บทที่ 2

การตรวจเอกสาร

2.1 ลักษณะและองค์ประกอบของน้ำมันดิบ

น้ำมันปิโตรเลียมดิบ หรือ น้ำมันดิบ เป็นสารผสมที่สลับซับซ้อน องค์ประกอบส่วนใหญ่ได้แก่ ไฮโดรคาร์บอนประเภทต่างๆ ตั้งแต่โมเลกุลเล็กที่สุดจนถึงพวกโมเลกุลใหญ่ นอกจากนั้นก็มีสารอินทรีย์ที่มีกำมะถัน ออกซิเจน และไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบอีกหลายชนิด น้ำมันดิบอาจมีก๊าซละลายอยู่ และอาจมีสารประกอบของโลหะบางชนิดปนอยู่ด้วย น้ำมันดิบจะมีลักษณะและคุณสมบัติแตกต่างกันออกไปมาก ทั้งนี้เพราะสัดส่วนของไฮโดรคาร์บอนประเภทต่างๆ ที่มีอยู่จะผิดแผกกันออกไปเป็นอย่างมากแล้วแต่แหล่งที่มา ซึ่งจัดเป็นเรื่องที่สำคัญในการกำหนดคุณค่าของน้ำมัน การกำหนดวิธีการและกระบวนการผลิตที่เหมาะสมในการกลั่นน้ำมันต่อไป (ปราโมทย์ ไชยเวช , 2537)

ตารางที่ 2.1 ธาตุที่เป็นองค์ประกอบในน้ำมันดิบ (Speight , 1991)

แร่ธาตุ	เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก
คาร์บอน	83.0 –87.0
ไฮโดรคาร์บอน	10.0-14.0
ไนโตรเจน	0.1-2.0
ออกซิเจน	0.05-1.5
ซัลเฟอร์	0.05-6.0

2.1.1 สารประกอบที่มีไฮโดรคาร์บอน (Atlas , 1981 ; Leathy และ Colwell , 1990)

ดังที่กล่าวมาแล้ว น้ำมันดิบมีไฮโดรคาร์บอนซึ่งเป็นสารประกอบระหว่างคาร์บอนกับไฮโดรเจนอยู่เป็นส่วนใหญ่ ไฮโดรคาร์บอนที่มีอยู่ในน้ำมันดิบทุกชนิดมีอยู่ 4 ประเภท คือ

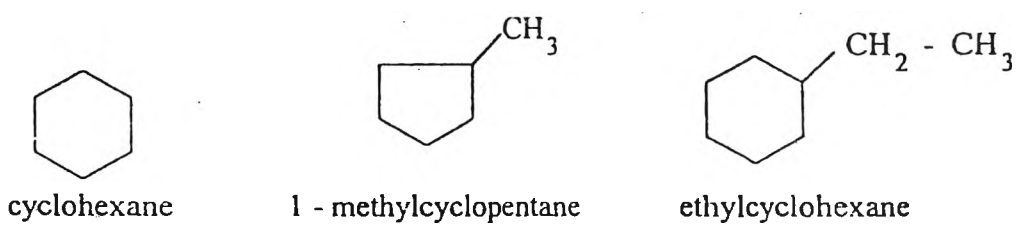
หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ก. พาราฟิน

พาราฟินเป็นสารพวกไฮโดรคาร์บอนที่อิ่มตัว ประเภทอัลเคน ซึ่งมีสูตรโมเลกุลคือ C_nH_{2n+2} และมีโครงสร้างของโมเลกุลเป็นสายตรง (straight chain) หรือสายที่มีกิ่ง (branched chain)

ข. แนฟทีน

แนฟทีนเป็นไฮโดรคาร์บอนอิ่มตัวที่ประกอบด้วยวงไซโคลอัลเคน (cycloalkane) 1 วงหรือมากกว่า โดยแนฟทีนมีสูตรโมเลกุลคือ C_nH_{2n} สารประกอบที่มีวงไซโคลอัลเคน 5-6 วง ส่วนใหญ่จะพบได้ในน้ำมันดิบ ซึ่งแนฟทีนที่พบในน้ำมันดิบส่วนใหญ่จะมีหมู่อัลคิลต่ออยู่ (alkyl side chain) ตัวอย่างของแนฟทีนดังแสดงในรูปที่ 2.1

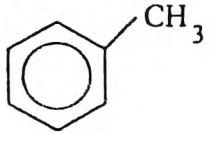


รูปที่ 2.1 ตัวอย่างของแนฟทีน

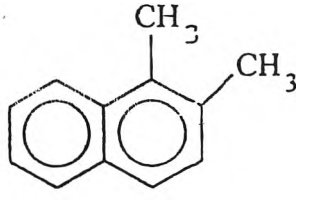
ค. อะโรมาติค

อะโรมาติคเป็นไฮโดรคาร์บอนที่ประกอบไปด้วยวงเบนซีนอย่างน้อย 1 วง ตัวอย่างเช่น เบนซีน แนฟธาลีน และฟีแนนทรีน ซึ่งมีสูตรโมเลกุลคือ C_nH_{2n-6R} โดยที่ R คือ จำนวนของวงอะโรมาติค ในน้ำมันดิบจะมีสารประกอบพวกอะโรมาติคในสัดส่วนที่หลากหลายตั้งแต่ 10-50% หรือมากกว่านั้น ขึ้นอยู่กับชนิดของน้ำมันดิบ (Atlas , 1995) สัดส่วนปริมาณของอะโรมาติคจะเพิ่มขึ้นตามความหนาแน่นของน้ำมันดิบ อะโรมาติคที่ไม่มีหมู่อัลคิลที่วงแนฟทีนจะมีจุดเดือดต่ำสุด ตัวอย่างเช่น โทลูอีน และไซลีน ซึ่งจะพบได้ในลำดับส่วนของน้ำมันเบนซีน (gasoline fraction) ลำดับส่วนของอะโรมาติคที่ปราศจากวงแนฟทีนจะพบได้ในน้ำมันปิโตรเลียม เช่น น้ำมันหล่อลื่น (lubricating oil) สารประกอบพวกอะโรมาติคส่วนมาก

จะพบได้ในลำดับส่วนแอสฟัลท์ (asphalt fraction) (Wilson และ Jones , 1993) ตัวอย่างเช่น แนฟธาลีน ฟีแนนทรีน และแอนทราซีน ซึ่งสามารถแบ่งอะโรมาติค ออกได้เป็น 2 กลุ่มตามความสามารถในการละลายในเพนเทน ส่วนประกอบของแอสฟัลท์ที่ละลายได้ในเพนเทนเรียกว่า เรซิน และส่วนประกอบที่ไม่ละลายในเพนเทนจะเรียกว่า แอสฟัลทีน (asphaltenes) (Beckmann , 1981 ; Schobertt , 1990) ตัวอย่างของสารพวกอะโรมาติคดังแสดงในรูปที่ 2.2



toluene



1, 2-dimethyl
naphthalene

รูปที่ 2.2 ตัวอย่างของสารพวกอะโรมาติค

ง. ไฮโดรคาร์บอนที่ไม่อิ่มตัว (unsaturated hydrocarbon)

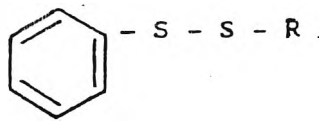
ไฮโดรคาร์บอนที่ไม่อิ่มตัวคือ ไฮโดรคาร์บอนหลายๆ ตัวมาต่อกันเป็นลำดับ ได้แก่ โอเลฟีน (olefins , C_nH_{2n}) และอัลไคน์ (alkyne , C_nH_{2n-2}) โอเลฟินพบค่อนข้างน้อยในน้ำมันดิบ เนื่องจากเกิดปฏิกิริยาทางเคมีกับพันธะที่ไม่อิ่มตัว (unsaturated bond) (Speight , 1991)

2.1.2 สารประกอบอื่นๆ ที่ไม่ใช่ไฮโดรคาร์บอนเพียงอย่างเดียว (ปราโมทย์ ไชยเวช , 2537)

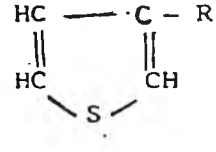
สารพวกนี้มักเรียกว่า สิ่งปฏิกูล มีหลายประเภททั้งที่อยู่ในน้ำมันดิบและเกิดขึ้นได้ในกระบวนการกลั่นตัวที่สำคัญคือ สารของกำมะถันของไนโตรเจนและของออกซิเจน สารพวกนี้แม้จะมีปริมาณไม่มากนัก แต่ก็มีอิทธิพลมากต่อคุณภาพของผลิตภัณฑ์ และเป็นตัวที่กำหนดว่าในการกลั่นจะต้องใช้กระบวนการผลิตอันใดบ้างจึงจะเหมาะสม

ก. สารประกอบกำมะถัน

ปริมาณกำมะถันในน้ำมันดิบอาจมีตั้งแต่ 0.04% ถึงราว 5% โดยน้ำหนัก แล้วแต่ชนิดของน้ำมันดิบ สำหรับน้ำมันดิบที่มีกำมะถันสูง ปริมาณเนื้อกำมะถันที่วิเคราะห์ได้ อาจดูไม่สูงนักแต่จำนวนสารประกอบที่มีกำมะถันอยู่ด้วยจะมีมากทีเดียว ตัวอย่างเช่น น้ำมันดิบที่มีเนื้อกำมะถันอยู่ 5% โดยน้ำหนัก อาจมีจำนวนโมเลกุลของสารประกอบที่มีกำมะถันเป็นองค์ประกอบอยู่ด้วยมากถึง 50% ของสารประกอบทั้งหมดที่มีอยู่ในน้ำมัน มักปรากฏว่า น้ำมันที่มีความถ่วงจำเพาะสูงจะมีปริมาณกำมะถันสูงไปด้วยแต่ก็ไม่แน่นอนนัก สารกำมะถันในน้ำมันดิบมักมีโครงสร้างง่ายกว่า (organic sulphur compounds) รูปที่ 2.3 แสดงถึงประเภทของสารประกอบกำมะถันที่พบในน้ำมันดิบและในโรงกลั่นน้ำมัน สารประกอบกำมะถันในน้ำมันดิบส่วนใหญ่มีจุดเดือดสูง จึงมักอยู่ในส่วนหนักๆ เช่น ส่วนที่เป็นน้ำมันดีเซลและน้ำมันเตา ในทางอุตสาหกรรมน้ำมันจะแบ่งสารประกอบกำมะถันออกเป็นสองประเภท คือ ประเภทที่มีฤทธิ์กัดกร่อน และประเภทที่ไม่มีฤทธิ์กัดกร่อน สารประกอบกำมะถันที่มีฤทธิ์กัดกร่อน ได้แก่ กาซไข่เน่า (H_2S) เป็นต้น ส่วนสารประกอบกำมะถันที่ไม่มีฤทธิ์กัดกร่อน ได้แก่ ซัลไฟด์ ไดซัลไฟด์ ไทโอฟีน เป็นต้น



Disulphides



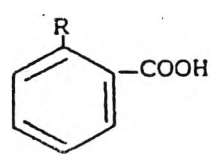
Thiophene

รูปที่ 2.3 ประเภทของสารประกอบกำมะถันที่พบในน้ำมันดิบ

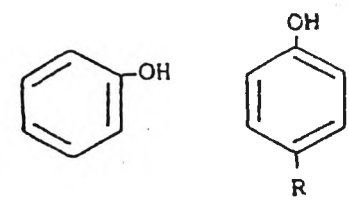
ข. สารประกอบของออกซิเจน

ออกซิเจนที่อยู่ในสภาพสารประกอบในน้ำมันมีอยู่ประมาณ 0.5%โดยน้ำหนัก และเกิดขึ้นได้ในสามลักษณะ คือ

- เป็นกรดอินทรีย์ ซึ่งมีหมู่คาร์บอซิลิค (carboxylic) หนึ่งหมู่หรือหลายหมู่ต่อติดอยู่กับกลุ่มไฮโดรคาร์บอนใหญ่บ้างเล็กบ้าง โดยที่มีฤทธิ์เป็นกรดจึงสามารถทำให้เป็นกลางได้ด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ ออกซิเจนอาจถูกกำจัดได้โดยกระบวนการ hydrotreating ซึ่งออกซิเจนจะรวมกับไฮโดรเจนในไฮโดรคาร์บอนเป็นน้ำไป กรดอินทรีย์นี้บางครั้งเรียกว่า กรดแนฟทีนิค (naphthenic acid) เพราะไฮโดรคาร์บอนที่ต่ออยู่กับหมู่กรดมักเป็นแนฟทีน ถ้ามีอยู่มากในน้ำมันดิบก็จะกัดกร่อนเครื่องกลั่นได้
- เป็นฟีนอล หรือสารตระกูลเดียวกัน เช่น cresol
- เป็นสารอื่นที่ไม่เป็นกรด เช่น เอสเทอร์ เอมีด คีโทน แต่มีปริมาณน้อยมาก รูปที่ 2.4 แสดงถึงสารประกอบของออกซิเจนดังกล่าว ถ้ามีอยู่ในน้ำมันดิบมักจะพบในส่วนที่เป็นน้ำมันก๊าด สารพวกนี้ทำให้สีของน้ำมันก๊าดเสื่อมลงได้ง่าย ส่วนใหญ่ฟีนอลมักเกิดเป็นจำนวนมากจากการที่สารประกอบของออกซิเจนกับไฮโดรคาร์บอนที่มีโมเลกุลใหญ่ๆ แตกตัวออกในกระบวนการ cracking



Carboxylic acid



Phenols & Cresols

รูปที่ 2.4 สารประกอบของออกซิเจนที่พบในน้ำมันดิบ

ค. สารประกอบของไนโตรเจน

น้ำมันดิบบางอย่างมีสารประกอบของไนโตรเจนอยู่ด้วยในรูปของไนโตรเจนที่เป็นด่าง (nitrogen base) และสารที่เป็นกลาง (neutral compound) ส่วนสารประกอบของไนโตรเจนในน้ำมันดิบอาจมีมากถึง 0.1% โดยน้ำหนัก ไนโตรเจนที่เป็นด่างมักทำให้น้ำมันเบนซินและน้ำมันก๊าดเปลี่ยนสีคล้ำลง โดยเฉพาะหากมีพวกฟีนอลปนอยู่ด้วย ถ้าอยู่ในน้ำมันเครื่อง

สารประกอบไนโตรเจนมักจะทำให้เกิดยางเหนียวขึ้นระหว่างใช้สารประกอบไนโตรเจน อาจกำจัดได้ โดยใช้กรดกำมะถันหรือใช้ไฮโดรเจนในกระบวนการ hydrotreating เพื่อเปลี่ยนไนโตรเจนให้ไปเป็นกาซแอมโมเนีย รูปที่ 2.5 แสดงถึงสารประกอบไนโตรเจนที่พบในน้ำมัน

Nitrogen Base Nitrogen Neutral Compound

รูปที่ 2.5 สารประกอบไนโตรเจนที่พบในน้ำมันดิบ

ง. สารประกอบอนินทรีย์

ในน้ำมันดิบมีสารประกอบอนินทรีย์สองอย่าง คือ น้ำและเกลือ น้ำมันดิบจะมีน้ำอยู่ด้วยเสมอเพราะเป็นไปตามสภาพธรณีวิทยาของแหล่งน้ำมันซึ่งมักจะมีน้ำใต้ดินอยู่ใกล้ๆ นอกจากนั้นน้ำมักจะติดมากับเรือบรรทุกน้ำมันดิบเนื่องจากมีการล้างเรือ ส่วนเกลืออนินทรีย์ที่มีอยู่เล็กน้อยมักละลายอยู่ในน้ำ ที่พบทั่วไปเป็นเกลือคลอไรด์ของโซเดียม แมกนีเซียมและแคลเซียม แต่เกลือของทองแดง สังกะสี เหล็ก และวานาเดียม ก็เคยพบในจำพวกเกลือเหล่านี้ แมกนีเซียมคลอไรด์ไม่พึงประสงค์ที่สุด เพราะเมื่อร้อนขึ้นและมีน้ำอยู่ด้วยจะแตกตัวออกเป็นกรดเกลือกัดกร่อนท่อในเตาและเครื่องกลั่นอื่นๆ จึงจำเป็นต้องทำให้เป็นกลางโดยเติมโซดาไฟลงไปก่อนเข้าเตา เกลือทุกชนิดทำอันตรายเครื่องมือโดยเฉพาะเตา เพราะก่อให้เกิดคราบตะกรันและโค้ก (coke) ในท่อ เป็นเหตุให้ถ่ายเทความร้อนไม่สะดวก ท่ออาจร้อนเกินไปจนแตกได้ ดังนั้นทางที่ดีต้องกำจัดเกลือให้หมดก่อน โดยการล้างน้ำมันดิบด้วยน้ำที่ละลายเกลือออกไปโดยเครื่องกำจัดเกลือ (desalter)

จ. สารประกอบอินทรีย์ที่มีโลหะ

โลหะพวกวานาเดียมและนิเกิ้ลมีอยู่ในน้ำมันดิบปริมาณเล็กน้อย โดยจะประกอบตัวกับสารอินทรีย์เป็นสารประกอบที่มีโมเลกุลยุ่งยากมาก มักประกอบด้วยวงแหวนแนฟทีนหรือวงแหวนอะโรมาติคพร้อมทั้งมีแขนเป็นพาราฟินร่วมด้วย สารพวกนี้มีจุดเดือดสูงไม่สามารถ

กำจัดได้ด้วยวิธีการ desalting เพราะมันไม่ละลายน้ำ จึงมักจะอยู่ในส่วนกากที่เป็นน้ำมันเตา ถ้ามากเกินไปจะก่อให้เกิดปัญหาน้ำมันเตามีเถ้าสูง และเกิดการกัดกร่อนของปล่องไฟได้

2.2 คุณสมบัติทางกายภาพของน้ำมันดิบ (Physical properties of crude oil)

คุณสมบัติทางกายภาพที่สำคัญบางประการนำไปใช้ในการตรวจสอบน้ำมันดิบ คือ ค่าความถ่วงจำเพาะ (specific gravity) และค่าความหนืด (viscosity) ดังรายละเอียดต่อไป

2.2.1 ความหนาแน่น (Density) และค่าความถ่วงจำเพาะ (Gravity) ของน้ำมันดิบ

ความหนาแน่นและค่าความถ่วงจำเพาะถูกนำมาใช้เป็นตัวบ่งบอกธรรมชาติของน้ำมันดิบและผลิตภัณฑ์จากโรงกลั่นน้ำมัน โดยทั่วไปค่าความถ่วงจำเพาะจะมีค่าเป็นช่วงกว้างกว่าค่าความหนาแน่น ซึ่งค่าความถ่วงจำเพาะแบ่งเป็นค่าความถ่วงจำเพาะ (Specific gravity) และ ค่า API (American Petroleum Institute gravity) ค่าความถ่วงจำเพาะของ API แก้ไขปรับปรุงจาก Baume scale และนำไปคำนวณในสมการข้างล่าง

$$\text{degree API} = \frac{141.5}{\text{sp. gr.}60^{\circ}/60^{\circ}\text{F}} - 131.5$$

หมายเหตุ sp. gr. $60^{\circ}/60^{\circ}$F คือ ค่าความถ่วงจำเพาะของน้ำมันดิบเมื่อวัดค่านี้ที่ 60°F

ค่าความถ่วงจำเพาะของน้ำมันดิบโดยทั่วไปจะอยู่ในช่วงประมาณ 0.8 (45.3°API) สำหรับน้ำมันดิบชนิดเบา (light crude oil) และประมาณ 1.0 (10°API) สำหรับน้ำมันดิบชนิดหนัก (heavy crude oil)

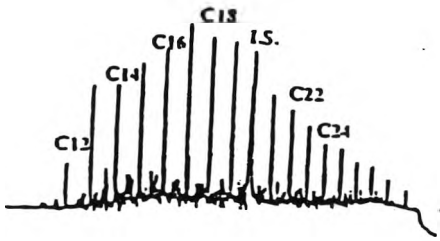
2.2.2 ค่าความหนืด (Viscosity)

ช่วงค่าความหนืดของไฮโดรคาร์บอนแต่ละชนิดจะมีค่าที่แตกต่างกัน ดังตัวอย่างที่แสดงในตารางที่ 2.2

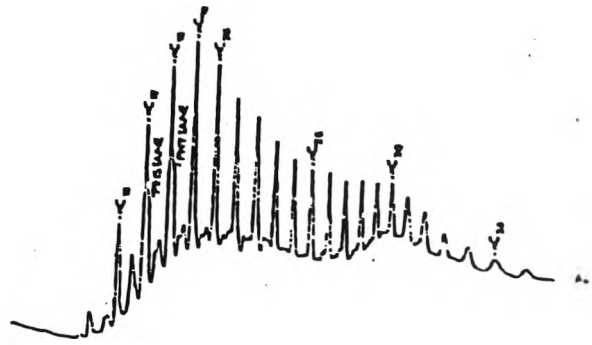
ตารางที่ 2.2 ค่าความหนืดของไฮโดรคาร์บอนชนิดต่างๆ

ไฮโดรคาร์บอน	ค่าความหนืด (cSt)
พาราฟิน (Paraffins)	0.5
อัลคิลเบนซีน (Alkylbenzene)	1.1
น้ำมันเบนซิน (Gasoline)	0.9
เคโรซีน (Kerosene)	2.3
น้ำมันหล่อลื่น (Lubricating oils)	10^2 - 10^3

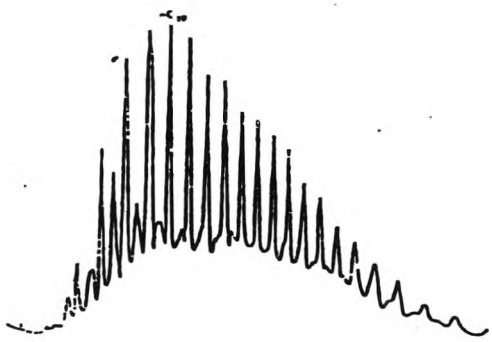
จากสมบัติดังกล่าวข้างต้น แสดงให้เห็นว่า น้ำมันดิบที่มาจากแหล่งต่างกัน จะมีสมบัติและองค์ประกอบที่แตกต่างกัน ดังแสดงในโครมาโตแกรมของน้ำมันดิบชนิดต่างๆ ที่วิเคราะห์ด้วยก๊าซโครมาโตกราฟี



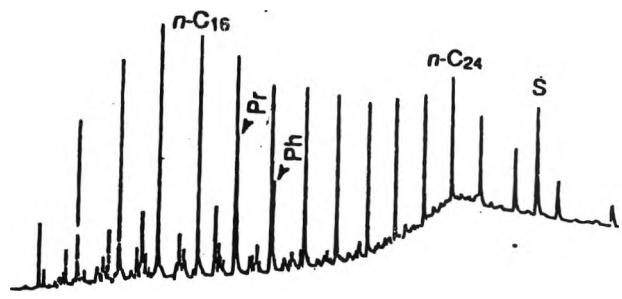
Arabian crude oil



North Cantal crude oil



Lost Horse Hill crude oil



Prudehoe Bay crude oil

รูปที่ 2.6 ลักษณะโครมาโตแกรมกาซโครมาโตกราฟีของน้ำมันดิบจากแหล่งต่างๆ (Wilson และ Bradley , 1996)

2.3 การปนเปื้อนของน้ำมันดิบในสิ่งแวดล้อม (Contamination of crude oil in the environments) (Atlas , 1984 ; Bartha , 1986)

น้ำมันดิบสามารถเข้าสู่สิ่งแวดล้อมทั้งทางบกและทางน้ำได้หลายวิธี (Atlas , 1995) ซึ่งแหล่งสำคัญที่มีโอกาสแพร่กระจายก็คือ กระบวนการในการกลั่นน้ำมัน น้ำทิ้งที่ระบายออก การขนส่ง การเก็บน้ำมันและอุบัติเหตุต่างๆ (Atlas , 1991 ; Atlas และ Bartha , 1992) อย่างไรก็ตามการแพร่กระจายของน้ำมันดิบเป็นสาเหตุให้สิ่งแวดล้อม เสียหายเพราะเกิดการปนเปื้อนต่อสิ่งแวดล้อม (Atlas , 1995 ; Korda และคณะ , 1997)

2.3.1 การปนเปื้อนของน้ำมันดิบสู่สิ่งแวดล้อมทางบก (Contamination of crude oil in the terrestrial environment)

2.3.1.1 ลักษณะน้ำมันดิบที่เข้าสู่สิ่งแวดล้อมทางบก (Wardley และ Smith , 1980)

น้ำมันดิบที่ออกจากแหล่งผลิตหรือกระจายสู่พื้นผิวดิน ซึ่งแหล่งสำคัญของน้ำมันดิบดังกล่าวมี 3 แหล่งที่เข้าสู่สิ่งแวดล้อม (Bossert และ Bartha , 1984 ; Bartha , 1986 ; Bossert และ Compeau , 1995)

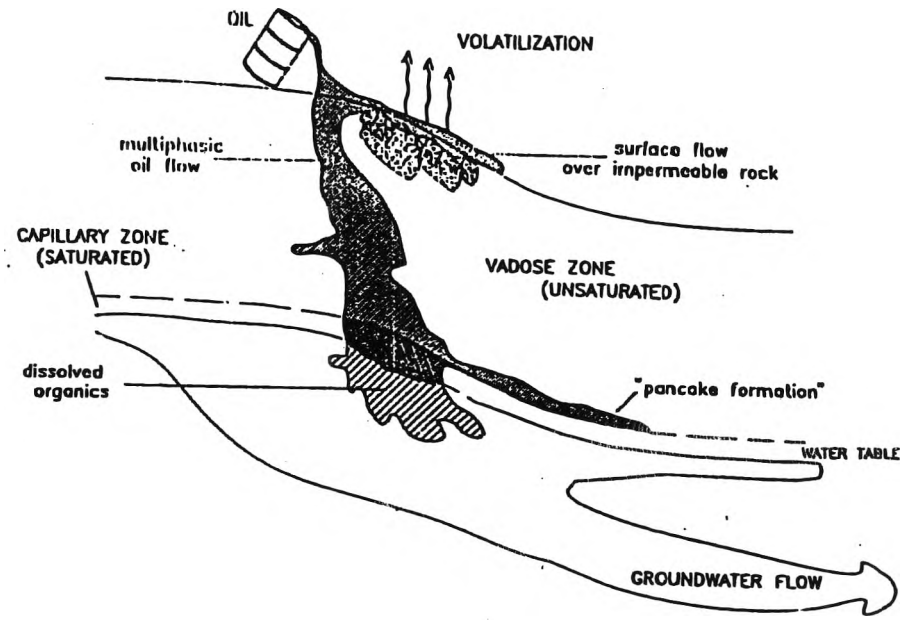
แหล่งแรกเป็นการปนเปื้อนในระดับต่ำอย่างต่อเนื่อง เช่น จากพื้นผิวถนน , น้ำทิ้งจากบ้านเรือนและการไหลซึมอย่างช้าๆ จากถังเก็บน้ำมันใต้ดินเก่าๆ

แหล่งที่สองคือการปนเปื้อนในปริมาณมากจากอุบัติเหตุที่เกิดขึ้นระหว่างการขนส่ง การรั่วไหลออกจากท่อขนส่ง

แหล่งที่สามเป็นการไหลซึมของน้ำมันดิบจากแหล่งน้ำมันตามธรรมชาติ

2.3.1.2 การกระจายตัวของน้ำมันดิบเข้าสู่สิ่งแวดล้อมทางบก

การกระจายตัวของน้ำมันดิบและผลิตภัณฑ์จากปิโตรเลียม ขึ้นอยู่กับชนิดของดินและคุณลักษณะของน้ำมันดิบ น้ำมันดิบที่มีค่าความหนืดสูง ตัวอย่างเช่น น้ำมันชนิดหนักจะแพร่กระจายในแนวราบ (horizontally) ในขณะที่น้ำมันที่มีค่าความหนืดต่ำจะแทรกตัวเข้าสู่ดินในแนวดิ่งได้มากกว่า (vertically) รูปที่ 2.6 แสดงการกระจายตัวของน้ำมันดิบสู่สิ่งแวดล้อมทางบก (Bossert และ Compeau , 1995)



หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รูปที่ 2.7 แสดงการกระจายตัวของน้ำมันดิบสู่สิ่งแวดล้อมทางบก (Bossert และ Compeau , 1995)

2.3.2 การปนเปื้อนของน้ำมันดิบเข้าสู่สิ่งแวดล้อมทางน้ำ (Contamination of crude oil in the aquatic environments)

2.3.2.1 การเข้าสู่สิ่งแวดล้อมทางน้ำของน้ำมันดิบ

การรั่วไหลของน้ำมันลงสู่ทะเล หรือแหล่งน้ำนั้น อาจมาจากหลายสาเหตุด้วยกัน เช่น อุบัติเหตุเรือน้ำมันชนกับเรือทั่วไป การขนถ่ายน้ำมันในทะเล การขนถ่ายน้ำมันจากเรือสู่ชายฝั่ง การล้างเรือ การรั่วไหลจากโรงกลั่นน้ำมัน ของเสียจากโรงงานอุตสาหกรรม การขุดเจาะน้ำมัน การลักลอบปล่อยน้ำมันทิ้งโดยผิดกฎหมาย (วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี , 2537) แต่สาเหตุหลักของน้ำมันดิบที่รั่วไหลลงสู่สิ่งแวดล้อมทางน้ำ , ทางทะเล และน้ำจืดเกิดจากการขนส่งและอุบัติเหตุต่างๆ ในทะเลการรั่วไหลของน้ำมันส่วนหนึ่งมาจากการไหลซึมออกจากพื้นมหาสมุทร (Cooney , 1984 ; Floodgate , 1984)

2.3.2.2 การกระจายตัวของน้ำมันดิบเข้าสู่สิ่งแวดล้อมทางน้ำ

น้ำมันดิบที่พบในสิ่งแวดล้อมทางน้ำจะมีอยู่ด้วยกัน 4 ลักษณะ คือ ฟิล์ม (films) สารละลาย (solution) อีมัลชั่น (emulsion) ทาร์บอล (tar balls)

การแพร่กระจาย (spreading)

น้ำมันดิบสามารถแพร่กระจายไปได้อย่างรวดเร็วในลักษณะของฟิล์มบางๆ ซึ่งเรียกว่า ฟิล์มน้ำมัน (oil slick) ความหนาของฟิล์มน้ำมันที่รั่วไหลออกมาขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของน้ำมัน ส่วนพื้นที่ของฟิล์มน้ำมันขึ้นอยู่กับค่าแรงตึงผิว (surface tension) ระหว่างน้ำมันกับน้ำ และพบว่าลมมีผลต่ออัตราการแพร่กระจายของน้ำมัน (Floodgate , 1984)

การหลอมละลาย (dissolution)

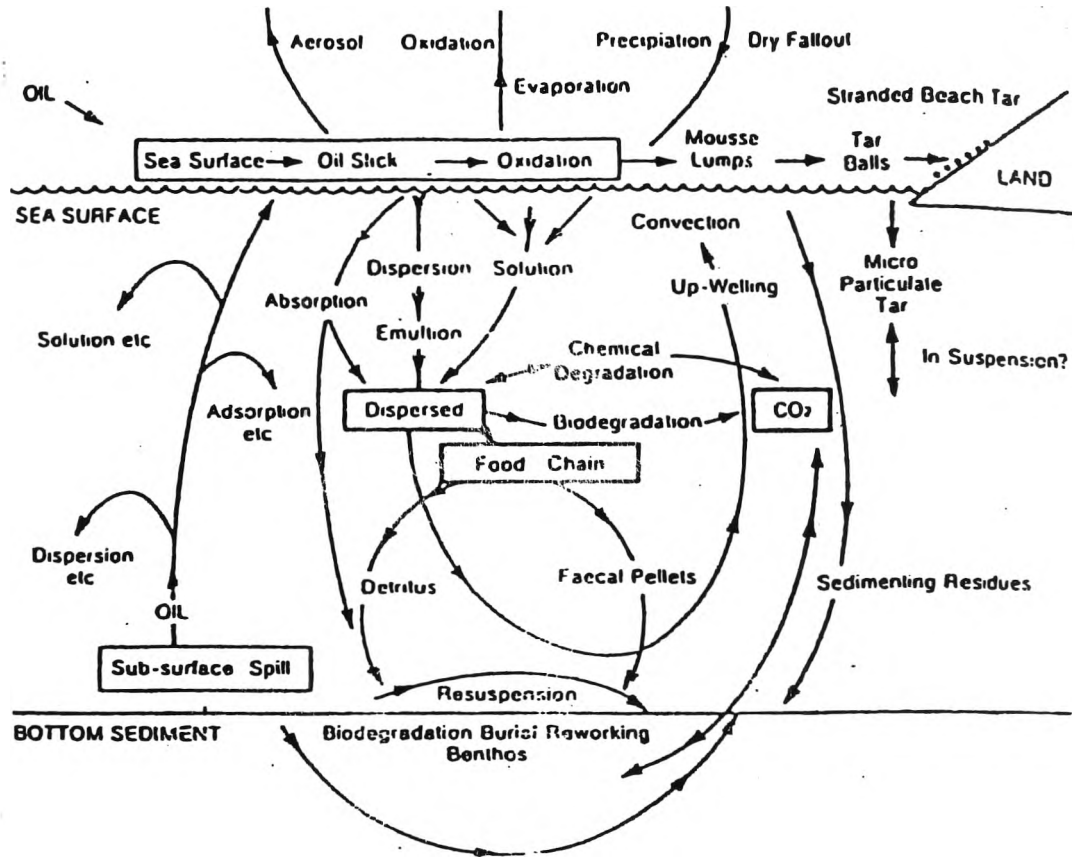
ลำดับส่วนในน้ำมันดิบที่ละลายน้ำได้ซึ่งเป็นสารประกอบพวกอะริฟาติคชนิดเบา (light aliphatic) และสารประกอบที่เป็นวงเดียว (single-ring compound) สารประกอบพวกอะริฟาติคที่มีความยาวของสายคาร์บอนตั้งแต่ 17 อะตอมขึ้นไปจะสามารถละลายน้ำได้เพียงเล็กน้อยเท่านั้น ซึ่งสภาวะของน้ำจะมีผลต่อปริมาณของการละลายของน้ำมันดิบ อย่างไรก็ตามอัตราการเกิดการละลายก็ยังต่ำกว่าการระเหย (Floodgate , 1984)

การเกิดอีมัลชั่นของน้ำมัน (oil emulsification)

การปั่นป่วนของคลื่นหรือกระแสน้ำ (wave agitation) ทำให้เกิดหยดน้ำมันที่มีขนาดเล็กมากหรือเรียกว่าอีมัลชั่น ซึ่งสามารถเกิดในรูปของน้ำมันในน้ำ (oil in water)หรือ น้ำในน้ำมัน (water in oil emulsion) น้ำมันในน้ำสามารถพบเห็นได้ในพื้นที่ที่มีความเข้มข้นของน้ำมันต่ำในขณะที่ความเข้มข้นของน้ำมันสูงจะทำให้พื้นที่บริเวณนั้นเกิดความอยู่ตัวอย่างมากของอีมัลชั่น ส่วนน้ำในน้ำมันหรือเรียกกันว่า ช็อกโกเลตมูส (chocolate mousse) (Floodgate , 1984)

การเกิดทาร์บอล (tarball formation)

ทาร์บอล หรือ ก้อนน้ำมันที่ลอยน้ำเกิดจากการผสมผสานกันของแรงคลื่น อากาศและการย่อยสลาย ความเป็นไปได้ในการเกิดทาร์บอลขนาดใหญ่เกิดจากการม้วนตัวเป็นวงกลมของคลื่นที่แตกกระจาย หลังจากนั้นน้ำมันจะเข้าไปจับตัวกับทรายและชิ้นส่วนของวัสดุที่แข็งทำให้น้ำหนักเพิ่มขึ้นและเกิดการตกตะกอนในที่สุด



รูปที่ 2.8 ลักษณะการกระจายตัวของน้ำมันลงสู่สิ่งแวดล้อมทางน้ำ (Floodgate , 1984)

2.4 ผลกระทบของน้ำมันที่มีต่อสิ่งมีชีวิตและสิ่งแวดล้อม

การรั่วไหลของน้ำมันดิบที่มีอยู่ในสิ่งแวดล้อมทั้งจากเรือ รถบรรทุกน้ำมัน คลังน้ำมัน หรือขั้นตอนการขนถ่ายลงสู่แหล่งน้ำหรือพื้นดิน ย่อมก่อให้เกิดผลกระทบหรือก่อให้เกิดความเสียหายต่อทรัพยากรสิ่งแวดล้อมด้านต่างๆ ตลอดจนความเสียหายต่อทรัพย์สินของมนุษย์ (ชรัตน์ รุ่งเรืองศิลป์ , 2533)

2.4.1 ผลกระทบของน้ำมันที่มีต่อสิ่งแวดล้อมทางบก

กรณีการรั่วไหลลงสู่สภาพแวดล้อมภายนอก โดยเฉพาะเมื่อซึมลงดินผ่านช่องว่างในดินจะทำให้ช่องว่างของดินเต็มไปด้วยน้ำมัน ถ้าเป็นน้ำมันชนิดที่มีความหนืดสูงเมื่อซึมลงดินจะทำให้ดินบริเวณนั้นไม่สามารถนำมาใช้ประโยชน์เพื่อการเพาะปลูกได้ เนื่องจากน้ำมันจะเคลือบที่พื้นผิว (surface area) ของอนุภาคต่างๆ ของดินจนไม่สามารถปลดปล่อยธาตุ

อาหารให้พืชได้ (Bossert และ Compeau , 1995) ส่วนความรุนแรงและระยะเวลาของผลกระทบของน้ำมันดิบต่อพืชขึ้นอยู่กับชนิดของดินที่ถูกปนเปื้อน น้ำมันดิบสามารถเคลื่อนที่ในระบบนิเวศที่มีความชื้นหรือในดินที่ระบายน้ำได้ดี ยิ่งไปกว่านั้นผลกระทบของน้ำมันยังขึ้นอยู่กับคุณสมบัติและปริมาณของน้ำมันด้วย องค์ประกอบของน้ำมันที่มีจุดเดือดต่ำจะเคลื่อนย้ายออกจากระบบนิเวศได้เร็วเพราะเกิดการระเหยและการชะล้าง ดังนั้นผลกระทบของน้ำมันที่ปนเปื้อนส่วนใหญ่เป็นผลมาจากองค์ประกอบที่มีจุดเดือดสูง และยังพบว่าปริมาณน้ำมันสูงๆ จะไปยับยั้งการเจริญและการงอกของเมล็ดพืชชนิดต่างๆ (Zuofa และคณะ , 1988)

นอกจากนี้น้ำมันดิบจะไปยับยั้งกระบวนการหายใจของจุลินทรีย์และการใช้ซับสเตรทที่ไม่ใช่ไฮโดรคาร์บอน เช่น การสร้างเอทีพี (ATP production) กิจกรรมของเอนไซม์ดีไฮโดรจีเนส (dehydrogenase activity) เป็นต้น (Pfaender และ Buckley , 1984) อย่างไรก็ตามพบว่า มีจุลินทรีย์ที่สามารถย่อยสลายน้ำมันเพื่อใช้เป็นแหล่งคาร์บอนสำหรับการเจริญเติบโตและกิจกรรมต่างๆ โดยกลุ่มจุลินทรีย์ที่สามารถใช้ไฮโดรคาร์บอนจะเพิ่มจำนวนขึ้นอย่างรวดเร็ว ในขณะที่กลุ่มจุลินทรีย์ที่ไม่สามารถใช้สารไฮโดรคาร์บอนก็จะลดจำนวนลง (Sexstone และ Atlas , 1977 ; Bossert และ Bartha , 1984)

ส่วนผลกระทบของน้ำมันที่มีต่อสัตว์ พบว่าสัตว์จะมีความไวต่อพิษมากกว่าพืช เนื่องจากอัตราการเมตาโบลิซึมของสัตว์สูง โดยน้ำมันที่เคลือบอยู่บนผิวของสัตว์หรือตัวกลางในสิ่งแวดล้อมจะไปขัดขวางการเคลื่อนที่ของสัตว์ และเป็นสาเหตุให้เกิดความเจ็บป่วย Duffus (1980) รายงานว่า ไฮโดรคาร์บอนที่มีจุดเดือดต่ำจะทำให้สัตว์ขนาดเล็กสลบหรือเกิดอาการมึนงง ส่วนไฮโดรคาร์บอนที่มีจุดเดือดสูงจะทำให้เกิดโรคระบบทางเดินหายใจ ในสัตว์ที่มีกระดูกสันหลังพบว่า องค์ประกอบของน้ำมันที่ไม่ละลายน้ำจะมีพิษโดยจะเข้าสู่เหงือกหรือผิวหนังผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ไปสะสมอยู่ที่ตับและกระเพาะปัสสาวะ ตัวอย่างเช่น ขนของนกที่ถูกปกคลุมด้วยน้ำมันจะสูญเสียความสามารถในการปกป้อง ในสัตว์ชนิดอื่นอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอนจะไปยับยั้งการสร้างเซลล์เม็ดเลือดในไขกระดูกเป็นเหตุให้ระบบทางเดินหายใจติดขัด รวมทั้งทำให้ระบบประสาทขัดข้องด้วย (Cooney และคณะ , 1976 ; Bertrand และคณะ , 1993)

2.4.2 ผลกระทบของน้ำมันที่รั่วไหลลงสู่แหล่งน้ำ

ผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมที่เกิดขึ้นจะมีระดับความรุนแรงมากกว่าผลกระทบที่เกิดจากน้ำมันรั่วไหลลงบนดิน เนื่องจากแหล่งน้ำไม่ว่าจะเป็นทะเลหรือแม่น้ำมีทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งมีชีวิตเกี่ยวข้องมากมาย ซึ่งผลกระทบที่เกิดขึ้นมีดังนี้ (ชรัตน์ รุ่งเรืองศิลป์ , 2533)

<u>ผลกระทบด้านกายภาพ</u>

กรณีที่น้ำมันหกและรั่วไหลลงสู่แหล่งน้ำ น้ำมันจะลอยอยู่เหนือผิวน้ำเนื่องจากความถ่วงจำเพาะของน้ำมันจะต่ำกว่าน้ำ ดังนั้นผลกระทบที่เกิดขึ้นในเบื้องต้นคือ ผลกระทบด้านกายภาพ ซึ่งได้แก่

- แสงส่องผ่านลงสู่ท้องน้ำไม่ได้

น้ำมันที่ลอยอยู่เหนือผิวน้ำจะบดบังหรือกั้นแสงอาทิตย์ไม่ให้ส่องผ่านลงไปในน้ำได้สะดวก ลักษณะดังกล่าวจะทำให้เกิดผลกระทบต่อกระบวนการสังเคราะห์แสงของพืชใต้น้ำได้ Sheila (1976) ได้ทดลองโดยใส่น้ำมันดิบชนิด Kuwait crude oil ให้มีความหนา 0.76 ซม. ในบ่อพบว่า กระบวนการสังเคราะห์แสงของ Entermorpha จะหยุดลงในวันที่ 4 ที่น้ำมันลอยอยู่เหนือผิวน้ำ นอกจากนี้ค่าความเป็นกรด-ด่างของน้ำจะลดลง สอดคล้องกับที่ Floodgate (1984) รายงานว่า น้ำมันที่เคลือบเป็นฟิล์มบางอยู่บนผิวน้ำจะลดอัตราการส่องผ่านของแสงเพื่อใช้ในการสังเคราะห์แสงของพืช

- ปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำลดลง

เนื่องจากน้ำมันจะทำหน้าที่คล้ายกับแผ่นหรือเกราะกำบัง (physical barrier) ระหว่างน้ำกับอากาศซึ่งจะมีผลทำให้กาซออกซิเจนจากอากาศไม่สามารถละลายลงสู่น้ำได้ Sheila (1976) รายงานว่า ภายหลังจากวันที่ 3 ที่น้ำมันลอยอยู่เหนือพื้นน้ำ ค่า oxygen diffusion rate (ODR) ของน้ำที่ระดับความลึก 1-2 ซม. ที่วัดโดยใช้เครื่องมือมีค่าเท่ากับ 0 ซึ่งแสดงให้เห็นว่าออกซิเจนไม่สามารถผ่านชั้นของน้ำมันลงสู่น้ำได้

- ความร้อนของน้ำสูงขึ้น

น้ำมันชนิดที่มีสีทึบ เช่น น้ำมันดิบ น้ำมันเตา เป็นต้น จะสามารถดูดซับความร้อน (heat absorption) จากแสงอาทิตย์ได้ดีกว่าน้ำมันที่มีสีจางกว่า เช่น น้ำมันเบนซิน น้ำมันดีเซล เป็นต้น จากการทดลองโดยการนำน้ำมันดิบชนิด Kuwait crude oil และน้ำมันเบนซินมาใส่ในบ่อทดลองให้อยู่ภายใต้ภาวะเดียวกัน พบว่า อุณหภูมิของน้ำมันดิบสูงขึ้นจาก 34 ^{0}ซ เป็น 45 ^{0}ซ ภายในเวลา 4 ชั่วโมง ขณะที่น้ำมันเบนซินกลับมีอุณหภูมิไม่แตกต่างไปจากอุณหภูมิของน้ำอย่างมีนัยสำคัญ (Sheila , 1976)

ผลกระทบด้านชีวภาพ

น้ำมันทุกชนิดไม่ว่าจะเป็นน้ำมันดิบ น้ำมันเบนซิน น้ำมันดีเซล น้ำมันเตา หรือชนิดอื่นๆ จะมีสารประกอบไฮโดรคาร์บอนเป็นองค์ประกอบอยู่ด้วย (ปราโมทย์ ไชยเวช , 2537) ซึ่งไฮโดรคาร์บอนนี้เมื่อละลายลงสู่แหล่งน้ำย่อมก่อให้เกิดผลกระทบต่อสิ่งมีชีวิตจำพวกพืชและสัตว์น้ำได้เช่นเดียวกัน Thomas และคณะ (1979) รายงานว่า ไฮโดรคาร์บอนที่ละลายในน้ำในปริมาณที่มากจะทำให้กระบวนการสังเคราะห์แสงของพืชจำพวกสาหร่ายลดลงประมาณ 50 เปอร์เซ็นต์ และทำให้เยื่อหุ้มเซลล์ (cellular membrane) สูญเสียธาตุโปแตสเซียมและมังกานีส Baker (1990) รายงานว่า อะโรมาติคไฮโดรคาร์บอนเป็นพิษต่อสาหร่าย ตัวอย่างเช่น จะไปยับยั้งการสังเคราะห์แสง (photosynthesis) และการหายใจ (respiration) ของสาหร่าย เช่น *Anabaena doliolum* ปรากฏการณ์ที่เกิดขึ้นเป็นผลมาจากลำดับส่วนอะโรมาติคจะไปมีผลต่อไมโตครอนเดีย เช่นเดียวกับที่ Samiullah (1989) พบว่า การสังเคราะห์แสงของสาหร่ายไวต่อน้ำมันที่ปนเปื้อนมากกว่าการหายใจ โดยทั่วไปสาหร่ายเซลล์เดียวจะตายเมื่อความเข้มข้นของสารพิษมีค่า $1\text{-}10^{-4}$ มล.ต่อลิตรของน้ำ อย่างไรก็ตามมีรายงานว่าที่ความเข้มข้นของน้ำมันดิบต่ำๆ อัตราการเจริญเติบโตของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน (blue green algae) บางสายพันธุ์จะเพิ่มสูงขึ้น (Singh และ Gaur , 1990)

ส่วน Stanley และคณะ (1979) ซึ่งได้ใช้น้ำมันชนิด Cook Inlet ทดลองกับสัตว์น้ำประเภทต่างๆ พบว่า ปลาผิวน้ำและกุ้ง ถ้าได้รับสารนี้ในปริมาณระหว่าง 1-3 มก.เกินกว่า 96 ชั่วโมงจะเป็นอันตรายถึงชีวิต ส่วนสัตว์บนหน้าดิน เช่น ปลาขนาดเล็ก ปู และหอยแครง หากได้รับสารนี้ระหว่าง 3-8 มก.เกิน 96 ชั่วโมงจะเป็นอันตรายถึงชีวิตเช่นกัน นอกจากนี้น้ำมันยังมีผลทำให้คุณภาพน้ำต่ำลงจนไม่เหมาะสมต่อการอุปโภคและบริโภค รวมทั้งยังมีผลต่อแหล่งอาหารและการวางไข่ของสัตว์น้ำด้วย สำหรับพวกแพลงตอน (plankton) ไข่ของสัตว์น้ำและตัวอ่อนซึ่งไม่สามารถเคลื่อนย้ายหรือหนีได้สะดวกเหมือนกับสัตว์น้ำขนาดใหญ่นั้น Dennis (1979) อธิบายว่าสิ่งมีชีวิตเหล่านี้จะได้รับผลกระทบจากมลพิษของน้ำมันอย่างแน่นอน และขณะเดียวกันก็อาจมีผลถึงการเปลี่ยนแปลงลักษณะของการดำรงชีวิตของสัตว์น้ำ

กรณีที่น้ำมันถูกพัดพาเข้าสู่พื้นที่ป่าชายเลนหรือป่าโกงกาง ก็อาจจะก่อให้เกิดผลกระทบต่อแหล่งเพาะฟักตัวอ่อนในบริเวณดังกล่าวด้วย ส่วนป่าชายเลนก็จะได้รับผลกระทบเช่นเดียวกัน ซึ่งระดับความรุนแรงของผลกระทบขึ้นอยู่กับประเภทของน้ำมัน ปริมาณและการ

ตกค้างของน้ำมันในป่าชายเลนว่านานมากน้อยเพียงไร โดยน้ำมันจะแทรกซึมเข้าสู่รากของต้นโกงกางและหากน้ำมันตกค้างอยู่ในตะกอนดินในป่าชายเลนก็จะทำให้เมล็ดของต้นโกงกางที่ตกลงสู่พื้นไม่สามารถเจริญเติบโตได้

ผลกระทบด้านเศรษฐกิจและสังคม (ชรัตน์ รุ่งเรืองศิลป์ , 2533)

ผลกระทบที่เกิดขึ้นต่อเนื่องมาจากผลกระทบทางด้านกายภาพและชีวภาพ ได้แก่ ผลกระทบต่อแหล่งเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ ซึ่งเป็นผลมาจากมลพิษของน้ำมันทำให้คุณภาพน้ำต่ำลง และผลผลิตที่ได้ลดลง ผลกระทบเกี่ยวกับความเดือดร้อนรำคาญจากคราบสกปรกของน้ำมันที่ลอยไปติด สุดท้ายคือผลกระทบด้านสุนทรียภาพและความงามของแหล่งท่องเที่ยว

2.5 วิธีการบำบัดน้ำมันและสารปิโตรเลียม (Treatments of oil and petroleum wastes)

เนื่องจากน้ำมันที่รั่วไหลลงสู่สิ่งแวดล้อมสามารถแพร่กระจายไปได้รวดเร็ว นำมาซึ่งความเสียหายต่อสิ่งแวดล้อมโดยเฉพาะอย่างยิ่งการรั่วไหลที่เกิดขึ้นใกล้ชายฝั่งทะเลหรือมหาสมุทรที่มีระบบนิเวศที่ซับซ้อน ได้มีการจำแนกวิธีการบำบัดเป็น 3 วิธีการหลัก คือ

2.5.1 วิธีการทางกายภาพ

เป็นการใช้อุปกรณ์สำหรับควบคุมหรือกักน้ำมันให้อยู่ภายในบริเวณพื้นที่ที่กำหนด หรือไม่ให้แพร่กระจายออกจากพื้นที่ควบคุม เช่น การใช้ทุ่นกักน้ำมัน การใช้เครื่องกวาดน้ำมัน นอกจากนั้นยังมีการใช้วัสดุเส้นใยสังเคราะห์สำหรับดูดน้ำมัน การใช้ทรายละเอียด ผงปูนขาว หรือยิบซั่มที่มีอนุภาคขนาดเล็กโปรยหรือฉีดพ่นลงบนผิวน้ำมันทำให้น้ำมันเกาะติดกันแล้วจมตัวลง เป็นต้น (Wardley และ Smith , 1980)

2.5.2 วิธีการทางเคมี

การใช้สารเคมีแบ่งออกเป็น 2 ประเภทคือ สารเคมีที่ใช้ลดแรงตึงผิวของน้ำมันจนน้ำมันแตกตัวและแพร่กระจายในน้ำ สารลดแรงตึงผิวที่สังเคราะห์ขึ้น ตัวอย่างเช่น Triton X-100 Tergitol NPX ช่วยเพิ่มการละลายและความสามารถในการย่อยสลายทางชีวภาพ (Fu และ Alexander , 1995 ; Bruheim และคณะ , 1997) สารเคมีอีกประเภทหนึ่งคือสารเคมีที่ทำให้น้ำมันรวมตัวกันแล้วตกตะกอน ซึ่งไม่ค่อยนิยมใช้กันเนื่องมาจากก่อให้เกิดผลกระทบตามมาหลายอย่าง เช่น ทำให้การย่อยสลายทางชีวภาพมีประสิทธิภาพลดลง ตะกอนน้ำมันอยู่

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

นานขึ้นมีผลต่อสิ่งมีชีวิตอื่นๆ (Dodd , 1974) อย่างไรก็ตามพบว่า สารเคมีบางตัวทำให้เกิดความเสียหายต่อสิ่งมีชีวิตในทะเล การประยุกต์ใช้กับบริเวณที่มีการปนเปื้อนของน้ำมัน เช่น Torrey Canyon เป็นผลให้ดอกไม้ทะเลและสาหร่ายตายเป็นจำนวนมาก (Smith , 1968 ; Cowell , 1984) ดังนั้นสารลดแรงตึงผิวที่ใช้ควรเป็นสารพวกที่สามารถย่อยสลายได้เองด้วยกระบวนการทางชีวภาพ และจะต้องไม่สามารถใช้เป็นแหล่งคาร์บอนได้ดีกว่าน้ำมันดิบ รวมทั้งต้องไม่เป็นพิษต่อจุลินทรีย์ด้วย (Mulkins-Phillips และ Stewart , 1974)

2.5.3 วิธีการทางชีวภาพ

ที่ผ่านมาการกำจัดคราบน้ำมันจะใช้วิธีทางกายภาพและเคมีเป็นส่วนใหญ่ แต่ปัจจุบันมีผู้สนใจและระมัดระวังเกี่ยวกับสิ่งแวดล้อมมากขึ้น จึงได้มีการศึกษาการใช้วิธีการทางธรรมชาติมากขึ้น มีการนำเอาจุลินทรีย์ตามธรรมชาติมาช่วยในการกำจัดคราบน้ำมันครั้งใหญ่ ตัวอย่างคือ คราวที่เรือบรรทุกน้ำมันเอกซอนวัลเดซ (Exxon Valdez) ประสบอุบัติเหตุในบริเวณที่เรียกว่า ปรินซ์วิลเลียมซาวน์ มลรัฐอลาสก้า สหรัฐอเมริกา (Braddock และคณะ , 1995) ซึ่งการศึกษาเกี่ยวกับเรื่องนี้เริ่มขึ้นตั้งแต่ปี 1946 โดย Claude E. Zobell ได้ศึกษาเกี่ยวกับจุลินทรีย์ในธรรมชาติที่มีความสามารถในการใช้ไฮโดรคาร์บอนเป็นแหล่งคาร์บอนและพลังงานสำหรับการเจริญเติบโตได้ และความสามารถในการใช้ไฮโดรคาร์บอนของจุลินทรีย์ขึ้นอยู่กับลักษณะทางเคมีของสารประกอบที่มีอยู่ในน้ำมันดิบ (Zobell , 1946)

วิธีการบำบัดทางชีวภาพ (Bioremediation)

การบำบัดความเป็นพิษของสารในกลุ่มปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนด้วยวิธีการทางชีวภาพเป็นเทคโนโลยีหนึ่งที่นำมาใช้ในการกำจัดสารปนเปื้อนที่ออกมาสู่สิ่งแวดล้อม และมีจุดประสงค์เพื่อที่จะเพิ่มอัตราการย่อยสลายไฮโดรคาร์บอนด้วยกระบวนการย่อยสลายทางชีวภาพโดยจุลินทรีย์ที่สามารถย่อยสลายไฮโดรคาร์บอนตามธรรมชาติ โดยที่ผลิตภัณฑ์สุดท้ายต้องเป็นสารที่ไม่เป็นพิษ ตัวอย่างเช่น คาร์บอนไดออกไซด์และน้ำ มีรายงานว่าไฮโดรคาร์บอนที่เป็นองค์ประกอบในน้ำมันดิบส่วนใหญ่ ได้แก่ อะลิฟาติคไฮโดรคาร์บอน อะโรมาติคไฮโดรคาร์บอนถูกย่อยสลายได้ด้วยจุลินทรีย์ที่มีอยู่ในธรรมชาติ เมื่ออยู่ในภาวะที่มีออกซิเจนในปริมาณที่เพียงพอ (Atlas , 1991)

การบำบัดไฮโดรคาร์บอนที่ปนเปื้อนด้วยวิธีการทางชีวภาพสามารถดำเนินการได้หลายวิธี ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับปัจจัยต่างๆ ที่มีผลต่อประสิทธิภาพในการย่อยสลายไฮโดรคาร์บอนของจุลินทรีย์ ตัวอย่างเช่น ความสามารถของเอนไซม์ของประชากรจุลินทรีย์ที่เติมลงไปในการย่อยสลายไฮโดรคาร์บอนปนเปื้อน การควบคุมปัจจัยภายนอกที่มีผลต่อการย่อยสลาย ปริมาณของออกซิเจน รวมถึงปริมาณสารอาหารที่มีอยู่ ซึ่งล้วนแต่มีส่วนช่วยเพิ่มอัตราการย่อยสลายไฮโดรคาร์บอนที่ปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อมทั้งสิ้น (Korda และคณะ , 1997)

การเติมเชื้อจุลินทรีย์ (seeding) เป็นการเพิ่มจำนวนจุลินทรีย์ที่ย่อยสลายน้ำมันให้มากขึ้น เป็นการช่วยเร่งกระบวนการที่มีอยู่ในธรรมชาติให้เร็วขึ้นได้อีกวิธีหนึ่ง เคยเชื้อที่เติมควรจะเป็นจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายองค์ประกอบที่มีอยู่ในน้ำมันได้เกือบทั้งหมด มีลักษณะทางพันธุกรรมคงที่ (genetic stability) เจริญเติบโตได้เร็ว สามารถคงอยู่ในระบบและทนต่อภาวะแวดล้อมได้ดี มีระบบเอนไซม์ที่มีประสิทธิภาพ สามารถที่จะแข่งขันกับจุลินทรีย์ท้องถิ่นได้ดี ไม่เป็นเชื้อก่อโรค (nonpathogenicity) รวมทั้งไม่ผลิตสารที่เป็นพิษด้วย โดยการเติมเชื้อส่วนใหญ่ในธรรมชาติจะใช้เชื้อจุลินทรีย์ผสม เนื่องจากเชื้อเหล่านี้จะมีประสิทธิภาพในการย่อยสลายไฮโดรคาร์บอนในสิ่งแวดล้อมได้อย่างสมบูรณ์ (Leathy และ Colwell , 1990) การเติมสารอาหาร ตัวอย่างเช่น การเพิ่มปริมาณไนโตรเจน และฟอสฟอรัสเข้าสู่บริเวณที่มีการปนเปื้อนของน้ำมัน เพื่อกระตุ้นหรือเพิ่มการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่มีอยู่แล้วตามธรรมชาติ แต่ในทางปฏิบัติยังต้องคำนึงถึงผลกระทบต่อสิ่งมีชีวิตชนิดอื่นด้วย เช่น ความเป็นพิษต่อสัตว์ทะเล เป็นต้น (Atlas , 1991)

การศึกษาเกี่ยวกับการย่อยสลายทางชีวภาพในช่วงปี 1963-1990

ในช่วงปี 1963-1980 การศึกษาและวิจัยส่วนใหญ่จะเน้นในเรื่องการคัดแยก จัดจำแนกจุลินทรีย์ที่สามารถย่อยสลายไฮโดรคาร์บอนซึ่งคัดแยกมาจากดินและน้ำบริเวณที่มีการปนเปื้อน Bartha และ Atlas (1977) รายงานว่า สามารถคัดแยกแบคทีเรียได้ 22 จีนัส (genus) สาหร่าย 1 จีนัส รา 14 จีนัส จากตัวอย่างดิน Austin และคณะ (1977) สามารถคัดแยกแบคทีเรียที่สามารถย่อยสลายผลิตภัณฑ์ปิโตรเลียมได้ 99 สายพันธุ์จากตัวอย่างน้ำและตะกอนจากบริเวณอ่าวเชสเปียกี (Chesapeake bay) เมื่อทำการจัดจำแนกแล้วพบว่าอยู่ในกลุ่มของ Actinomycetes Enterobacteriaceae *Micrococcus Nocardia Pseudomonas* และ *Sphaerotilus natans* เช่นเดียวกับที่ Baptist และคณะ (1963) คัดแยกแบคทีเรีย *Pseudomonas oleovorans* จากตัวอย่างดิน และจากการศึกษาพบว่าแบคทีเรียดังกล่าวมีระบบเอนไซม์ที่จะเปลี่ยนออกเทน (octane) ไป

เป็นผลิตภัณฑ์ของออกเทนที่ออกเดซิชันแล้วประกอบไปด้วย ออกทานอล (octanol) ออกทาดิไฮด์ (octadehyde) ออกทาโนเอต (octanoate) ในขณะเดียวกัน Hollaway และคณะ (1980) ศึกษาพบว่า *Pseudomonas* sp. เป็นแบคทีเรียเด่นในกลุ่มประชากรแบคทีเรียสอดคล้องกับที่ Stone และคณะ (1942) ได้เคยรายงานว่า *Pseudomonas* sp. ซึ่งเป็นจุลินทรีย์กลุ่มใหญ่ที่ใช้ในการทดลองโดยมีความสามารถในการย่อยสลายน้ำมันหล่อลื่น วาสลีน แอสฟาทีน และน้ำมันปิโตรเลียมอื่นๆ

จากข้อมูลงานวิจัยที่ศึกษาเกี่ยวกับการเจริญและประสิทธิภาพในการย่อยสลายไฮโดรคาร์บอนของจุลินทรีย์ที่คัดแยกได้แสดงให้เห็นว่า จุลินทรีย์ที่คัดแยกมาจากบริเวณที่มีการปนเปื้อนน้ำมันส่วนใหญ่จะมีความสามารถในการเจริญได้ในไฮโดรคาร์บอน (Buckley และคณะ , 1976) และพบว่าปริมาณของน้ำมันที่ปนเปื้อนอยู่ในดินจะลดลงประมาณ 49 ถึง 90 เปอร์เซ็นต์ ด้วยการย่อยสลายทางชีวภาพ ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดของดินและน้ำมัน นอกจากนั้นยังพบว่า จุลินทรีย์ที่ใช้ไฮโดรคาร์บอนเป็นแหล่งคาร์บอนและแหล่งพลังงานสำหรับการเจริญสามารถเพิ่มจำนวนได้ในดินที่มีการปนเปื้อนด้วยน้ำมัน (Raymond และคณะ , 1976) ต่อมา Horowitz และ Atlas (1977) ศึกษาพบว่า กลุ่มประชากรจุลินทรีย์ที่พบบริเวณคราบน้ำมันมีการเพิ่มจำนวนขึ้น แสดงให้เห็นว่าจุลินทรีย์ที่สามารถย่อยสลายไฮโดรคาร์บอนได้มีเปอร์เซ็นต์เพิ่มขึ้น จากงานวิจัยของ Sexstone และ Atlas (1977) ที่ศึกษาเกี่ยวกับผลของการเติมไนโตรเจนและฟอสฟอรัสพบว่า จำนวนของจุลินทรีย์และประสิทธิภาพในการย่อยสลายน้ำมันมีแนวโน้มสูงขึ้น Horowitz และคณะ (1975) ทำการศึกษาเกี่ยวกับการเจริญแบบลำดับขั้น (sequential growth) ของจุลินทรีย์ผสมที่คัดแยกได้ในน้ำมันดิบ พบว่า จุลินทรีย์ส่วนใหญ่สามารถย่อยสลายน้ำมันและทำให้น้ำมันเกิดอีมัลชั่นได้ในช่วง exponential phase เพื่อนำไปใช้ในการเจริญ สอดคล้องกับที่ Jobson และคณะ (1972) ทำการคัดแยกเชื้อด้วยวิธีการเจริญแบบลำดับขั้น พบว่ากลุ่มประชากรจุลินทรีย์ที่คัดแยกได้มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายน้ำมันได้ดีกว่าจุลินทรีย์เพียงชนิดเดียว

ส่วนการศึกษาในด้านของกลไกและระบบเอนไซม์ต่างๆ ที่ใช้ในการย่อยสลายไฮโดรคาร์บอนในน้ำมันดิบ ดังเช่นการวิจัยของ Lange และคณะ (1994) ซึ่งทำการศึกษาถึงความสามารถของ *Micrococcus cerificans* ในการผลิตกรดไขมันจากนอร์มอล – อัลเคนชนิดต่างๆ ตัวอย่างเช่น เดกเคน (decane) โดเดกเคน (dodecane) เตตระเดกเคน (tetradecane) เฮกซะเดกเคน (hexadecane) และออกตะเดกเคน (octadecane) เช่นเดียวกับที่ Sielicki และ

คณะ (1978) พบว่า จุลินทรีย์ผสมที่คัดแยกได้จากดินบริเวณที่มีการปนเปื้อนสามารถที่จะใช้สไตรีน (styrene) เป็นแหล่งคาร์บอนได้ โดยออกซิไดซ์ซับสเตรทไปเป็นฟีนิลเอทานอล (phenylethanol) และกรดฟีนิลอะซิติก (phenyl acetic acid) ในขณะที่ Parekh และคณะ (1977) ทำการทดลองพบว่าเอนไซม์ที่ใช้สำหรับปฏิกิริยาออกซิเดชันอัลเคน ในภาวะที่ไม่มีออกซิเจน (anaerobic condition) ของ *Pseudomonas* sp. คือ เอนไซม์ในกลุ่มดีไฮโดรจีเนส (dehydrogenase) และไฮโดรไซเลส (hydroxylase)

นอกจากนั้นยังมีการศึกษาเกี่ยวกับปัจจัยที่มีผลต่อประสิทธิภาพในการย่อยสลายทางชีวภาพ เช่น การให้อากาศ (aeration) และคุณภาพของน้ำมัน ซึ่งมีผลต่อการเกิดอีมัลชั่นของน้ำมันและการย่อยสลายอัลเคนด้วย (Jobson และคณะ , 1972 ; Wilson และ Bradley , 1996) เช่นเดียวกับที่ Walker และคณะ (1975) ทำการทดลองพบว่า น้ำมันที่มีองค์ประกอบต่างกัน เช่น น้ำมันดิบกับน้ำมันเชื้อเพลิงจะถูกย่อยสลายได้ต่างกัน อุณหภูมิและสารอาหารก็มีผลต่อจำนวนประชากรจุลินทรีย์และองค์ประกอบไฮโดรคาร์บอนในน้ำมันดิบ (Atlas และ Bartha , 1972 ; Mulkins-Phillips และ Stewart , 1974) และการทดลองของ Dibble และ Bartha (1979) ซึ่งพบว่าค่าความชื้นของดิน ค่าความเป็นกรด-ด่าง ปริมาณสารอาหาร รวมทั้งอุณหภูมิมีผลต่อการย่อยสลายทางชีวภาพของสลัดจ์น้ำมัน ส่วนการศึกษาของ Walker และ Colwell (1975) พบว่า ปัจจัยที่มีผลต่อการคัดแยกและจัดจำแนก Actinomycetes จากตะกอนในมหาสมุทรแอตแลนติค คือ อุณหภูมิที่ใช้ในการเลี้ยงเชื้อ ซึ่งมีค่าต่ำกว่า 15 ^{0}ซ ในขณะเดียวกันคณะผู้วิจัยก็พบว่า สิ่งแวดล้อมของบริเวณที่มีการปนเปื้อนช่วยทำให้อัตราการเจริญของจุลินทรีย์มีค่าสูงขึ้น ลำดับส่วนอิ่มตัวของน้ำมันดิบ (saturated fraction) จะลดลงได้อย่างรวดเร็วกว่าลำดับส่วนที่เป็นอะโรมาติค (aromatic fraction) ตรงกันข้ามกับเรซินและลำดับส่วนแอสฟัลทีน (asphaltene fraction) ซึ่งจะมีปริมาณที่เพิ่มขึ้นหลังจากการย่อยสลายของจุลินทรีย์ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากการผลิตผลิตภัณฑ์นอกเซลล์ระหว่างการเจริญ เช่น ไพริดีน (pyridine) กรดคาร์บอกซิลิค (Walker และ Colwell , 1976) ส่วน Ward และ Brock (1976) พบว่า ช่วงอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการย่อยสลายทางชีวภาพในทะเลสาบวิสคอนซิน (Wisconsin lakes) อยู่ในช่วง 20 ^{0}- 25 ^{0}ซ โดยอัตราการเกิดออกซิเดชันของเฮกซะเดกเคนในทะเลสาบเกี่ยวข้องกับอุณหภูมิและการละลายของไนโตรเจน ฟอสฟอรัสที่เปลี่ยนแปลงในแต่ละฤดูกาล และช่วงที่มีอัตราการย่อยสลายสูงสุดคือในช่วงฤดูร้อน ซึ่งมีปริมาณของไนโตรเจนและฟอสฟอรัสที่เหมาะสมและจากการทดลองพบว่า ปริมาณเกลือที่เพิ่มขึ้นเกี่ยวข้องกับอัตราการย่อยสลายที่ลดลงของจุลินทรีย์ (Ward และ Brock , 1976) Mulkins-Phillips และ Stewart (1974) รายงานว่า สารที่

ใช้ในการลดแรงตึงผิว (dispersants) 4 ชนิด คือ corexit 8666 Gamelen Sea clean G.H.Woods Degreaser-Formula 11470 ไม่เป็นพิษต่อจุลินทรีย์ แม้ว่าจะใช้ในปริมาณสูง (1.25 เปอร์เซ็นต์) ซึ่งสารลดแรงตึงผิวมีส่วนช่วยในการเจริญและการย่อยสลายทางชีวภาพของจุลินทรีย์ที่อุณหภูมิ 25 ^{o}ซ

ในช่วงปี 1981 – 1990 เริ่มมีการศึกษาวิจัยเกี่ยวกับพันธุศาสตร์ของจุลินทรีย์ โดยงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับจุลินทรีย์ที่สามารถย่อยสลายไฮโดรคาร์บอนได้ในช่วงแรกก็คือ แบคทีเรียในสกุล *Pseudomonas* sp. อย่างไรก็ตามการศึกษาเกี่ยวกับการคัดแยกจุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการย่อยสลายไฮโดรคาร์บอนยังคงดำเนินต่อไป Fought และคณะ (1989) สามารถคัดแยกจุลินทรีย์ที่ย่อยสลายน้ำมันได้จากตัวอย่างดินและน้ำ และรายงานว่าความสามารถในการย่อยสลายน้ำมันที่เกิดขึ้นจากจุลินทรีย์ผสมมีประสิทธิภาพดีกว่าจุลินทรีย์เพียงตัวเดียว โดยพบว่า สามารถย่อยสลายได้ทั้งส่วนที่เป็นอะลิฟาติคและอะโรมาติค ต่อมา Song และ Bartha (1990) สามารถแยกจุลินทรีย์จากดินที่มีการปนเปื้อนน้ำมันเชื้อเพลิงเครื่องบิน (jet fuel) ซึ่งผู้วิจัยพบว่าจุลินทรีย์ที่อยู่บริเวณผิวหน้าดินมีจำนวนเพิ่มขึ้นหลังจากที่ดินถูกปนเปื้อนด้วยน้ำมัน ในขณะที่จุลินทรีย์ที่เป็น aerobic heterotrophic จะมีจำนวนลดลงเมื่ออยู่ลึกลงไปในดิน เนื่องจากถูกจำกัดด้วยปริมาณออกซิเจน นอกจากนี้ Leathy และคณะ (1990) ยังพบว่า จำนวนของพลาสมิด (plasmids) ซึ่งเป็นตัวบ่งชี้ถึงการปรับตัวของจุลินทรีย์ในตะกอนจาก Campech bank มีปริมาณเพิ่มขึ้นในทุกบริเวณที่ทำการเก็บตัวอย่าง

การศึกษาเกี่ยวกับกลไกเมตาบอลิซึมของการย่อยสลายไฮโดรคาร์บอน Bertrand และคณะ (1983) รายงานว่า องค์ประกอบของน้ำมันแต่ละชนิด ได้แก่ ลำดับส่วนอิ่มตัว ลำดับส่วนอะโรมาติค ลำดับส่วนไฮโดรคาร์บอนที่มีขั้ว (polar hydrocarbon) และลำดับส่วนแอสฟัลทีนจะถูกย่อยสลายได้แตกต่างกัน คือ 97 81 52 และ 74 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ สามารถสรุปได้ว่า ลำดับส่วนอิ่มตัวถูกย่อยสลายได้เร็วกว่าลำดับส่วนอื่นๆ Blasig และคณะ (1988) พบว่า กลไกเด่นที่ใช้ในการย่อยสลายเฮกซะเดกเคนของ *Candida maltosa* คือ โมโนเทอร์มินอล (monoterminal attack) ในขณะที่ขบวนการเกิดออกซิเดชันแบบ diterminal เป็นปฏิกิริยาที่มีความสำคัญรองลงมา เช่นเดียวกับการย่อยสลายพอลิไซคลิกอะโรมาติคไฮโดรคาร์บอน (PAHs) ตัวอย่างเช่น แนฟธาลีน ในงานวิจัยของ Heitkamp และคณะ (1988)

ส่วนการศึกษาถึงปัจจัยที่มีผลต่อการย่อยสลายไฮโดรคาร์บอน เช่น ผลของเกลือต่อความสามารถในการใช้แนฟธาลีนของจุลินทรีย์แต่ละชนิด ขึ้นอยู่กับความหลากหลายของเกลือที่มีอยู่ในตัวอย่าง (Kiyohara และ Nagao , 1978) Ajisebutu (1988) รายงานไว้ว่าปริมาณเกลือที่เหมาะสมต่ออัตราการเจริญเติบโตและการย่อยสลายของเชื้อ *Aeromononas* sp. เท่ากับ 0.5 เปอร์เซ็นต์โซเดียมคลอไรด์ และจะมีค่าลดลงเมื่อความเข้มข้นของเกลือในอาหารเลี้ยงเชื้อมีค่าเพิ่มขึ้น Bertrand และคณะ (1990) คัดแยกแบคทีเรียทนเค็มได้จากตัวอย่างน้ำบริเวณผิวของตะกอนจากบ่อเกลือในประเทศฝรั่งเศส และพบว่าสามารถเจริญและย่อยสลายได้ทั้งไฮโดรคาร์บอนที่อิ่มตัวและอะโรมาติคไฮโดรคาร์บอนที่ความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์เท่ากับ 3.5 โมลาร์ และไม่สามารถเจริญได้ที่ความเข้มข้นของเกลือต่ำกว่า 1.8 โมลาร์

Shailubhai และคณะ (1984) ได้ทำการศึกษาเกี่ยวกับการปรับปรุงประสิทธิภาพในการย่อยสลายทางชีวภาพและการบำบัดของเสียจากโรงกลั่นน้ำมัน พบว่า *Rhodotorula* sp. สามารถที่จะลดปริมาณไฮโดรคาร์บอนในสลัดจ์น้ำมันจากโรงงานปิโตรเลียมได้ โดยองค์ประกอบที่เกิดจากการย่อยสลายของจุลินทรีย์คือ ลำดับส่วนอิ่มตัว ลำดับส่วนอะโรมาติค และลำดับส่วนแอสฟัลทีน Oberbremar และ Muller (1989) รายงานว่า มีการย่อยสลายไฮโดรคาร์บอนและการสร้างสารลดแรงตึงผิวชีวภาพในตัวอย่างดินที่ทดลองในถังกวน (stirred reactor) Omar และ Rehm (1988) ทำการศึกษาการย่อยสลายทางชีวภาพโดยจุลินทรีย์ผสมในรูปของ immobilized ซึ่งประกอบไปด้วย *Candida parasilosis* และ *Penicillium frequentans* พบว่า จุลินทรีย์ผสมสามารถย่อยสลายอัลเคนตั้งแต่ C12-C18 ได้ โดยทำการตรึงจุลินทรีย์บนอนุภาคของดิน ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Omar และคณะ (1990) ที่พบว่า *Candida parasilosis* ที่ทำการ immobilized จะมีความสามารถในการย่อยสลายไฮโดรคาร์บอนในสลัดจ์น้ำมันได้ถึง 90 เปอร์เซ็นต์ ภายในเวลา 3 สัปดาห์ สูงกว่า การใช้เซลล์อิสระ (free cells) ซึ่งย่อยสลายได้เพียง 27.5 เปอร์เซ็นต์

การศึกษาเกี่ยวกับการย่อยสลายทางชีวภาพในช่วงปี 1991 - ปัจจุบัน

การศึกษาคุณสมบัติของจุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการย่อยสลายไฮโดรคาร์บอน Kampfer และคณะ (1993) ได้ทำการจัดจำแนกชนิดของจุลินทรีย์ที่คัดแยกได้จากตัวอย่างน้ำบริเวณโรงกลั่นน้ำมันของเยอรมัน ซึ่งจุลินทรีย์ที่คัดแยกได้ส่วนใหญ่เป็นจุลินทรีย์แกรมลบ ตัวอย่างเช่น *Acinetobacter* sp. *Alcaligenes* sp. *Comamonas* sp. *Hydrogenophaga* sp. *Pseudomonas* sp. และ *Flavobacterium* sp. ส่วนจุลินทรีย์แกรมบวกที่พบส่วนใหญ่อยู่ในกลุ่ม

Bacillus sp. Coryneforms และ Nocardioform นอกจากนี้ยังได้มีการคัดแยกแบคทีเรียที่สามารถย่อยสลายน้ำมันและอะโรมาติคด้วย มีรายงานว่า *Mycobacterium* sp. *Rhodococcus* sp.และ *Gordona* sp. เป็นจุลินทรีย์ที่คัดแยกมาจากดิน ซึ่งสามารถย่อยสลาย PAHs ตัวอย่างเช่น แอนทราซีน ฟีแนนทรีน ฟลูออแรนทีน ไพรีน เป็นต้น (Kastner และคณะ , 1994) เช่นเดียวกับที่ Ashok และคณะ (1995) สามารถคัดแยก *Micrococcus* sp. *Pseudomonas* sp. และ *Alcaligenes* sp. ได้จากตัวอย่างดินบริเวณโรงกลั่นน้ำมันในประเทศอินเดีย Lai และ Khanna (1996) ทำการคัดแยก *Acinetobacter calcoaceticus* และ *Alcaligens odorans* ซึ่งพบว่าเป็นจุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการย่อยสลายไฮโดรคาร์บอน PAHs ได้หลายชนิด และจากการศึกษาของ Venkatewaran และ Harayama (1995) โดยการเพิ่มจำนวนจุลินทรีย์แบบลำดับขั้น ซึ่งเป็นวิธีการที่ทำการปรับปรุงมาจากเทคนิคการเพิ่มจำนวนจุลินทรีย์แบบปกติ (simple enrichment technique) เพื่อใช้ในการคัดแยกจุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการย่อยสลายองค์ประกอบของน้ำมันดิบได้หลากหลายขึ้นกว่าเดิม

การย่อยสลายอะโรมาติคไฮโดรคาร์บอนได้มีการศึกษากันอย่างกว้างขวาง ตัวอย่างเช่น Besteetti และคณะ (1994) ศึกษาพบว่า องค์ประกอบของแนฟธาลีนจะถูกเปลี่ยนให้อยู่ในรูปของกรดซาลิไซลิค (salicylic acid) โดย *Pseudomonas fluorescens* N3 และได้ทำการศึกษาถึงกลไกในการเปลี่ยนจากแนฟธาลีนไปเป็นกรดซาลิไซลิค ส่วนการศึกษาเกี่ยวกับกลไกในการย่อยสลายอัลเคน ตัวอย่างเช่น การแยกและทดสอบสมบัติของเอนไซม์ไดออกซีจีเนส (dioxygenase) ที่ใช้ในการออกซิไดซ์อัลเคนใน *Acinetobacter* sp. M-1 โดยเอนไซม์นี้จะเข้าไปจับที่ออกซิเจนอะตอมของซับสเตรททำให้เกิดการสร้างอัลคิลไฮโดรเปอร์ออกไซด์ (n-alkylhydroperoxide) (Maeng และคณะ , 1996) Hughes และคณะ (1997) ได้ทำการศึกษาเกี่ยวกับการย่อยสลาย PAHs ด้วยขบวนการทางชีวภาพ

ส่วนการศึกษาวิจัยเกี่ยวกับปัจจัยที่มีผลต่อการย่อยสลายทางชีวภาพ ซึ่ง Wrenn และคณะ (1994) ได้ทำการทดลองพบว่าประสิทธิภาพในการย่อยสลายของจุลินทรีย์ในภาวะที่มีแอมโมเนียมคลอไรด์ (NH_4Cl) เป็นแหล่งไนโตรเจนจะมีค่าต่ำกว่าเมื่อใช้โพแทสเซียมไนเตรท (KNO_3) เป็นแหล่งไนโตรเจน ทั้งนี้อาจเป็นเพราะค่าความเป็นกรด-ด่างที่มีค่าลดลงเนื่องมาจากการผลิตกรดโดยการใช้แอมโมเนีย (ammonia comsumption) Volkering และคณะ , 1995 รายงานไว้ว่า การเติมสารลดแรงตึงผิว ตัวอย่างเช่น Triton X-100 , Terginol NPX จะทำให้อัตราการย่อยสลายแนฟธาลีนและฟีแนนทรีนมีค่าสูงขึ้น และพบว่าสารลดแรงตึงผิวดังกล่าวไม่

เป็นพิษต่อเซลล์ที่ความเข้มข้นมากกว่า 10 กรัมต่อลิตร จากงานวิจัยของ Bruheim และคณะ (1997) พบว่าการเติมสารลดแรงตึงผิวชีวภาพช่วยให้ประสิทธิภาพในการย่อยสลายน้ำมันดิบของจุลินทรีย์สูงขึ้น

Brodkorb และ Legge (1992) ได้ทำการศึกษาเกี่ยวกับการปรับปรุงประสิทธิภาพในการย่อยสลายทางชีวภาพ โดยการเติม *Phanerochete chrysosporium* ซึ่งเป็นราไวท์รอท (white rot fungi) พบว่าช่วยทำให้ประสิทธิภาพในการย่อยสลายฟีแนนทรีนในดินที่ปนเปื้อนน้ำมันเตามีค่าสูงขึ้น ต่อมา Grey และคณะ (1994) สามารถบำบัดดินที่มีแอนทราซีนปนเปื้อนอยู่โดยการใช้ถังหมักแบบปั่น (rotating bioreactor) ที่มีการเติมจุลินทรีย์ผสมซึ่งแยกมาจากดินที่มีการปนเปื้อนของครีโอโสท (creosote) Rosenberg และคณะ (1996) ได้ทำการทดลองโดยการเติมไนโตรเจนและฟอสฟอรัสเพื่อการบำบัดน้ำมันที่ปนเปื้อนในดิน สารอาหารดังกล่าวช่วยเพิ่มความสามารถในการย่อยสลายไฮโดรคาร์บอนได้ เนื่องจากในธรรมชาติสารเหล่านี้ถูกชะล้างด้วยน้ำ ทำให้จุลินทรีย์ที่มีอยู่ในดินไม่สามารถใช้ได้ และในงานวิจัยของ Wilson และ Bradley (1996) พบว่า การใช้ *Pseudomonas fluorescens* ในรูปของการตรึงช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการย่อยสลายน้ำมันดีเซลให้สูงขึ้นในระบบที่เป็นของเหลว ส่วนงานวิจัยของ Williams และคณะ (1998) ซึ่งทำการบำบัดด้วยวิธีทางชีวภาพโดยการเติมสารอาหาร การเติมอากาศและการปรับค่าความเป็นกรด-ด่าง เพื่อช่วยให้ประสิทธิภาพในการย่อยสลายของจุลินทรีย์ท้องถิ่นสูงขึ้น

2.6 จุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการย่อยสลายน้ำมัน

จุลินทรีย์ที่สามารถย่อยสลายน้ำมันได้ โดยทั่วไปจุลินทรีย์ตามธรรมชาติที่มีความสามารถในการย่อยสลายไฮโดรคาร์บอนได้จำเป็นจะต้องมีสมบัติสำคัญ 2 ประการ ประการแรก คือ การมีเมมเบรนเพื่อใช้ในการบาวด์ (membrane bound) และมีระบบเอนไซม์ออกซิจีเนส (oxygenase) ซึ่งทั้งสองส่วนนี้เป็นกลไกเหมาะสมสำหรับการสัมผัสระหว่างจุลินทรีย์กับไฮโดรคาร์บอนที่ไม่ชอบน้ำ (water-insoluble hydrocarbon) (Rosenberg และคณะ , 1992) ซึ่งกลไกเหล่านี้สามารถพบได้ในจุลินทรีย์หลายชนิด ตัวอย่างเช่น แบคทีเรีย ยีสต์ รา และสาหร่ายดังรายละเอียดข้างล่างนี้

2.6.1 แบคทีเรีย

แบคทีเรียจัดเป็นผู้ย่อยสลายไฮโดรคาร์บอนที่มีความสำคัญสูงในทะเล โดยมีรายงานการวิจัยเกี่ยวกับความหลากหลายของแบคทีเรียที่มีความสามารถในการย่อยสลาย

ไฮโดรคาร์บอนจำนวนมาก พบว่า มากกว่า 63 เปอร์เซ็นต์ของแบคทีเรียเหล่านี้สามารถสร้างสี (pigment) ได้ เมื่อเลี้ยงในอาหารแข็งและสีที่สร้างส่วนใหญ่จะเป็นสีส้มหรือสีเหลือง มีเพียงเล็กน้อยเท่านั้น (ประมาณ 3 เปอร์เซ็นต์) ที่สร้างสารสีแดงเมื่อเลี้ยงในอาหารแข็ง ลักษณะโดยทั่วไปจะพบเป็นเซลล์เดี่ยวๆ (single cells) ประมาณ 60 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาเป็นพวกที่มีลักษณะเป็นคู่ (pair) นอกจากนี้ยังพบว่าประมาณ 32 เปอร์เซ็นต์เป็นแบคทีเรียที่เคลื่อนที่ได้ (motility) จากงานวิจัยที่ผ่านมาพบว่า แบคทีเรียที่คัดแยกได้ส่วนใหญ่เป็นแบคทีเรียแกรมลบและบางส่วนที่เป็นแบคทีเรียแกรมบวก (Austin และคณะ , 1977 ; Bertrand และคณะ , 1993 ; Kampfer และคณะ , 1993) โดยแบคทีเรียดังกล่าวจะจัดอยู่ในสกุล *Rhodococcus* (Kastner และคณะ , 1994 ; Sorkhoh และคณะ , 1990) *Pseudomonas* (Ashok และคณะ , 1995 ; Mueller และคณะ , 1992) *Acinetobacter* (Atlas , 1991) *Bacillus* (Sorkhoh และคณะ , 1993) *Achromobacter Norcardia Arthrobacter Vibrio Micrococcus* (Austin และคณะ , 1977) *Actinomyces* (Walker และ Colwell , 1975) *Flavobacterium Brevibacterium* (Atlas และ Heintz , 1973) *Alcaligenes* (Ashok และคณะ , 1995) และบางสายพันธุ์ใน Enterobacteriaceae (Leathy และ Colwell , 1990) ซึ่งแบคทีเรียเหล่านี้ถูกคัดแยกมาจากช่วงของอุณหภูมิต่างๆ กัน ทำให้สามารถเจริญเติบโตได้ในช่วงอุณหภูมิที่กว้างและขึ้นอยู่กับบริเวณที่ทำการเก็บตัวอย่างด้วย ตัวอย่างของแบคทีเรียส่วนใหญ่ที่เคยมีรายงานไว้ ดังแสดงใน ตารางที่ 2.3

โดยทั่วไปการสัมผัสกับไฮโดรคาร์บอนโดยแบคทีเรียที่สามารถย่อยสลายน้ำมันได้จะถูกนำไปใช้สำหรับการเจริญเติบโต ตัวอย่างเช่น *Acinetobacter calcoaceticus* RAG-1 มีกลไกในการสัมผัสและนำไปใช้โดยการจับตัวกับหยดน้ำมัน เมื่อเซลล์เข้าไปสัมผัสกับหยดน้ำมันหรือก้อนน้ำมันก็จะปล่อยแคปซูล (capsules) ซึ่งเป็นสารพวกอีมัลแซน (emulsan) โดยสารเหล่านี้จะเข้าไปจับกับพื้นผิวระหว่างน้ำกับไฮโดรคาร์บอน ทำให้เซลล์ของแบคทีเรียเข้าไปแทนที่และใช้หยดน้ำมันที่จับอยู่รอบๆ โดยผิวด้านนอกจะป้องกันไม่ให้หยดน้ำมันหลุดออก (Rosenberg และคณะ , 1992) ส่วน *Acinetobacter* sp. H01-N จะมีการสะสม extracellular membrane vesicles ซึ่งจะช่วยดึงเอาไฮโดรคาร์บอนที่อยู่ในรูปของอีมัลชั่นและมีบทบาทต่อการนำอัลเคนเข้าสู่เซลล์ (Kappeli และ Finnerty , 1979) และในระหว่างการย่อยสลายไฮโดรคาร์บอน Pseudomonads และแบคทีเรียแกรมลบชนิดอื่นๆ จะมีการยับยั้งกลไกในการย่อยสลายซับสเตรทที่ง่ายกว่า โดยการระงับไม่ให้ซับสเตรทอื่นๆ แตกออก (breakdown) อย่างไรก็ตามพบว่ามีงานวิจัยหลายฉบับ ที่รายงานว่าการมีกลูโคสช่วยเพิ่มวิถีเมตาบอลิซึมของ

สารประกอบอื่นๆ เช่น อะโรมาติค เป็นต้น ในจุลินทรีย์สกุล *Rhodococcus* (Hollaway และคณะ , 1980)

2.6.2 รา

จุลินทรีย์ใน Kingdom Mycota อันได้แก่ ยีสต์และรามีบทบาทในการย่อยสลายน้ำมันดิบรองลงมาจากแบคทีเรีย จะพบได้ในน้ำมันทั้งในส่วนตะกอนและผิวของน้ำมัน โดยมีส่วนช่วยย่อยสลายน้ำมันที่ลอยอยู่บนผิวน้ำให้ดีขึ้น

2.6.2.1 ยีสต์

ยีสต์เกือบทั้งหมดที่มีความสามารถในการย่อยสลายไฮโดรคาร์บอนจะอยู่ในสกุล *Candida* (Komogara และคณะ , 1964) ตัวอย่างเช่น *Candida moltosa* ซึ่งเป็นยีสต์ที่มีความสามารถในการย่อยน้ำมันได้ โดยสามารถเปลี่ยนอัลเคนไปเป็นกรดไขมันได้ด้วยกระบวนการโมโนเทอร์มินอลไฮดรอกไซเลชั่น (monoterminal hydroxylation) และปฏิกิริยานี้จะถูกกระตุ้นจากเอนไซม์ไซโตโครม พี-450 ซึ่งเป็นโมโนออกซีจีเนส (monoxygenase) ในขณะที่ปฏิกิริยา ไดเทอร์มินอลออกซิเดชั่น (diterminal oxidation) เป็นปฏิกิริยาที่มีความสำคัญรองลงมา (Blasig และคณะ , 1988) ส่วน Shailubhai (1984) รายงานว่า *Rhodotorula* sp. ที่คัดแยกได้จากตัวอย่างดินสามารถย่อยลำดับส่วนอิ่มตัวได้ 88 เปอร์เซ็นต์ ลำดับส่วนอะโรมาติค 63 เปอร์เซ็นต์และลำดับส่วนแอสฟัลทีน 13 เปอร์เซ็นต์ภายในเวลา 7 วัน

2.6.2.2 ราสายใย

รามีบทบาทสำคัญในการย่อยสลายไฮโดรคาร์บอนที่มีการปนเปื้อนในดิน (Jones และ Edigton , 1968) Nyns (1968) ทำการทดลองเกี่ยวกับความสามารถในการใช้ไฮโดรคาร์บอนของราใน 2 ลำดับ (order) คือ Mucorales และ Monilales ตัวอย่างเช่น *Aspergillus* sp. และ *Penicillium* sp. ซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่สามารถใช้ไฮโดรคาร์บอนได้ Davies และ Gibbs (1975) ศึกษาพบรา 60 สายพันธุ์ที่มีความสามารถในการย่อยสลายไฮโดรคาร์บอนได้ จากการศึกษาพบว่าราสามารถย่อยสลายอะโรมาติคได้ดีกว่าแบคทีเรีย (Brodkorb และ Legge , 1992 ; Sorkhoh และคณะ , 1990) จากรายงานการวิจัยของ Lambert และคณะ (1994) และ Lange และคณะ (1994) พบว่า *Crinipellis stipitaria* สามารถย่อยสลายไพรีน ในการเลี้ยงในอาหารเหลว (submerged cultures) ได้ April และคณะ (1998) พบว่า *Pseudallescheria*

boydii ที่คัดแยกได้มีความสามารถในการย่อยสลายไฮโดรคาร์บอนที่เป็นองค์ประกอบในน้ำมันดิบได้ ตัวอย่างของราที่คัดแยกได้จากงานวิจัยที่ผ่านมา ดังแสดงใน ตารางที่ 2.3

2.6.3 สาหร่ายและไซยาโนแบคทีเรีย

จากรายงานการวิจัยที่ผ่านมาแสดงให้เห็นว่า มีสาหร่ายและไซยาโนแบคทีเรียหลายสายพันธุ์ที่มีความสามารถในการย่อยสลายไฮโดรคาร์บอนได้ ตัวอย่างเช่น *Prototheca zopfi* มีความสามารถในการใช้น้ำมันดิบและไฮโดรคาร์บอนผสมเป็นซับสเตรทได้ โดยสามารถย่อยได้ทั้งอัลเคนสายตรงและสายกิ่งได้ใกล้เคียงกันกับอะโรมาติคไฮโดรคาร์บอน (Walker และ Colwell , 1976) ขณะเดียวกัน Cerniglia และคณะ (1984) ได้ทำการศึกษาไซยาโนแบคทีเรียและสาหร่าย พบว่ามีความสามารถในการออกซิไดซ์แนฟธาลีนได้ ตัวอย่างเช่นพวก *Oscillatoria* spp. , *Anabaena* spp. , *Nostoc* sp. , *Chlorella* spp. (Cerlignia และคณะ , 1984)

ตารางที่ 2.3 แบคทีเรียและราซึ่งย่อยสลายไฮโดรคาร์บอนได้ จากรายงานการวิจัยต่างๆ

สายพันธุ์แบคทีเรีย	สายพันธุ์ยีสต์และราที่มีสายใย
Achromobacter sp.	*Aspergillus* sp.
Acinetobacter sp.	*Aureobasidium* sp.
Actinomyces sp.	*Botrytis* sp.
Aeromonas sp.	*Candida* sp.
Alcaligenes sp.	*Cephalosporium* sp.
Arthrobacter sp.	*Cladosporium* sp.
Bacillus sp.	*Cunninghamella* sp.
Brevibacterium sp.	*Debaromyces* sp.
Coryneforms sp.	*Fusarium* sp.
Flavobacterium sp.	*Hensenula* sp.
Klebsiella sp.	*Helminthosporium* sp.
Lactobacillus sp.	*Mucor* sp.
Moraxella sp.	*Paecilomyces* sp.
Nocardia sp.	*Penicillium* sp.
Pseudomonas sp.	*Rhodosporidium* sp.
Sarcina sp.	*Rhodotorula* sp.
Spherotilus sp.	*Saccharomyces* sp.
Spirillum sp.	*Saccharomycopsis* sp.
Streptomyces sp.	*Sporoboromyces* sp.
Vibrio sp.	*Torulopsis* sp.
Xanthomonas sp.	*Trichoderma* sp.
	Yarrowia sp.

ที่มา : Floodgate (1984)

2.7 งานวิจัยเกี่ยวกับพันธุศาสตร์ของการย่อยสลายไฮโดรคาร์บอน

จุลินทรีย์ที่ย่อยสลายไฮโดรคาร์บอนจะมียีนที่ควบคุมวิถีเมตาบอลิซึมของไฮโดรคาร์บอนที่มีมวลโมเลกุลต่ำและไฮโดรคาร์บอนที่มีมวลโมเลกุลสูง ซึ่งจะมีความแตกต่างกัน (Scotsky และคณะ , 1994) จากการศึกษาพบว่ายีนที่ควบคุมการย่อยสลายไฮโดรคาร์บอนจะอยู่บนพลาสมิดและโครโมโซม

Pseudomonas sp. มีพลาสมิดที่เกี่ยวข้องกับการย่อยสลาย (degradative plasmids) จำนวนมาก พลาสมิดที่เกี่ยวข้องกับการย่อยสลายไฮโดรคาร์บอน ได้แก่ พลาสมิด OCT , TOL , XYL และ NAH เป็นต้น การที่เซลล์มีพลาสมิด OCT ทำให้จุลินทรีย์สามารถเจริญในอัลเคนได้ โดยที่พลาสมิด OCT จะประกอบไปด้วยจีนที่ควบคุมการกระตุ้นเอนไซม์อัลเคนไฮโดรเลสและแอลกอฮอล์ดีไฮโดรจีเนส (alcohol-dehydrogenase) แต่ไม่เกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนอัลเคนไปเป็นกรดไขมัน (Grund และคณะ , 1975) ยีนบางชนิดจะควบคุมเอนไซม์ดีไฮโดรจีเนส (dehydrogenase) เช่น ยีน *alkJ* เป็นต้น ขณะเดียวกัน พลาสมิดนี้ก็ยังมียีน *alkBGT* ซึ่งควบคุมเอนไซม์โมโนดีไฮโดรจีเนส ส่วนพลาสมิด XLT จะมีความจำเพาะต่อการย่อยสลายไซลีน ในขณะที่พลาสมิด TOL จะมีความจำเพาะต่อการย่อยสลายทั้งโทลูอีน และไซลีนด้วย (Wrenn และคณะ , 1994) พลาสมิด NAH ก็มีความจำเพาะต่อกลไกในการย่อยสลายอย่างสมบูรณ์ของแนฟธาลีน (Dunn และ Gunsalus , 1973) Sukhumavasi (1997) รายงานว่ายีนที่ควบคุมวิถีเมตาบอลิซึมของแนฟธาลีนเกี่ยวข้องกับวิถีเมตาบอลิซึมของฟีแนนทรีนและแอนทราซีนด้วย *Pseudomonas oleovorans* มีพลาสมิด OCT ขนาดใหญ่ซึ่งควบคุมเอนไซม์ในระบบไฮโดรไซเลชัน (hydroxylation system) รวมทั้งการออกซิเดชันอัลเคนไปเป็นอัลคานอล (alkanols) อัลคาแนล (alkanals) และกรดอัลคาโนอิค (alkanoic acid) (Wodzinsky และ LaRocca , 1977) *Pseudomonas putida* สายพันธุ์ที่สามารถเจริญในอัลเคนได้ (อัลเคนที่มีคาร์บอนตั้งแต่ 6-10 อะตอม) จะมียีน *alk* ซึ่งพบได้ในพลาสมิด Inc-P2 ของ *Pseudomonas* sp. (Benson , 1979) ต่อมาได้มีการศึกษาและวิจัยเกี่ยวกับพันธุวิศวกรรม (genetic engineering) ของจุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการย่อยสลายไฮโดรคาร์บอนมากขึ้น ตัวอย่างเช่น *Pseudomonas aeruginosa* NRRL B-5472 ซึ่งเป็นแบคทีเรียสายพันธุ์ที่มีพลาสมิดสำหรับการย่อยสลายไฮโดรคาร์บอนได้หลายชนิด โดยการคอนจูเกตกับ *Pseudomonas aeruginosa* 1C (Chakrabarty และ Latham , 1981 ; Nieboer และคณะ , 1997) การเพิ่มจำนวนยีนด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรสและการหาลำดับเบสของยีน *gyrB* เพื่อนำมาใช้ในการตรวจหาและจัดจำแนกสายพันธุ์ของ *Pseudomonas putida* (Yamamoto และ Harayama , 1995) และจากผลงานวิจัยของ Whyte และคณะ (1997) พบว่า *Pseudomonas* sp. มียีน *alk* ซึ่งควบคุมเอนไซม์ที่เกี่ยวข้อง

กับการย่อยสลายอัลเคน และยีน *nah* ซึ่งควบคุมเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการย่อยสลายอะโรมาติค โดยใช้ยีนดังกล่าวในการตรวจและจัดจำแนกจุลินทรีย์ในธรรมชาติ

2.8 ปัจจัยที่มีผลต่อการย่อยสลายทางชีวภาพของน้ำมันดิบ

อัตราการย่อยสลายของน้ำมันด้วยขบวนการทางชีวภาพขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายอย่าง ได้แก่ ลักษณะสมบัติของน้ำมัน จำนวนประชากรจุลินทรีย์และประสิทธิภาพในการย่อยสลายของจุลินทรีย์ รวมทั้งปัจจัยทางด้านสิ่งแวดล้อมของการย่อยสลายด้วย (Atlas , 1981 ; Leathy และ Colwell , 1990)

2.8.1 ลักษณะสมบัติของน้ำมันดิบ

2.8.1.1 องค์ประกอบของน้ำมันดิบ

อัตราการย่อยสลายทางชีวภาพของน้ำมันดิบขึ้นอยู่กับโครงสร้างของไฮโดรคาร์บอนที่เป็นองค์ประกอบในน้ำมันดิบ พบว่าอัตราการย่อยสลายของอัลเคนสายตรงจะมีค่าสูงกว่าอัตราการย่อยสลายของอัลเคนสายกิ่ง อะโรมาติคที่มีมวลโมเลกุลต่ำ และไซโคลอัลเคน ถึงแม้ว่ากลไกในการย่อยสลายไฮโดรคาร์บอนที่เป็นแอสฟัลทิคยังไม่ชัดเจน แต่จากรายงานการวิจัยที่ผ่านมา อาจกล่าวได้ว่า การย่อยสลายแอสฟัลทีนเกี่ยวข้องกับปฏิกิริยาโคออกซิเดชั่น (co-oxidation) เนื่องจากจุลินทรีย์ผสมจะสามารถย่อยสลายแอสฟัลทีนได้ถ้ามีอัลเคนความยาวตั้งแต่คาร์บอน 12 ถึง 18 โดยจุลินทรีย์ผสมจะย่อยสลายอัลเคนได้มากกว่า (Jobson และคณะ , 1972 ; Wilson และ Bradley , 1996) Walker (1974) รายงานว่าองค์ประกอบในกลุ่มที่มีเรซิน แอสฟัลทีน อะโรมาติคและไฮโดรคาร์บอนที่มีซัลเฟอร์สูงจะมีอัตราการย่อยสลายต่ำ นอกจากนั้นยังพบว่าอะโรมาติคจะไปยับยั้งการย่อยสลายโดยจะเป็นพิษต่อจุลินทรีย์ (Cruden และคณะ , 1992) และจากรายงานของ Sugiura และคณะ (1997) แสดงให้เห็นว่า น้ำมันที่มาจากแหล่งกำเนิดต่างกันจะมีองค์ประกอบต่างกัน ส่งผลให้ความหนืดไม่เท่ากันและทำให้ความสามารถในการถูกย่อยสลายโดยจุลินทรีย์ไม่เท่ากันด้วย

2.8.1.2 พื้นที่ผิวของน้ำมันดิบ

การปนเปื้อนของน้ำมันในน้ำจะแพร่กระจายและจับตัวกันเป็นก้อน เนื่องมาจากผลของลมและคลื่น การเกิดอีมัลชั่นของน้ำมันจะช่วยลดความหนืดและช่วยเพิ่มพื้นที่ผิวในการสัมผัสของจุลินทรีย์ได้ดีขึ้น (Fought และคณะ , 1989) การเกิดอีมัลชั่นโดยการสร้างสารลด

แรงตึงผิวชีวภาพของจุลินทรีย์เป็นขั้นตอนที่สำคัญช่วยในการนำไฮโดรคาร์บอนไปใช้ของแบคทีเรียและรา (Singer และ Finnerty , 1984) อย่างไรก็ตามในกรณีที่ก้อนน้ำมันมีขนาดใหญ่ทำให้มีพื้นที่ผิวน้อยก็จะยับยั้งการย่อยสลายทางชีวภาพเช่นกัน (Colwell และคณะ , 1978 ; Davis และ Gibbs , 1975)

2.8.1.3 ความเข้มข้นของน้ำมัน

อัตราการนำเข้าและการใช้ไฮโดรคาร์บอนของจุลินทรีย์ในสิ่งแวดล้อมทางน้ำเป็นสัดส่วนกับความเข้มข้นของน้ำมันดิบ อย่างไรก็ตามกรณีที่น้ำมันดิบมีความเข้มข้นสูงจะทำให้มีน้ำหนักมากและไม่เกิดการแตกตัวเป็นสาเหตุให้เกิดการยับยั้งการย่อยสลาย เนื่องจากปริมาณออกซิเจนและสารอาหารถูกจำกัด รวมทั้งความเป็นพิษขององค์ประกอบในน้ำมันดิบด้วย มีรายงานว่าความเข้มข้นของน้ำมันดิบที่กระจายอยู่ในดินอยู่ในช่วง 1.25 ถึง 5.0 เปอร์เซ็นต์ (Dibble และ Bartha , 1979) นอกจากนั้นยังพบว่าความสามารถในการย่อยสลายยังขึ้นอยู่กับความสามารถในการละลายของน้ำมันดิบ อัตราการย่อยสลายไฮโดรคาร์บอนที่ไม่ละลายน้ำ ตัวอย่างเช่น แนฟธาลีนและฟีแนนทรีน เกี่ยวข้องกับความสามารถในการละลายของซับสเตรททั้งหมดด้วย อัตราการย่อยสลายโดยจุลินทรีย์ของอัลเคนที่มีสายยาว ตั้งแต่คาร์บอน 12 ขึ้นไป (ความสามารถในการละลายต่ำกว่า 0.01 มก.ต่อลิตร) เกี่ยวข้องกับอัตราการไม่ละลายของไฮโดรคาร์บอนนั้น (Van และ Bondeau , 1954)

2.8.2 ประชากรจุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการย่อยสลายน้ำมันดิบ

จุลินทรีย์ส่วนใหญ่ที่คัดแยกมาจากบริเวณที่มีการปนเปื้อนของน้ำมันดิบจะมีความสามารถในการย่อยสลายน้ำมันดิบได้ดี (Braddock และคณะ , 1995) เนื่องจากจุลินทรีย์จะมีการปรับตัวเพื่อให้ดำรงชีวิตอยู่ในบริเวณดังกล่าวได้ ดังนั้นจุลินทรีย์จึงต้องมีกลไกในการย่อยสลายไฮโดรคาร์บอนเพื่อนำไปใช้เป็นแหล่งพลังงานและคาร์บอนสำหรับการเจริญ (Sexstone และ Atlas , 1977) การย่อยสลายไฮโดรคาร์บอนในธรรมชาติเกิดขึ้นจากจุลินทรีย์หลายชนิด (Jones และ Edington , 1968) การใช้จุลินทรีย์ผสมจะมีประสิทธิภาพสูงกว่าจุลินทรีย์บริสุทธิ์เพียงชนิดเดียว (Walker และ Colwell ,1975 ; Atlas , 1981 ; Leathy และ Colwell , 1990 ; Venkateswaran และคณะ , 1995) ในธรรมชาติอัตราการเจริญของจุลินทรีย์ที่ความเข้มข้นของไฮโดรคาร์บอนต่ำจะช้ากว่าภาวะพรีเดชั่น (predation) ทำให้ความหนาแน่นของเซลล์ลดลง (Goldstein และคณะ , 1985) ประชากรจุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการย่อยสลายส่วนใหญ่จะเป็นแบคทีเรียและรา โดยที่ในดินเป็นรา 6 - 82 เปอร์เซ็นต์และเป็น

I19498925

แบคทีเรีย 0.13 - 50 เปอร์เซ็นต์ (Jones และคณะ , 1970 ; Pinholt และคณะ , 1979) ส่วนในทะเลจะเป็นแบคทีเรียสูงถึง 0.003 - 100 เปอร์เซ็นต์ (Hollaway และคณะ , 1980 ; Mulkins-Phillips และ Stewart , 1974) โดยชนิดของจุลินทรีย์ที่มีบทบาทสำคัญในการย่อยสลายขึ้นอยู่กับสิ่งแวดล้อม ตัวอย่างเช่น ในทะเลแบคทีเรียมีบทบาทสำคัญในการเป็นผู้ย่อยสลายไฮโดรคาร์บอน (Cooney และคณะ , 1976 ; Floodgate , 1984)

เนื่องจากน้ำมันดิบหรือสลัดจ์ที่มีน้ำมันมีองค์ประกอบที่มีความซับซ้อนสูง ดังนั้นในการย่อยสลายจำเป็นต้องใช้จุลินทรีย์หลายชนิด โดยอาศัยขบวนการ 2 ชนิดคือ การสแปริ่ง (sparing) และโคออกซิเดชั่น (co-oxidation)

1. ขบวนการสแปริ่งจะเกิดขึ้นในภาวะที่มีซับสเตรทหลายชนิด ทำให้จุลินทรีย์เลือกใช้ซับสเตรทได้ ซึ่งโดยปกติจุลินทรีย์จะเลือกใช้ซับสเตรทที่ใช้ง่ายกว่า ตัวอย่างเช่น การย่อยสลายเฮกซะเดกเคนของจุลินทรีย์ในกรณีที่มีการปนเปื้อนระหว่างเฮกซะเดกเคนกับพริสเทน (pristane) (Pirnik และคณะ , 1974) เช่นเดียวกับที่ Atlas (1981) รายงานว่า ในการย่อยสลายน้ำมันดิบ สารประกอบพวกอะโรมาติคและแอสฟัลทีนจะไม่ถูกย่อยสลายจนกว่าอัลเคนอิ่มตัวจะถูกย่อยสลายหมด เนื่องมาจากลำดับส่วนอิ่มตัวจะถูกย่อยสลายได้ง่ายกว่าลำดับส่วนอะโรมาติคและแอสฟัลทีน

2. กระบวนการโคออกซิเดชั่น การย่อยสลายไฮโดรคาร์บอนที่ย่อยสลายยากจะสามารถเกิดขึ้นได้ด้วยระบบเอนไซม์ที่มีอยู่ในจุลินทรีย์ที่เจริญได้ในไฮโดรคาร์บอนจำนวนมากที่มีอยู่ในน้ำมัน ตัวอย่างเช่น การทดลองของ Raymond และคณะ (1967) พบว่า ไฮโดรคาร์บอนที่เป็นวง สายกิ่งจะถูกย่อยสลายไปได้เมื่อเป็นองค์ประกอบอยู่ในน้ำมันที่ปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อม โดยจะถูกย่อยสลายโดยจุลินทรีย์ Herbes และ Schwall (1978) รายงานว่าการเกิดปฏิกิริยาโคออกซิเดชันจะมีการสะสมของผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากการย่อยสลายอะโรมาติคจำนวนมากซึ่งจะมีผลยับยั้งการผลิตคาร์บอนไดออกไซด์และน้ำ บทบาทของปฏิกิริยาโคออกซิเดชันในธรรมชาติสามารถอธิบายว่าเป็นแบบส่งเสริมกัน (synergism) (Atlas , 1981)

2.8.3 ผลของภาวะสิ่งแวดล้อมภายนอกต่อการย่อยสลายน้ำมันดิบของจุลินทรีย์

2.8.3.1 ผลของอุณหภูมิ

อุณหภูมิมีผลต่อประสิทธิภาพในการย่อยสลายน้ำมันดิบของจุลินทรีย์ โดยจะมีผลต่อทั้งลักษณะสมบัติของน้ำมัน องค์ประกอบของน้ำมันและกิจกรรมของเอนไซม์

การย่อยสลายน้ำมันเกิดขึ้นได้ในช่วงอุณหภูมิที่กว้าง (Atlas , 1981) Bossert และ Bartha (1984) และ Margesin และ Schinner (1997) และ Rosenberg และคณะ (1992) รายงานว่าช่วงของอุณหภูมิที่เหมาะสม มีค่าอยู่ในช่วงเท่ากับ 20 ^{o}ซ ถึง 40 ^{o}ซ ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับลักษณะสมบัติของน้ำมัน โดยที่อุณหภูมิต่ำอัตราการระเหยของไฮโดรคาร์บอนจะลดลง ขณะที่ความหนืดของน้ำมันสูงขึ้น การที่ความหนืดของน้ำมันเพิ่มขึ้น จะทำให้ความสามารถในการเกิดอีมัลชั่นลดลง เป็นสาเหตุที่การย่อยสลายที่อุณหภูมิ 10 ^{o}ซ เกิดขึ้นช้า (Atlas , 1975 ; Atlas และ Bartha , 1972) และที่อุณหภูมิต่ำกิจกรรมของเอนไซม์จะลดลงด้วย ดังนั้นอัตราการย่อยสลายจึงลดลงตามไปด้วย (Floodgate , 1984) Zobell (1973) รายงานว่า การย่อยสลายน้ำมันเมตูลา (Metula crude oil) โดยจุลินทรีย์ผสมที่คัดแยกจากทะเลเกิดขึ้นที่อุณหภูมิ 0 ^{o}ซ ถึง 2 ^{o}ซ เช่นเดียวกับที่ Huddleston และ Cresswell (1976) ทดลองพบการย่อยสลายน้ำมันในดินที่อุณหภูมิ –1.1 ^{o}ซ ส่วนที่อุณหภูมิสูงความหนืดของน้ำมันจะลดลง ไฮโดรคาร์บอนจะระเหยได้เร็วขึ้นและมีการสะสมอยู่ในระบบน้อยลง การลดลงของความหนืดช่วยเพิ่มความสามารถในการเกิดอีมัลชั่นได้ดี ทำให้อัตราการย่อยสลายสูงขึ้นโดยเฉพาะจุลินทรีย์ที่ชอบอุณหภูมิสูง (Sorkhoh และคณะ , 1993 ; Zuofa และคณะ , 1988) Mateles และคณะ (1967) รายงานว่า เกิดการย่อยสลายน้ำมันได้ที่อุณหภูมิ 70 ^{o}ซ

2.8.3.2 การให้อากาศ (aeration)

ออกซิเจนเป็นสิ่งจำเป็นสำหรับการย่อยสลายไฮโดรคาร์บอนโดยในภาวะที่มีออกซิเจน (Bailey และคณะ , 1973 ; Leathy และ Colwell , 1990) กลไกในการย่อยสลายอะโรมาติคและอะลิไซคลิคไฮโดรคาร์บอนต้องการโมเลกุลของออกซิเจนในปฏิกิริยาออกซิเดชัน (Morkan และWatkinson , 1989) การเพิ่มอัตราการให้อากาศจะช่วยกระตุ้นอัตราการเจริญและประสิทธิภาพในการย่อยสลายน้ำมันให้สูงขึ้น (Robson และคณะ , 1972 ; Floodgate , 1984)

2.8.3.3 ผลของค่าความเป็นกรด-ด่าง

ค่าความเป็นกรด-ด่างที่ต่ำหรือสูงจนเกินไปทำให้ประสิทธิภาพในการย่อยสลายน้ำมันของจุลินทรีย์ลดลง ในธรรมชาติค่าความเป็นกรด-ด่างจะมีการเปลี่ยนแปลงอยู่ในช่วง 2.5 ถึง 11.0 (Bossert และ Bartha , 1984) แต่จากงานวิจัยที่ผ่านมาพบว่าแบคทีเรียและราที่ย่อยสลายน้ำมันได้ชอบค่าความเป็นกรด-ด่างที่ใกล้กับค่าที่เป็นกลาง (neutral) แต่รามีความสามารถในการทนต่อภาวะที่เป็นกรดได้มากกว่าแบคทีเรีย ถ้าความเป็นกรด-ด่างเหมาะสม

จุลินทรีย์จะสามารถเจริญและย่อยสลายน้ำมันได้ดี (Leathy และ Colwell , 1990) Dibble และ Bartha (1979) พบว่าค่าความเป็นกรด-ด่างที่เหมาะสมที่จะเกิดการย่อยสลายน้ำมันในดินได้อยู่ใน 5.0 ถึง 7.8

2.8.3.4 ผลของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ

การศึกษาเกี่ยวกับการใช้สารเคมีทำให้น้ำมันแตกตัว Kohler และคณะ (1990) รายงานว่า การเติมสารลดแรงตึงผิวเคมี (chemical surfactants) ช่วยเพิ่มความสามารถในการย่อยสลายไฮโดรคาร์บอนได้ แต่ในบางกรณีสามารถยับยั้งการย่อยสลายได้ เช่นเดียวกับที่ ? Mulkins-Phillips และ Stewart (1974) เคยรายงานไว้ว่า การเติมสารลดแรงตึงผิวเคมี Sugee 2 มีผลทำให้ประสิทธิภาพในการย่อยสลายไฮโดรคาร์บอนลดลง ในขณะที่การเติม Corexit 8666 และ Gamlen Sea Clean ทำให้ประสิทธิภาพในการย่อยสลายไฮโดรคาร์บอนสูงขึ้น ทั้งนี้อาจเนื่องจาก Sugee เป็นสารลดแรงตึงผิวเคมีที่สังเคราะห์ขึ้นซึ่งอาจเป็นพิษต่อจุลินทรีย์ และไม่สามารถย่อยสลายได้เองตามธรรมชาติ (Sarkar และคณะ , 1989) ดังนั้น งานวิจัยส่วนใหญ่จึงให้ความสำคัญกับสารลดแรงตึงผิวชีวภาพซึ่งจุลินทรีย์บางชนิดสามารถผลิตได้ โดยเฉพาะจุลินทรีย์ที่เจริญโดยใช้ไฮโดรคาร์บอนเป็นแหล่งพลังงานและแหล่งคาร์บอนสำหรับการเจริญ ตัวอย่างเช่น Pareilleux (1979) และ Roy และคณะ (1979) สามารถคัดแยกยีสต์ *Yarrowia lipolytica* ซึ่งสามารถใช้นอร์มอล-เตตระเดกเคน โดเดกเคนและน้ำมันในการเจริญเติบโตได้ นอกจากนั้นยังสามารถผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพเพื่อช่วยในการย่อยสลายไฮโดรคาร์บอนได้ด้วย เช่นเดียวกับที่ Rosenberg และ Rosenberg (1981) และ Rosenberg และ Rosenberg (1985) พบว่า *Acinetobacter calcoaceticus* RAG-1 สามารถเจริญและผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพเมื่อเลี้ยงในภาวะที่มีเฮกซะเดกเคนและน้ำมันดิบเป็นแหล่งคาร์บอน ทำให้เกิดอีมัลชั่นและการจับตัวกันระหว่างเชื้อกับน้ำมันมากขึ้น Reddy และคณะ (1983) รายงานว่า *Pseudomonas* sp. PG-1 ที่คัดแยกได้สามารถผลิตสารลดแรงตึงผิวได้เมื่อเจริญในไฮโดรคาร์บอน ขณะที่ในงานวิจัยของ Mattei และ Bertrand (1985) และ Mattei และคณะ (1986) และ Foght และคณะ (1989) และ Bruheim และคณะ (1999) ได้ทำการศึกษา พบว่ากลุ่มประชากรจุลินทรีย์สามารถผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพได้เมื่อทำการเลี้ยงเชื้อในน้ำมันดิบและมีประสิทธิภาพในการย่อยสลายองค์ประกอบบางชนิดของน้ำมันได้มากกว่าเชื้อเพียงชนิดเดียว

จากข้อมูลผลงานวิจัยที่ผ่านมาจะเห็นว่า สารลดแรงตึงผิวชีวภาพเป็นสิ่งจำเป็นสำหรับการย่อยสลายไฮโดรคาร์บอนที่ไม่ชอบน้ำ (hydrophobic hydrocarbons) (Setti และคณะ , 1995 ; Fu และ Alexander , 1995 ; Stelmack และคณะ , 1999) การเติมสารลดแรงตึงผิวชีวภาพช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการย่อยสลายไฮโดรคาร์บอนให้สูงขึ้นได้ (Banat , 1995 ; Stelmack และคณะ , 1999) โดยเฉพาะการใช้จุลินทรีย์สายพันธุ์ที่มีความสามารถในการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพเป็นจุลินทรีย์เริ่มต้น (starter culture) (Jain และคณะ , 1992) จะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการย่อยสลายทางชีวภาพในสิ่งแวดล้อมให้สูงขึ้น (Muller-Hurtig และคณะ , 1992)

การทดลองใช้วิธีการบำบัดทางชีวภาพในการกำจัดคราบน้ำมันบนชายหาดที่เกิดจากอุบัติเหตุเรือบรรทุกน้ำมันเอกซอนวอลเดซ (Exxon Valdez) ทำให้ทราบว่า การเติมจุลินทรีย์และการเติมสารอาหาร ช่วยให้อัตราการย่อยสลายตามธรรมชาติเร็วขึ้นกว่าปกติ สำหรับประเทศไทยการศึกษาเกี่ยวกับปัญหาคราบน้ำมันปนเปื้อนยังไม่มากนัก ดังนั้นการคัดแยกจุลินทรีย์ที่เหมาะสมกับสภาพแวดล้อมในประเทศไทย รวมทั้งข้อมูลเกี่ยวกับวิธีการบำบัดทางชีวภาพโดยจุลินทรีย์ที่คัดแยกได้ ซึ่งจะเป็นประโยชน์ต่อไปในอนาคต