

การคัดแยกเชื้อแบคทีเรียที่ผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจากดิน เพื่อการบำบัด สภาพแวดล้อมที่ปนเปื้อนน้ำมัน

ปริญญ์ ไกรวณันท์* และ มัลลิกา มาราช

สาขาวิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏอุดรดิตถ์

บทคัดย่อ

การศึกษาและคัดแยกเชื้อแบคทีเรียที่มีความสามารถในการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจากตัวอย่างดินที่มีการปนเปื้อนสารประกอบไฮโดรคาร์บอนในพื้นที่จังหวัดอุดรดิตถ์ โดยทำการเก็บตัวอย่างดินและนำมาเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ mineral salt medium ที่อุณหภูมิ 30 °C เป็นระยะเวลา 5 วัน จากการศึกษาพบแบคทีเรียที่มีความสามารถในการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจำนวน 7 ไอโซเลท และเมื่อนำไปทดสอบความสามารถในการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ (Emulsification activity test (EA₂₄)) พบว่าเชื้อแบคทีเรียไอโซเลทที่ 4, 7 และ 6 สามารถผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพได้ดีที่สุดโดยมีค่า EA₂₄ เท่ากับ 40.74, 35.00 และ 27.78 %, ตามลำดับ และเมื่อนำไปประยุกต์ในการบำบัดสภาพแวดล้อมที่ปนเปื้อนน้ำมัน(Oil removal) ด้วยวิธี sand pack test พบว่าเชื้อแบคทีเรียไอโซเลทที่ 4, 7 และ 6 มีความสามารถในการชะน้ำมัน(ความเข้มข้นของน้ำมันในเม็ดทราย 20 %) ออกมาได้ถึง 24.52, 27.78and18.71%, ตามลำดับ และเมื่อนำเชื้อไอโซเลทที่ 4 ไปจัดจำแนกด้วยการวิเคราะห์ 16s rRNA พบว่าเป็นเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp.

*ผู้เขียนหลัก(Parinya_k25@hotmail.com)

คำสำคัญ: สารลดแรงตึงผิวชีวภาพ, การบำบัดสภาพแวดล้อมทางชีวภาพ

SCIENCE AND TECHNOLOGY
UTTARADIT RAJABHAT UNIVERSITY

Isolate the Biosurfactant-producing bacteria from soil for washing and bioremediation of environmentally contaminated oil

Parinya Kraivutthinan* and Mullika Marach

Environmental Science, Faculty of Science and Technology

Uttaradit Rajabhat University, Uttaradit Province, Thailand 53000

Abstract

The purpose of this study was to isolate the Biosurfactant-producing bacteria from soil contaminated with crude oil or its byproducts in Uttaradit Province. A total of 7 bacterial strain was cultured in the mineral salt medium at 30 °C for 5 days. The Emulsification activity test (EA₂₄) were exploited in order to assess the efficiency of biosurfactant production after cultured period. Among these isolates, three of them including isolates 4, 7 and 6 produced the highest number of biosurfactant (EA₂₄) at 40.74, 35.00 and 27.78 %, respectively. The Fermentation broth from isolates 4, 7 and 6 were further investigated for oil removal potential by sand pack test, oil recovery using de-emulsification activity and emulsion property using emulsion stability. Interestingly, the results showed that the oil removal potential of 20 % (v/v) at 24.52, 27.78 and 18.71%, respectively. With 16s rRNA analysis the isolate 4 was identified as *Bacillus* sp.

*Corresponding author : (Parinya_k25@hotmail.com)

Keywords: Biosurfactant, Bioremediation

SCIENCE AND TECHNOLOGY
UTTARADIT RAJABHAT UNIVERSITY

1. บทนำ

สารลดแรงตึงผิวชีวภาพ คือ สารจากธรรมชาติที่มีความสามารถในการลดแรงตึงผิวระหว่างผิวของของเหลว ซึ่งส่งผลให้ของเหลวเกิดการแพร่กระจายตัวได้ดีขึ้น โดยทั่วไปโมเลกุลของสารลดแรงตึงผิวประกอบด้วยส่วนที่ชอบน้ำหรือส่วนหัว (Hydrophilic moieties, head group) โดยส่วนที่ชอบน้ำ หรือส่วนหัวเป็นส่วนที่สามารถเข้าได้ดีกับน้ำหรือกลุ่มของสารละลายที่มีขั้ว อาจเป็น คาร์โบไฮเดรต (carbohydrate) กรดคาร์บอกซิลิก (carboxylic acid) ฟอสเฟต (phosphate) เปปไทด์วงแหวน (cyclic peptide) และแอลกอฮอล์ เป็นต้น ส่วนที่ไม่ชอบน้ำหรือส่วนหาง (Hydrophobic moieties, tail group) คือส่วนที่ไม่ชอบน้ำ หรือส่วนหางเป็นส่วนที่สามารถเข้าได้ดีกับตัวทำละลายอินทรีย์หรือกลุ่มของสารละลายที่ไม่มีขั้ว เช่น กลุ่มของ hydrocarbon chain, unsaturated fatty acid และ saturated fatty acid

จากลักษณะโครงสร้างดังกล่าวสามารถส่งผลให้เกิดการลดค่าแรงตึงผิวของตัวทำละลายลง ซึ่งเป็นคุณสมบัติที่ดีในการนำสารลดแรงตึงผิวมาเป็นส่วนประกอบของผลิตภัณฑ์ซักล้าง (detergent) ผงซักฟอก สารเกิดฟองและการเกิดอิมัลชัน Desai and Banat [5] โดยค่าของแรงตึงผิวมีหน่วยเป็นมิลลินิวตันต่อตารางเมตร (mN/m) หรือ ไดน์ (dyne) โดยทั่วไปสารลดแรงตึงผิวสามารถทำหน้าที่ลดแรงตึงผิวระหว่างสองพื้นผิวที่สัมผัสกันได้ เช่น ลดแรงตึงผิวระหว่างของแข็งกับของเหลว ระหว่างของเหลวกับของเหลว และระหว่างของเหลวกับก๊าซ ค่าแรงตึงผิวระหว่างพื้นผิวของน้ำกับอากาศ เรียกว่า surface tension และค่าแรงตึงผิวระหว่างน้ำกับไฮโดรคาร์บอน เรียกว่า interfacial tension Kim et al., 1997 [6]

สำหรับการประยุกต์ใช้จุลินทรีย์ที่ผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพในการบำบัดสภาพแวดล้อม ซึ่งการใช้สารลดแรงตึงผิวชีวภาพนั้นสามารถนำไปใช้ในลักษณะของสารละลายหรือการนำฟองที่เกิดขึ้นจากสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ Urum et al., 2005 [8] โดยเฉพาะที่มีการปนเปื้อนสารประกอบไฮโดรคาร์บอนในสิ่งแวดล้อม โดยสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจะช่วยให้สารประกอบไฮโดรคาร์บอนเกิดการละลาย (solubilization) หรือเกิด emulsification อีกทั้งยังสามารถลดการถูกดูดซับโดยอินทรีย์วัตถุในดิน ทำให้สารประกอบไฮโดรคาร์บอนถูกปลดปล่อยออกมาอยู่ในรูป bioavailable form ที่ถูกย่อยสลายโดยจุลินทรีย์ที่อยู่ในสิ่งแวดล้อมได้ง่ายขึ้น Banat, 1995 [4] นอกจากนี้สำหรับการนำไปประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมอื่นๆ Kosaric, 2001 [7] ได้ใช้คุณสมบัติการเป็นอิมัลชันของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพในการเพิ่มความเหนียวของขนมปังและไอศกรีม เพื่อช่วยยืดอายุของขนมปังและช่วยเพิ่มการละลายของน้ำมัน พร้อมทั้งช่วยให้น้ำมันมีความคงตัวที่ดีขึ้น

ดังนั้นผู้วิจัยจึงมีความสนใจในการคัดแยกเชื้อแบคทีเรียที่มีความสามารถในการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพเพื่อประยุกต์ใช้ในการบำบัดสภาพแวดล้อมที่ปนเปื้อนน้ำมัน

2. อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

การคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียที่สร้างสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ

นำตัวอย่างดินที่ปนเปื้อนน้ำมัน ปริมาณ 10 กรัม ใส่ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ Mineral salt medium (MSM) ซึ่งมีน้ำมันก๊าด 2 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาตรโดยปริมาตร) จากนั้นนำไปปั่นใน shaker incubator ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ความเร็ว 200 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 96 ชั่วโมงเมื่อครบกำหนดเวลา ปิเปตเชื้อตัวอย่างที่ปั่นไว้ในอาหารเหลว ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร ที่มีอาหาร MSM ซึ่งมีน้ำมันก๊าด 2 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาตรโดยปริมาตร) จากนั้นนำไปปั่นใน shaker incubator ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ความเร็ว 200 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 72 ชั่วโมง เมื่อครบเวลาเปลี่ยนอาหารเลี้ยงเชื้อ MSM ใหม่และปั่นต่ออีก 72 ชั่วโมง เมื่อครบกำหนดเวลา นำเชื้อตัวอย่างที่ปั่นไว้ในอาหารเหลวชุดสุดท้ายไปทำการ Cross streak plate ในอาหาร Nutrient agar (NA) และนำไปปั่นที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48-72 ชั่วโมง ทำการคัดเลือกโคโลนีของแบคทีเรียที่สามารถเจริญได้บนอาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient agar (NA)

การผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพนำเชื้อแบคทีเรียที่แยกได้มาทำการเลี้ยงเชื้อในอาหารเลี้ยงเชื้อ NA เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นนำเชื้อจุลินทรีย์บริสุทธิ์ไปเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ MSM ที่ใช้น้ำตาลกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน (2 เปอร์เซ็นต์) ใน shaker-incubator ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ความเร็ว 200 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 วัน และนำไปทดสอบความสามารถในการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ

การทดสอบความสามารถในการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ

การทดสอบคุณสมบัติ Emulsification activity (EA) [1]

เติมน้ำมันก๊าดและ Fermentation broth อย่างละ 4 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลองแล้วนำไปผสมให้เข้ากันด้วย vortex ที่ระดับความเร็วสูงสุดเป็นเวลา 2 นาที ตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 24 ชั่วโมงที่อุณหภูมิห้อง โดยคำนวณหาเปอร์เซ็นต์ Emulsification activity จากสูตร

$$EA (\%) = \frac{\text{ความสูงของของเหลวที่เกิดอิมัลชัน}}{\text{ความสูงของของเหลวทั้งหมด}} \times 100$$

การประยุกต์ใช้สารลดแรงตึงผิวชีวภาพในการบำบัดสภาพแวดล้อม

การทดสอบความสามารถในการเก็บเกี่ยวน้ำมัน (Oil removal) โดยวิธี Sand pack test [1]

การเตรียมตัวอย่างทราย โดยจะเลือกเอาทรายที่มีขนาดระหว่าง 250 ไมโครเมตร ถึง 500 ไมโครเมตร มาใช้ในการทดลอง ทำการแช่ทรายด้วย HCl เข้มข้น 1M เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นทำการล้างด้วยน้ำร้อน 2-3 ครั้ง นำไปอบแห้งที่ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2-3 ชั่วโมง เมื่อทรายแห้งดีแล้ว ทำการชั่งทราย 50 กรัม เติมน้ำมันก๊าดในบิวเรตที่มีการปิดด้วยสำลี แล้วเติมน้ำมันก๊าดปริมาตร 10 มิลลิลิตร เติมน้ำมันก๊าดลงในบิวเรต ตั้งทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง

เติม Fermentation Broth ลงไปปริมาณ 10 มิลลิลิตร พร้อมทั้งใช้น้ำกลั่นเป็นตัวควบคุมและใช้กระบอกตวงวัดปริมาณน้ำมันก๊าดที่ถูกแยกออกมา นำไปคำนวณเปอร์เซ็นต์การเก็บเกี่ยวน้ำมันจากสูตร

$$\% \text{Oil removal} = \frac{\text{ปริมาณน้ำมันก๊าดที่แยกออกมา}}{\text{ปริมาณน้ำมันก๊าดที่เติมลงไป}} \times 100$$

การวิเคราะห์ข้อมูล

ข้อมูลผลการวิจัยที่เป็นเปอร์เซ็นต์ เช่น Emulsification activity จะทำการแปลงข้อมูลโดยวิธี Arcsine transformation ก่อนที่จะนำมาวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ โดยสถิติที่ใช้ในการวิเคราะห์ข้อมูล คือ One – way ANOVA ใช้ในการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของข้อมูลต่างๆ ในกรณีที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ

การจัดจำแนกเชื้อแบคทีเรีย

ส่งเชื้อแบคทีเรียที่มีความสามารถในการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ดีที่สุด (EA) ไปจัดจำแนกสายพันธุ์ที่ศูนย์พันธุวิศวกรรม (BIOTEC) โดยใช้วิธีเปรียบเทียบความเหมือนของลำดับเบสนิวคลีโอไทด์ Single strand 16s rDNA sequencing

3. ผลการทดลอง

การทดสอบคุณสมบัติ Emulsification activity (EA)

การทดสอบคุณสมบัติของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพโดยวิธี Emulsification activity (EA) โดยค่า EA₂₄เป็นค่าที่แสดงถึงประสิทธิภาพของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพในการทำให้น้ำมันเกิดอิมัลชันกับน้ำ จากการทดลองพบว่าแบคทีเรียที่สร้างสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ให้ค่า EA₂₄สูงสุดได้แก่ แบคทีเรียไอโซเลทที่ 4 ไอโซเลทที่ 7 และไอโซเลทที่ 6 โดยได้ค่า EA₂₄เท่ากับ 40.74, 35.00 และ 27.78 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ โดยใช้น้ำกลั่นและน้ำยาล้างจาน (เข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์) เป็นตัวควบคุม จากการศึกษพบว่าน้ำกลั่นและน้ำยาล้างจานมีค่า EA₂₄เท่ากับ 0.00 และ 58.70 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

ตารางที่ 1 ผลการทดสอบคุณสมบัติของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพโดยวิธี Emulsification activity (EA)

ชุดทดลอง/ไอโซเลท	ผลการทดสอบประสิทธิภาพ Emulsification activity (%)
1	2.22±0.56 ^d
2	3.15±1.60 ^d
3	3.15±0.64 ^d
4	40.74±3.06 ^b
5	19.82±4.53 ^c
6	27.78±2.94 ^{bc}
7	35.00±12.99 ^b
น้ำกลั่น	0.00±0.00 ^d
น้ำยาล้างจาน (เข้มข้น 10%)	58.70±3.62 ^a
One-Way ANOVA	***

ทำการวิเคราะห์ทางสถิติ One-Way ANOVA แสดงนัยสำคัญ (Significant) ที่ * P ≤ 0.10, ** P ≤ 0.05 และ *** P ≤ 0.01 จากข้อมูลค่าเฉลี่ยของ Emulsification activity โดยข้อมูลในสมรภูมิเดียวกันที่มี

ตัวอักษรกำกับเหมือนกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยวิธี Tukey HSD test ที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 95 เปอร์เซ็นต์

การประยุกต์ใช้สารลดแรงตึงผิวชีวภาพในการประยุกต์ใช้ในการบำบัดสภาพแวดล้อม

จากการทดสอบประสิทธิภาพของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพในการประยุกต์ใช้ในการบำบัดสภาพแวดล้อมโดยนำสารลดแรงตึงผิวชีวภาพมาทดสอบประสิทธิภาพในการชะน้ำมันออกจากเม็ดทราย (Oil removal) ด้วยวิธี sand pack test เป็นเวลา 24 ชั่วโมง โดยนำเชื้อแบคทีเรียที่มีประสิทธิภาพที่ดีที่สุดจากการทดสอบคุณสมบัติ Emulsification activity (EA) มา 3 ไอโซเลท คือ ไอโซเลทที่ 4 ไอโซเลทที่ 6 และไอโซเลทที่ 7 โดยใช้น้ำกลั่นและน้ำยาล้างจานเป็นตัวควบคุมในการเปรียบเทียบ จากการศึกษาพบว่า เชื้อแบคทีเรียไอโซเลทที่ 4, 6 และ 7 มีค่า Oil removal เท่ากับ 24.52, 27.78 และ 18.71 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ โดยใช้น้ำกลั่นและน้ำยาล้างจานเป็นตัวควบคุม โดยพบว่า น้ำกลั่นและน้ำยาล้างจานมีค่า Oil removal เท่ากับ 4.18 และ 28.15 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับจากผลการทดลองพบว่า สารลดแรงตึงผิวชีวภาพจากเชื้อแบคทีเรียไอโซเลท 6 มีความสามารถในการชะน้ำมันออกจากเม็ดทรายได้ดีที่สุด โดยมีค่า Oil removal เท่ากับ 27.78 เปอร์เซ็นต์ แสดงดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 การทดสอบคุณสมบัติของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพในการชะน้ำมันออกจากเม็ดทราย (Oil removal)

ชุดทดลอง/ไอโซเลท	ผลการทดสอบประสิทธิภาพ Oil removal (%)
4	24.52±4.31 ^{ab}
6	27.78±4.81 ^a
7	18.71±11.37 ^{ab}
น้ำกลั่น	4.18±2.23 ^b
น้ำยาล้างจาน (เข้มข้น 10%)	28.15±14.11 ^a
One-Way ANOVA	**

ทำการวิเคราะห์ทางสถิติ One-Way ANOVA แสดงนัยสำคัญ (Significant) ที่ * $P \leq 0.10$, ** $P \leq 0.05$ และ *** $P \leq 0.01$ จากข้อมูลค่าเฉลี่ยของ Oil removal โดยข้อมูลในสมมุติเดียวกันที่มีตัวอักษรกำกับเหมือนกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยวิธี Tukey HSD test ที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 95 เปอร์เซ็นต์ การจัดจำแนกเชื้อแบคทีเรีย

นำเชื้อแบคทีเรียไอโซเลทที่ 4 ซึ่งมีประสิทธิภาพในการชะน้ำมันออกจากเม็ดทราย ไปทำการจัดจำแนกชนิดโดยการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์โดยวิธี Single strand 16s rDNA sequencing พบว่าเป็นเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. เนื่องจากลำดับนิวคลีโอไทด์เหมือนกับแบคทีเรียมากกว่า 1 ชนิด ได้แก่ *Bacillus anthracis* (100%) และ *Bacillus cereus* (100%) ทำให้ไม่สามารถระบุชนิดได้อย่างชัดเจน

วิจารณ์ผลการทดลอง

จากการคัดแยกเชื้อแบคทีเรียที่ผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจากดินที่ปนเปื้อนน้ำมันเครื่องยนต์ที่ใช้แล้ว พบว่าเมื่อทำการทดสอบประสิทธิภาพการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพของแบคทีเรียโดยวิธี Emulsification activity (EA) พบว่าเชื้อแบคทีเรียไอโซเลทที่ 4 สามารถสร้างสารลดแรงตึงผิวชีวภาพได้ดีที่สุด โดยมีค่า EA_{24} เท่ากับ 40.74 เปอร์เซ็นต์ โดยใช้ น้ำกลั่น และ น้ำยาล้างจานเป็นตัวควบคุม จากการศึกษาพบว่า น้ำกลั่น และ น้ำยาล้างจานมีค่า มีค่า EA_{24} เท่ากับ 0.00 และ 58.70 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ สอดคล้องกับการศึกษาของ กฤษฎา บุญชัย, จริญญา สารินทร์ และศิริพรรณ สารินทร์, 2552 [2] ได้ทำการศึกษาคูณสมบัติและประสิทธิภาพการเกิดโฟมของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ โดยพบว่าเชื้อแบคทีเรียไอโซเลท TP8 ให้ค่า EA_{24} สูงที่สุดเท่ากับ 42.65 ± 5.04 ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับเชื้อแบคทีเรียไอโซเลทที่ 4 ที่มีค่าเท่ากับ 40.74 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อนำเชื้อแบคทีเรียไอโซเลทที่ 4 มาเปรียบเทียบกับการศึกษาของ วิชุดา เกตุใหม่, เสาวภา แก้วสุกใส และลีชา แยนนา, 2553 [3] ที่ทำการทดสอบประสิทธิภาพการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพของเชื้อยีสต์ *I. orientalis* PO1.2 โดยวัดค่าการเกิดอิมัลชัน (Emulsification activity) พบว่ายีสต์ *I. orientalis* PO1.2 สามารถผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพได้ และเกิดอิมัลชันต่อน้ำมันรำข้าวได้ดีที่สุดเท่ากับ 71.67 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งเชื้อแบคทีเรียไอโซเลทที่ 4 มีประสิทธิภาพในการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพและการเกิดอิมัลชันได้น้อยกว่าเชื้อยีสต์ *I. orientalis* PO1.2

จากการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียที่ผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพในการนำไปประยุกต์ใช้ในด้านบำบัดสภาพแวดล้อมที่มีการปนเปื้อนน้ำมัน โดยนำน้ำมันหมักชีวภาพปริมาตร 10 เปอร์เซ็นต์ ต่อน้ำมันก๊าด 10 เปอร์เซ็นต์ มาทดสอบประสิทธิภาพในการชะน้ำมันออกจากเม็ดทราย (Oil removal) ด้วยวิธี sand pack test เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ประยุกต์จากวิธีการศึกษาของ ปริญญา ไกรวุฒินันท์, 2551 [1] โดยการทำงานของสารลดแรงตึงผิวนั้นจะอาศัยคุณสมบัติของผิวขรุขระและไม่มีผิวของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่เกาะอยู่กับเม็ดทรายให้แยกตัวออกมา ซึ่งจากการทดลองพบว่าการใช้สารลดแรงตึงผิวชีวภาพจากเชื้อแบคทีเรียไอโซเลทที่ 6 ที่มีความสามารถชะน้ำมันออกจากเม็ดทรายได้ดีที่สุด โดยมีค่า Oil removal เท่ากับ 27.78 เปอร์เซ็นต์ซึ่งมากกว่าเชื้อแบคทีเรียไอโซเลทที่ 4 และ 7 ที่มีค่าเท่ากับ 24.52 และ 18.71 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ ปริญญา ไกรวุฒินันท์, 2551 [1] ที่ทำการศึกษารวมทั้งการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพในถังหมักจากเชื้อ *Enterobacter cloacae* LK5 โดยทำการทดสอบประสิทธิภาพของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพในการประยุกต์ใช้ในด้านบำบัดสภาพแวดล้อม โดยเมื่อนำสารลดแรงตึงผิวชีวภาพมาทดสอบประสิทธิภาพในการชะน้ำมันออกจากเม็ดทราย (Oil removal) ด้วยวิธี sand pack test เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากการศึกษาพบว่าน้ำมันหมักชีวภาพแยกเซลล์มีความเหมาะสมในการนำไปประยุกต์ใช้ โดยพบว่าสามารถเกิด Oil removal ได้เท่ากับ 71.7 เปอร์เซ็นต์

4. สรุป

การคัดแยกเชื้อแบคทีเรียที่ผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจากดินบริเวณอู่ซ่อมรถที่มีการปนเปื้อนน้ำมันเครื่องยนต์ที่ใช้แล้ว พบว่าสามารถแยกเชื้อแบคทีเรียได้ทั้งหมด 7 ไอโซเลท โดยทั้ง 7 ไอโซเลท เมื่อ

นำมาทำการทดสอบประสิทธิภาพการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพของแบคทีเรียโดย Emulsification activity (EA) พบว่าเชื้อแบคทีเรียโอโซเลทที่ 4 สามารถสร้างสารลดแรงตึงผิวชีวภาพได้ดีที่สุด โดยมีค่า EA₂₄ เท่ากับ 40.74 เปอร์เซ็นต์

การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียที่ผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพในการนำไปประยุกต์ใช้ในด้านบำบัดสภาพแวดล้อมที่มีการปนเปื้อนน้ำมันมาทำการทดสอบประสิทธิภาพในการชะน้ำมันออกจากเม็ดทราย (Oil removal) ด้วยวิธี sand pack test เป็นเวลา 24 ชั่วโมงพบว่า เชื้อแบคทีเรียโอโซเลทที่ 6 มีความสามารถในการชะน้ำมันออกจากเม็ดทรายได้ดีที่สุด โดยมีค่า Oil removal เท่ากับ 27.78 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อทำการจัดจำแนกเชื้อแบคทีเรียโอโซเลทที่ 4 ซึ่งเป็นเชื้อที่มีความสามารถในการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ดีที่สุด คือเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp.

เอกสารอ้างอิง (Reference)

- [1] ปริญญ์ ไกรวุฒินันท์. การผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพในถังหมักจากเชื้อ *Enterobacter cloacae* LK5. วิทยานิพนธ์, หลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต, สาขาวิชาจุลชีววิทยา, มหาวิทยาลัยนครสวรรค์. 2551.
- [2] กฤษฎา บุญชัย, จรูญ สารินทร์, ศิริพรรณ สารินทร์. คุณสมบัติเป็นโพรเมของแบคทีเรียที่ผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่คัดแยกจากดินที่ปนเปื้อนน้ำมัน. วิทยานิพนธ์, หลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต, สาขาวิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม, คณะเกษตรศาสตร์ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม, มหาวิทยาลัยนครสวรรค์. 2552.
- [3] วิชุดา เกตุใหม่, เสาวภา แก้วสุกใส และลีชา แยนนา. การคัดแยกจุลินทรีย์ที่สามารถย่อยสลายน้ำมันหล่อลื่นเครื่องยนต์ที่ใช้แล้ว. วารสารมหาวิทยาลัยทักษิณ, 2553, ปีที่ 12, ฉบับที่ 3, หน้า 202-211.
- [4] Banat, I. M. Biosurfactant production and possible uses in microbial enhanced oil recovery and oil pollution remediation. *Bioresource Technology*, 1995, 51, 1-12.
- [5] Desai, J. D., and Banat, I. M. Microbial production of surfactant and their commercial potential. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. 1997, 61(1), 47-64.
- [6] Kim, H.-S., Yoon, B.-D., Lee, C.-H., Suh, H.-H., Oh, H.-M., Katsuragi, T., and Tani, Y. Production and properties of a lipopeptide biosurfactant from *Bacillus subtilis* C9. *Journal of Fermentation and Bioengineering*. 1997, 84, 41-46.
- [7] Kosaric, N. Biosurfactants and their application for soil bioremediation. *Food Technology and Biotechnology*. 2001, 39(4), 295-304.
- [8] Urum, K., Pekdemir, T., Ross, D., and Grigson, S. Crude oil contaminated soil washing in air sparging assisted stirred tank reactor using biosurfactants. *Chemosphere*. 2005, 60, 334-343.