad \text{กรัม}$$

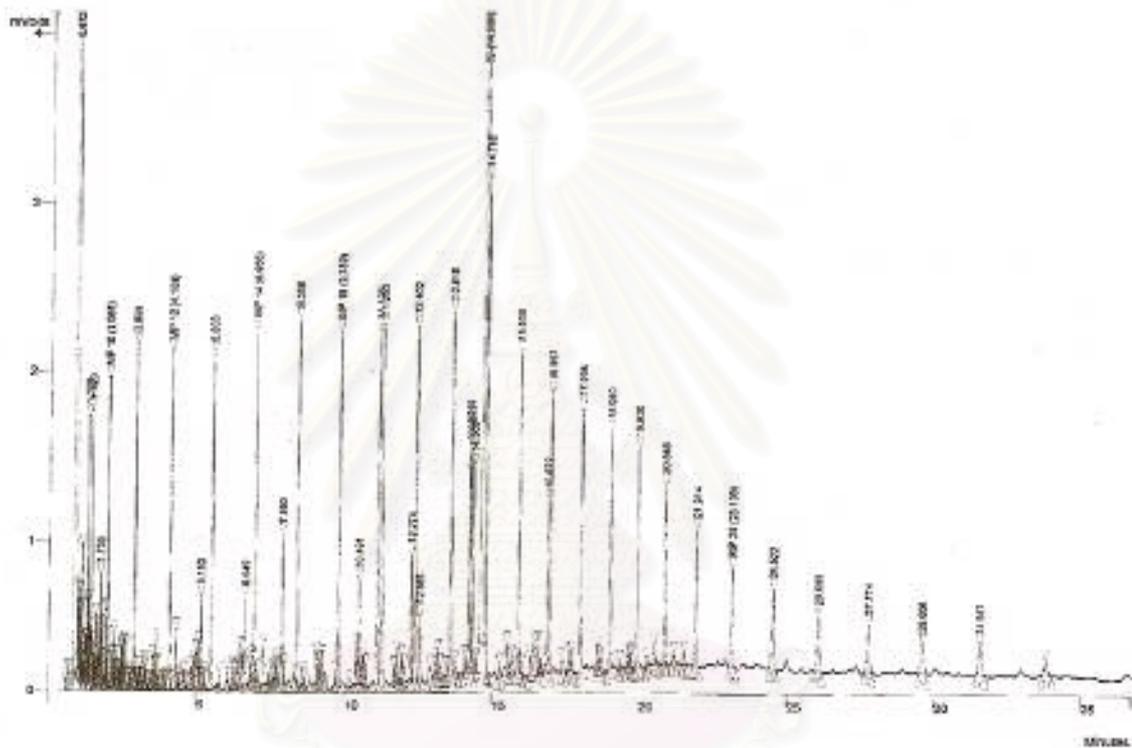
$$\text{หรือ} = 15,988 \quad \text{มิลลิกรัม}$$

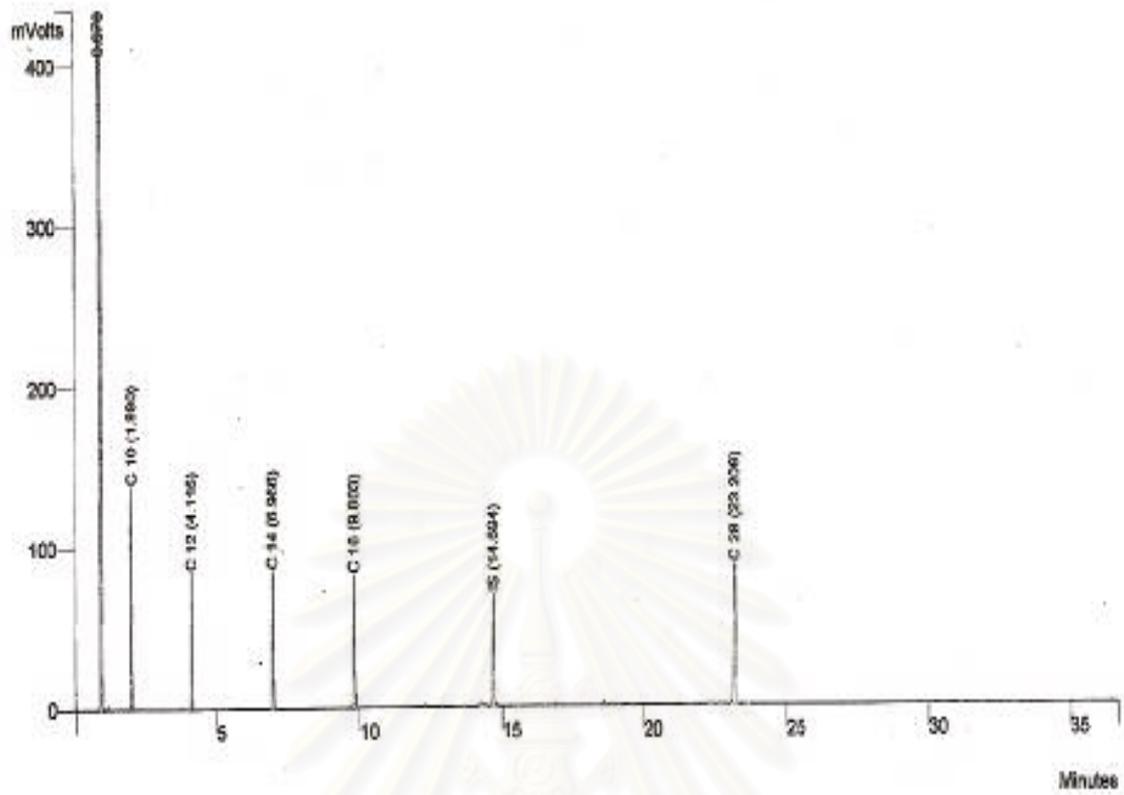
จากนั้นไปคิดเทียบกับเปอร์เซ็นต์ปริมาณไฮโดรคาร์บอนที่เหลืออยู่

สถาบันวิจัยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## ภาคผนวก ข

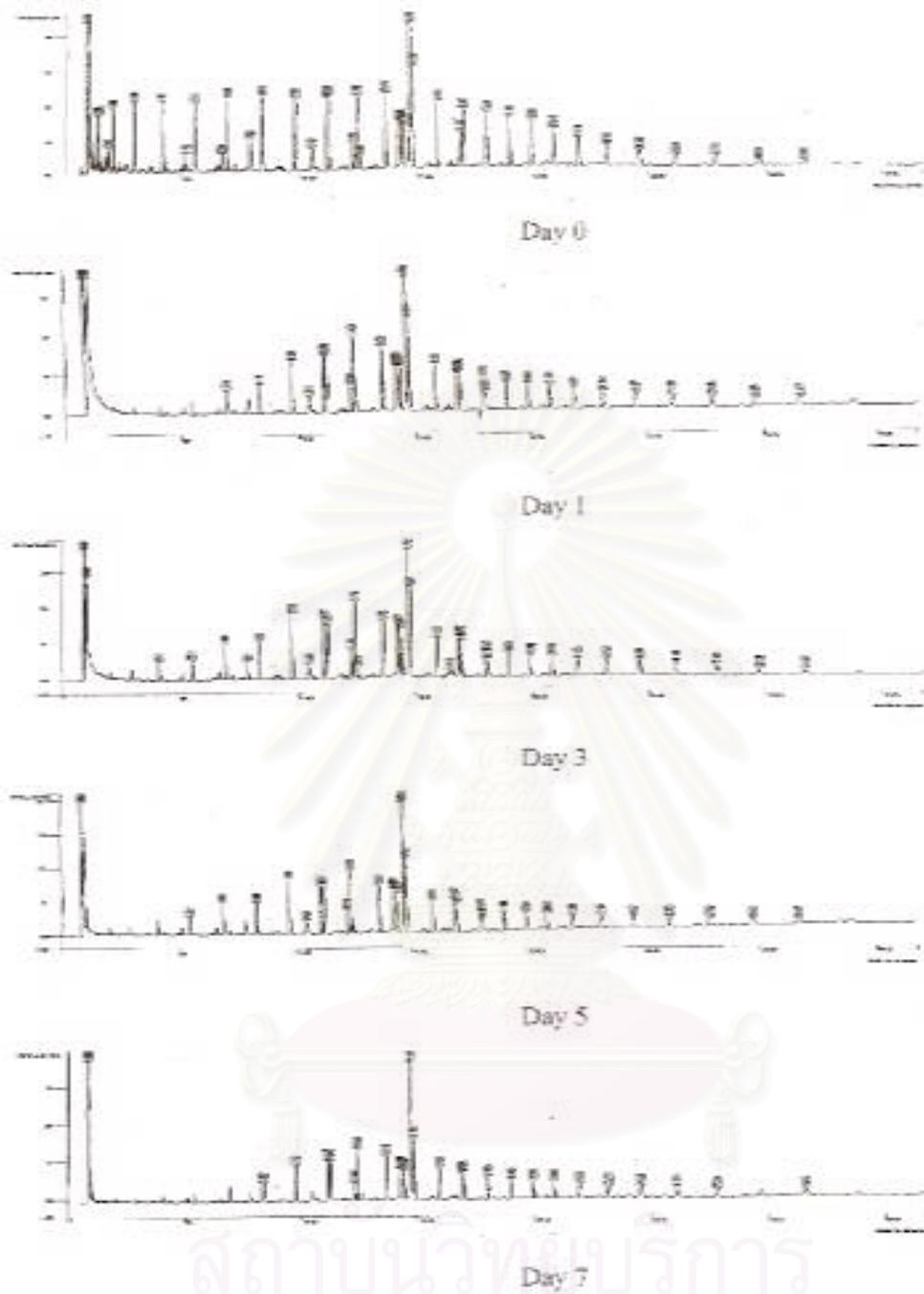
### โครมาโทแกรมจากการทดลองที่สภาวะต่าง ๆ



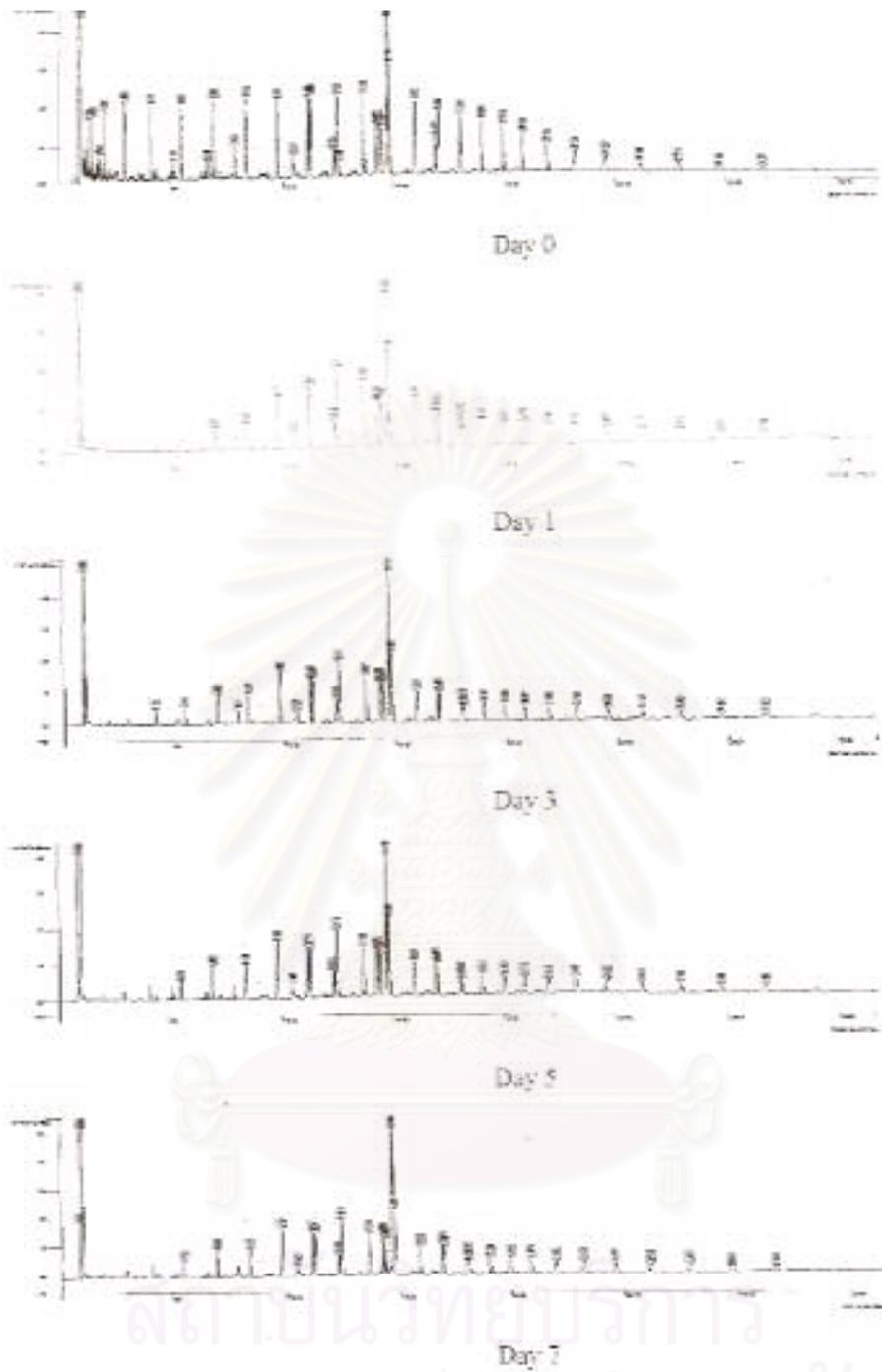


รูปที่ 2-ข โครมาโทแกรมของสารมาตรฐานผสมของไฮโดรคาร์บอนเมื่อวิเคราะห์ด้วยโครมาโทกราฟี

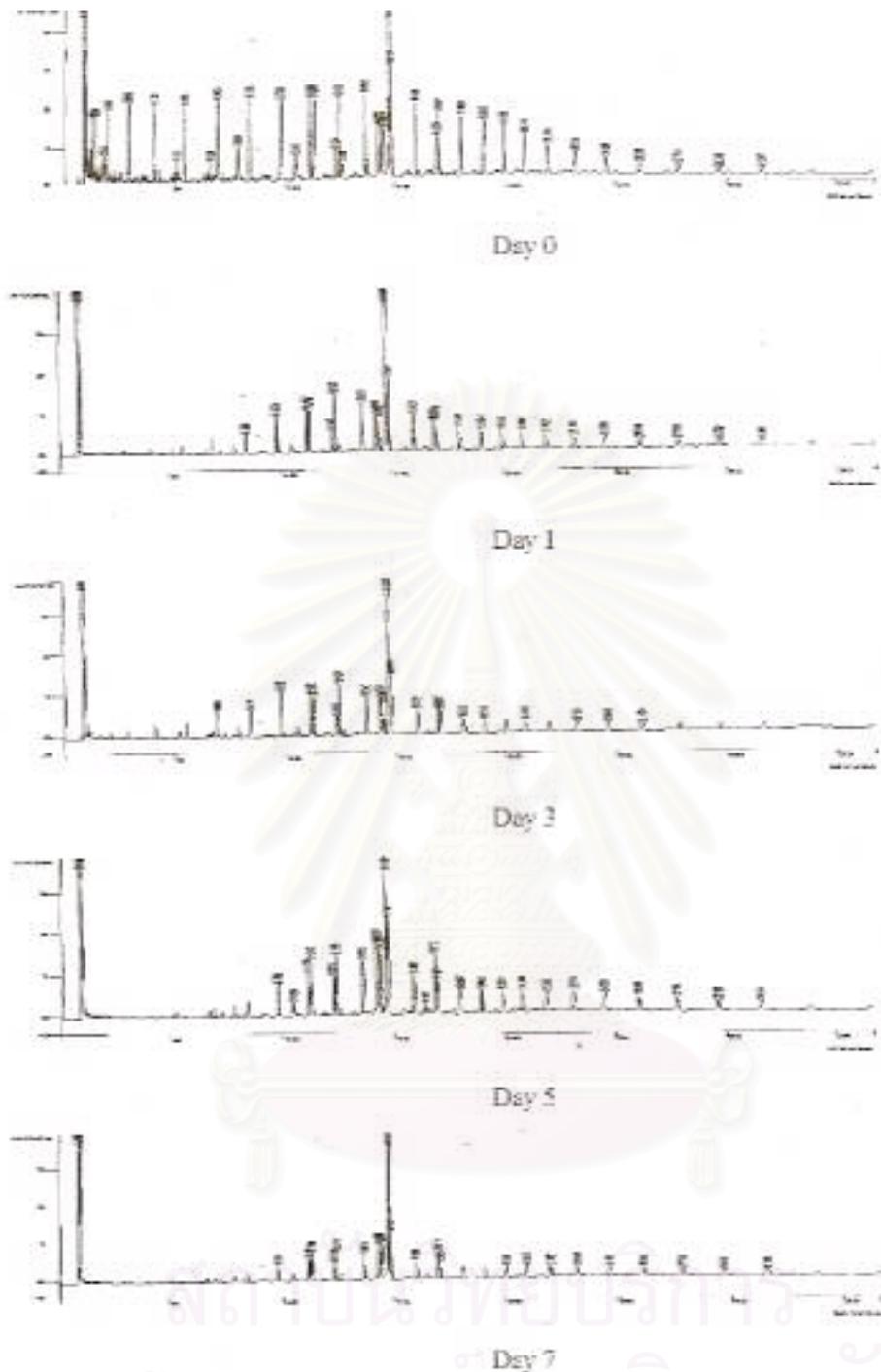
สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



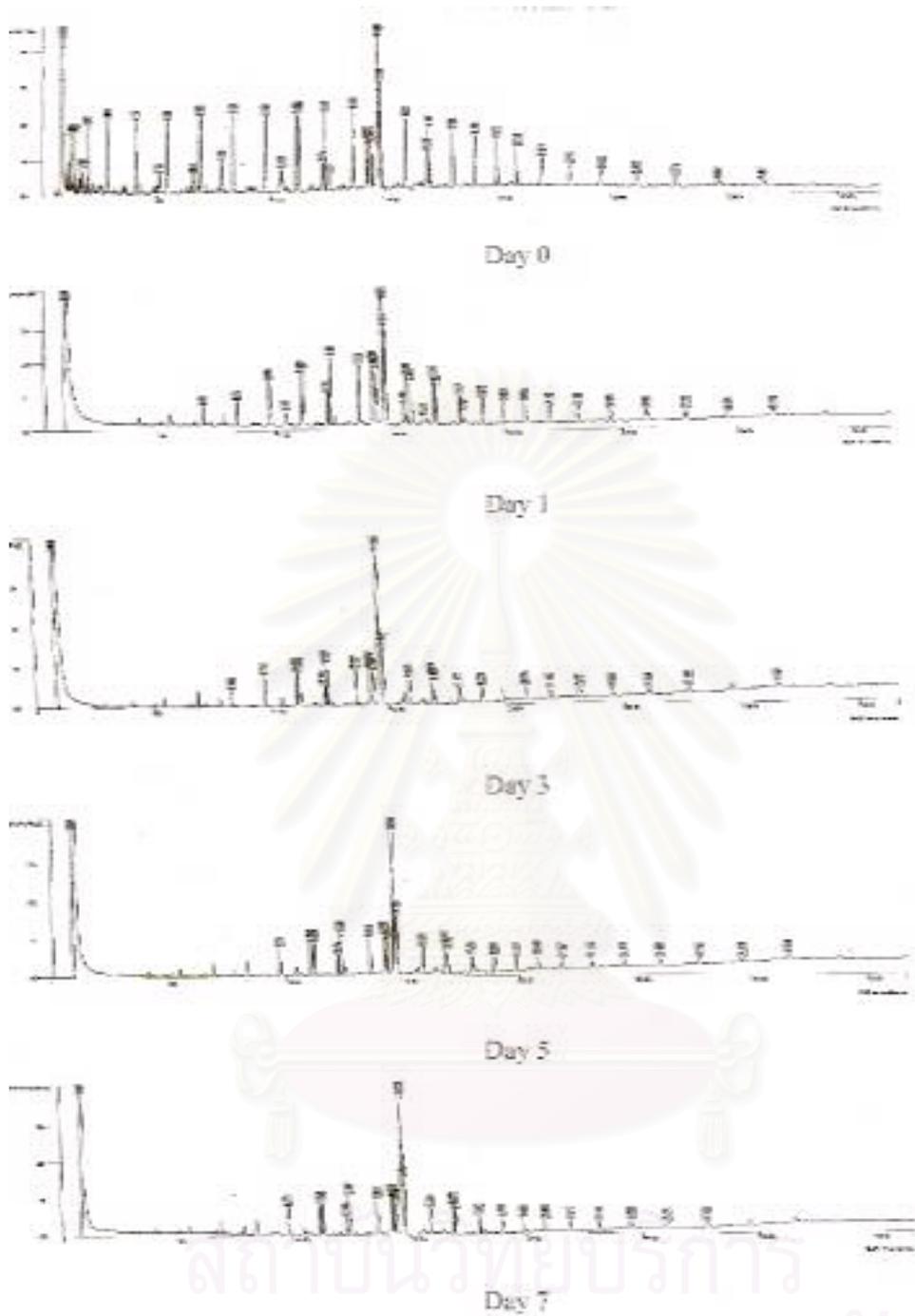
รูปที่ 3-ช โครมาโทแกรมของปริมาณไฮโดรคาร์บอนทั้งหมดที่เหลือที่สภาวะการทดลองความเร็วรอบในการหมุนของแผ่นหมุนชีวภาพ 2 รอบต่อนาที ระดับการจมน้ำของแผ่นหมุน 20 เปอร์เซ็นต์ ในชุดควบคุมที่ไม่มีการเติมเชื้อจุลินทรีย์



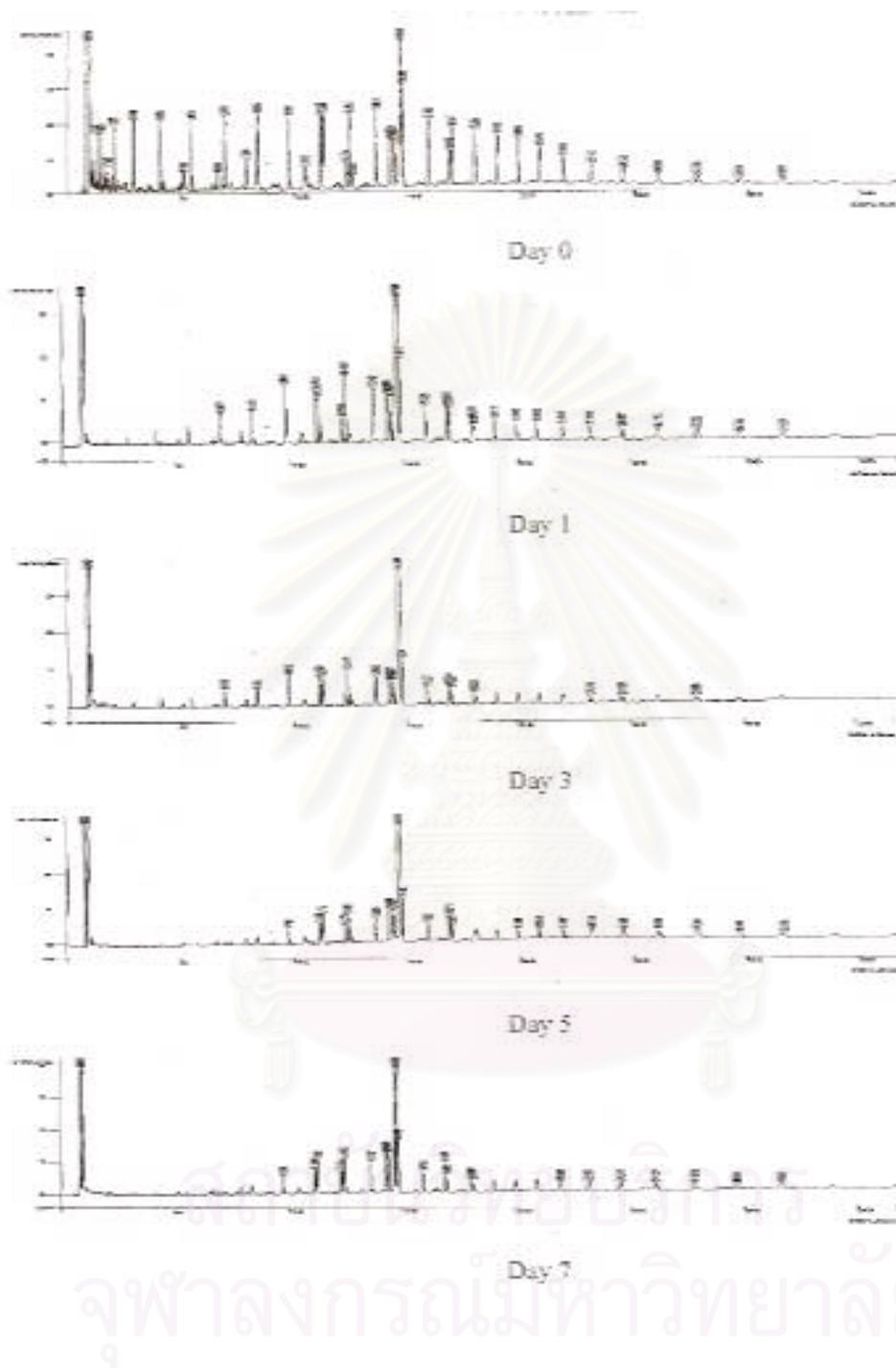
รูปที่ 4-ข โครมาโทแกรมของปริมาณไฮโดรคาร์บอนทั้งหมดที่เหลือที่สภาวะการทดลองความเร็วรอบในการหมุนของแผ่นหมุนชีวภาพ 4 รอบต่อนาที ระดับการจมตัวของแผ่นหมุน 40 เปอร์เซ็นต์ ในชุดควบคุมที่ไม่มีการเติมเชื้อจุลินทรีย์



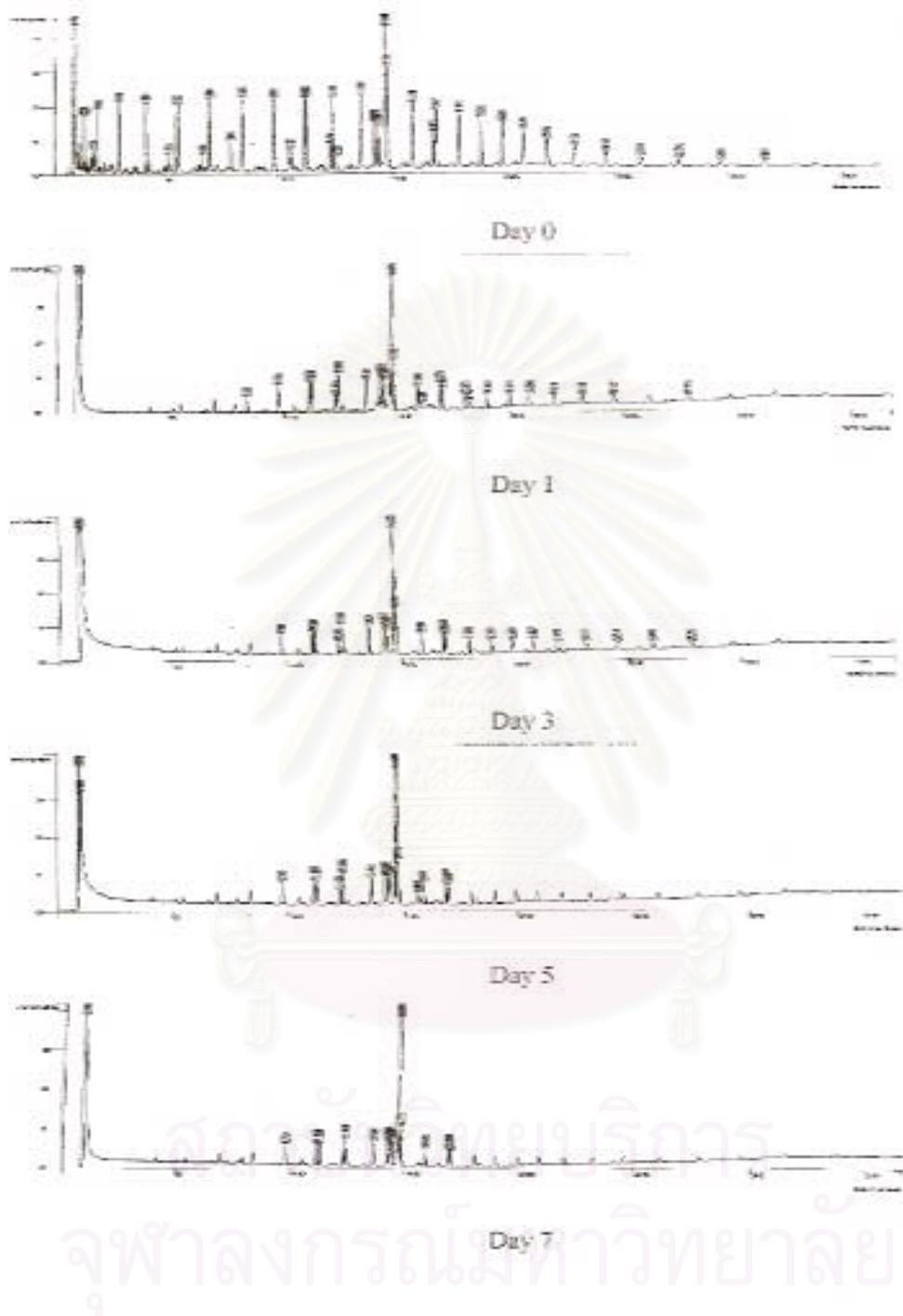
รูปที่ 5-ข โครมาโทแกรมของปริมาณไฮโดรคาร์บอนทั้งหมดที่เหลือที่สภาวะการทดลองความเร็วรอบในการหมุนของแผ่นหมุนชีวภาพ 2 รอบต่อนาที ระดับการจุ่มตัวของแผ่นหมุน 20 เปอร์เซ็นต์



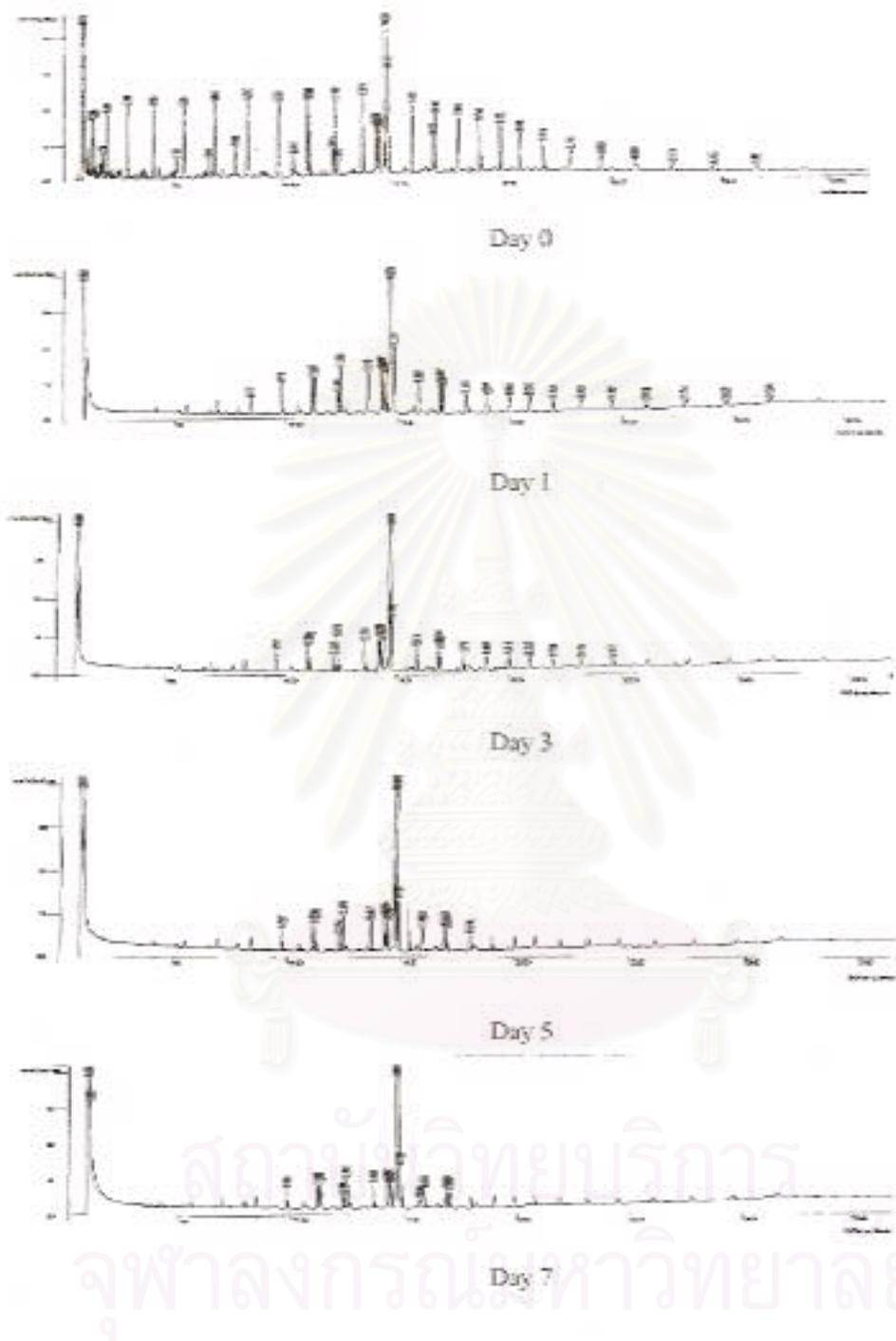
รูปที่ 6-ซ โครมาโทแกรมของปริมาณไฮโดรคาร์บอนทั้งหมดที่เหลือที่สภาวะการทดลองความเร็วรอบในการหมุนของแผ่นหมุนชีวภาพ 2 รอบต่อนาที ระดับการจมน้ำของแผ่นหมุน 30 เปอร์เซ็นต์



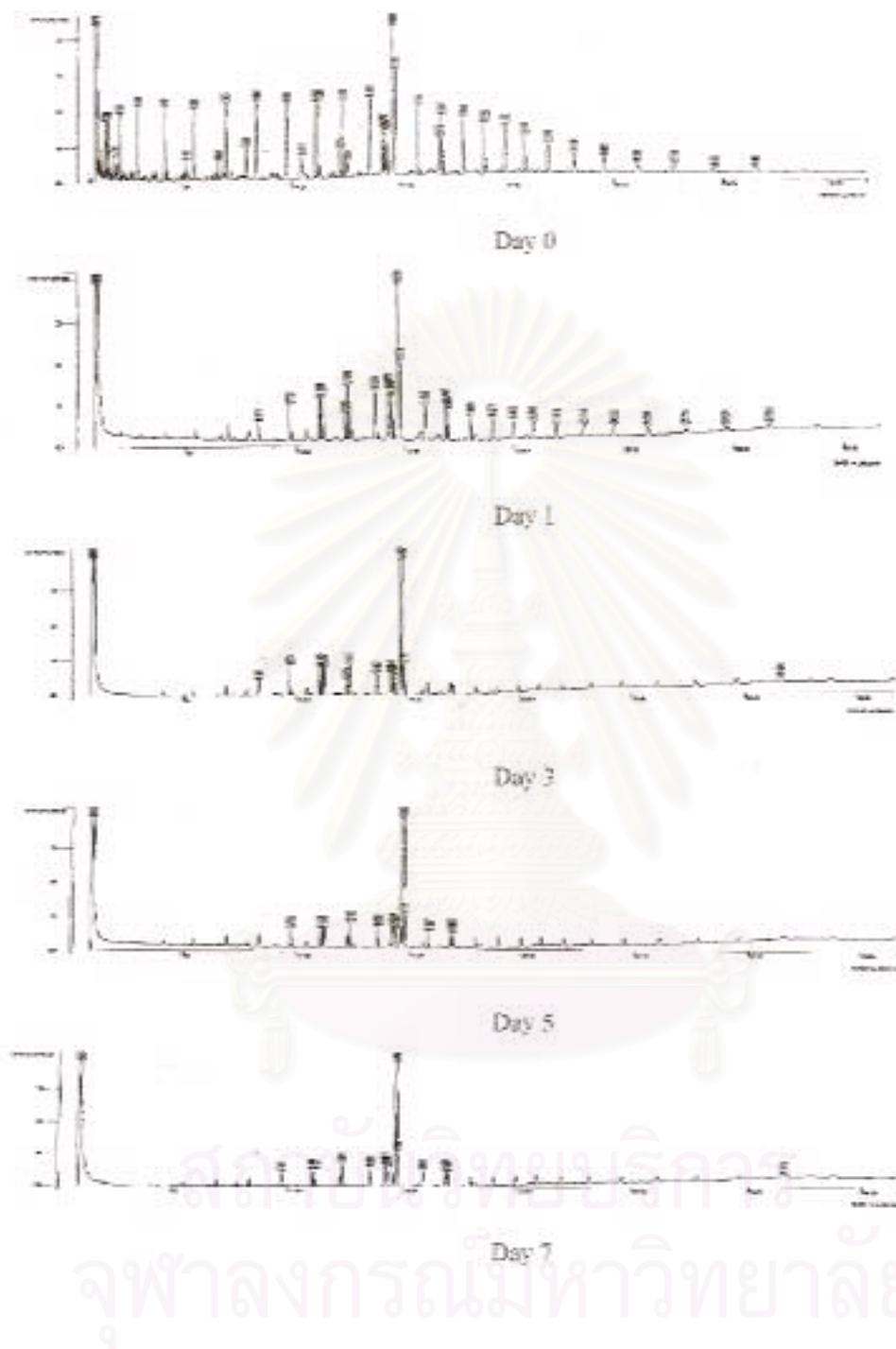
รูปที่ 7-ข โครมาโทแกรมของปริมาณไฮโดรคาร์บอนทั้งหมดที่เหลือที่สภาวะการทดลองความเร็วรอบในการหมุนของแผ่นหมุนชีวภาพ 2 รอบต่อนาที ระดับการจมน้ำของแผ่นหมุน 40 เปอร์เซ็นต์



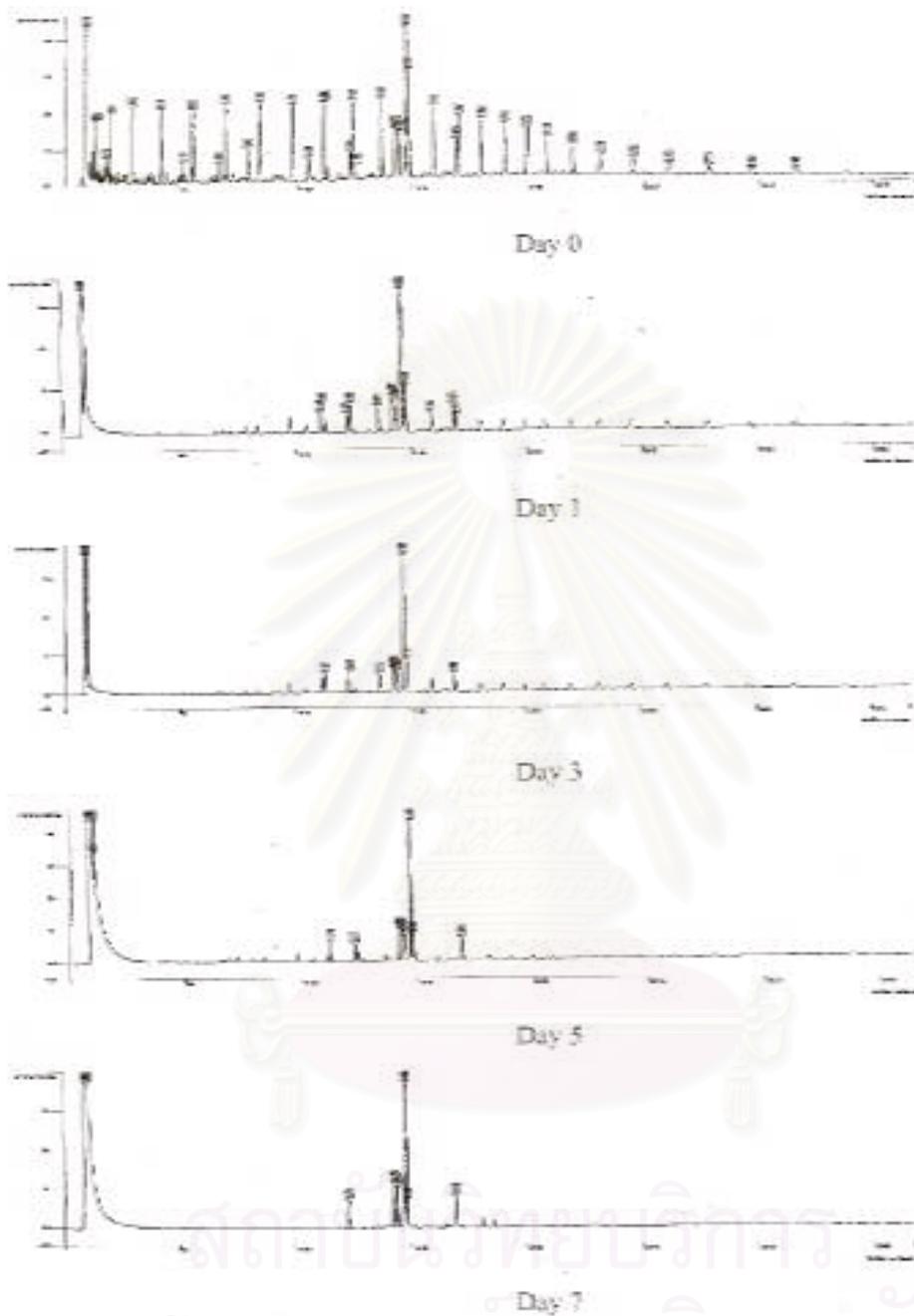
รูปที่ 8-ข โครมาโทแกรมของปริมาณไฮโดรคาร์บอนทั้งหมดที่เหลือที่สภาวะการทดลองความเร็วรอบในการหมุนของแผ่นหมุนชีวภาพ 3 รอบต่อนาที ระดับการจมน้ำของแผ่นหมุน 20 เปอร์เซ็นต์



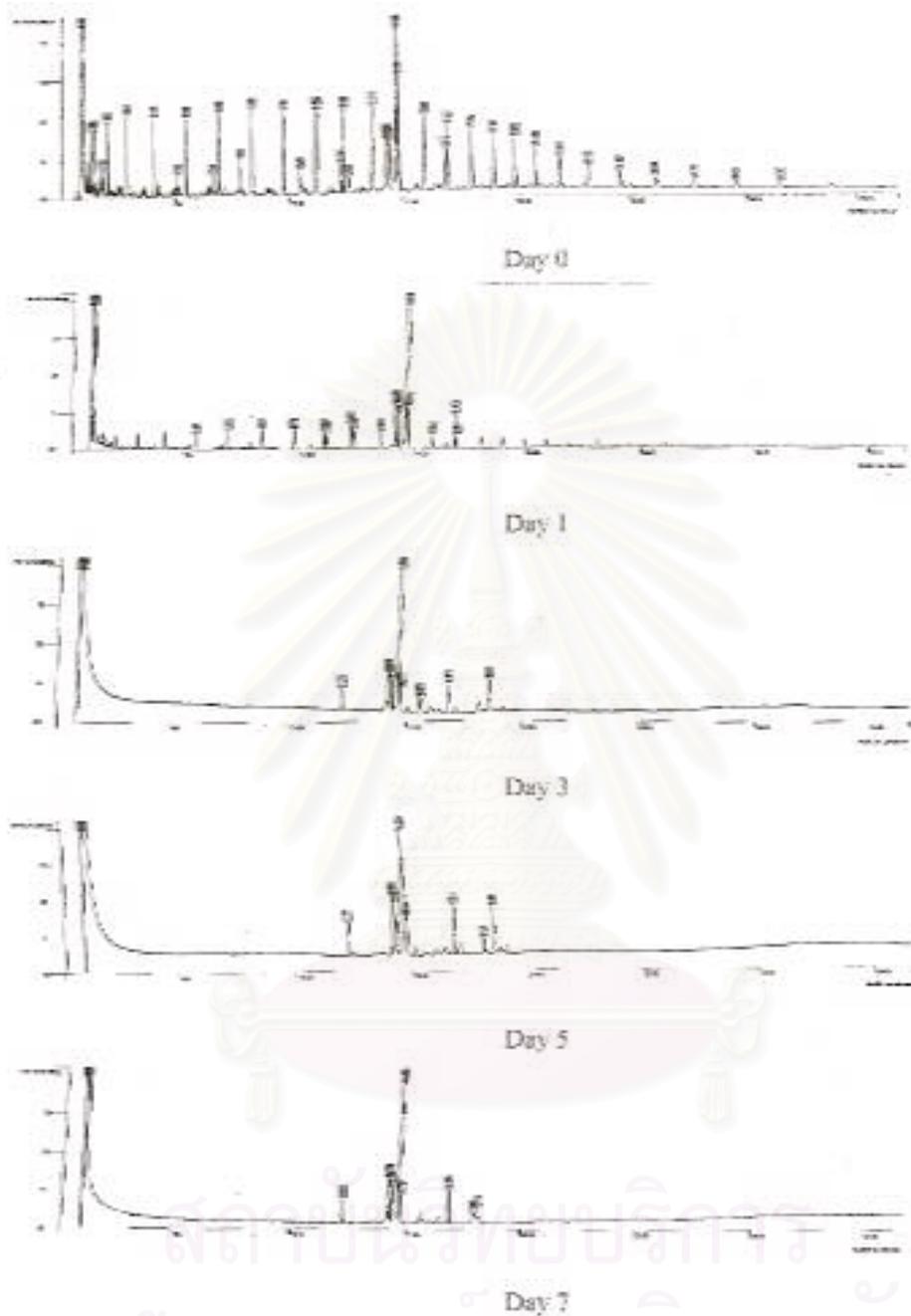
รูปที่ 9-ข โครมาโทแกรมของปริมาณไฮโดรคาร์บอนทั้งหมดที่เหลือที่สภาวะการทดลองความเร็วรอบในการหมุนของแผ่นหมุนชีวภาพ 3 รอบต่อนาที ระดับการจมน้ำของแผ่นหมุน 30 เปอร์เซ็นต์



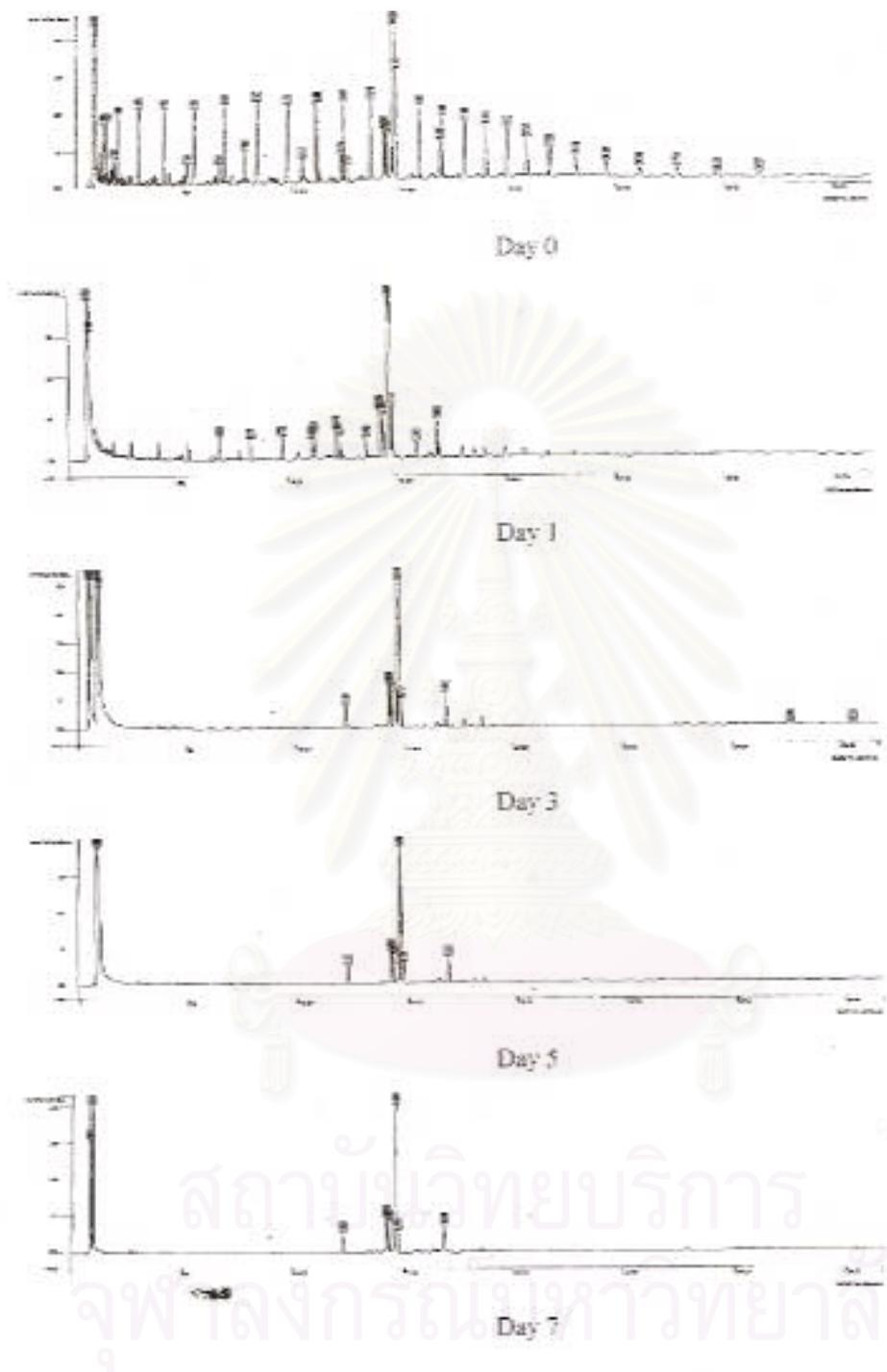
รูปที่ 10-ช โครมาโทแกรมของปริมาณไฮโดรคาร์บอนทั้งหมดที่เหลือที่สภาวะการทดลองความเร็วรอบในการหมุนของแผ่นหมุนชีวภาพ 3 รอบต่อนาที ระดับการจุ่มตัวของแผ่นหมุน 40 เปอร์เซ็นต์



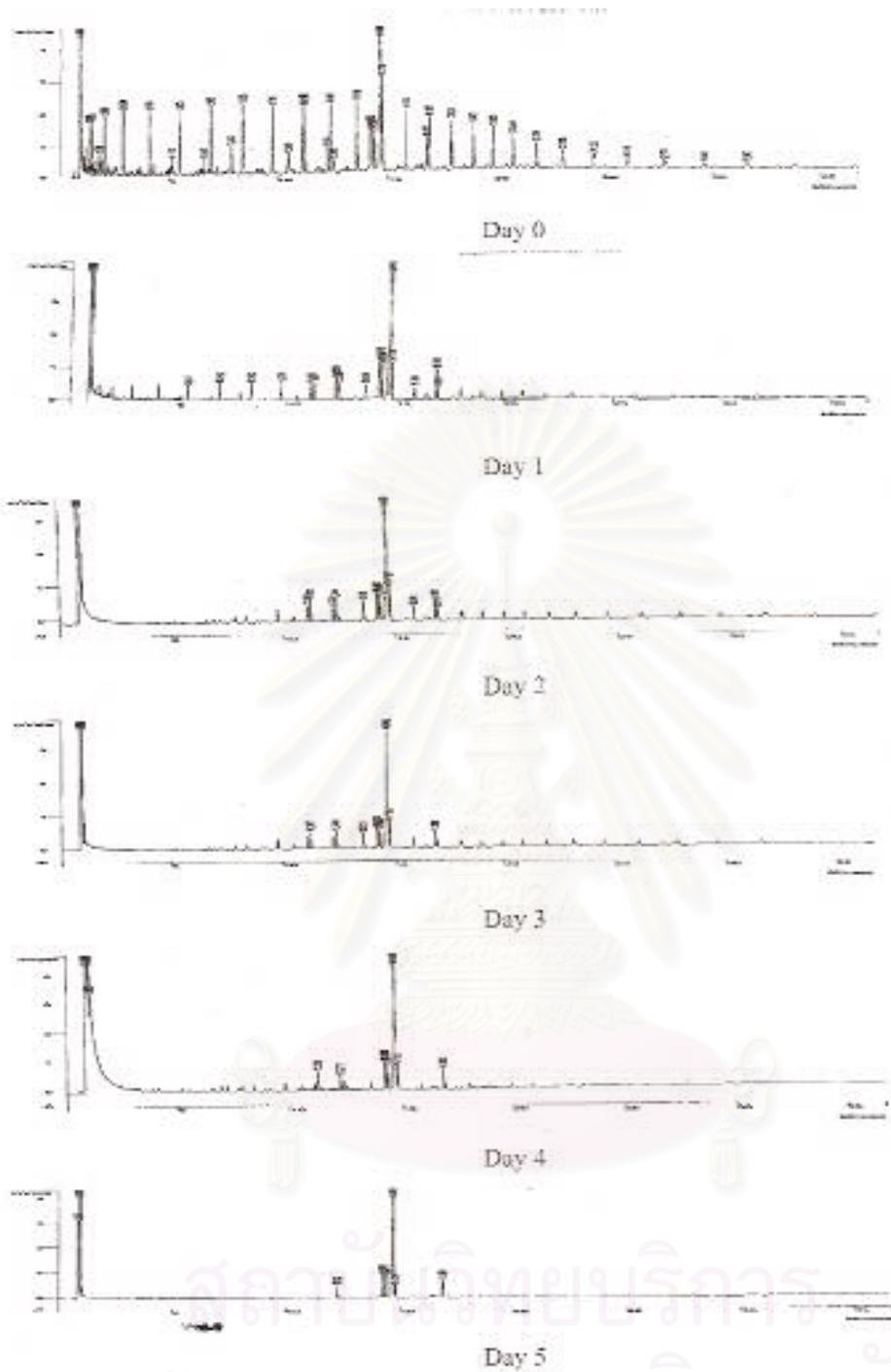
รูปที่ 11-ซ โครมาโทแกรมของปริมาณไฮโดรคาร์บอนทั้งหมดที่เหลือที่สภาวะการทดลองความเร็วรอบในการหมุนของแผ่นหมุนชีวภาพ 4 รอบต่อนาที ระดับการจมน้ำของแผ่นหมุน 20 เปอร์เซ็นต์



รูปที่ 12-ข โครมาโทแกรมของปริมาณไฮโดรคาร์บอนทั้งหมดที่เหลือที่สภาวะการทดลองความเร็วรอบในการหมุนของแผ่นหมุนชีวภาพ 4 รอบต่อนาที ระดับการจมน้ำของแผ่นหมุน 30 เปอร์เซ็นต์



รูปที่ 13-ข โครมาโทแกรมของปริมาณไฮโดรคาร์บอนทั้งหมดที่เหลือที่สภาวะการทดลองความเร็วรอบในการหมุนของแผ่นหมุนชีวภาพ 4 รอบต่อนาที ระดับการจุ่มตัวของแผ่นหมุน 40 เปอร์เซ็นต์



รูปที่ 14-ช โครมาโทแกรมของปริมาณไฮโดรคาร์บอนทั้งหมดที่เหลือที่สภาวะการทดลองความเร็วรอบในการหมุนของแผ่นหมุนชีวภาพ 4 รอบต่อนาที ระดับการจมตัวของแผ่นหมุน 40 เปอร์เซ็นต์ ในการทดลองในระบบต่อเนื่อง

ภาคผนวก ข

## ภาคผนวก ข

## ปริมาณไฮโดรคาร์บอนที่สามารถย่อยได้ในระบบบำบัดแผ่นหมุนชีวภาพ

ตารางที่ 1-ข แสดงปริมาณไฮโดรคาร์บอนที่สามารถย่อยได้ (เปอร์เซ็นต์) ที่สภาวะที่มีการผสมน้ำมันดิบ (Tapis crude oil) 0.5 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร ความเป็นกรด-ด่างเริ่มต้นเท่ากับ 8.0 อัตราส่วนระหว่างแบคทีเรียที่ผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพต่อกลุ่มจุลินทรีย์ที่สามารถย่อยสลายน้ำมันดิบได้เป็น 2:1 ที่สภาวะความเร็วในการหมุนของแผ่นหมุนชีวภาพ 2 รอบต่อนาที 3 รอบต่อนาที และ 4 รอบต่อนาที ระดับการจมตัวของแผ่นหมุนชีวภาพ 20 เปอร์เซ็นต์ 30 เปอร์เซ็นต์ และ 40 เปอร์เซ็นต์

สภาวะที่ใช้ในการทดลอง	ระยะเวลา (วัน)				
	0	1	3	5	7
2 rpm 20%	0% (0)	41.13% (6,602.99)	52.24% (8,386.5)	56.15% (9,014.29)	57.41% (9,216.57)
2 rpm 30%	0%(0)	42.66% (6,848.62)	53.77% (8,632.21)	57.06% (9,160.38)	58.01% (9,312.9)
2 rpm 40%	0%(0)	43.79% (7,030.02)	55.27% (8,873.02)	59.54% (9,558.52)	60.30% (9,680.53)
3 rpm 20%	0%(0)	52.31% (8,397.82)	57.18% (9,179.65)	64.18% (10,303.43)	64.52% (10,358.01)
3 rpm 30%	0% (0)	53.51% (8,590.47)	59.19% (9,502.33)	65.40% (10,499.28)	66.53% (10,680.69)
3 rpm 40%	0% (0)	55.88% (8,970.95)	61.96% (9,947.03)	67.19% (10,786.65)	67.78% (10,881.37)
4 rpm 20%	0% (0)	71.52% (11,481.79)	74.29% (11,926.48)	79.69% (12,793.39)	80.26% (12,884.90)
4 rpm 30%	0%(0)	75.23% (12,077.39)	79.63% (12,783.76)	83.54% (13,411.47)	84.20% (13,517.43)
4 rpm 40%	0%(0)	76.73% (12,318.20)	85.50% (13,726.13)	87.35% (14,023.13)	87.68% (14,076.10)

## ภาคผนวก ฅ

สถิติที่ใช้ในการแปลผลเปรียบเทียบปริมาณไฮโดรคาร์บอนทั้งหมดที่สลายตัวทางกายภาพ  
ระหว่างที่ภาวะความเร็วรอบในการหมุน 2 รอบต่อนาที ระดับการจมน้ำ 20 เปอร์เซ็นต์  
กับที่ภาวะความเร็วรอบในการหมุน 4 รอบต่อนาที ระดับการจมน้ำ 40 เปอร์เซ็นต์  
ในชุดการทดลองที่ไม่มีการเติมเชื้อจุลินทรีย์

## T-test

ตารางที่ 1-ฅ Paired Samples Statistics

Pair	Mean	N	Std. Deviation	Std. Mean
1. contactor's rotational speed of 2 rpm with the contactor's immersion level of 20%	29.7720	5	17.11400	7.65361
2. contactor's rotational speed of 4 rpm with the contactor's immersion level of 40%	35.5880	5	21.84025	9.76726

ตารางที่ 2-ฅ Paired Samples Correlation

Pair	N	Correlation	Sig.
contactor's rotational speed of 2 rpm with the contactor's immersion level of 20% & contactor's rotational speed of 4 rpm with the contactor's immersion level of 40%	5	.882	.048

ตารางที่ 3-ฅ Paired Samples Test

Pair	Paired					t	df	Sig. (2-tailed)
	Mean	Std. Deviation	Std. Mean	95% Interval of the Difference				
				Lower	Upper			
contactor's rotational speed of 2 rpm with the contactor's immersion level of 20% - contactor's rotational speed of 4 rpm with the contactor's immersion level of 40%	- 5.8160	10.52184	4.70551	- 18.8806	7.2486	- 1.236	4	0.284

**Pair – Sample T Test** เป็นสถิติที่ใช้ทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยระหว่าง 2 กลุ่ม ตัวอย่างที่มีความสัมพันธ์กัน หรือที่เรียกว่า “ การทดสอบเป็นคู่ด้วยสถิติ Student’t ” จะมีการทดสอบความแตกต่างเป็นคู่ ๆ โดยแต่ละคู่มีความสัมพันธ์กัน จึงอาจเรียกการทดสอบแบบนี้ว่าเป็น การทดสอบความทดสอบแบบจับคู่ (Pair Difference Test)

จากตารางที่ 1-ฅ กำหนดสมมติฐานให้

$H_0$ : % total physical degradation hydrocarbon of operation at the contactor’s rotational speed of 2 rpm with the contactor’s immersion level of 20% และ % total physical degradation hydrocarbon of operation at the contactor’s rotational speed of 4 rpm with the contactor’s immersion level of 40% ไม่มีความแตกต่างกัน

$H_1$ : % total physical degradation hydrocarbon of operation at the contactor’s rotational speed of 2 rpm with the contactor’s immersion level of 20% และ % total physical degradation hydrocarbon of operation at the contactor’s rotational speed of 4 rpm with the contactor’s immersion level of 40% มีความแตกต่างกัน

กำหนดระดับนัยสำคัญเท่ากับ 95 เปอร์เซนต์ ( $\alpha = 0.05$ )

จะพบว่าความน่าจะเป็น Sig. เท่ากับ 0.284 ซึ่งมีค่ามากกว่า  $\alpha$  ที่กำหนด คือ 0.05 ดังนั้น จึงตัดสินใจยอมรับสมมติฐาน  $H_0$  จึงสามารถสรุปได้ว่า % total physical degradation hydrocarbon of operation at the contactor’s rotational speed of 2 rpm with the contactor’s immersion level of 20% และ % total physical degradation hydrocarbon of operation at the contactor’s rotational speed of 4 rpm with the contactor’s immersion level of 40% ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ที่ระดับนัยสำคัญที่ 95 เปอร์เซนต์

## ภาคผนวก ญ

สถิติที่ใช้ในการแปลผลเปรียบเทียบความสัมพันธ์ทางสถิติในรูปแบบของ  
สมการเชิงเส้นถดถอยระหว่างค่าจำนวนเซลล์ของสิ่งมีชีวิต  
กับค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร

ตารางที่ 1-ญ Pair Samples Correlation

	OD <sub>600</sub>	No. of Cell
OD <sub>600</sub> Pearson Correlation	1	.978**
Sig.(2-tail)	.	.004
N	5	5
5No. of Cell Pearson Correlation	.978**	1
Sig.(2-tail)	.004	.
N	5	5

\*\* . Correlation is significant at the 0.01 level (2-tail)

## ภาคผนวก ก

สถิติที่ใช้ในการแปลผลเปรียบเทียบความสำคัญระหว่าง  
ความเร็วรอบที่ใช้ในการหมุนของแผ่นหมุนชีวภาพ กับ ระดับการจมตัวของแผ่นหมุนชีวภาพ

Oneway

ตารางที่ 1-ก Descriptives

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
<b>IMMERSION</b> <b>VAR00004</b> <b>1.00</b>	3	60.3033	.1709	.1033	59.8587	60.7479	60.15	60.50
	2.00	67.7800	.1587	9.165E-02	67.3857	68.1743	67.66	67.96
	3.00	87.3500	.3915	.2216	86.3774	88.3226	87.04	87.79
	<b>Total</b>	9	71.8111	12.0977	4.0326	62.5120	81.1102	60.15
<b>SPEED</b> <b>VAR00004</b> <b>1.00</b>	3	80.2633	.1750	.1011	79.8285	80.6981	80.09	80.44
	2.00	84.2033	.2055	.1186	83.6928	84.7138	83.99	84.40
	3.00	87.3500	.3915	.2261	86.3774	88.3226	87.04	87.79
	<b>Total</b>	9	83.9389	3.0842	1.0281	81.5682	86.3096	80.09

ตารางที่ 1-๑ ANOVA

		Sum of Square	df	Mean Square	F	Sig.
<b>IMMERSION</b>	<b>Between Groups</b>	<b>1170.408</b>	<b>2</b>	<b>585.204</b>	<b>8338.876</b>	<b>.000</b>
	<b>Within Groups</b>	<b>.421</b>	<b>6</b>	<b>7.018E-02</b>		
	<b>Total</b>	<b>1170.829</b>	<b>8</b>			
<b>SPEED</b>	<b>Between Groups</b>	<b>75.646</b>	<b>2</b>	<b>37.823</b>	<b>501.750</b>	<b>.000</b>
	<b>Within Groups</b>	<b>.452</b>	<b>6</b>	<b>7.539E-02</b>		
	<b>Total</b>	<b>76.098</b>	<b>8</b>			

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

จากตารางที่ 1-ก กำหนดสมมติฐานให้

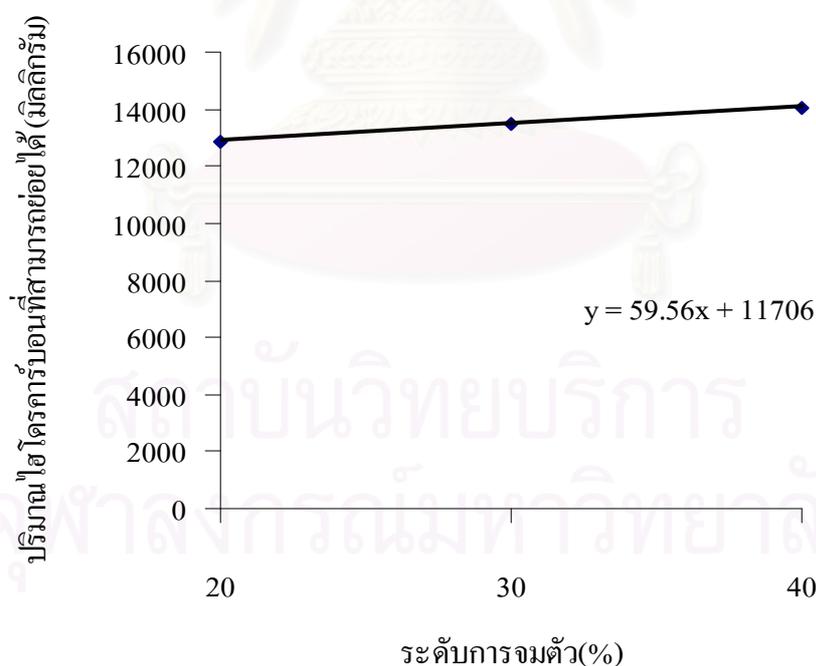
$H_0$  : ปัจจัยระดับการจมน้ำของแผ่นหมุนชีวภาพ กับปัจจัยความเร็วรอบในการหมุนของแผ่นหมุนชีวภาพที่ใช้ในการทดลอง มีความแตกต่างกัน

$H_1$  : ปัจจัยระดับการจมน้ำของแผ่นหมุนชีวภาพ กับปัจจัยความเร็วรอบในการหมุนของแผ่นหมุนชีวภาพที่ใช้ในการทดลอง ไม่มีความแตกต่างกัน

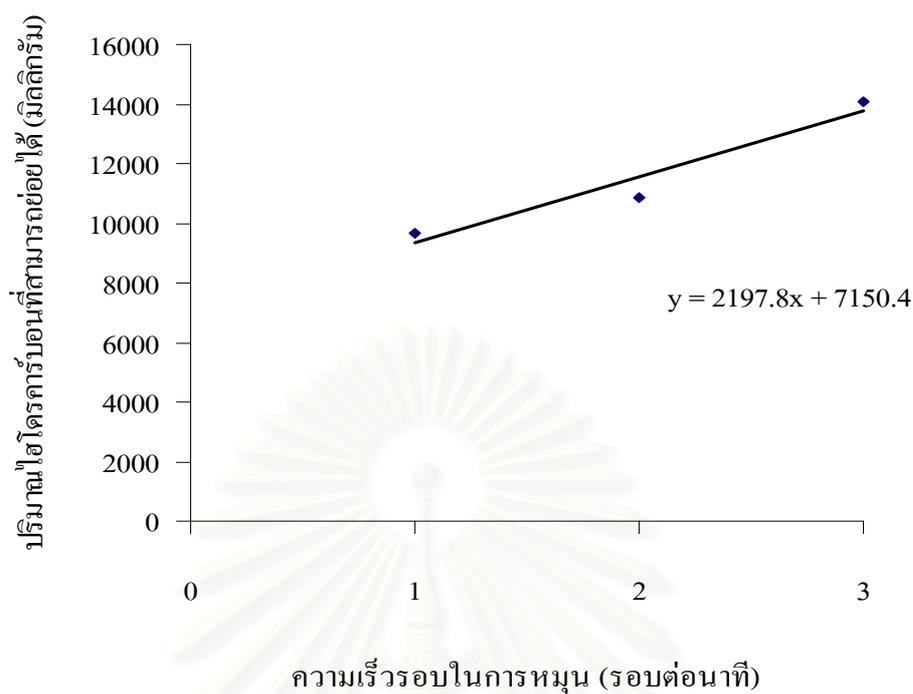
กำหนดระดับนัยสำคัญเท่ากับ 95 เปอร์เซ็นต์ ( $\alpha = 0.05$ )

จะพบว่าความน่าจะเป็น Sig. เท่ากับ 0.005 ซึ่งมีค่าน้อยกว่า  $\alpha$  ที่กำหนด คือ 0.05 ดังนั้นจึงตัดสินใจปฏิเสธสมมติฐาน  $H_0$  และยอมรับสมมติฐาน  $H_1$  จึงสามารถสรุปได้ว่า ปัจจัยระดับการจมน้ำของแผ่นหมุนชีวภาพ กับปัจจัยความเร็วรอบในการหมุนของแผ่นหมุนชีวภาพที่ใช้ในการทดลอง มีความแตกต่างกันทางสถิติ ที่ระดับนัยสำคัญที่ 95 เปอร์เซ็นต์

และเมื่อพิจารณาจากค่าความชันของกราฟ จะเห็นได้ว่า จากรูปที่ 1-ก ค่าความชันมีค่าเท่ากับ 1.1828 ซึ่งน้อยกว่า รูปที่ 2-ก ที่มีค่าความชันเท่ากับ 4.114 ซึ่งแสดงว่าปัจจัยของความเร็วรอบที่ใช้ในการหมุนส่งผลต่อระบบบำบัดแผ่นหมุนชีวภาพมากกว่าปัจจัยของระดับการจมน้ำ



รูปที่ 1-ก แสดงเส้นแนวโน้มและค่าความชันที่เกิดจากปัจจัยของระดับการจมน้ำที่ใช้ในการทดลอง



รูปที่ 2-๑ แสดงเส้นแนวโน้มและค่าความชันที่เกิดจากปัจจัยของความเร็วรอบในการหมุนที่ใช้ในการทดลอง

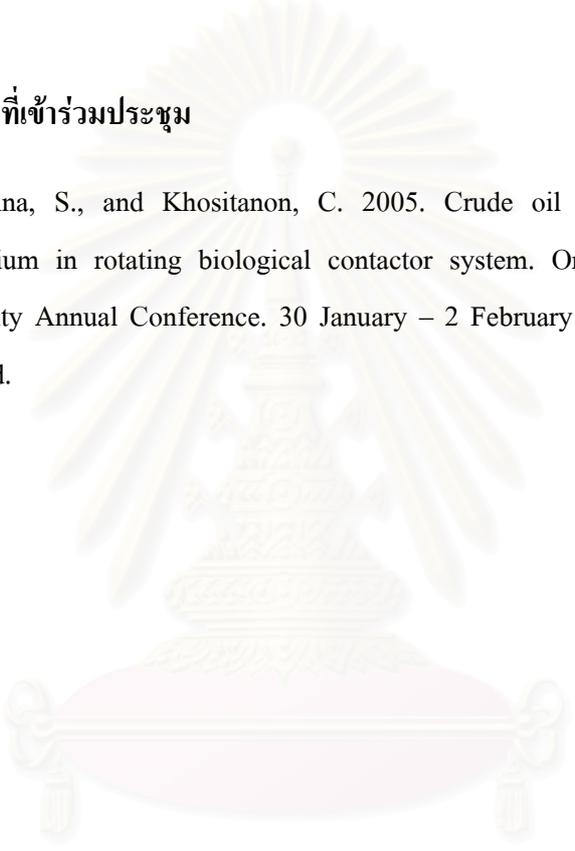
สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

### ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นางสาวสกุลรัตน์ พุกกะวรรณะ เกิดเมื่อวันที่ 3 ตุลาคม พ.ศ. 2523 ที่จังหวัดชลบุรี สำเร็จการศึกษาระดับปริญญาตรีวิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ในปีการศึกษา 2545 และเข้าศึกษาต่อในหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เมื่อ พ.ศ. 2546

### ผลงานทางวิชาการที่เข้าร่วมประชุม

Pukkawanna, S., and Khositanon, C. 2005. Crude oil degradation using selected microbial consortium in rotating biological contactor system. Oral presentation at the 44<sup>th</sup> Kasetsart University Annual Conference. 30 January – 2 February 2006, Kasetsart University, Bangkok, Thailand.



สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย