บทที่ 5

สรุปผลการศึกษาและข้อเสนอแนะ

การสลายตัวทางชีวภาพของน้ำมันหล่อลื่นสังเคราะห์ โดย *Pseudomonas putida* และ *Bacillus subtilis* ในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเหลวที่มีสารอาหารสมบูรณ์ และที่มีสารอาหารพื้นฐานที่เติมน้ำมันหล่อลื่นฯ Esso ultron และ Castrol GTX ในระดับความเข้มข้นตั้งแต่ 0 (ตัวควบคุม), 1, 2, 3, 4 และ 5 มิลลิลิตรต่อลิตร (0.1 -0.5 เปอร์เซนต์) (ปริมาตรต่อปริมาตร) ในสภาวะแวดล้อมเดียวกัน ค่าพี - เอช (pH) เริ่มต้น 6.9 - 7.0 ที่อุณหภูมิห้อง (28.5 - 35.0 องศาเซลเซียส) ไม่มีการเพิ่มสารอาหารระหว่างการทดลอง วัดการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย โดยการนับจำนวนเซลล์แบคทีเรีย ด้วยวิธี total plate count เทคนิค spread plate ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 (เริ่มต้น) ถึงชั่วโมงที่ 1,440 (60 วัน) และวิเคราะห์ปริมาณสารไฮโดรคาร์บอนในน้ำมันฯที่ละลายในตัวอย่าง โดยวิธีชั่งน้ำหนัก และหาชนิดสารไฮโดรคาร์บอน ด้วยวิธีไฮ เปอร์ฟอร์แมนท์ ลิควิด โครมาโตกราฟี (High performance liquid chromatography) (HPLC) สามารถสรุปผลการศึกษาได้ดังนี้

5.1 การเจริญเติบโตของ *Pseudomonas putida* และ *Bacillus subtilis* ในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเหลวที่มีสารอาหารสมบูรณ์ (TSB) และที่มีสารอาหารพื้นฐาน (MBM) ที่เติมน้ำมันหล่อลื่นสังเคราะห์ Esso ultron และ Castrol GTX ในระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ที่อุณหภูมิห้อง

1 แบคทีเรีย *P. putida* และ *B. subtilis* ต่างก็เจริญเติบโตเพิ่มจำนวนเซลล์ในอาหารชนิดเหลว TSB และใช้ระยะเวลาการแบ่งตัวต่อรุ่นน้อยกว่าในอาหารชนิดเหลว MBM เนื่องจากในอาหารชนิดเหลว TSB มีน้ำตาล dextrose เป็นแหล่งคาร์บอนที่สำคัญต่อการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย ซึ่งแบคทีเรียสามารถนำไปใช้ได้โดยง่าย จึงทำให้แบคทีเรียสามารถเจริญเติบโตเพิ่มจำนวนเซลล์ได้อย่างรวดเร็ว จาก 10^7 เซลล์ต่อมิลลิลิตร เริ่มต้น เป็น 10^{11} เซลล์ต่อมิลลิลิตร ขณะที่การเพิ่มจำนวนเซลล์ของแบคทีเรียในอาหารชนิดเหลว MBM เพิ่มจำนวนเซลล์ได้ไม่มากนัก คือ จาก 10^7 เซลล์ต่อมิลลิลิตร เริ่มต้น เป็น 10^8 เซลล์ต่อมิลลิลิตร เท่านั้น เพราะว่าในอาหารชนิดเหลว MBM มีเฉพาะเกลืออนินทรีย์ (mineral aqueous salt) คือ มีสารประกอบ NaCl, K_2HPO_4, $(NH_4)_3PO_4$ และ $MgSO_4$ แต่ไม่มีคาร์บอนเป็นแหล่งอาหารให้แก่แบคทีเรีย จึงทำให้แบคทีเรียพอที่จะเจริญเติบโตอยู่ได้ โดยที่ *B. subtilis* มีการเจริญเติบโตในรูปค่าเฉลี่ยจำนวนเซลล์ ทั้งในอาหารชนิดเหลว TSB และ MBM มากกว่า *P. putida* แต่เมื่อนำมาทดสอบทางสถิติ โดยวิธี T - Test พบว่า ค่าเฉลี่ยจำนวนเซลล์แบคทีเรีย *P. putida* และ *B. subtilis* ในอาหารชนิดเหลว TSB และในอาหารชนิดเหลว MBM ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์ แต่ถ้าเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยจำนวนเซลล์แบคทีเรียแต่

ละชนิด ระหว่างในอาหารชนิดเหลว TSB และ MBM จะพบว่า มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

2. เมื่อเติมน้ำมันหล่อลื่นฯ Esso ultron และ Castrol GTX ลงในตัวอย่างอาหารชนิดเหลว MBM ในระดับความเข้มข้นต่าง ๆ คือ ที่ความเข้มข้น 1, 2, 3, 4 และ 5 มิลลิลิตรต่อลิตร (0.1 - 0.5 เปอร์เซนต์) (ปริมาตรต่อปริมาตร) พบว่า ที่ความเข้มข้นน้ำมันหล่อลื่นฯ ชนิด และระดับความเข้มข้นเดียวกัน *P. putida* จะมีการเจริญเติบโตในรูปจำนวนเซลล์มากกว่า *B. subtilis* แต่เมื่อนำมาทดสอบทางสถิติโดยใช้วิธี T - Test พบว่า ค่าเฉลี่ยจำนวนเซลล์แบคทีเรียทั้ง 2 ชนิด ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์ แสดงว่า แบคทีเรียทั้ง 2 ชนิด มีความสามารถในการสลายไฮโดรคาร์บอนในน้ำมันฯ และเจริญเติบโตในตัวอย่างดังกล่าวได้พอ ๆกัน และค่าเฉลี่ยจำนวนเซลล์ของแบคทีเรียแต่ละชนิด ทั้ง *P. putida* และ *B. subtilis* ในอาหารชนิดเหลว MBM ที่เติมน้ำมันหล่อลื่นฯ Esso ultron และ Castrol GTX พบว่า ในชุดทดลองที่เติมน้ำมันฯ Esso ultron จะมีค่าเฉลี่ยจำนวนเซลล์ ในระดับความเข้มข้นต่ำ ๆ 1 และ 2 มิลลิลิตรต่อลิตร (ปริมาตรต่อปริมาตร) น้อยกว่าชุดทดลองที่เติมน้ำมันหล่อลื่นฯ Castrol GTX โดยที่การเจริญเติบโตของแบคทีเรียแต่ละชนิดในอาหารชนิดเหลว MBM ที่เติมน้ำมันฯ Esso ultron และ Castrol GTX มีการเพิ่มจำนวนเซลล์มากขึ้นจาก 10^7 เซลล์ต่อมิลลิลิตร เป็น 10^9 เซลล์ต่อมิลลิลิตร แต่เมื่อนำมาทดสอบทางสถิติ โดยใช้วิธี T - Test พบว่า ที่ระดับความเข้มข้น 1 และ 2 มิลลิลิตร เดียวกัน ในน้ำมันหล่อลื่นฯ ชนิดเดียวกัน *P. putida* และ *B. subtilis* มีการเจริญเติบโตที่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์ และในแบคทีเรียแต่ละชนิด ๆเดียวกัน ในอาหารชนิดเหลว MBM ที่เติมน้ำมันหล่อลื่นฯ Esso ultron และ Castrol GTX ที่ความเข้มข้นเดียวกัน (1 และ 2 มิลลิลิตรต่อลิตร) ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์ เมื่อเพิ่มความเข้มข้นน้ำมันเป็น 3, 4 และ 5 มิลลิลิตรต่อลิตร การเจริญเติบโตของแบคทีเรียในรูปจำนวนเซลล์จะลดลง คือ จาก 10^7 เซลล์ต่อมิลลิลิตร เป็น 10^8 เซลล์ต่อมิลลิลิตร และที่ระดับความเข้มข้นน้ำมันฯ สูง ๆ (3, 4 และ 5 มิลลิลิตรต่อลิตร) พบว่า ชุดทดลองที่เติมน้ำมันหล่อลื่นฯ Esso ultron จะมีค่าเฉลี่ยจำนวนเซลล์มากกว่าชุดทดลองที่เติมน้ำมันหล่อลื่นฯ Castrol GTX เมื่อนำมาทดสอบทางสถิติ โดยใช้วิธี T - Test พบว่า ที่ความเข้มข้น 4 และ 5 มิลลิลิตรต่อลิตร แบคทีเรียแต่ละชนิดจะมีการเจริญเติบโตในรูปค่าเฉลี่ยจำนวนเซลล์ ระหว่างในชุดทดลองที่เติมน้ำมันหล่อลื่นฯ Esso ultron และ Castrol GTX แตกต่างกัน พบว่า ชุดทดลองที่เติมน้ำมันหล่อลื่นฯ Esso ultron จะมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อ มั่น 95 เปอร์เซนต์ โดยชุดทดลองที่เติมน้ำมันหล่อลื่นฯ Esso ultron จะมีการเจริญเติบโตมากกว่า ในชุดทดลองที่เติมน้ำมันหล่อลื่นฯ Castrol GTX แสดงว่า ที่ความเข้มข้นต่ำ ๆ (1 และ 2 มิลลิลิตรต่อลิตร) แบคทีเรียทั้ง 2 ชนิด จะมีการเจริญเติบโต และสลายสารไฮโดรคาร์บอนในน้ำมันหล่อลื่นฯ Castrol GTX ซึ่งมีน้ำมันหล่อลื่นพื้นฐานจำพวกสารไฮโดรคาร์บอนสังเคราะห์ ในรูปสารไฮโดรคาร์บอนอิ่มตัว ได้ดีกว่า ไฮโดรคาร์บอนในน้ำมันหล่อลื่นฯ Esso ultron ที่มีน้ำมันหล่อลื่นพื้นฐานจำพวกสารเอสเทอร์สังเคราะห์ ที่ได้จากปฏิกิริยาเคมี ระหว่างกรดอินทรีย์และอัลกอฮอล์ ซึ่ง

คาดไว้ว่าแบคทีเรียทั้ง 2 ชนิดนี้ น่าจะมีการสลายน้ำมันหล่อลื่นฯ Esso ultron ได้มากกว่าน้ำมันหล่อลื่นฯ Castrol GTX ซึ่งมีน้ำมันหล่อลื่นพื้นฐานจำพวกสารไฮโดรคาร์บอนล้วน ๆ แต่ทว่าไม่เป็นเช่นนั้น เพราะว่าแบคทีเรียทั้ง 2 ชนิดนี้ มีความสามารถในการสลายสารไฮโดรคาร์บอนอิ่มตัวได้ดีอยู่แล้ว แต่เมื่อมีการทดสอบทางสถิติ โดยใช้ T - Test พบว่า ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ ๆ (1 และ 2 มิลลิลิตรต่อลิตร) แบคทีเรียแต่ละชนิดมีการเจริญเติบโตในชุดทดลองที่เติมน้ำมันหล่อลื่นฯ Esso ultron และ Castrol GTX ไม่แตกต่างกัน แต่ที่ความเข้มข้นสูง ๆ (3, 4 และ 5 มิลลิลิตรต่อลิตร) ชุดทดลองที่เติมน้ำมันหล่อลื่นฯ Esso ultron จะมีค่าเฉลี่ยจำนวนเซลล์มากกว่า เพราะแบคทีเรียทั้ง 2 ชนิด สามารถที่สลายสารประกอบเอสเทอร์สังเคราะห์ได้ง่ายกว่า สารประกอบไฮโดรคาร์บอนสังเคราะห์ จึงทำให้มีการเจริญเติบโตได้ดีกว่า และมีการสลายน้ำมันหล่อลื่นฯ Esso ultron ได้ดีกว่า อาจจะเป็นเพราะว่าที่ความเข้มข้นสูง ๆ ชุดทดลองที่เติมน้ำมันหล่อลื่นฯ Castrol GTX มีการสะสมพิษของสารไฮโดรคาร์บอนมากขึ้น ที่ระดับความเข้มข้นสูง ๆ แต่น้ำมันหล่อลื่นฯ Esso ultron เป็นสารประกอบเอสเทอร์สังเคราะห์ที่แบคทีเรียสามารถสลายได้โดยง่าย จึงทำให้เกิดการสะสมพิษของสารไฮโดรคาร์บอนน้อยกว่า และเมื่อนำมาทดสอบทางสถิติ โดยใช้การวิเคราะห์ความแปรปรวนจำแนกแบบทางเดียว (one way analysis of variance) ในชุดทดลองของแบคทีเรียแต่ละชนิด ที่เติมน้ำมันหล่อลื่นฯ แต่ละชนิด ที่ระดับความเข้มข้น 0 (ตัวควบคุม), 1, 2, 3, 4 และ 5 มิลลิลิตรต่อลิตร พบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์ เปรียบเทียบกับ ศิริพร เหลืองนฤทัย (2536) ศึกษาการย่อยสลายของปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนในน้ำทะเล โดย *Flavobacterium meningosepticum* และ *Pseudomonas fluorescens* มีการแบ่งตัวต่อรุ่นได้ดีที่สุดที่ระดับความเข้มข้นน้ำมันดิบ 3 กรัมต่อลิตร ระยะเวลาแบ่งตัวต่อรุ่น 3.870 ชั่วโมง และ 5.890 ชั่วโมง ตามลำดับ ที่ระดับความเข้มข้นน้ำมันดิบต่ำกว่า 3 กรัมต่อลิตร *F. meningosepticum* เจริญเติบโตได้ดีกว่า *P. fluorescens* แต่เมื่อระดับความเข้มข้นของน้ำมันดิบสูงขึ้น (5 กรัมต่อลิตร) พบว่า *F. meningosepticum* เจริญเติบโตได้น้อยกว่า *P. fluorescens* แสดงว่า แบคทีเรีย *Flavobacterium meningosepticum* และ *Pseudomonas fluorescens* มีการเจริญเติบโตที่แตกต่างกัน คือ ในชุดทดลองที่เติมน้ำมันชนิด และความเข้มข้นเดียวกัน แบคทีเรียทั้ง 2 ชนิดจะมีการเจริญเติบโตที่แตกต่างกัน เมื่อพิจารณาจากระยะเวลาแบ่งตัวต่อรุ่น และจำนวนเซลล์แบคทีเรียเป็นเวลา 24 ชั่วโมง และ ยุวเรศน์ เอมแย้ม (2537) ศึกษาการย่อยสลายของสารนอร์มัลอัลเคนในน้ำจืด โดย *Pseudomonas fluorescens* และ *Alicaligenes facalis* ในห้องปฏิบัติการ พบว่า *P. fluorescens* มีการแบ่งตัวต่อรุ่นได้ดีที่สุด ที่ระดับความเข้มข้นของน้ำมัน 3 มิลลิลิตรต่อลิตร (ปริมาตรต่อปริมาตร) คือ 2.680 ชั่วโมง *A. facalis* มีการแบ่งตัวต่อรุ่นได้ดีที่สุด ที่ระดับความเข้มข้นของน้ำมัน 2 มิลลิลิตรต่อลิตร คือ 4.010 ชั่วโมง แสดงว่า แบคทีเรีย *P fluorescens* และ *A facalis* จะมีการเจริญเติบโตที่แตกต่างกัน เมื่อพิจารณาจากระยะเวลาแบ่งตัวต่อรุ่น และจำนวนเซลล์แบคทีเรีย เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แต่สำหรับการศึกษาครั้งนี้แบคทีเรีย *P. putida* และ *B. subtilis* ในชุดทดลองที่เติมน้ำมันหล่อลื่นฯ ชนิด และความเข้มข้นเดียวกัน

มีการเจริญเติบโตที่ไม่แตกต่างกัน เมื่อพิจารณาจากระยะเวลาแบ่งตัวต่อรุ่น และจำนวนเซลล์แบคทีเรีย เป็นเวลา 1,440 ชั่วโมง (60 วัน)

จึงสรุปได้ว่า แบคทีเรีย *P. putida* และ *B. subtilis* มีการเจริญเติบโตในรูปจำนวนเซลล์ในชุดทดลองที่เติมน้ำมันหล่อลื่นฯ ทั้ง Esso ultron และ Castrol GTX ในระดับความเข้มข้นเดียวกัน มีลักษณะไม่แตกต่างกัน โดยมีค่าเฉลี่ยจำนวนเซลล์ ในชุดควบคุม MBM ที่ไม่เติมน้ำมันหล่อลื่นฯ น้อยกว่าในชุดทดลอง MBM ที่เติมน้ำมันฯในระดับความเข้มข้นต่าง ๆ และในชุดทดลอง TSB จะมีค่าเฉลี่ยจำนวนเซลล์มากที่สุด และจากการทดสอบทางสถิติ โดยใช้วิธี ANOVA (analysis of variance) แบบ Duncan multiple new's range test พบว่า ชุดทดลอง TSB มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ กับชุดทดลอง MBM ที่เติมน้ำมันฯ ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

5.2. การเจริญเติบโตของ *Pseudomonas putida* และ *Bacillus subtilis* กับการลดลงของน้ำมันหล่อลื่นสังเคราะห์ในระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ที่อุณหภูมิห้อง

การลดลงของน้ำมันหล่อลื่นฯ Esso ultron และ Castrol GTX เป็นผลมาจากการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย *P. putida*, *B. subtilis* และแบคทีเรียทั้ง 2 ชนิด โดยที่การเจริญเติบโตของแบคทีเรียในระยะเจริญเติบโต (logarithmic phase) จะมีความสัมพันธ์กับการลดลงของน้ำมันหล่อลื่นฯ ทั้ง 2 ชนิด จากการศึกษา เป็นเวลา 28 วัน พบว่าในช่วง 7 วันแรก ชุดทดลองทั้งแบคทีเรียแต่ละชนิดและทั้ง 2 ชนิด จะมีการเจริญเติบโตในรูปค่าเฉลี่ยจำนวนเซลล์สูงสุด จึงทำให้มีการลดลงของน้ำมันหล่อลื่นฯ ได้ประมาณ 9 เปอร์เซนต์ และเมื่อเวลาผ่านไป 28 วัน จะพบว่า ชุดทดลอง MBM ที่เติมน้ำมันหล่อลื่นฯ Castrol GTX ระดับความเข้มข้น 1 และ 2 มิลลิลิตรต่อลิตร จะมีการลดลงของน้ำมันฯ มากกว่าชุดทดลอง MBM ที่เติมน้ำมันหล่อลื่นฯ Esso ultron ในระดับความเข้มข้นเดียวกัน และชุดทดลองที่เติมแบคทีเรียทั้ง 2 ชนิดร่วมกัน จะมีการลดลงของน้ำมัน มากกว่าชุดทดลองที่เติม *P. putida* และ *B. subtilis* ตามลำดับ เพราะทั้ง *P. putida* และ *B. subtilis* ต่างก็ช่วยทำให้ปริมาณน้ำมันหล่อลื่นฯ ในชุดทดลองลดลงได้มากยิ่งขึ้น โดยพิจารณาได้จาก ลักษณะโครมาโทรแกรม HPLC พบว่า ลักษณะโครมาโทรแกรม HPLC ของตัวอย่างอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเหลว MBM ที่เติมน้ำมันหล่อลื่นฯ Esso ultron 2 มิลลิลิตรต่อลิตร กับลักษณะโครมาโทรแกรม HPLC ของตัวอย่างอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเหลว MBM ที่เติมน้ำมันหล่อลื่นฯ Esso ultron 2 มิลลิลิตรต่อลิตร และมีการสลายทางชีวภาพโดยแบคทีเรีย *P. putida* , *B. subtilis* และเชื้อทั้ง 2 ชนิดร่วมกัน เป็นเวลา 28 วัน (ดังรูปที่จ. 1, 2 , 3 และ 4) พบว่า มีลักษณะโครมาโทรแกรม HPLC โดยพิจารณาได้จากพีค (peak) จะมีลักษณะแตกต่างไปจากเดิมเพียงเล็กน้อย คือ พื้นที่, ความสูง และ เวลา (retention time) ของแต่ละพีค มีการเปลี่ยนแปลงไป แต่ไม่เด่นชัดมากนัก สำหรับลักษณะโครมาโทรแกรม HPLC ของตัวอย่างอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเหลว MBM ที่เติมน้ำมันหล่อลื่นฯ Castrol GTX 2 มิลลิลิตรต่อลิตร กับลักษณะโครมาโทรแกรม HPLC ของตัวอย่างอาหาร

เลี้ยงเชื้อชนิดเหลว MBM ที่เติมน้ำมันหล่อลื่นฯ Castrol GTX 2 มิลลิลิตรต่อลิตร และมีการสลายทางชีวภาพ โดยแบคทีเรีย *P. putida* , *B. subtilis* และเชื้อทั้ง 2 ชนิดร่วมกัน เป็นเวลา 28 วัน (ดังรูปที่จ. 5, 6 ,7 และ 8) ก็มีลักษณะในทำนองเดียวกัน โดยที่แบคทีเรีย *P. putida* , *B. subtilis* และเชื้อทั้ง 2 ชนิดร่วมกัน ได้มีการสลายและใช้น้ำมันหล่อลื่นฯ Esso ultron ไปประมาณ 25 - 30 เปอร์เซนต์ และ Castrol GTX ไปประมาณ 27 - 32 เปอร์เซนต์ ในการเจริญเติบโต ในปริมาณที่ไม่แตกต่างกันมากนัก แสดงให้เห็นว่า การที่ลักษณะโครมาโทรแกรม HPLC ของตัวอย่างอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเหลว MBM ที่เติมน้ำมันหล่อลื่นฯ Esso ultron และ Castrol GTX 2 มิลลิลิตรต่อลิตร กับลักษณะโครมาโทรแกรม HPLC ของตัวอย่างอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเหลว MBM ที่เติมน้ำมันหล่อลื่นฯ Esso ultron และ Castrol GTX 2 มิลลิลิตรต่อลิตร และมีการสลายทางชีวภาพ โดยแบคทีเรีย *P. putida* , *B. subtilis* และเชื้อทั้ง 2 ชนิดร่วมกัน เป็นเวลา 28 วัน มีลักษณะที่ไม่แตกต่างกันมากนัก อาจเป็นเพราะว่า แบคทีเรียมีการใช้ และสลายสารเอสเทอร์สังเคราะห์ที่อยู่ในน้ำมันหล่อลื่นฯ Esso ultron และไฮโดรคาร์บอนสังเคราะห์ที่อยู่ในน้ำมันหล่อลื่นฯ Castrol GTX เฉพาะส่วนที่สามารถสลายและนำไปใช้ได้โดยง่าย โดยนำไปใช้ในการสร้างพลังงาน เซลล์ใหม่ และได้ผลิตภัณฑ์สุดท้าย คือ แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ และน้ำ แต่การศึกษาวิจัยครั้งนี้ ไม่ได้ทำการศึกษาถึงผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นระหว่างการสลายทางชีวภาพ (intermediate products) และ path way ของสารประกอบไฮโดรคาร์บอนที่อยู่ในน้ำมันหล่อลื่นฯ ดังกล่าวนี้ จึงทำให้ไม่อาจทราบว่า ผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นระหว่างการสลายทางชีวภาพของน้ำมันหล่อลื่นสังเคราะห์ Esso ultron และ Castrol GTX โดยแบคทีเรียทั้ง 2 ชนิดนี้ คือ ผลิตภัณฑ์ใดบ้าง สำหรับส่วนที่เหลืออีก ประมาณ 70 เปอร์เซนต์ อาจเป็นส่วนที่แบคทีเรียไม่สามารถสลาย และนำไปใช้ได้โดยง่าย จึงยังคงอยู่ในสภาพเดิม โดยพิจารณาได้จาก ลักษณะโครมาโทรแกรม HPLC ก่อน และหลังการสลายทางชีวภาพของน้ำมันหล่อลื่นสังเคราะห์ Esso ultron และ Castrol GTX โดยแบคทีเรียทั้ง 2 ชนิด พบว่า มีลักษณะที่ไม่แตกต่างกันนัก และเมื่อนำมาทำการทดสอบทางสถิติ เพื่อหาความสัมพันธ์ ระหว่างการลดลงของน้ำมันหล่อลื่นฯ กับการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย โดยใช้วิธีการหาค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (correlation) พบว่า มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r) ประมาณ - 0.5 ถึง - 0.6 คือ มีความสัมพันธ์กันแบบปานกลาง และในทิศทางตรงกันข้าม กล่าวคือ การลดลงของน้ำมันหล่อลื่นฯ มีความสัมพันธ์แบบปานกลาง กับการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย ซึ่งมีปัจจัยที่เกี่ยวข้องในเรื่องนี้ คือ มีการเติมสารอาหารเกลือแร่อนินทรีย์อย่างเพียงพอในครั้งแรก ซึ่งแบคทีเรียทั้ง 2 ชนิดนี้สามารถเจริญเติบโต และทนต่อความเข้มข้นที่ค่อนข้างสูงของสารประกอบเกลืออนินทรีย์ที่ละลายในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเหลว MBM นี้ได้ และจำนวนเซลล์แบคทีเรียเริ่มต้นมีจำนวนอย่างเพียงพอ คือ 10 เปอร์เซนต์โดยปริมาตร จึงทำให้มีการเพิ่มจำนวนเซลล์ได้อย่างเต็มที่ และสามารถสร้างเอนไซม์ที่จะสลายสารไฮโดรคาร์บอนในน้ำมันหล่อลื่นฯ ได้อย่างเพียงพอ โดยแบคทีเรีย *P. putida* เป็นแบคทีเรียที่ต้องการออกซิเจนเพื่อการเจริญเติบโต (strickly aerobic bacteria) และ *B. subtilis* เป็นแบคทีเรียที่เจริญเติบโตอยู่ได้ทั้งในสภาวะที่ไร้ออกซิเจน หรือมีออกซิเจนเพียงเล็กน้อย (facultative anaerobic bacteria) ดังนั้นปริมาณออกซิเจนที่ละลายในตัวอย่างควรเพียงพอต่อกระบวนการเมตาบอลิซึมของเซลล์ การทดลองครั้งนี้

บ่มเชื้อบนเครื่องเขย่าที่มีความเร็วรอบ 250 รอบต่อนาที ซึ่งทำให้การละลายของออกซิเจนจากบรรยากาศเป็นไปได้เต็มที่ แต่ถ้ามีการเติมออกซิเจนแบบใช้เครื่องเติมออกซิเจนที่สามารถกำหนดอัตราการไหลของอากาศได้ ก็จะทำให้มีออกซิเจนละลายในตัวอย่างได้มากกว่านี้ จะทำให้การลดลงของน้ำมันหล่อลื่นฯ เป็นไปได้มากกว่านี้ และการสะสมของสาร intermediate products ซึ่งเกิดจากการสลายทางชีวภาพของน้ำมันหล่อลื่นฯ Esso ultron และ Castrol GTX อาจเพิ่มความเป็นพิษให้กับเชื้อแบคทีเรียได้ แต่การศึกษาครั้งนี้ ไม่ได้มีวัตถุประสงค์ที่จะศึกษา pathway ของการสลายทางชีวภาพของน้ำมันหล่อลื่นฯ Esso ultron และ Castrol GTX ซึ่งเป็นสารประกอบที่มีองค์ประกอบทางโมเลกุลขนาดใหญ่ และซับซ้อนมาก ดังนั้นเราอาจเลือกใช้แบคทีเรียชนิดใดก็ได้ในการศึกษาเรื่องดังกล่าว หรืออาจเลือกใช้ 2 ชนิดร่วมกัน ก็จะทำให้การสลายทางชีวภาพของน้ำมันหล่อลื่นฯ เป็นไปอย่างดีขึ้น แต่มีข้อจำกัดที่ว่า ถ้าเป็นน้ำมันฯประเภทเดียวกับที่ใช้ศึกษาในครั้งนี้ ต้องมีความเข้มข้นที่ไม่มากไปกว่าที่ใช้ศึกษานัก และถ้าเป็นแหล่งน้ำธรรมชาติ น้ำเสีย ก็ควรมีการใช้วิธีทางกายภาพ และ/หรือทางเคมีร่วมด้วย ก็จะทำให้การสลายทางชีวภาพเป็นไปอย่างมีประสิทธิภาพ แต่อย่างไรก็ตาม การมีมาตรการป้องกัน ไม่ให้น้ำมันหล่อลื่นฯ รั่วไหลลงสู่สภาวะแวดล้อม เป็นการป้องกันการเกิดปัญหามลพิษสิ่งแวดล้อมที่ดีที่สุด

5.3. การเจริญเติบโตของ *Pseudomonas putida* และ *Bacillus subtillis* กับการเปลี่ยนแปลงปริมาณสารอาหารพื้นฐานในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเหลว MBM ที่เติมน้ำมันหล่อลื่นสังเคราะห์ Esso ultron และ Castrol GTX ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ที่อุณหภูมิห้อง

เมื่อเวลาผ่านไป 28 วัน ชุดทดลองที่เติมแบคทีเรียทั้ง 2 ชนิดร่วมกัน และชุดทดลอง ที่เติมน้ำมันหล่อลื่นฯ Esso ultron และ Castrol GTX 2 มิลลิลิตรต่อลิตร เป็นชุดทดลองที่มีเปอร์เซนต์การลดลงของสารอาหารพื้นฐาน (ไอออนบวก และไอออนลบ รวม 7 ชนิด) มากที่สุด คือ แบคทีเรียทั้ง 2 ชนิดร่วมกัน จะมีการใช้แอมโมเนียม(NH_4^+) ในการเจริญเติบโตมากที่สุด คือ 36.16 เปอร์เซนต์ รองลงมา ได้แก่ โปตัสเซียม (K^+) 32.06 เปอร์เซนต์ และใช้มักนีเซียม (Mg^{2+}) น้อยที่สุด คือ 18.06 เปอร์เซนต์ ส่วนสารอาหารอื่น ๆ ก็มีการใช้ในเปอร์เซนต์ที่ไม่แตกต่างกันมากนัก โดยชุดทดลอง MBM ที่เติมน้ำมันหล่อลื่นฯ Esso ultron จะมีการใช้สารอาหารพื้นฐาน แอมโมเนียม (NH_4^+) , มักนีเซียม (Mg^{2+}) และ ฟอสเฟต (PO_4^{3-}) มากกว่าชุดทดลองที่เติมน้ำมันหล่อลื่นฯ Castrol GTX และชุดทดลองที่เติมน้ำมันหล่อลื่นฯ Castrol GTX จะมีการใช้สารอาหารพื้นฐาน โซเดียม (Na^+) , โปตัสเซียม (K^+) , ซัลเฟต (SO_4^{2-}) และ คลอไรด์ (Cl^-) มากกว่าชุดทดลองที่เติมน้ำมันหล่อลื่นฯ Esso ultron สรุปได้ว่า ชุดทดลอง MBM ที่เติมน้ำมันฯ 2 มิลลิลิตรต่อลิตร จะมีการใช้สารอาหารไปมากกว่า ชุดทดลอง MBM ที่เติมน้ำมันฯ 1 มิลลิลิตรต่อลิตร และชุดควบคุมที่ไม่มีการเติมน้ำมันฯ และชุดทดลองที่เติมแบคทีเรียทั้ง 2 ชนิด จะมีการใช้สารอาหารไปมากกว่า ชุดทดลองที่เติมแบคทีเรียแต่ละชนิด ในระดับความเข้มข้นน้ำมันฯ และสภาวะเดียวกัน ซึ่งสอดคล้องกับการเจริญเติบโต

ของแบคทีเรีย และการศึกษาครั้งนี้ ได้เติมสารอาหารครั้งเดียวอย่างเพียงพอต่อการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย โดยมีการใช้สารอาหารเกลือแร่ไปประมาณ 12 - 36 เปอร์เซนต์ แสดงว่า แบคทีเรียสามารถใช้สารอาหาร และทนต่อความเข้มข้นที่ค่อนข้างสูงของสารประกอบเกลืออนินทรีย์ที่ละลายในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเหลว MBM ได้ กล่าวคือ NaCl ความเข้มข้น 5,000 มิลลิกรัมต่อลิตร , K_2HPO_4 ความเข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร , $(NH_4)_3PO_4$ ความเข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร และ $MgSO_4$ ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยใช้ได้ทั้งที่เป็นธาตุอาหารหลัก (N (NH_4^+) , P (PO_4^{3-}) , K^+) และธาตุอาหารรอง คือ Na^+ , Mg^{2+} , Cl^- และ SO_4^{2-} ทั้งในการเจริญเติบโตควบคู่ไปกับการสลายไฮโดรคาร์บอนในตัวอย่าง ที่เติมน้ำมันหล่อลื่นสังเคราะห์ดังกล่าว

ข้อเสนอแนะ

1. หากต้องการศึกษาการสลายทางชีวภาพของน้ำมันชนิดต่าง ๆ ในแหล่งน้ำธรรมชาติ น้ำเสีย ควรใช้แบคทีเรียเป็นกลุ่ม เช่น *Pseudomonas, Aeromonas, Flavobacterium,* ยีสต์ และ เชื้อราต่าง ๆ

2. หากต้องการศึกษาการสลายทางชีวภาพของน้ำมันในแหล่งน้ำ เช่น น้ำทะเล น้ำจืด เป็นต้น และน้ำเสีย ควรมีการเพิ่มปริมาณสารอาหารที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของเชื้อที่ใช้ศึกษา อย่างเพียงพอ พร้อมทั้งตรวจวัดปริมาณสารอาหารในน้ำตัวอย่างทุกระยะด้วย เพื่อจะได้ทราบปริมาณสารอาหารที่เหลือ หรือปริมาณสารอาหารที่เชื้อใช้ไปในการเจริญเติบโต

3. หากต้องการศึกษาการสลายทางชีวภาพของน้ำมัน ในระบบจำลองในห้องปฏิบัติการ ควรมีการใช้เครื่องเติมอากาศ (aerator) ร่วมกับเครื่องเขย่าที่มีความเร็วจำนวนรอบ 250 - 330 รอบต่อนาที แรงเหวี่ยงห่างจุดศูนย์กลาง 1 นิ้ว เพื่อให้ออกซิเจนละลายได้อย่างสมบูรณ์ ในน้ำตัวอย่าง

4. น่าจะมีการศึกษาเปรียบเทียบระหว่าง การสลายทางชีวภาพของน้ำมันหล่อลื่นสังเคราะห์ชนิดอื่น ๆ เช่น น้ำมันหล่อลื่นฯ Mobil formula และ PTT VSH เป็นต้น กับน้ำมันหล่อลื่นทั่วไป โดยใช้แบคทีเรียชนิดเดียวกัน และอยู่ในสภาวะเดียวกัน

5. น่าจะมีการศึกษาเปรียบเทียบระหว่าง การสลายทางชีวภาพของน้ำมันหล่อลื่นสังเคราะห์ที่ยังไม่ได้ใช้กับที่ใช้แล้ว โดยใช้แบคทีเรียชนิดเดียวกัน และอยู่ในสภาวะเดียวกัน

6. ในการศึกษาครั้งต่อไป ผู้วิจัยน่าที่จะให้ความสนใจแก่เชื้อที่ติดมากับน้ำมัน เพื่อพัฒนาให้สามารถนำไปใช้ในการสลายทางชีวภาพของน้ำมัน ในแหล่งน้ำที่ปนเปื้อนน้ำมันร่วมกับเชื้อในธรรมชาติชนิดอื่น ๆ

7. ควรมีการเพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ที่สนใจ นำมาทำการสลายสารไฮโดรคาร์บอนต่าง ๆ ในอาหารเกลือแร่ ที่มีการผสมสารไฮโดรคาร์บอนของน้ำมันชนิดต่าง ๆ เป็นเวลาอย่างน้อย 1 ปี เพื่อให้เชื้อมีความคุ้นเคยต่อสารอาหารนั้นๆ