สำนักงานวิทยทรัพยากร จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 5

สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

งานวิจัยนี้มีจุดมุ่งหมายในการคัดแยกกลุ่มแบคทีเรียเพื่อนำไปใช้ในการบำบัดน้ำเสียจากสถานีบริการน้ำมัน เป็นที่ยอมรับกันว่าการใช้จุลินทรีย์ในการแก้ปัญหาทางสิ่งแวดล้อมเป็นวิธีทางชีวภาพที่มีประสิทธิภาพและเสียค่าใช้จ่ายน้อย ในการศึกษานี้ได้เก็บตัวอย่างน้ำเสียจากจุดที่น้ำเสียไหลลงบ่อดักไขมันของสถานีบริการน้ำมันและนำมาคัดแยกกลุ่มแบคทีเรีย สำหรับบางสถานีที่มีบ่อดักไขมันสองแห่งก็จะเลือกเก็บจากจุดที่รับน้ำมาจากบริเวณที่ซ่อมรถ หรือล้างรถ โดยคาดหวังว่าแบคทีเรียที่อยู่ในบริเวณที่เก็บมีความคุ้นเคยกับสภาพน้ำเสียที่มีน้ำมัน สารซะล้าง และสารมลพิษต่างๆ ดังนั้น แบคทีเรียที่ได้จะสามารถทำงานได้ดีในภาวการณ์จริง

งานวิจัยครั้งนี้เลือกใช้น้ำมันหล่อลื่นเครื่องยนต์ (PTT-V120) เพื่อใช้เป็นแหล่งคาร์บอนและพลังงานในการคัดเลือกกลุ่มแบคทีเรีย เนื่องจากน้ำเสียจากสถานีบริการน้ำมันมีน้ำมันหล่อลื่นเป็นองค์ประกอบหลัก ตัวอย่างน้ำเสียที่เก็บจากทุกแหล่งจะได้รับการนำมาเพิ่มจำนวนแบคทีเรียที่ย่อยสลายน้ำมันหล่อลื่น ในระหว่างการเพิ่มจำนวนพบว่า ระยะเวลาในการถ่ายเชื้อจะลดลงตามลำดับครั้งซึ่งอาจเกิดจากการปรับตัวของกลุ่มแบคทีเรียให้สามารถย่อยสลายน้ำมันหล่อลื่นมาใช้ในการเจริญได้ เมื่อเปรียบเทียบความสามารถในการย่อยสลายในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว พบว่ากลุ่มแบคทีเรียที่ได้จากน้ำเสียสถานีบริการน้ำมันสวนลุมพินี (SL) และรามคำแหง (RH) สามารถลดปริมาณน้ำมันได้ใกล้เคียงกันมาก คือเมื่อเวลาผ่านไป 14 วัน เหลือน้ำมัน 43.10% และ 42.78% ตามลำดับ (รูป 4.1) แต่กลุ่มแบคทีเรีย SL ลดปริมาณน้ำมันหล่อลื่นได้ดีกว่าในช่วงวันแรกๆ จึงเลือกกลุ่มแบคทีเรีย SL มาศึกษาต่อ จากการจำแนกชนิดของแบคทีเรียด้วยวิธีทางสัณฐานวิทยา สรีรวิทยาร่วมกับการวิเคราะห์ลำดับเบสของ 16 เอส ไรโบโซมัลดีเอ็นเอ พบว่าแบคทีเรียทั้งสี่เป็นแบคทีเรียในสกุล *Sphingobium* sp. *Acinetobacter* sp. *Ochrobactrum* sp. และ *Alcaligenes* sp. ตามลำดับ การที่แบคทีเรียทั้ง 4 ชนิด อยู่ร่วมกันเป็นกลุ่มอาจเนื่องมาจากแบคทีเรียเหล่านั้นอยู่ร่วมกันแบบทำงานเสริมกัน (synergism) เป็นไปได้ว่าแบคทีเรียในกลุ่มช่วยกำจัดสารมัธยันตร์ที่อาจขัดขวางกิจกรรมของแบคทีเรียอื่น หรือแบคทีเรียชนิดที่ 2 สามารถย่อยสลายสารที่แบคทีเรียชนิดที่ 1 ย่อยได้บางส่วน (Mukred และคณะ, 2008) มีรายงานในการวิจัยอื่น ๆ พบว่าแบคทีเรียทั้ง 4 ชนิด มีความเกี่ยวข้องกับกระบวนการบำบัดทางชีวภาพโดยย่อยสลายสารมลพิษและสารปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนได้ เช่น ในปี 2004 Willison คัดแยกแบคทีเรียในสกุล Sphingomonad โดยใช้ไครซีน (Chrysene) เป็นแหล่งคาร์บอน Singh และ Lin (2008) ได้คัดแยก

เชื้อจากดินที่ปนเปื้อนน้ำมันดีเซลในประเทศแอฟริกาใต้ ในจำนวนแบคทีเรียที่คัดแยกได้พบว่ามีแบคทีเรียในสกุล *Acinetobacter* sp. ร่วมอยู่ด้วย ซึ่งสามารถย่อยสลายน้ำมันดีเซลได้มากกว่า 60% ในระยะเวลา 2 สัปดาห์ เมื่อทดลองในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว Bushnell-Hass (BH) Su และคณะ (2008) ได้ศึกษาความสามารถของ *Acinetobacter* sp. สายพันธุ์ SG06-02 ซึ่งย่อยสลายสารปิโตรเลียมได้ โดยให้หอยวีนัสฟิลิปปินโน (*Ruditapes philippinarum*) อยู่ในระบบที่มีน้ำมันดีเซลปนเปื้อนเป็นระยะเวลาต่างๆ จากนั้น โดยชุดแรกปล่อยให้ทำความสะอาดตัวเอง ส่วนชุดสองมีการเติมแบคทีเรีย *Acinetobacter* sp. สายพันธุ์ SG06-02 ลงไปในระบบ แล้วเปรียบเทียบปริมาณน้ำมันดีเซลในลำไส้ของหอย ผู้วิจัยพบว่า การเติมแบคทีเรียลงไป ช่วยลดปริมาณของน้ำมันดีเซลที่สะสมในลำไส้ของหอยอย่างมีนัยสำคัญ จากรายงานของ Kılıç (2009) พบว่า *Ochrobactrum* sp. มีความทนและย่อยสลายฟีนอลที่ความเข้มข้นสูงได้ โดยทำงานได้ดีที่ค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 8 เหมาะแก่การนำไปบำบัดน้ำเสียปนเปื้อนฟีนอลที่มีความเป็นด่าง Okoro และ Amund (2010) ได้นำแบคทีเรียในสกุล *Alcaligenes* sp. ที่คัดแยกได้จากงานวิจัยก่อนหน้านี้ มาบำบัดน้ำทิ้งจากการผลิตปิโตรเลียม โดยเริ่มต้น น้ำทิ้งมีค่าปริมาณน้ำมัน และไขมันเท่ากับ 1,407 มก.ต่อลิตร เมื่อผ่านไป 40 วัน พบว่า น้ำทิ้งมีปริมาณน้ำมัน และไขมันลดลงเหลือ 19.58 มก.ต่อลิตร แสดงให้เห็นถึงประสิทธิภาพในการบำบัดด้วยวิธีทางชีวภาพ

จากนั้น ศึกษาการย่อยสลายน้ำมันหล่อลื่นในน้ำเสียสังเคราะห์ที่ความเข้มข้นเริ่มต้น 100 มก.ต่อลิตร (Panpanit, 2001) โดยปรับอัตราส่วนปริมาณน้ำมัน : ไนโตรเจน : ฟอสฟอรัส เป็น 100 : 5 :1 (Sei และคณะ, 2003) และเลี้ยงที่อุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 7 วัน ทั้งนี้น้ำเสียสังเคราะห์นี้เตรียมขึ้นโดยการปั่นผสมระหว่างน้ำมันหล่อลื่น PTT V-120 และสารละลายทวีน-80 ซึ่งเป็นสารลดแรงตึงผิวไร้ประจุ เพื่อจำลองลักษณะของน้ำเสียสถานีบริการน้ำมันเนื่องจากน้ำเสียสถานีบริการน้ำมันมักพบสารลดแรงตึงผิวประเภทไร้ประจุอยู่ด้วย (Panpanit, 2001) พบว่ากลุ่มแบคทีเรีย SL และแบคทีเรียบริสุทธิ์สามารถลดปริมาณน้ำมันหล่อลื่น ส่วนแซททูเรท และส่วนอะโรมาติกซึ่งเป็นองค์ประกอบหลักได้ดังแสดงในตารางที่ 5.1 โดยกลุ่มแบคทีเรีย และแบคทีเรียบริสุทธิ์สามารถย่อยสลายส่วนแซททูเรท และส่วนอะโรมาติกได้ใกล้เคียงกัน เมื่อพิจารณา TLC-FID โครมาโตแกรมของน้ำมันหล่อลื่นที่ย่อยสลายโดยกลุ่มแบคทีเรีย SL จะพบการลดลงของพื้นที่ใต้กราฟของส่วนแซททูเรท และส่วนอะโรมาติก (รูป จ.1)

ตารางที่ 5.1 ปริมาณน้ำมันหล่อลื่น และปริมาณไฮโดรคาร์บอนแต่ละส่วนจากการย่อยสลายของกลุ่มแบคทีเรีย SL และแบคทีเรียบริสุทธิ์ในน้ำเสียสังเคราะห์

แบคทีเรีย	ปริมาณคงเหลือ (%)		
	ส่วนแซททูเรท	ส่วนอะโรมาติก	น้ำมันหล่อลื่น
SLY (*Sphingobium* sp.)	40 ± 1.84	40 ± 1.87	39 ± 2.18
SL15 (*Acinetobacter* sp.)	48 ± 2.04	48 ± 2.15	49 ± 3.01
SL17 (*Ochrobactrum* sp.)	50 ± 1.46	48 ± 2.12	48 ± 2.35
SL27 (*Alcaligenes* sp.)	71 ± 2.61	69 ± 2.31	70 ± 2.72
กลุ่มแบคทีเรีย SL	35 ± 1.98	32 ± 2.01	34 ± 2.14

ในปี 1996 Lal และ Khanna ได้คัดแยกแบคทีเรียจากดินบริเวณโรงกลั่นน้ำมันโดยใช้น้ำมันดิบเป็นแหล่งคาร์บอน จากนั้น เลือกแบคทีเรียที่มีประสิทธิภาพสูงสุดในการย่อยสลายสองชนิด ได้แก่ *Acinetobacter calcoaceticus* และ *Alcaligenes odorans* มาทดสอบการย่อยสลายน้ำมันดิบปริมาณ 1000 มก. ในอาหารเลี้ยงเชื้อ minimal salt เป็นเวลา 15 วัน พบว่า *Acinetobacter calcoaceticus* สามารถย่อยสลายส่วนแซททูเรทได้ดีกว่าส่วนอะโรมาติก ในขณะที่ *Alcaligenes odorans* ย่อยสลายทั้งสองส่วนได้ใกล้เคียงกัน Nakamura และคณะ (1996) นำแบคทีเรีย 4 ชนิด ได้แก่ *Acinetobacter* sp. T4 *Rhodococcus* sp. PR4 *Pseudomonas putida* PB4 และ *Sphingomonas* sp. AJ1 มาสร้างเป็นกลุ่มแบคทีเรียเพื่อย่อยสลายน้ำมันดิบอะราเบียนชนิดเบา (Arabian light crude oil) ในอาหารเลี้ยงเชื้อ basic salt ที่มีความเข้มข้นของน้ำมันดิบเป็น 4,000 มก.ต่อลิตร เมื่อผ่านไป 7 วัน พบว่า กลุ่มแบคทีเรียสามารถย่อยสลายส่วนแซททูเรท และอะโรมาติกได้ 40 และ 21% ตามลำดับ

แม้ว่ากลุ่มแบคทีเรีย SL จะสามารถลดปริมาณน้ำมันได้มากกว่าแบคทีเรียบริสุทธิ์ชนิดใดชนิดหนึ่งก็ตาม แต่เห็นได้ว่าปริมาณที่ลดลงนั้นไม่มีความแตกต่างที่มีนัยสำคัญ จากงานวิจัยของ Singh และ Lin (2008) พบว่า กลุ่มแบคทีเรียแสดงประสิทธิภาพในการย่อยสลายที่ต่ำกว่าแบคทีเรียบริสุทธิ์ ผู้วิจัยกล่าวว่า เนื่องจากแบคทีเรียที่คัดแยกได้มาจากกระบวนการเพิ่มจำนวนเดียวกัน (enrichment process) จึงมีความสามารถคล้ายคลึงกัน อาจเป็นได้ว่าแบคทีเรียเหล่านั้นแข่งขันกันใช้แหล่งคาร์บอน ส่งผลให้ไม่สามารถย่อยสลายได้ดีกว่าแบคทีเรียบริสุทธิ์ นอกจากนี้จำนวนเซลล์ของหัวเชื้อที่ใส่ลงไประหว่างหัวเชื้อของกลุ่มแบคทีเรีย และแบคทีเรียบริสุทธิ์ แม้จะมีการปรับให้เท่ากัน แต่จำนวนเซลล์ที่เป็นองค์ประกอบของแบคทีเรียภายในกลุ่มย่อมมีน้อยกว่าจำนวนเซลล์ของหัวเชื้อแบคทีเรียบริสุทธิ์ จึงอาจส่งผลอย่างที่สังเกตเห็นได้

ดำเนินการหาภาวะเหมาะสมในการย่อยสลายน้ำมันหล่อลื่นของกลุ่มแบคทีเรีย SL ในน้ำเสียสังเคราะห์ เริ่มจากการแปรผันปริมาณน้ำมันเริ่มต้นตั้งแต่ 50- 300 มก.ต่อลิตร ผลการศึกษาพบว่า ปริมาณน้ำมันเริ่มต้นที่เหมาะสมในการย่อยสลายของกลุ่มแบคทีเรีย SL คือ 50 มก.ต่อลิตร โดยในวันสุดท้ายของการทดลอง ปริมาณน้ำมันหล่อลื่นลดลงเหลือ 44% ในขณะที่ส่วนแซททูเรท และส่วนอะโรมาติกเหลือ 49 และ 41% ตามลำดับ (รูป 4.8)

จากนั้นนำค่าที่ได้ มาทดลองแปรผันปริมาณไนโตรเจนเริ่มต้นที่เหมาะสมต่อไป โดยแปรผันตั้งแต่ 5-100 มก.ต่อลิตร แต่คงอัตราส่วนระหว่าง ไนโตรเจน : ฟอสฟอรัสไว้ที่ 5 : 1 และพบว่าปริมาณไนโตรเจนเริ่มต้นที่เหมาะสมคือ 10 มก.ต่อลิตร ทั้งนี้ในวันสุดท้ายของการทดลองที่ปริมาณน้ำมันหล่อลื่นเริ่มต้น 50 มก.ต่อลิตร ลดลงเหลือ 46% ในขณะที่ส่วนแซททูเรท และส่วนอะโรมาติกเหลือ 43 และ 49% ตามลำดับ (รูป 4.9) ผลการทดลองนี้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Du และคณะ (1999) ที่ศึกษาปริมาณไนโตรเจนที่เหมาะสม ในการย่อยสลายน้ำมันในระบบจำลอง พบว่าปริมาณไนโตรเจนที่ต่ำกว่า 10 มก.ต่อลิตร จะจำกัดอัตราการย่อยสลายน้ำมันในระบบ เนื่องจากน้ำมันเป็นไฮโดรคาร์บอนที่มีความซับซ้อนสูง จุลินทรีย์จึงต้องมีกิจกรรมมากกว่าในการที่จะย่อยสลายน้ำมัน

Xia และคณะ (2007) ได้ศึกษาผลของปริมาณของไนโตรเจนที่มีต่อการย่อยสลายน้ำมันในระบบจำลองชายหาด โดยแปรผันปริมาณไนโตรเจนเป็น 1 5 และ 10 มก.ต่อลิตร ผลการทดลองพบว่าปริมาณไนโตรเจนที่ก่อให้เกิดการย่อยสลายได้ดีที่สุด คือ 5 10 และ 1 มก.ต่อลิตร ตามลำดับ ผู้วิจัยกล่าวว่า ปริมาณไนโตรเจนที่ได้จากการวิจัยครั้งนี้ต่างจากรายงานที่มีก่อนหน้า แสดงว่า การย่อยสลายสารต่างชนิดในระบบที่ต่างกัน ย่อมมีความต้องการปริมาณสารอาหารแตกต่างกัน

จากนั้น แปรผันปริมาณฟอสฟอรัสเริ่มต้นที่เหมาะสม โดยแปรผันจาก 0.1-10 มก.ต่อลิตร พบว่าปริมาณฟอสฟอรัสเริ่มต้นที่เหมาะสม คือ 1 มก.ต่อลิตร เมื่อเวลาผ่านไป 7 วัน พบว่าปริมาณน้ำมันหล่อลื่นเริ่มต้น 50 มก.ต่อลิตร คงเหลือ 52% ในขณะที่ส่วนแซททูเรท และส่วนอะโรมาติกเหลือ 48 และ 49% ตามลำดับ (รูป 4.10)

สำหรับค่าความเป็นกรด-ด่างที่เหมาะสม ได้ทดลองแปรผันตั้งแต่ 6-8 ซึ่งครอบคลุมค่าที่วิเคราะห์ได้จากตัวอย่างน้ำเสีย ผลการทดลองพบว่า ค่าความเป็นกรด-ด่างที่เหมาะสม คือ ที่ความเป็นกรด-ด่าง เท่ากับ 7.5 พบว่า ปริมาณน้ำมันหล่อลื่นเริ่มต้น 50 มก.ต่อลิตร เมื่อเวลาผ่านไป 7 วัน ปริมาณน้ำมันหล่อลื่นคงเหลือ 40% ในขณะที่ส่วนแซททูเรท และส่วนอะโรมาติกเหลือ 48 และ 27% ตามลำดับ (รูป 4.11)

การแปรผันอุณหภูมิที่เหมาะสม ได้ทดลองแปรผันตั้งแต่ 25-40 °ซ พบว่าที่อุณหภูมิ 35 °ซ ส่งผลให้เกิดการย่อยสลายน้ำมันหล่อลื่นได้ดีที่สุด และแบคทีเรียมีการเจริญสูงสุดด้วยเช่นกัน โดย

ในวันสุดท้ายของการทดลอง จากปริมาณน้ำมันหล่อลื่นเริ่มต้น 50 มก.ต่อลิตร มีปริมาณน้ำมันหล่อลื่นคงเหลือ 33% ในขณะที่ส่วนแซททูเรท และส่วนอะโรมาติกเหลือ 39 และ 22% ตามลำดับ (รูป 4.12) ทั้งนี้เมื่อพิจารณาการเจริญของกลุ่มแบคทีเรีย SL ที่อุณหภูมิ 25°ซ (รูป 4.12ง) พบว่ามีการเจริญได้น้อย คือ เพิ่มจาก 8.49 log CFU ต่อมล. เป็น 9.12 log CFU ต่อมล. ในวันที่ 7 ขณะที่อุณหภูมิ 30 และ 35°ซ เพิ่มเป็น 10.08 และ 10.09 log CFU ต่อมล. ตามลำดับ ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากหัวเชื้อของกลุ่มแบคทีเรีย SL เตรียมโดยเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิห้องซึ่งใกล้เคียงกับอุณหภูมิ 30 และ 35°ซ มากกว่าที่ 25°ซ กลุ่มแบคทีเรียจึงปรับตัวได้ดีกว่า ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Sokolovská และคณะ (2002) ที่เตรียมหัวเชื้อของ *Sphingomonas* sp. L-138 โดยเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 20°ซ แล้วตรวจสอบการย่อยสลายสารฟลูออรีนที่อุณหภูมิ 12 และ 20°ซ ผู้วิจัยพบว่า *Sphingomonas* sp. L-138 สามารถย่อยสลายสารฟลูออรีน และเจริญได้ทั้งสองอุณหภูมิที่ทดลอง แต่ที่อุณหภูมิ 12°ซ *Sphingomonas* sp. L-138 ต้องใช้เวลาในการปรับตัวเพื่อย่อยสลาย และเจริญนานกว่าที่อุณหภูมิ 20°ซ

ภาวะเหมาะสมในการย่อยสลายน้ำมันหล่อลื่นของกลุ่มแบคทีเรีย SL ในน้ำเสียสังเคราะห์สามารถสรุปได้ดังตารางที่ 5.2

ตารางที่ 5.2 ภาวะเหมาะสมในการย่อยสลายน้ำมันหล่อลื่นของกลุ่มแบคทีเรีย SL ในน้ำเสียสังเคราะห์

ภาวะที่แปรผันในการทดลอง	ภาวะที่เหมาะสม	ปริมาณน้ำมันหล่อลื่นคงเหลือ	
		เปอร์เซ็นต์	มก.ต่อลิตร
ปริมาณน้ำมันหล่อลื่นเริ่มต้น	50 มก.ต่อลิตร	33 ± 2.03	16.5 ± 1.01
ปริมาณไนโตรเจนเริ่มต้น	10 มก.ต่อลิตร		
ปริมาณฟอสฟอรัสเริ่มต้น	1 มก.ต่อลิตร		
ความเป็นกรด-ด่าง	7.5		
อุณหภูมิ	35°ซ		

ในปี 2002 Rahman และคณะ ได้คัดแยกแบคทีเรียจากดินที่ปนเปื้อนน้ำมันเชื้อเพลิงบริเวณสถานีบริการน้ำมันโดยใช้น้ำมันดิบเป็นแหล่งคาร์บอน แล้วนำแบคทีเรีย 5 ชนิดที่ย่อยสลายได้สูงสุดมาเตรียมเป็นกลุ่มแบคทีเรีย ประกอบด้วยแบคทีเรียในสกุล *Micrococcus* sp. *Bacillus* sp. *Corynebacterium* sp. *Flavobacterium* sp. และ *Pseudomonas* sp. ทดสอบการย่อยสลายน้ำมันดิบที่ความเข้มข้นต่างๆ ในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว mineral salts พบว่า เมื่อเวลาผ่านไป 20

วัน ภาวะที่เกิดการย่อยสลายสูงสุด คือ ที่ความเข้มข้นน้ำมัน 1% ความเป็นกรด-ด่าง 7.5 และอุณหภูมิ 30 °ซ โดยกลุ่มแบคทีเรียสามารถย่อยสลายน้ำมันดิบได้ถึง 78%

ผลการศึกษาประสิทธิภาพของการย่อยสลายน้ำมันหล่อลื่นในน้ำเสียสังเคราะห์ของกลุ่มแบคทีเรียกับแบคทีเรียบริสุทธิ์ตามข้อ 4.4 เห็นได้ว่า รูปแบบของการลดของปริมาณน้ำมันและรูปแบบการเจริญของกลุ่มแบคทีเรีย SL และแบคทีเรีย SLY มีความคล้ายคลึงกันทำให้คิดว่าอาจเป็นไปได้ที่กิจกรรมการย่อยนั้นเกิดจาก SLY ตัวเดียว โดยแบคทีเรียที่เหลือในกลุ่มนั้นไม่มีส่วนเกี่ยวข้อง จึงเปรียบเทียบการย่อยสลายน้ำมันหล่อลื่นในน้ำเสียสังเคราะห์ระหว่างกลุ่มแบคทีเรีย SL กับ แบคทีเรีย SLY โดยครั้งนี้จะปรับภาวะแวดล้อมตามค่าเหมาะสมที่ได้จากการทดลอง (ตาราง 5.2) ซึ่งต่างจากการทดลองเดิม เพื่อดูว่าการย่อยสลายน้ำมันหล่อลื่นของกลุ่มแบคทีเรียอาจได้รับอิทธิพลส่วนใหญ่จากการทำงานของแบคทีเรีย SLY เพียงชนิดเดียว ถ้าหากเป็นเช่นนั้นจริง การนำเอาแบคทีเรียไปใช้ในการบำบัดน้ำเสียสถานีบริการน้ำมัน ก็ไม่มีความจำเป็นต้องใช้เป็นกลุ่มแบคทีเรีย ใช้เพียงแบคทีเรียบริสุทธิ์ SLY ชนิดเดียวก็ได้ ในการทดลองพบว่ากลุ่มแบคทีเรีย SL สามารถลดปริมาณน้ำมันหล่อลื่นได้ดีกว่าแบคทีเรีย SLY เมื่อเวลาผ่านไป 7 วัน ปริมาณน้ำมันหล่อลื่นคงเหลือจากการย่อยสลายของกลุ่มแบคทีเรีย SL และแบคทีเรีย SLY เป็น 31 และ 58% ตามลำดับ (รูป 4.13) จากปริมาณน้ำมันหล่อลื่นเริ่มต้น 50 มก.ต่อลิตร นอกจากนี้เมื่อติดตามพลวัตรประชากรของกลุ่มแบคทีเรีย SL และ แบคทีเรีย SLY ในวันที่ 0 1 3 5 และ 7 ด้วยวิธี Denaturing Gradient Gel Electrophoresis (DGGE) (รูป 4.14) พบว่า แถบดีเอ็นเอของแบคทีเรียทั้ง 4 ชนิดในกลุ่ม ปรากฏให้เห็นตลอดทั้ง 7 วันของการทดลอง แสดงให้เห็นว่ากลุ่มแบคทีเรียสามารถมีชีวิตได้ตลอดระยะเวลาที่ทดลอง เมื่อพิจารณาจำนวนของกลุ่มแบคทีเรีย SL ที่นับได้บนอาหารเลี้ยงเชื้อ พบว่า เพิ่มขึ้นเล็กน้อย สำหรับแบคทีเรีย SLY พบว่ามีค่อนข้างคงที่ ต่างจากผลการทดลองก่อนหน้านี้ในข้อ 4.4 ที่ศึกษาความสามารถในการย่อยสลายน้ำมันหล่อลื่นของกลุ่มแบคทีเรีย SL ในน้ำเสียสังเคราะห์ ที่รูปแบบการเจริญของแบคทีเรีย SLY มีแนวโน้มตามกลุ่มแบคทีเรีย อาจเป็นไปได้ว่า ภาวะแวดล้อมที่ปรับให้เหมาะสมกับกลุ่มแบคทีเรีย ช่วยให้ประชากรในกลุ่มเจริญได้ดี แต่ภาวะนี้อาจไม่เหมาะสมกับการเจริญของแบคทีเรีย SLY เมื่อมีอยู่เพียงชนิดเดียว นอกจากนี้ สังเกตได้ว่าแถบดีเอ็นเอของแบคทีเรีย SLY จะปรากฏขึ้นสองแถบ ทั้งนี้อาจเกิดจากแบคทีเรีย SLY มีจำนวน copy number ของ 16 เอส ไรโบโซมัลดีเอ็นเอ หลายชุด (Muyzer และ Smallar, 1998)

จากนั้น นำกลุ่มแบคทีเรีย SL มาทดสอบการย่อยน้ำมันหล่อลื่นในน้ำเสียสถานีบริการน้ำมันแทนน้ำเสียสังเคราะห์ซึ่งทราบองค์ประกอบที่แน่นอนและสะอาดกว่า ทั้งนี้คาดว่าน้ำเสียจากสถานีบริการน้ำมันอาจมีสารซึ่งยับยั้งการเจริญและการย่อยสลายของกลุ่มแบคทีเรีย โดยน้ำเสียที่

นำมาใช้ในการทดลองนี้เก็บจากบริเวณบ่อพักน้ำ สถานีบริการน้ำมันปตท.สถานีสนามเป้า นำมาวิเคราะห์ค่าปริมาณปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอน ปริมาณไนโตรเจน และปริมาณฟอสฟอรัสทั้งหมด ได้เท่ากับ 6.5 3.4 และ 0.49 มก.ต่อลิตร ตามลำดับ ค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 6.46 จากนั้น นำน้ำเสียที่ได้มาปรับปริมาณน้ำมันหล่อลื่นเริ่มต้นเป็น 50 มก.ต่อลิตร แล้วฆ่าเชื้อด้วยการนึ่งฆ่าเชื้อแบบมาตรฐานด้วยความดันไอ แล้วนำไปใช้ในการทดลองโดยไม่ปรับภาวะแวดล้อมใดๆ เพื่อให้แน่ใจว่าการย่อยสลาย และการเจริญของกลุ่มแบคทีเรียเป็นผลมาจากองค์ประกอบของน้ำเสีย ไม่ได้เกิดจากการแข่งขันกับจุลินทรีย์ประจำถิ่น ผลการทดลองพบว่า กลุ่มแบคทีเรียสามารถย่อยสลายน้ำมันหล่อลื่นในน้ำเสียสถานีบริการน้ำมันได้ เมื่อผ่านไป 7 วัน มีปริมาณน้ำมันหล่อลื่นคงเหลือ 36% และมีจำนวนแบคทีเรียเพิ่มขึ้นเล็กน้อย (รูปที่ 4.15) ซึ่งชี้ให้เห็นว่า กลุ่มแบคทีเรียสามารถทนกับสภาพน้ำเสียจริงที่มีองค์ประกอบหลากหลายได้ ส่วนหนึ่งอาจเป็นผลมาจากจุดเด่นของสถานีบริการน้ำมันสวนลุมพินีที่มีปริมาณรถที่เข้ามาใช้บริการล้างรถจำนวนมาก ส่งผลให้แบคทีเรียเผชิญกับภาวะแวดล้อมที่มีทั้งน้ำมัน ไขมัน สารต่างๆ อยู่ตลอดเวลา แบคทีเรียจึงมีการปรับตัว และสามารถเจริญอยู่ได้ Vieira และคณะ (2007) กล่าวว่าการเลือกใช้จุลินทรีย์ในพื้นที่ที่มีประวัติการปนเปื้อนมาก่อน จะช่วยลดระยะเวลาในการปรับตัวของจุลินทรีย์ได้

หลังจากนั้น ทดสอบประสิทธิภาพการย่อยสลายน้ำมันหล่อลื่นของกลุ่มแบคทีเรียในน้ำเสียสถานีบริการน้ำมัน โดยแบ่งชุดการทดลองเป็นดังนี้ 1) ชุดควบคุม เพื่อดูการลดลงจากปัจจัยทางกายภาพ 2) Natural attenuation (NAT) เพื่อดูการย่อยสลายที่เกิดจากจุลินทรีย์ประจำถิ่นในน้ำเสีย 3) Bioaugmentation 1 (AU1) มีการเติมกลุ่มแบคทีเรีย SL ลงไปในระบบ และ 4) Bioaugmentation 2 (AU2) มีการเติมกลุ่มแบคทีเรีย SL และปรับภาวะแวดล้อมให้เหมาะสม ดังตาราง 5.2 สำหรับทุกชุดการทดลองจะปรับปริมาณน้ำมันตามค่าที่ได้จากผลการทดลองในข้อ 4.5 คือ ปริมาณน้ำมันหล่อลื่นเริ่มต้น 50 มก.ต่อลิตร ผลการทดลองพบว่า ชุดการทดลองที่เติมกลุ่มแบคทีเรีย SL และปรับภาวะแวดล้อม ก่อให้เกิดการย่อยสลายได้ดีที่สุด รองลงมาเป็นชุดทดลองที่เติมแค่กลุ่มแบคทีเรีย และสุดท้ายคือชุดที่เป็น Natural attenuation เมื่อสังเกตการเจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ พบว่าจุลินทรีย์ในชุดทดลอง Natural attenuation เพิ่มจำนวนได้น้อยมาก ซึ่งอาจเป็นผลมาจากการเติมน้ำมันเพิ่มลงไปในระบบ ทำให้เกิดความไม่สมดุลของสารอาหาร จุลินทรีย์จึงต้องการเวลาเพื่อปรับตัว (Lee และคณะ, 2007) เมื่อเปรียบเทียบการย่อยสลายระหว่าง ชุดการทดลองที่เติมกลุ่มแบคทีเรีย และปรับภาวะแวดล้อม กับชุดทดลองที่เติมแค่กลุ่มแบคทีเรีย พบว่าการปรับภาวะแวดล้อมให้เหมาะสมนั้น ส่งผลให้การย่อยสลายน้ำมัน และการเจริญของแบคทีเรียเกิดได้ดีกว่า ทั้งนี้นอกจากอุณหภูมิที่มีผลแล้ว อาจเกิดจากไนโตรเจนและฟอสฟอรัสที่เติมลงไปนั้นช่วยปรับอัตราส่วนของสารอาหารในระบบให้เป็นค่าที่เหมาะสม คือ 50 : 10 : 1 ในขณะที่ชุดการ

ทดลองที่เติมเพียงกลุ่มแบคทีเรีย มีค่าอัตราส่วนปริมาณน้ำมัน : ไนโตรเจน : ฟอสฟอรัส เป็น 102 : 7 : 1 เมื่อติดตามพลวัตรประชากรของกลุ่มแบคทีเรีย SL และแบคทีเรียในน้ำเสียสถานีบริการน้ำมันของทั้ง 3 ชุดการทดลอง ในวันที่ 0 3 5 และ 7 ด้วยวิธี DGGE พบว่า แบคทีเรียประจำถิ่นในน้ำเสียจากสถานีบริการน้ำมันมีการเปลี่ยนแปลงในช่วงเวลาที่ทดลอง (รูป 4.17) เมื่อเปรียบเทียบพลวัตรประชากรของกลุ่มแบคทีเรีย SL ในชุดทดลอง AU1 และ AU2 จะเห็นได้ว่ากลุ่มแบคทีเรีย SL สามารถเจริญได้ในน้ำเสียจริงตลอดช่วงเวลาของการทดลองทั้ง 2 ชุด และมีความโดดเด่นมากกว่าแบคทีเรียประจำถิ่น ในชุดทดลอง AU2 การเปลี่ยนแปลงของแถบดีเอ็นเอมีมากกว่า ชุดทดลอง AU1 สอดคล้องกับจำนวนแบคทีเรียที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง CFMM ที่ชุดทดลอง AU2 มีจำนวนมากกว่า เมื่อพิจารณาร่วมกับปริมาณน้ำมันหล่อลื่นคงเหลือในชุดการทดลองทั้งสอง จึงอาจอนุมานได้ว่า การปรับภาวะแวดล้อมให้เหมาะสมส่งผลดีต่อการเจริญและการย่อยสลายน้ำมันหล่อลื่นของกลุ่มแบคทีเรีย SL

ทั้งนี้ เมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการย่อยสลายน้ำมันหล่อลื่นโดยกลุ่มแบคทีเรีย SL ในน้ำเสียสถานีบริการน้ำมัน พบดังแสดงในตารางที่ 5.3

ตารางที่ 5.3 ปริมาณน้ำมันหล่อลื่นคงเหลือจากการย่อยสลายของกลุ่มแบคทีเรีย SL ในน้ำเสียสถานีบริการน้ำมัน

การทดลอง	ปริมาณน้ำมันหล่อลื่นคงเหลือ	
	เปอร์เซ็นต์	มก.ต่อลิตร
การย่อยสลายที่เกิดจากจุลินทรีย์ประจำถิ่นในน้ำเสีย	55 ± 1.67	28 ± 0.85
เติมกลุ่มแบคทีเรีย SL ในน้ำเสียที่ฆ่าเชื้อ	36 ± 1.73	18 ± 0.88
เติมกลุ่มแบคทีเรีย SL	44 ± 2.51	22 ± 1.26
เติมกลุ่มแบคทีเรีย SL และปรับภาวะแวดล้อมให้เหมาะสม	29 ± 2.46	15 ± 1.23

แม้ว่าการ เติมกลุ่มแบคทีเรีย SL และปรับภาวะแวดล้อมให้เหมาะสมจะช่วยให้เกิดการย่อยสลายได้ดีที่สุด อย่างไรก็ตามการบำบัดน้ำเสียสถานีบริการน้ำมันในสถานที่จริง อาจไม่สามารถปรับภาวะแวดล้อมให้เหมาะสมตามการทดลองได้ทุกประการ ดังนั้นประสิทธิภาพของการบำบัดในสถานที่จริงอาจลดลง ซึ่งในการทดลองครั้งนี้มีชุดทดลองที่เติมกลุ่มแบคทีเรีย SL ลงไปและไม่ได้ปรับภาวะแวดล้อมอื่นใดเป็นตัวแทน โดยพบว่าในชุดทดลองนี้มีปริมาณน้ำมันหล่อลื่นคงเหลือ 44% หรือ 22 มก.ต่อลิตร ซึ่งปริมาณน้ำมันยังคงเกินเกณฑ์ที่กฎหมายกำหนด คือ ต้องไม่

เกิน 15 มก.ต่อลิตร (กรมควบคุมมลพิษ, 2545) แต่มีประสิทธิภาพดีกว่าปล่อยให้เกิดการย่อยสลายตามธรรมชาติ ที่ปริมาณน้ำมันหล่อลื่นคงเหลือ 55% หรือ 28 มก.ต่อลิตร

นอกจากนั้น การทดลองครั้งนี้ได้ย่อยสลายน้ำมันหล่อลื่นโดยกลุ่มแบคทีเรีย SL ที่ภาวะเหมาะสมทั้งหมด 3 ครั้ง คือ 1) จากการหาภาวะเหมาะสมในน้ำเสียสังเคราะห์ที่อุณหภูมิ 35 °ซ (รูป 4.12) 2) จากการเปรียบเทียบประสิทธิภาพการย่อยสลายระหว่างกลุ่มแบคทีเรีย SL และแบคทีเรีย SLY ในน้ำเสียสังเคราะห์ (รูป 4.13) และ 3) จากการทดสอบประสิทธิภาพการย่อยสลายในน้ำเสียจากสถานีบริการน้ำมันในชุดทดลอง AU2 (รูป 4.16) โดยประสิทธิภาพในการย่อยสลายของทั้ง 3 ชุดทดลองมีค่าใกล้เคียงกัน คือ จากปริมาณน้ำมันหล่อลื่นเริ่มต้น 50 มก.ต่อลิตร ในวันที่ 7 จะมีปริมาณน้ำมันหล่อลื่นคงเหลือ 33 31 และ 29% ตามลำดับ

การทดลองนี้เป็นเพียงแนวทางในการทดสอบประสิทธิภาพการย่อยสลายน้ำมันหล่อลื่นในน้ำเสียจากสถานีบริการน้ำมันเท่านั้น การนำเอากลุ่มแบคทีเรีย SL ไปใช้ในการบำบัดจริง จึงควรมีการศึกษาเพิ่มเติมก่อน เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการบำบัดให้มีมากยิ่งขึ้น โดยอาจศึกษาการตรึงเซลล์กลุ่มแบคทีเรียบนวัสดุต่างๆ เนื่องจากน้ำเสียสถานีบริการน้ำมันจะมีเข้ามาในบ่อพักเกือบตลอดเวลาสำหรับบางสถานี และในบางครั้งน้ำเสียอาจเข้ามาเป็นจำนวนมาก การนำกลุ่มแบคทีเรีย SL ในรูปเซลล์อิสระไปใช้ อาจทำให้กลุ่มแบคทีเรีย SL หายไปจากระบบได้ นอกจากนี้อาจนำกลุ่มแบคทีเรีย SL ไปใช้ร่วมกับวิธีการบำบัดแบบอื่น เช่น Fluidized bed reactors เพื่อช่วยลดระยะเวลาของการบำบัด และเป็นการเพิ่มประสิทธิภาพของการย่อยสลายน้ำมันหล่อลื่นให้มากยิ่งขึ้น