

การย่อยสลายน้ำมันเครื่องที่ใช้แล้วโดยใช้ *Nostoc piscinale* TISTR 8401

ร่วมกับ *Anabaena lutea* TISTR 8074

Bioremoval of Used Motor Oil by Mixed Cultures of *Nostoc piscinale* TISTR 8401

and *Anabaena lutea* TISTR 8074.

วิภูสิณี วรโชติติยานนท์ (Wiphusinee Worrachottiyanon)* ดร. สุมนทิพย์ บุญนาค (Dr. Sumontip Bunnag)**

บทคัดย่อ

การรั่วไหลของน้ำมันลงสู่แหล่งน้ำ ก่อให้เกิดปัญหาการปนเปื้อนของน้ำมันในดินและน้ำใต้ดิน ซึ่งส่งผลกระทบต่อมนุษย์และสิ่งมีชีวิตอื่นๆ ได้ การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาปัจจัยต่างๆ ที่เหมาะสมต่อการย่อยสลายน้ำมันเครื่องที่ใช้แล้ว โดยใช้ไซยาโนแบคทีเรีย *Nostoc piscinale* TISTR 8401 ร่วมกับ *Anabaena lutea* TISTR 8074 ทำการเพาะเลี้ยงไซยาโนแบคทีเรียในอาหารสูตร N-free medium ที่มีค่ากรด-ด่าง 5, 6, 7, 7.5 และ 8 ร่วมกับน้ำมันเครื่องใช้แล้ว ในระยะเวลา 28 วัน ภายในห้องปฏิบัติการ พบว่า เมื่อเพาะเลี้ยง *N. piscinale* ร่วมกับ *A. lutea* ในอาหารสูตร N-free medium ที่มีค่ากรด-ด่างเป็น 7 ภายในเวลา 21 วัน สามารถย่อยสลายน้ำมันเครื่องที่ใช้แล้วได้ดีที่สุด โดยมีค่าร้อยละของปริมาณปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนรวมที่หายไปมากที่สุด คิดเป็นร้อยละ 41.66

ABSTRACT

Oil contamination of water leads to environmental pollution and groundwater contamination, which can have effects on human health and other organisms. This study was carried out to evaluate the potential of mixed cultures of *Nostoc piscinale* TISTR 8401 and *Anabaena lutea* TISTR 8074 in the biodegradation of used motor oil. Experiments were performed by incubating cyanobacteria in liquid N-free medium initial pH (5, 6, 7, 7.5 and 8) with used motor oil for a period of 28 days in laboratory. It was found that the best biodegradation of the oil by mixed cultures of *N. piscinale* and *A. lutea* at pH 7 within 21 days, showing a sharp reduction in total petroleum hydrocarbon (41.66 %).

คำสำคัญ : นอสตอค แอนาบินา น้ำมันเครื่องที่ใช้แล้ว

Key Words : *Nostoc*, *Anabaena*, used motor oil

*นักศึกษาระดับปริญญาตรี ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

**รองศาสตราจารย์ ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

บทนำ

เนื่องจากในปัจจุบันมนุษย์มีความต้องการใช้น้ำมันและผลิตภัณฑ์ปิโตรเลียมเพิ่มมากขึ้น อันเป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดการปนเปื้อนของน้ำมันลงสู่แหล่งน้ำ ซึ่งอาจเกิดจากการปนเปื้อนระหว่างขั้นตอนการกำจัดตะกอนหรือสิ่งสกปรกในกระบวนการกลั่นน้ำมันดิบ การเกิดอุบัติเหตุทางเรือระหว่างการขนส่งทางเรือ เกิดการรั่วไหลของแท่งเก็บน้ำมันใต้ดิน และน้ำมันรั่วไหลระหว่างที่เครื่องจักรทำงาน (Mishra, 2001; Sarkar *et al.*, 2005) เมื่อเกิดการรั่วไหลของน้ำมันลงสู่แหล่งน้ำ น้ำมันจะรวมตัวกันเกิดเป็นของเหลวลื่นจำนวนมากปกคลุมบริเวณชายฝั่ง ต่อมน้ำมันจะเกิดการรวมตัวกับน้ำทะเล และเกิดการแตกตัวออกเป็นหยดเล็กๆจำนวนมาก ซึ่งไม่สามารถทำการควบคุมน้ำมันที่รั่วไหลเหล่านี้ได้ (Platt, 1990) ก่อให้เกิดการปนเปื้อนของน้ำมันในดิน และน้ำใต้ดินขึ้น ซึ่งส่งผลกระทบต่อระบบนิเวศชายฝั่งของแหล่งน้ำธรรมชาติ และเกิดปัญหาต่างๆขึ้นในภายหลัง เช่น เกิดปัญหาชายฝั่งถูกกัดเซาะ การควบคุมสมดุลก๊าซและแร่ธาตุธรรมชาติ ด้านความหลากหลายทางชีวภาพภายในระบบนิเวศนั้นๆ และบริเวณใกล้เคียง ด้านอุตสาหกรรมประมง และอุตสาหกรรมธุรกิจการท่องเที่ยวเชิงนิเวศ (McCall and Pennings, 2012) นอกจากนี้อาจส่งผลกระทบต่อมนุษย์และสิ่งมีชีวิตอื่นๆ เนื่องจากน้ำมันปิโตรเลียมประกอบด้วย สารก่อมะเร็ง สารก่อให้เกิดการกลายพันธุ์ และสารทำลายภูมิคุ้มกัน (Mandri and Lin, 2007; Singh and Lin, 2008) ทั่วโลกจึงจำเป็นต้องหาแนวทางแก้ไขปัญหาดังกล่าว โดยทำการบำบัดน้ำเสียที่เกิดจากการปนเปื้อนของน้ำมัน ซึ่งมีกระบวนการบำบัดหลายวิธี เช่น กระบวนการทางกายภาพ กระบวนการทางเคมี กระบวนการทางชีววิทยา และกระบวนการทางฟิสิกส์และเคมี ซึ่งแต่ละกระบวนการมีจุดประสงค์ในการกำจัดสิ่งสกปรกที่แตกต่างกันออกไป

มีรายงานมากมายเกี่ยวกับการนำไซยาโนแบคทีเรียหลายชนิดมาพัฒนาและประสบความสำเร็จในการนำมาใช้ย่อยสลายน้ำมันที่เกิดการรั่วไหล และ

เกิดการปนเปื้อนในแหล่งน้ำ ในบริเวณพื้นที่ต่างๆทั่วโลก เช่น *Oscillatoria salina*, *Plectonema terebrans*, *Aphanocapsa* sp. และ *Synechococcus* (Raghukumar *et al.*, 2001; Radwan and Al-Hasan, 2001; Cohen, 2002) นอกจากนี้ยังมีการนำไซยาโนแบคทีเรียมาใช้ในการบำบัดน้ำเสีย (Lincoln *et al.*, 1996; Duma *et al.*, 1998; Bunnag *et al.*, 2010) และพบว่ามีประสิทธิภาพสูงในการใช้กำจัดสารประกอบไฮโดรคาร์บอน (Sorkhoh *et al.*, 1992) การศึกษาครั้งนี้มีจุดประสงค์ เพื่อศึกษาปัจจัยที่เหมาะสมและเปรียบเทียบประสิทธิภาพการย่อยสลายน้ำมันเครื่องที่ใช้แล้วโดยใช้ไซยาโนแบคทีเรีย *Nostoc piscinale* TISTR 8401 และ *Anabaena lutea* TISTR 8074 และใช้ *N. piscinale* และ *A. lutea* ร่วมกัน เนื่องจากในน้ำเสียมักมีจุลินทรีย์มากมายหลายชนิด เช่น แบคทีเรีย สาหร่าย รา และไวรัส โดยเฉพาะอย่างยิ่งแบคทีเรีย ไซยาโนแบคทีเรียหรือสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินจัดเป็นแบคทีเรียกลุ่มหนึ่งที่มีคลอโรฟิลล์เป็นองค์ประกอบในเซลล์ สามารถสังเคราะห์ด้วยแสงสร้างอาหารขึ้นเองได้ และมีออกซิเจนเป็นผลพลอยได้จากกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสง ซึ่งมีบทบาทสำคัญอย่างมากในกระบวนการบำบัดน้ำเสีย

วัตถุประสงค์

ศึกษาปัจจัยที่เหมาะสมต่อการย่อยสลายน้ำมันเครื่องที่ใช้แล้วโดยใช้ *N. piscinale* ร่วมกับ *A. lutea*

อุปกรณ์และวิธีการวิจัย

การเพิ่มจำนวนไซยาโนแบคทีเรียโดยการเพาะเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์

เพาะเลี้ยงไซยาโนแบคทีเรีย *N. piscinale* TISTR 8401 และ *A. lutea* TISTR 8074 ในอาหารสูตร N-Free medium (Allen and Arnon, 1955) ประกอบด้วย NaCl (70.0 มก./ล.); $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ (380.0 มก./ล.); $CaCl_2$ (80.0 มก./ล.); $Fe_2(SO_4)_3 \cdot 6H_2O$ (10.0 มก./ล.);

K_2HPO_4 (600.0 มก./ล.); Titriplex III (27.0 มก./ล.); H_3BO_3 (3.0 มก./ล.); $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ (0.08 มก./ล.); $CoCl_2$ (0.02 มก./ล.); $NaMoO_4 \cdot 2H_2O$ (8.0 มก./ล.); $MnSO_4 \cdot 4H_2O$ (2.0 มก./ล.); $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ (0.3 มก./ล.) ซึ่งมีค่า pH 7.5 ภายใต้อุณหภูมิ 3,000 ลักซ์ อุณหภูมิ 28 ± 1 องศาเซลเซียส ให้ออกซิเจนโดยเครื่องปั๊มอากาศ เพาะเลี้ยงภายในห้องปฏิบัติการ

ศึกษาปัจจัยต่างๆที่เหมาะสมต่อการย่อยสลายน้ำมันเครื่องที่ใช้แล้วโดยใช้ *N. piscinale* TISTR 8401 ร่วมกับ *A. lutea* TISTR 8074

การศึกษาปัจจัยค่ากรด-ด่างในอาหารเพาะเลี้ยงและระยะเวลาที่เหมาะสมต่อการย่อยสลายน้ำมันเครื่องที่ใช้แล้ว โดยทำการเพาะเลี้ยง *N. piscinale* 0.25 กรัม ร่วมกับ *A. lutea* 0.25 กรัม ในอาหารสูตร N-free medium ปริมาตร 25 มิลลิลิตร อาหารมีค่ากรด-ด่างดังนี้ 5, 6, 7, 7.5 และ 8 ร่วมกับน้ำมันเครื่องที่ใช้ความเข้มข้นร้อยละ 3 ในขวดรูปชมพู่ขนาด 125 มิลลิลิตร ในระยะเวลา 14 วัน และจากนั้นทำการศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมต่อการย่อยสลายน้ำมันเครื่อง โดยเลี้ยง *N. piscinale* ร่วมกับ *A. lutea* ในน้ำมันเครื่องที่ใช้แล้ว ความเข้มข้นร้อยละ 3 ภายใต้อุณหภูมิ 3,000 ลักซ์ อุณหภูมิ 28 ± 1 องศาเซลเซียส และ ทุก 7 วัน ทำการวิเคราะห์ปริมาณปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนทั้งหมดที่เหลือ ปริมาณคลอโรฟิลล์เอ ปริมาณโปรตีนรวม และมวลชีวภาพ

การวิเคราะห์ผลการศึกษา

การวิเคราะห์ปริมาณปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอน

ทำการวัดปริมาณปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนทั้งหมดที่คงเหลือด้วย Weight Loss Technique ตามวิธีของ Macnaughton *et al.* (1999)

การวิเคราะห์มวลชีวภาพ

เมื่อครบระยะเวลา นำตัวอย่างปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 8,000 g เป็นเวลา 10 นาที ที่สารละลายส่วน

supernatant และล้างน้ำมันเครื่องออกจากตะกอนส่วนที่เหลือด้วยเฮกเซนปริมาตร 10 มิลลิลิตร จำนวน 2 ครั้ง จากนั้นนำตัวอย่างที่ได้อบแห้งที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง (Chrzanowski *et al.*, 2006; Mona *et al.*, 2011)

การวิเคราะห์ปริมาณคลอโรฟิลล์เอ

ทำการวัดปริมาณคลอโรฟิลล์ด้วยวิธี Spectrophotometry ด้วยเครื่อง Spectrophotometer รุ่น UV752 บริษัทไทยจุลทรรศน์ ตามวิธีของ Meeks and Castenholtz (1971) โดยทำการสกัดคลอโรฟิลล์ด้วยเอทานอลร้อยละ 95 และวัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 665 นาโนเมตร

การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนรวม

ทำการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนรวมตามวิธีการของ Bradford (1976) นำไซยาโนแบคทีเรียที่ได้จากการทดลอง ปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 8,000 g เป็นเวลา 10 นาที ที่สารละลายส่วน Supernatant และล้างน้ำมันเครื่องออกจากตะกอนส่วนที่เหลือด้วยเฮกเซนปริมาตร 10 มิลลิลิตร จำนวน 2 ครั้ง จากนั้นนำสาหร่ายที่ได้ 0.25 กรัม บดด้วยโกรงหินที่แช่เย็นน้ำแข็ง ผสมกับสารละลาย Tris-HCl 0.05 M ปริมาตร 25 มิลลิลิตร และนำไปปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 10,000 g ที่ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นนำสารละลายส่วน Supernatant 0.1 มิลลิลิตร ผสมกับสีย้อม Coomassie Brilliant Blue G-250 5 มิลลิลิตร ทำการผสมให้เข้ากันเป็นระยะเวลา 5 นาที จากนั้นทิ้งไว้ในถังน้ำแข็ง 15 นาที เมื่อครบเวลาทำการวัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 595 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง Spectrophotometer และทำการเปรียบเทียบหาปริมาณโปรตีนรวมที่ได้จากการทดลองโดยใช้กราฟโปรตีนมาตรฐาน

ผลการวิจัย

การศึกษาสภาวะกรด-ด่างที่เหมาะสมในอาหาร N-free medium ต่อการย่อยสลายน้ำมันเครื่องที่ใช้แล้วโดยใช้ *N. piscinale* TISTR 8401 ร่วมกับ *A. lutea* TISTR 8074

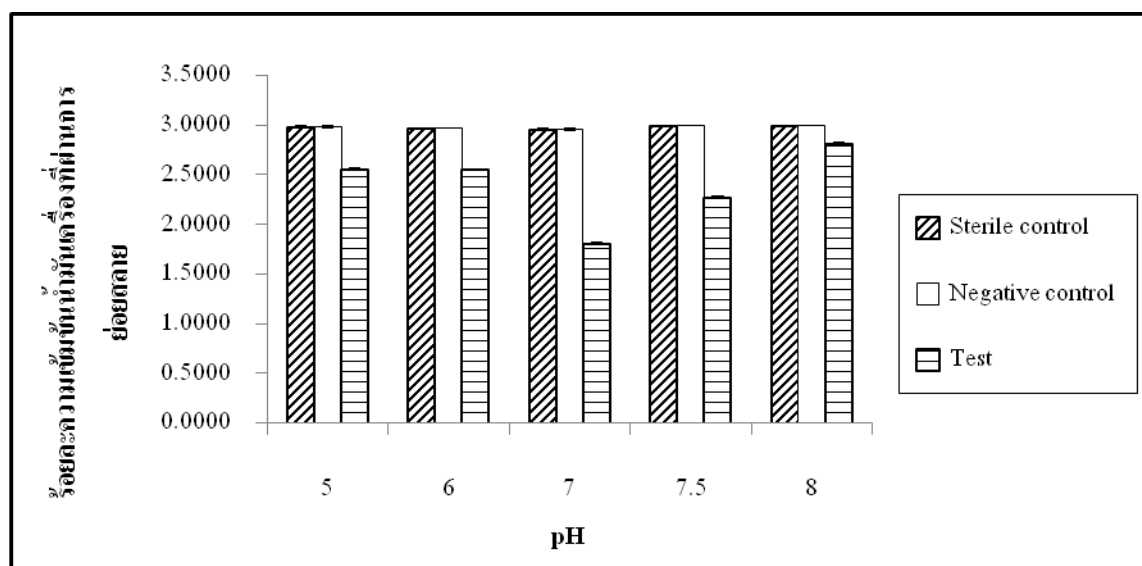
ผลของการศึกษาสภาวะกรด-ด่างที่เหมาะสมในอาหาร N-free medium ต่อการย่อยสลายน้ำมันเครื่องใช้แล้วโดยใช้ *N. piscinale* ร่วมกับ *A. lutea* ในระยะเวลา 14 วัน เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มทดลองต่างๆกับกลุ่มควบคุม พบว่า กลุ่มทดลองที่เลี้ยง *N. piscinale* และ *A. lutea* ร่วมกับน้ำมันเครื่องใช้แล้วความเข้มข้นร้อยละ 3 ในสภาวะกรด-ด่างเป็น 7 มีร้อยละของปริมาณปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนรวมที่หายไปมาก

ที่สุดโดยคิดเป็นร้อยละ 38.91 ± 0.01 มีค่าคงที่ของการสลายตัว 0.0361 ต่อวัน และค่าครึ่งชีวิต 19.2 วัน (ตารางที่ 1) มีปริมาณความเข้มข้นของน้ำมันเครื่องที่ใส่แล้วคงเหลือน้อยที่สุดคิดเป็นร้อยละ 1.81 (ภาพที่ 1) ปริมาณคลอโรฟิลล์เอเป็น 6.43 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และมีมวลชีวภาพ 0.0249 กรัม

ตารางที่ 1 ร้อยละของปริมาณปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนรวมที่หายไป ค่าคงที่ของการสลายตัว (k) และค่าครึ่งชีวิต ($t_{1/2}$) หลังเลี้ยง *N. piscinale* และ *A. lutea* ร่วมกับน้ำมันเครื่องใช้แล้วในสภาวะที่มีค่าความเป็นกรด-ด่างต่างๆ ภายในระยะเวลา 14 วัน

pH	Net percentage loss of TPHs (%) $\pm$ SD	k (day^{-1})	$t_{1/2}$ (day)
5	14.09 ± 0.01^{cd}	0.0112^{cd}	61.89
6	14.05 ± 0.00^{bc}	0.0116^{bc}	59.75
7	38.91 ± 0.01^a	0.0361^a	19.20
7.5	24.19 ± 0.01^{ab}	0.0198^{ab}	35.01
8	5.92 ± 0.01^{cd}	0.0046^{cd}	150.68

หมายเหตุ ร้อยละของปริมาณปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนรวมที่หายไป (Net percentage loss of TPHs) และตัวเลขที่มีตัวอักษรตัวพิมพ์เล็กกำกับที่แตกต่างกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในการเปรียบเทียบที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95



ภาพที่ 1 ร้อยละความเข้มข้นของน้ำมันเครื่องใช้แล้วที่คงเหลือหลังเลี้ยง *N. piscinale* และ *A. lutea* ร่วมกับน้ำมันเครื่องใช้แล้วในสภาวะกรด-ด่าง 5, 6, 7, 7.5 และ 8 ระยะเวลา 14 วัน

การศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมต่อการย่อยสลาย
น้ำมันเครื่องโดยใช้ *N. piscinale* TISTR 8401 ร่วมกับ
A. lutea TISTR 8074 ร่วมกัน

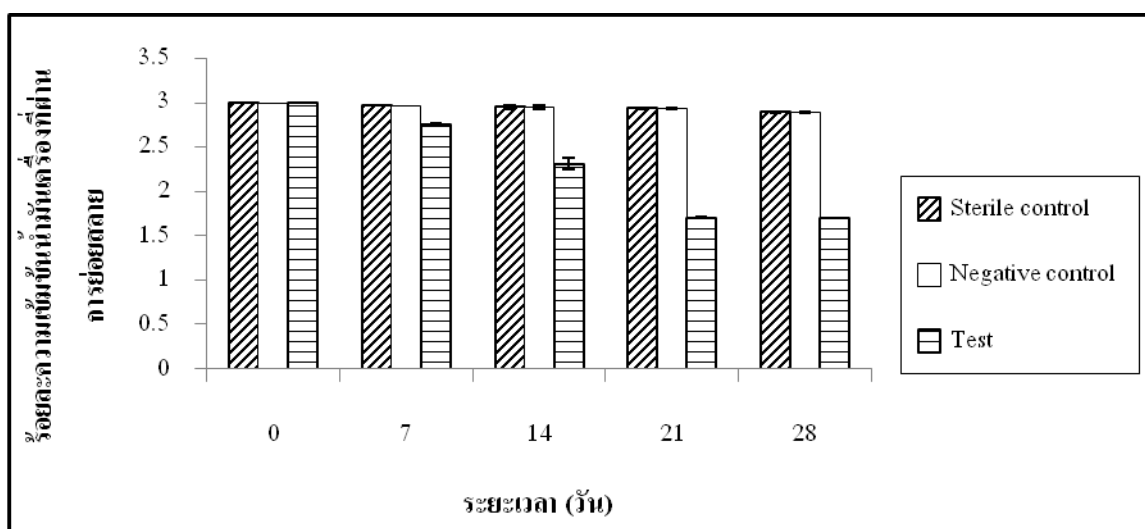
ผลของการศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสม ต่อ
การย่อยสลายน้ำมันเครื่องใช้แล้วโดยใช้ *N. piscinale*
ร่วมกับ *A. lutea* ในระยะเวลา 28 วัน โดยเก็บข้อมูลทุก
7 วัน พบว่า กลุ่มทดลองที่เลี้ยง *N. piscinale* ร่วมกับ
A. lutea ในน้ำมันเครื่องที่ใช้แล้วความเข้มข้นร้อยละ 3
ภายใต้สภาวะกรด-ด่างที่เหมาะสมในระยะเวลา 21 วัน

มีร้อยละของปริมาณปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนรวมที่
หายไปมากที่สุดโดยคิดเป็นร้อยละ 41.66 ± 0.01 ค่าคงที่
ของการสลายตัว 0.0257 ต่อวัน และค่าครึ่งชีวิต 26.97
วัน (ตารางที่ 2) มีปริมาณความเข้มข้นของน้ำมันเครื่อง
ที่ใช้แล้วคงเหลือน้อยที่สุดคิดเป็นร้อยละ 1.70 (ภาพที่
2) ปริมาณคลอโรฟิลล์เอเป็น 11.20 ไมโครกรัมต่อ
มิลลิลิตร (ภาพที่ 3) มวลชีวภาพ 0.0320 กรัม (ภาพที่ 4)
และปริมาณโปรตีน 6.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
(ภาพที่ 5)

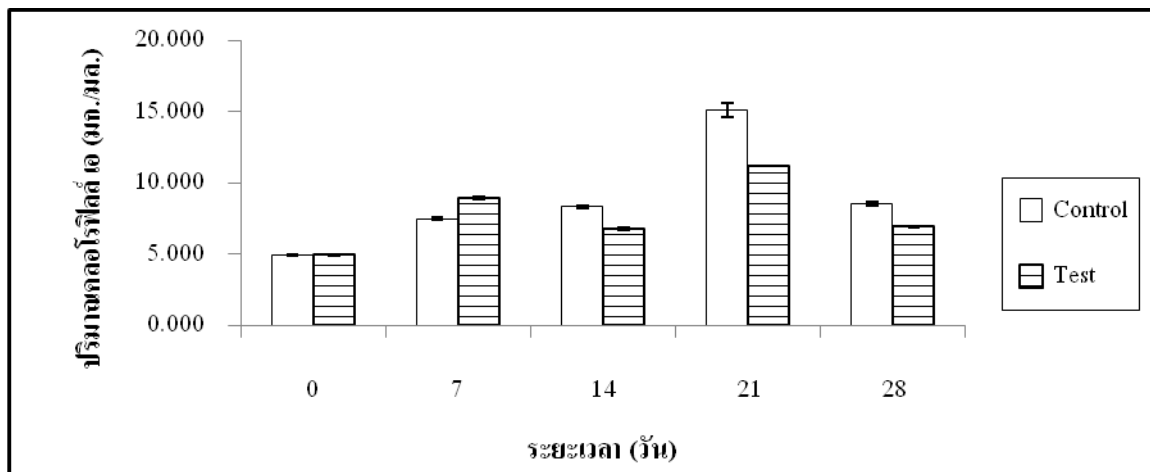
ตารางที่ 2 ร้อยละของปริมาณปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนรวมที่หายไป ค่าคงที่ของการสลายตัว (k) และค่าครึ่งชีวิต ($t_{1/2}$) หลังเลี้ยง *N. piscinale* และ *A. lutea* ในสภาวะต่างๆ ที่เหมาะสมของแต่ละชนิด ระยะเวลา 28 วัน

Days	Net percentage loss of TPHs (%) $\pm$ SD	k (day ⁻¹)	$t_{1/2}$ (day)
7	6.50 ± 0.01^a	0.0121^a	57.28
14	22.17 ± 0.00^b	0.0188^b	36.87
21	41.66 ± 0.01^c	0.0257^c	26.97
28	43.33 ± 0.00^c	0.0120^c	57.76

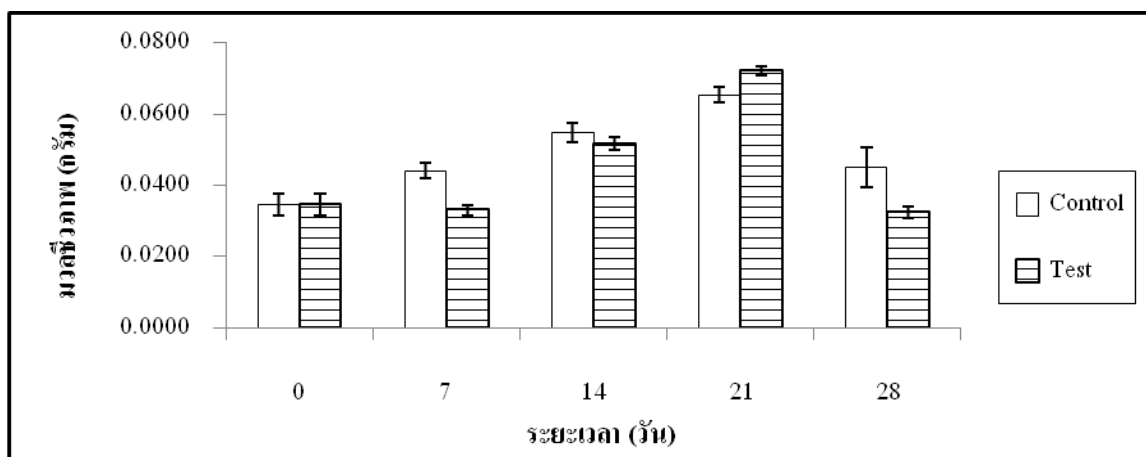
หมายเหตุ ร้อยละของปริมาณปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนรวมที่หายไป (Net percentage loss of TPHs) และตัวเลขที่มีตัวอักษรตัวพิมพ์เล็ก
กำกับที่แตกต่างกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในการเปรียบเทียบที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95



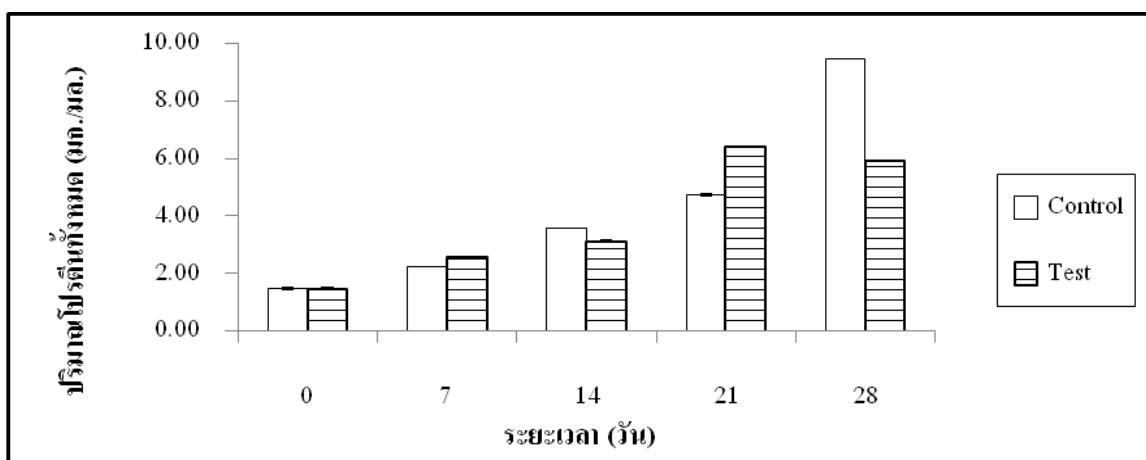
ภาพที่ 2 ร้อยละความเข้มข้นของน้ำมันเครื่องใช้แล้วที่คงเหลือหลังเลี้ยง *N. piscinale* และ *A. lutea* ภายใต้สภาวะต่างๆ
ที่เหมาะสม ระยะเวลา 28 วัน



ภาพที่ 3 ปริมาณคลอโรฟิลล์เอของ *N. piscinale* และ *A. lutea* หลังเลี้ยงภายใต้สภาวะต่างๆ ที่เหมาะสม ระยะเวลา 28 วัน



ภาพที่ 4 ปริมาณมวลชีวภาพของ *N. piscinale* และ *A. lutea* หลังเลี้ยงภายใต้สภาวะต่างๆ ที่เหมาะสม ระยะเวลา 28 วัน



ภาพที่ 5 ปริมาณโปรตีนของ *N. piscinale* และ *A. lutea* หลังเลี้ยงภายใต้สภาวะต่างๆ ที่เหมาะสม ระยะเวลา 28 วัน

สรุปและวิจารณ์ผลการวิจัย

การศึกษาสภาวะกรด-ด่างที่เหมาะสมในอาหาร N-free medium ต่อการย่อยสลายน้ำมันเครื่องใช้แล้วความเข้มข้นร้อยละ 3 โดยใช้ *N. piscinale* และ *A. lutea* ร่วมกัน พบว่า สภาวะกรด-ด่างที่เหมาะสม คือ 7 ค่ามวลชีวภาพของไซยาโนแบคทีเรียมีค่า 0.0249 กรัม และค่าคลอโรฟิลล์เอเท่ากับ 6.43 ไมโครกรัมต่อมิลลิเมตร ซึ่งแสดงให้เห็นว่า ไซยาโนแบคทีเรียสามารถเจริญเติบโตได้ในสภาวะกรด-ด่างทุกระดับ ถึงแม้ว่าคลอโรฟิลล์เอ จะมีค่าน้อยกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ซึ่งการลดลงของปริมาณคลอโรฟิลล์เออาจเนื่องจากความเป็นพิษของน้ำมัน ซึ่งยับยั้งกระบวนการเมแทบอลิซึมต่างๆ รวมทั้งกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสง หรือเกิดจากน้ำมันบดบังแสงบางส่วนไม่ให้สามารถส่องทะลุผ่านลงมาถึงไซยาโนแบคทีเรียได้ ส่งผลให้กระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสงเกิดขึ้นน้อยลงและปริมาณคลอโรฟิลล์ลดลงด้วย และร้อยละของปริมาณปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนรวมที่หายไป (Net percentage loss of TPHs) ซึ่งมีค่าเท่ากับ 38.91 ค่าคงที่ของการสลายตัวมีค่า (k) 0.0361 ต่อวัน และค่าครึ่งชีวิต ($t_{1/2}$) มีค่า 19.2 วัน ซึ่งค่าดังกล่าวมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 แสดงให้เห็นถึงประสิทธิภาพที่ดีที่สุดในการย่อยสลายน้ำมันเครื่องใช้แล้วในสภาวะกรด-ด่างที่เหมาะสมข้างต้น

การศึกษาหาระยะเวลาที่เหมาะสมต่อการย่อยสลายน้ำมันเครื่องใช้แล้วความเข้มข้นร้อยละ 3 โดยใช้ *N. piscinale* ร่วมกับ *A. lutea* โดยทำการทดลองระยะเวลา 28 วัน พบว่า ระยะเวลา 21 วัน เป็นระยะเวลาเหมาะสมที่สุด ถึงแม้ในระยะเวลา 28 วัน จะมีร้อยละของปริมาณปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนรวมที่หายไป มากกว่าระยะเวลา 21 วัน แต่เมื่อพิจารณาประกอบกับค่าคงที่ของการสลายตัวต่อวัน และค่าครึ่งชีวิต นั้นกลับมีค่าน้อยกว่าการระยะเวลา 21 วัน ซึ่งแสดงให้เห็นว่า อัตราการย่อยสลายที่ระยะเวลา 28 วัน ลดน้อยลง นอกจากนี้ปริมาณโปรตีน และผลมวล

ชีวภาพของกลุ่มการทดลองที่ระยะเวลา 21 วัน มีค่ามากที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมและกลุ่มระยะเวลาอื่นๆ แม้ว่าผลปริมาณคลอโรฟิลล์เอ มีค่าน้อยกว่ากลุ่มควบคุมก็ตาม ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับงานวิจัยของ Pimda and Bunnag (2012) ทำการศึกษาการย่อยสลายน้ำมันเครื่องใช้แล้วความเข้มข้นร้อยละ 3 โดยใช้ *N. piscinale* เพียงชนิดเดียว ในอาหารที่มีสภาวะกรด-ด่าง 7.5 ระยะเวลา 14 สัปดาห์ พบว่า มีค่าร้อยละของปริมาณปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนรวมที่หายไปเท่ากับ 21 ซึ่งมีค่าน้อยกว่าร้อยละของปริมาณปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนรวมที่หายไปที่ได้จากการศึกษาการย่อยสลายน้ำมันเครื่องใช้แล้วโดยใช้ *N. piscinale* และ *A. lutea* ร่วมกัน ซึ่งมีค่าร้อยละ 41.66 เห็นได้ว่า ในสภาวะที่มีปัจจัยต่างๆ ได้แก่ ชนิดของไซยาโนแบคทีเรีย สภาวะกรด-ด่างในอาหาร และระยะเวลาในการย่อยสลายที่เหมาะสม ล้วนส่งผลต่อประสิทธิภาพในการย่อยสลายน้ำมันเครื่องใช้แล้วให้ดียิ่งขึ้นได้

ถึงอย่างไรก็ตามสิ่งมีชีวิตกลุ่มใดกลุ่มหนึ่งจะสามารถย่อยสลายประกอบของน้ำมันได้ส่วนใดส่วนหนึ่งเท่านั้น เนื่องจากน้ำมันเครื่องมีส่วนประกอบหลายชนิด เช่น สารประกอบไฮโดรคาร์บอน สารประกอบอินทรีย์ และองค์ประกอบของโลหะอินทรีย์บางชนิด ดังนั้นจึงต้องอาศัยสิ่งมีชีวิตหลากหลายสายพันธุ์ในการย่อยสลายทุกองค์ประกอบของน้ำมันเครื่องด้วย

ข้อเสนอแนะ

ควรทำการศึกษาปัจจัยต่างๆ ที่เหมาะสมในการย่อยสลายน้ำมันเครื่องใช้แล้วโดยใช้ไซยาโนแบคทีเรียเพิ่มเติม เช่น ปัจจัยด้านความเข้มข้นของน้ำมันเครื่อง ระดับความเค็มของอาหาร อุณหภูมิ แสงแดด เป็นต้น เนื่องจากสามารถใช้เป็นข้อมูลในการเพิ่มประสิทธิภาพการย่อยสลายน้ำมันเครื่องให้ดียิ่งขึ้นได้

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร. สุนันทิพย์
บุญนาค ผู้ให้คำปรึกษาและคำแนะนำในการทำวิจัย
ขอขอบพระคุณภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์
มหาวิทยาลัยขอนแก่น ที่ช่วยสนับสนุนเครื่องมือ
อุปกรณ์และสถานที่ทำวิจัย และขอขอบคุณทุนเรียนดี
วิทยาศาสตร์แห่งประเทศไทย ที่ให้ทุนสนับสนุน
งานวิจัยจนสำเร็จลุล่วงตามวัตถุประสงค์

เอกสารอ้างอิง

- Allen MB and Arnon DI. Studies on nitrogen-fixing
blue-green algae. I. Growth and nitrogen
fixation by *Anabaena cylindrica* Lemm. Plant
Physiology 1955; 30: 366-72.
- Bradford, M. M. 1976. A rapid and sensitive method
for the quantitation of microgram quantities
of protein utilizing the principle of protein-
dye binding. **Analytical Biochemistry** 72:
248-254.
- Bunnag, S., Pimda, W. and Pongpera, S. 2010.
Utilization of *Spirulina platensis* for waste
water treatment in fermented rice noodle
factory. **ELBA Bioflux** 2(2): 39-44.
- Chrzanowski, L., Kaczorek, E. and Olszanowski, A.
2006. The ability of *Candida maltosa* for
hydrocarbon and emulsified hydrocarbon
degradation **Polish Journal of
Environmental Studies** 15(1): 47-51.
- Cohen, Y. 2002. Bioremediation of oil by marine
microbial mats. **International Microbiology**
5: 189-193.
- Duma, A., Laliberté, G., Lessard, P. and de la
Noüe, J. 1998. Biotreatment of fish farm
effluents using the cyanobacterium
Phormidium bohneri. **Aquacultural
Engineering** 17: 57-68.

- Lincoln, E.P., Wilkie, A.C. and French, B.T. 1996.
Cyanobacterial process for renovating dairy
wastewater. **Bioengineering** 10: 63-68.
- Macnaughton, S. J., Stephen, J.R., Venosa, A.D.,
Davis, G.A., Chang, Y.J. and White, D.C.
1999. Microbial population changes during
bioremediation of an experimental oil spill.
Applied and Environmental Microbiology
65: 3566-3574.
- Mandri, T. and Lin, J. 2007. Isolation and
characterization of engine oil degrading
indigenous microorganisms in KwaZulu-Natal,
South Africa. **African Journal of
Biotechnology** 6(1): 023-027.
- McCall, B. D. and Pennings, S. C. 2012. Disturbance
and Recovery of Salt Marsh Arthropod
Communities following BP Deepwater
Horizon Oil Spill. **Disturbance and Recovery
of Salt Marsh Communities** 7(3): 1-7.
- Meeks, J. and Castenholz, R. 1971. Growth and
photosynthesis in an extreme thermophile,
Synechococcus lividus
(Cyanophyta). **Archives of Microbiology** 78:
25-41.
- Mishra, S., Jyot, J., Kuhad, R. C. and Lal, B. 2001.
Evaluation of Inoculum Addition To
Stimulate *In Situ* Bioremediation of Oily-
Sludge-Contaminated Soil. **Applied and
Environmental Microbiology** 67(4):
1675-1681.
- Mona, S., Kaushik, A. and Kaushik, CP. 2011.
Hydrogen production and metal-dye
bioremoval by a *Nostoc linckia* strain isolated
from textile mill oxidation pond. **Bioresource
Technology** 102: 3200-3205.

- Pimda, W. and Bunnag S. 2012. Biodegradation of used motor oil by *Nostoc piscinale* TISTR 8401. **African Journal of Microbiology Research** 6(10): 2367-2372.
- Platt, J. F., Lensink C. J., Butler, W., Kendziorek, M. and Nysewander D. R. 1990. Immediate impact of the Exxon Valdez Oil Spill on Marine Birds. **The Auk** 107: 387-397.
- Radwan, S.S. and Al-Hasan, R.H. 2001. Potential application of coastal biofilm-coated gravel particles for treating oily waste. **Aquatic Microbial Ecology** 23: 113–117.
- Raghukumar, C., Vipparthy, V., David, J.J. and Chandramohan, D. 2001. Degradation of crude oil by marine cyanobacteria. **Applied Microbiology and Biotechnology** 57: 433-436.
- Sarkar, D., Ferguson, M., Datta, R. and Birnbaum, S. 2005. Bioremediation of petroleum hydrocarbons in contaminated soils: Comparison of biosolids addition, carbon supplementation, and monitored natural attenuation. **Environmental Pollution** 136: 187-195.
- Singh, C. and Lin, J. 2008. Isolation and characterization of diesel oil degrading indigenous microorganisms in Kwazulu-Natal, South Africa. **African Journal of Biotechnology** 7 (12): 1927-1932.
- Sorkhoh, N.A., Al-Hasan, R.H., Radwan, S.S. and Hopner, T. 1992. Selfcleaning of the Gulf. **Nature (London)** 359: 109.