



สัญญาเลขที่ PDF/53/2543

รายงานโครงการวิจัย ฉบับสมบูรณ์

(1 กรกฎาคม 2543 – 30 มิถุนายน 2545)

โครงการ

ความเพียงพอทางชีวภาพที่มีต่อการย่อยสลายคราบน้ำมัน

(Bioavailability of Crude Oil Components During

Biodegradation : A Model Soil Approach)

โดย

ผศ.ดร. ประหยัด โภคฐิติยุกต์ หัวหน้าโครงการ

ศ.ดร. สุชาติ อุปถัมภ์

นักวิจัยที่ปรึกษา

สนับสนุนโดยสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย

ธันวาคม 2545

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการความเพียงพอทางชีวภาพที่มีต่อการย่อยสลายคราบน้ำมัน
(Bioavailability of Crude Oil Biodegradation : A Model Soil Particle)

คณะผู้วิจัย ผศ.ดร. ประหยัด โกศลจิตติกุล

สนับสนุนโดย
สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย

ห้องสมุด
(ความเห็นในรายงานนี้เป็นของผู้วิจัยสกว. ไม่จำเป็นต้องเห็นด้วยหรือไม่เห็นด้วย)



กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณ ศาสตราจารย์ ดร.สุชาติ อุปถัมภ์ อาจารย์ที่ปรึกษาการวิจัย (Mentor) ที่ได้ช่วยชี้แนะทางการทำการวิจัยแบบมีอาจารย์และการวางแผนการวิจัยล่วงหน้า

ขอกราบขอบพระคุณ ศาสตราจารย์ ดร.มาลีญา เครือตราชู หัวหน้าภาควิชาที่ได้ผลักดันให้ งานวิจัยชิ้นนี้สำเร็จออกมาได้ รวมทั้งช่วยอุดหนุนทั้งในด้านอุปกรณ์และสถานที่ทำการวิจัย

ขอขอบคุณนักศึกษาปริญญาตรี และโท ที่ได้มีส่วนช่วยเหลือในการเตรียมสารเคมีและเครื่อง แก้วต่าง ๆ

สุดท้ายนี้ขอขอบคุณภรรยาและบุตรชายของผู้วิจัยที่คอยเป็นกำลังใจและยอมเสียสละเวลาให้ผู้ วิจัยได้ทำงานวิจัยได้อย่างเต็มที่ ทำให้งานทั้งหมดสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

Project Code : PDF/53/2543

(รหัสโครงการ)

Project Title : ความเพียงพอทางชีวภาพที่มีต่อการย่อยสลายคราบน้ำมัน

(ชื่อโครงการ) (Bioavailability of Crude Oil Biodegradation : A Model Soil Particle)

Investigator : ผศ.ดร. ประหยัด โกศลติญกุล

(ชื่อนักวิจัย) ภาควิชาชีววิทยา

คณะวิทยาศาสตร์

มหาวิทยาลัยมหิดล

โทรศัพท์ (02) 2015483-4

โทรสาร (02) 2477058

Project Period : 2 ปี

(ระยะเวลาโครงการ)

บทคัดย่อ

จากการทดลอง ได้ทำการศึกษาผลของอุณหภูมิที่มีต่อความพร้อมทางชีวภาพของส่วนประกอบต่างๆในน้ำมันดิบระหว่างการย่อยสลายทางชีวภาพโดยเชื้อจุลินทรีย์ *Acinetobacter calcoaceticus* โดยทำการทดลองในระบบ **batch bioreactor** ที่ระยะเวลาต่าง ๆ กัน คือ 0, 1, 5, 10, 20, 40 และ 60 วัน ที่ระดับอุณหภูมิ 20° และ 30° C ในการทดลองนี้ลูกหินดินเผาถูกใช้เป็นแบบจำลองของดินที่มีการปนเปื้อนน้ำมันดิบ เมื่อครบกำหนดตามระยะเวลาดังกล่าว ตัวอย่างได้ถูกนำไปวิเคราะห์หาปริมาณสารไฮโดรคาร์บอนที่เหลือจากการย่อยสลายโดยวิธีแก๊สโครมาโตกราฟี (**gas chromatography**) และวิธีการชั่งน้ำหนัก (**gravimetry**)

ผลการทดลองการวิเคราะห์หาปริมาณสารไฮโดรคาร์บอนที่เหลือจากการย่อยสลายทั้งสองวิธีพบว่าเชื้อ *Acinetobacter calcoaceticus* สามารถย่อยสลายน้ำมันดิบได้ดีที่สุดที่อุณหภูมิ 30° C จากผลการวิเคราะห์โดยวิธีแก๊สโครมาโตกราฟี พบว่าที่อุณหภูมิ 30° C สารไฮโดรคาร์บอนโดยรวม (total hydrocarbons) ถูกย่อยสลายได้ 72.28% และสารไฮโดรคาร์บอนสายตรง (major peak hydrocarbons) ที่มีคาร์บอนอะตอมระหว่าง 9 ถึง 30 ถูกย่อยสลายไป 64.03% และที่อุณหภูมิ 20° C เปอร์เซ็นต์การย่อยสลายของน้ำมันดิบลดลง โดยสารไฮโดรคาร์บอนทั้งหมดถูกย่อยสลายไป 65.26% และสายไฮโดรคาร์บอนสายตรงถูกย่อยสลายไป 60.26% สำหรับผลการวิเคราะห์โดยวิธีชั่งน้ำหนัก พบว่าที่อุณหภูมิ 30° C น้ำมันดิบถูกย่อยสลายไป 67.08% ในระยะเวลา 40 วันของการทดลองและที่อุณหภูมิ 20° C น้ำมันดิบถูกย่อยสลายเพียง 46.10% ที่ 60 วันของการทดลอง ผลการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่า วิธีวิเคราะห์ปริมาณสารไฮโดรคาร์บอนโดยวิธี GC จะให้ผลที่ถูกต้อง และแม่นยำกว่าการวิเคราะห์โดยวิธีการชั่งน้ำหนัก นอกจากนี้ผลการศึกษาอัตราการย่อยสลายของน้ำมันดิบต่อพื้นที่ผิวของลูกหินดินเผา พบว่ามีค่าสูงสุดที่ระดับอุณหภูมิ 30° C ในระยะวันแรกของการทดลอง (31.63 มิลลิกรัมต่อตารางเซนติเมตรต่อวัน) และอัตราการย่อยสลายนี้จะลดลงเรื่อย ๆ จนวันสุดท้ายของการทดลองอัตราการย่อยสลายต่อพื้นที่ผิวของลูกหิน มีค่าเท่ากับ 0.79 และ 0.72 มิลลิกรัมต่อตารางเซนติเมตรต่อวัน ที่ระดับอุณหภูมิ 30° และ 20° C ตามลำดับ จากผลการทดลองข้างต้น แสดงให้เห็นว่าอุณหภูมิเป็นปัจจัยสำคัญที่ช่วยในการย่อยสลายของน้ำมันดิบ นอกจากนั้น พบว่าการย่อยสลายน้ำมันดิบสามารถเกิดขึ้นได้โดยวิธีทางกายภาพ (**abiotic losses**) จากการวิเคราะห์ปริมาณของคาร์บอนที่มีอยู่ในสารไฮโดรคาร์บอนโดยวิธีแก๊สโครมาโตกราฟี พบว่าที่อุณหภูมิ 30° C จำนวนคาร์บอนอะตอมตั้งแต่ 10 ถึง 20 คาร์บอนอะตอม ได้หายไปจากสารไฮโดรคาร์บอน ในอัตราที่เร็วกว่าอุณหภูมิ 20° C โดยกระบวนการทางกายภาพมีส่วนช่วยในการสลายไปของน้ำมันดิบนี้

จากการทดลองสรุปได้ว่า ระบบ **bioreactor** ที่ศึกษานี้ได้ให้ความรู้ใหม่กับการบำบัดคราบน้ำมันดิบที่ปนเปื้อนสำหรับประเทศที่ตั้งอยู่ในเขตร้อน และอยู่ในช่วงอุณหภูมิที่ศึกษานี้ อย่างเช่นประเทศไทย

ABSTRACT

The objective of this research was to study temperature as a factor effecting the bioavailability of crude oil components during a biodegradation process by an indigenous soil microorganism, *Acinetobacter calcoaceticus*. In this study, the experiments of crude oil degradation were conducted on the batch-bioreactor system incubated at the temperatures of 20° and 30°C for 0, 1, 5, 10, 20, 40 and 60 days. Sphere shaped fired clay stones was used as model of soil particles for studying the biodegradation of oil contaminated soil. The residual oil fractions were determined by gas chromatographic (GC) and gravimetric analysis.

The results by the GC analysis showed that the highest percentages of total oil removal by *Acinetobacter calcoaceticus* were achieved at 30°C for both the total hydrocarbons (72.28%) and the major peak hydrocarbons (64.03%) at the end of a 60-day period. At 20°C, the percentages of the oil removal were lower, 65.26%, for total hydrocarbons (THC) and 60.26% for major peak hydrocarbons (C₉-C₃₀). Oil removal determined by the gravimetric analysis demonstrated that the highest oil biodegradation was obtained at 30°C (67.08%) during the 40-day run, whereas the oil removal at 20°C was 46.10% during the 60-day run. These results indicated that the GC analysis was more sensitive and accurate for petroleum biodegradation than the gravimetric analysis. In addition, the highest rate of total oil removal per stone surface area also occurred at 30°C during the first day of the incubation period (31.63 mg/cm²/day), while the rate of removal at 20°C was only 22.06 mg/cm²/day. At the end of the experiment, the degradation rate decreased to 0.79 and 0.72 mg/cm²/day for 30° and 20°C, respectively. The results obtained clearly indicated that high temperature significantly enhanced the rate and extent of the oil biodegradation. Furthermore, abiotic hydrocarbon processes also affected the oil degradation. The results of the GC chromatograms showed that the n-alkanes components, especially C₁₀ to C₂₀, disappeared more rapidly at 30°C than at 20°C. This suggested that the physical processes, such as aeration, volatilization, the movement of a liquid medium, and oil solubilization, could contribute to the abiotic losses of oil.

In conclusion, this research could add an effective method to the crude oil bioremediation techniques in the soil environment of tropical regions such as Thailand.

1. Executive Summary (สรุปย่อ)

ในการทำงานในปีที่ 1 มีวัตถุประสงค์เพื่อหาผลของอุณหภูมิที่มีต่อปริมาณและอัตราการย่อยสลายคราบน้ำมันดิบ โดยใช้แบบจำลอง soil particle การทดลองเริ่มต้นโดยการแยกเชื้อแบคทีเรียที่ย่อยสลายคราบน้ำมัน โดยการสุ่มตัวอย่างจากดินใกล้ๆกับสถานบริการน้ำมัน แล้วนำมาเลี้ยงแยกเชื้อในห้องปฏิบัติการ จากการวิเคราะห์ทางสรีรวิทยาและชีวเคมี พบว่าเป็นเชื้อ *Acinetobacter calcoaceticus* มีการเตรียมลูกหินดินเผา (fired clay stones) ทรงกลม ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 1.5 เซนติเมตร ระบบที่ใช้บำบัดเป็นแบบ batch reactor ขนาด 18 x 27 x 10 เซนติเมตร มีตะแกรงรองลูกหิน ในแต่ละการทดลองใส่ลูกหินไว้จำนวน 20 ลูก แล้วนำไปทดสอบการย่อยสลายของน้ำมันที่ 20° และ 30°ซ เปรียบเทียบกับตัวควบคุม การทดลองจะเก็บผลที่ 0, 1, 5, 10, 20, 40 และ 60 วัน เราหาค่าปริมาณน้ำมันที่เหลืออยู่จากการย่อยสลายโดยการวิเคราะห์โดยเครื่อง GC (Gas Chromatography) และใช้น้ำหนัก (gravimetric analysis)

ผลการทดลองโดยการวิเคราะห์ด้วย GC พบว่าเปอร์เซ็นต์การย่อยสลายคราบน้ำมันโดย *Acinetobacter calcoaceticus* สูงสุดที่อุณหภูมิ 30°ซ ทั้ง total hydrocarbons (THC) (72.28%) และ alkanes (64.03%) ภายในเวลา 60 วัน ที่อุณหภูมิ 20°ซ เปอร์เซ็นต์การย่อยสลายคราบน้ำมันจะลดลงน้อยกว่าที่ 30°ซ คือค่า THC ลดลง 65.26% และ n-alkanes ลดลง 60.26% การวัดการย่อยสลายโดยใช้ gravimetric analysis ให้ค่า sensitivity ต่ำกว่าการใช้ GC พบว่า อัตราการย่อยสลายต่อหนึ่งหน่วยพื้นที่ที่ 30°ซ ในวันแรกของการย่อยสลาย ($31.63 \text{ mg/cm}^2/\text{day}$) เมื่อเทียบกับ $22.06 \text{ mg/cm}^2/\text{day}$ ที่อุณหภูมิ 20°ซ ในวันสุดท้ายของการทดลอง อัตราการย่อยสลายลดลงเหลือเพียง 0.79 และ $0.72 \text{ mg/cm}^2/\text{day}$ ที่อุณหภูมิ 30°ซ และ 20°ซ ตามลำดับ ผลการทดลองบ่งบอกได้อย่างชัดเจนว่า อุณหภูมิที่สูงขึ้นช่วยให้อัตราและปริมาณการย่อยสลายเพิ่มขึ้นอย่างเห็นได้ชัด

การทำงานในปีที่ 2 เป็นการทำงานเปรียบเทียบโดยดูผลของอุณหภูมิที่มีต่อการย่อยสลายคราบน้ำมันเปรียบเทียบกับการสร้าง biofilm ของเชื้อแบคทีเรียพบว่าการสร้าง biofilm ในการทดลอง abiotic ที่อุณหภูมิ 20°ซ นั้นจะเพิ่มขึ้นเรื่อยๆจนกระทั่งวันที่ 40 พบว่าความหนาของ biofilm มีค่าเท่ากับ 32.98 μm หลังจากวันที่ 40 ไม่เพิ่มขึ้น ในขณะที่การทดลองที่ 30°ซ นั้น biofilm จะเติบโตสูงสุดในวันที่ 20 คือมีความหนาของ biofilm เป็น

กว่าที่อุณหภูมิ 20 ° ซ และพบว่าความหนาของ biofilm มีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อเวลาเพิ่มขึ้น โดยความหนาของ biofilm ที่อุณหภูมิ 30 ° ซ มีความหนามากกว่าที่อุณหภูมิ 20 ° ซ ที่อุณหภูมิ 20 ° ซ และ 30 ° ซ biofilm มีความหนาสูงสุดที่เวลา 60 วัน โดยมีความหนา 88.1 และ 113.32 um ตามลำดับ การวัดความหนาของ biofilm ใช้เครื่อง confocal laser scanning microscope ในการวัด

2. ผลงานวิจัยที่ทำ

2.1) วัตถุประสงค์ของโครงการ

- 1) เพื่อหาผลของอุณหภูมิที่มีต่อปริมาณและอัตราการย่อยสลายน้ำมัน ที่อุณหภูมิ 20 ° และ 30 ° ซ โดยใช้แบบจำลอง soil particle
- 2) เพื่อหาผลของอุณหภูมิที่มีต่อความหนาของ biofilm

2.2) การดำเนินการวิจัยตามวัตถุประสงค์

2.2.1 เตรียมลูกหินดินเผา (fired clay stones)

โดยคัดลูกหินขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางใกล้เคียงกันในแต่ละชุดการทดลอง ชุดละ 20 ลูก ทำเครื่องหมายไว้เป็นตัวเลข ทุกลูก ตั้งแต่ 1-20 เพื่อหาปริมาณการใช้ น้ำมัน ต่อหนึ่งหน่วยพื้นที่ในแต่ละลูก เมื่อสิ้นสุดการทดลอง

2.2.2 ศึกษาการย่อยสลายน้ำมันดิบ

ในขั้นตอนนี้ จะมีชุดควบคุม (control) เพื่อหาค่า Abiotic loss หรือการระเหยของน้ำมัน ซึ่งไม่เกี่ยวข้องกับการย่อยสลายน้ำมันโดยเชื้อจุลินทรีย์ และชุด experiments ซึ่งเป็นชุดหาค่าการย่อยสลายน้ำมันโดยเชื้อจุลินทรีย์ (Biotic loss) โดยทำการทดลองในตู้ incubator ซึ่งควบคุมอุณหภูมิที่ 20 ° ซ และ 30 ° ซ ตามระยะเวลาที่กำหนด คือ 0, 1, 5, 10, 20, 40 และ 60 วัน ทำ plate count technique เพื่อ monitor อัตราการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ และการเปลี่ยนแปลง pH ของ media เราวัด residual oil โดยใช้ GC

การทำการทดลองในแต่ละอุณหภูมิ และแต่ละระยะเวลาของการทดลอง ตัวอย่างเช่น ที่อุณหภูมิ 20 ° ซ เวลา 20 วัน จะ set reactor ที่อุณหภูมิ 20 ° ซ และจะ run experiment ติดต่อกันจนถึงวันที่ 20 จึงเก็บเกี่ยวผลการทดลอง โดยจะไม่มี

การหยุดก่อนหรือหลังจากนี้ เพราะฉะนั้น ในแต่ละอุณหภูมิจะมี 6 experiments บวกกับ 1 control รวมเป็น 7 reactors ต่อ 1 อุณหภูมิ

2.2.3 ขั้นตอนการวิเคราะห์หาปริมาณน้ำมันที่เหลือจากการย่อยสลาย (residual oil)

ลูกหินหลังจากทำการทดลองจะนำไปสกัด (extraction) น้ำมันส่วนที่เหลือ (residual oil) ออกมาโดย liquid extraction โดย Soxhlet apparatus โดยมีอัตราการสกัด 20 cycle/hour มี chloroform เป็น solvent และใส่ 1-Eicosene เป็น internal standard แล้วนำตัวอย่างที่ได้มาทำให้มีความเข้มข้นสูงขึ้นด้วย vacuum rotary evaporator เพื่อดึง chloroform ออกและเติม hexane ลงไปแทน แล้วทำการวิเคราะห์โดย Gas Chromatography เปรียบเทียบกับ standard n-alkanes

2.2.4 ขั้นตอนการหาความหนาของ biofilm

การวัดความหนาของ biofilm ในเวลาต่าง ๆ และ condition ต่าง ๆ ช่วยให้ทราบถึงผลของอุณหภูมิที่มีต่อการย่อยสลายน้ำมันและการสร้าง biofilm ว่ามีความสัมพันธ์กับอุณหภูมิและเวลาหรือไม่ ซึ่งจะช่วยให้เราพัฒนา conceptual model ของการย่อยสลายคราบน้ำมันได้

2.3) ผลงานวิจัยที่ได้รับ

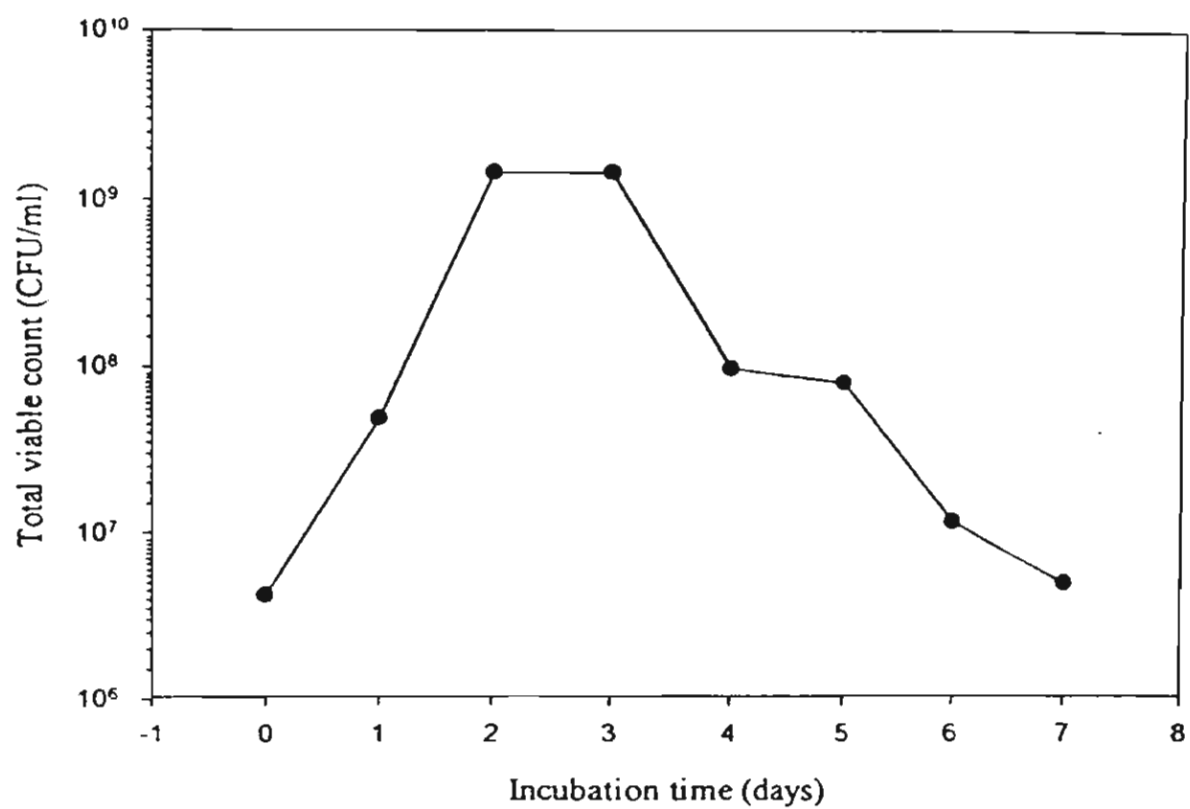
2.3.1 Growth Measurement

พบว่าการเจริญเติบโตของเชื้อ *Acinetobacter calcoaceticus* ใน mineral salt medium (MSM) เป็นไปตามรูปที่ 1

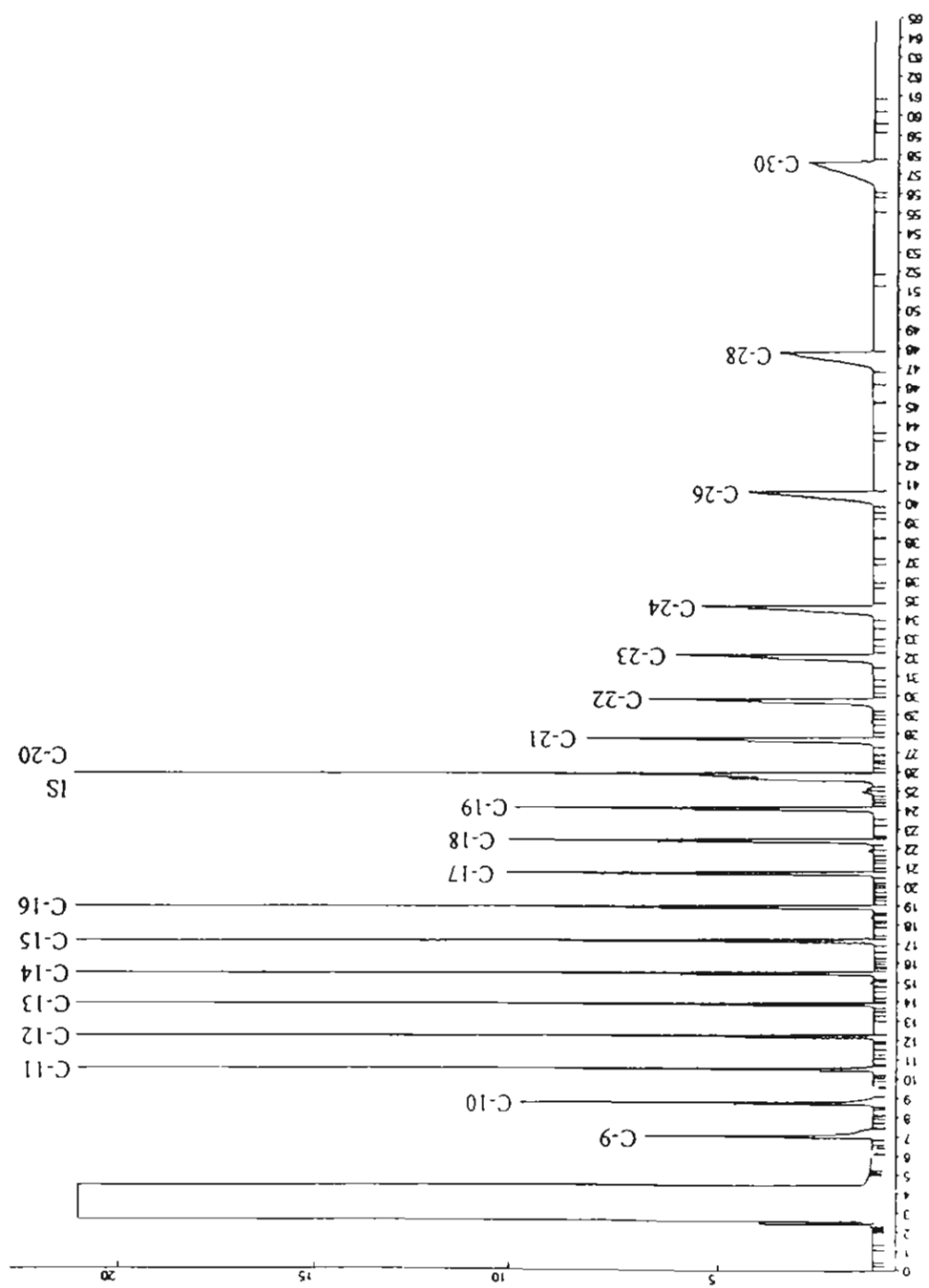
2.3.2 การย่อยสลายน้ำมันดิบ Tapis

Chromatograms ของ mixed standard hydrocarbons และ residual crude oil ของ day 0 แสดงอยู่ในรูปที่ 2-3

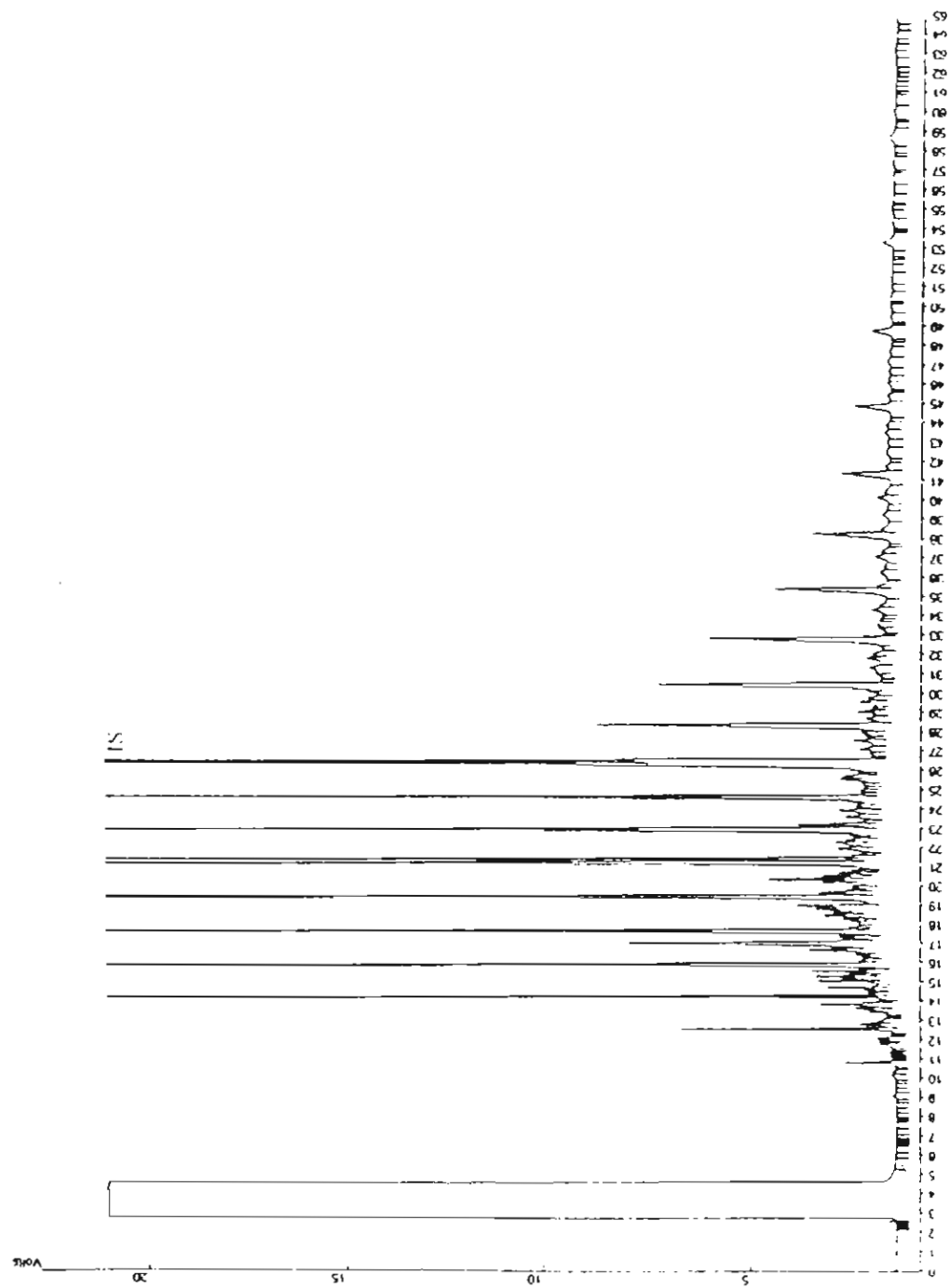
ผลการทดลองของ abiotic removal ของ total hydrocarbons (THC) และ n-alkanes หรือ major peak hydrocarbons (MPH) โดยใช้ GC และ gravimetric method (GM) แสดงอยู่ในตารางที่ 1 และ 2 ตามลำดับ



รูปที่ 1 The growth curve of *Acinetobacter* sp. in MSM containing 0.5% Tapis crude oil.



รูปที่ 2 Chromatograms of mixed standard hydrocarbons.



รูปที่ 3 Chromatograms of residual crude oil at day 0.

ตารางที่ 1 แสดงผลของ abiotic removal ของ THC และ MPH ที่อุณหภูมิ 20° และ 30°
วิเคราะห์ผลโดยใช้ GC

Days	20°		30°	
	THC	MPH	THC	MPH
	(%)	(%)	(%)	(%)
0	0	0	0	0
1	42.84	19.56	33.29	24.84
5	53.17	37.14	44.11	28.63
10	47.52	30.35	56.20	42.55
20	54.17	44.26	51.64	43.91
40	56.53	38.80	65.17	51.48
60	42.30	29.34	47.92	37.77

ตารางที่ 2 แสดงผลของ abiotic removal ของ THC ของ MPH ที่อุณหภูมิ 20° และ 30°
วิเคราะห์ผลโดย gravimetric analysis

Days	20°	30°
	oil removal	oil removal
	from stones (%)	from stones (%)
0	0	0
1	19.99	28.47
5	30.64	32.03
10	36.34	48.83
20	28.66	42.20
40	44.95	47.12
60	46.19	41.24

2.3.3 ผลของอุณหภูมิที่มีต่อการย่อยสลายน้ำมันดิบ โดย *Acinetobacter calcoaceticus*

2.3.3.1 การเปลี่ยนแปลงใน reactor ที่มองเห็นได้

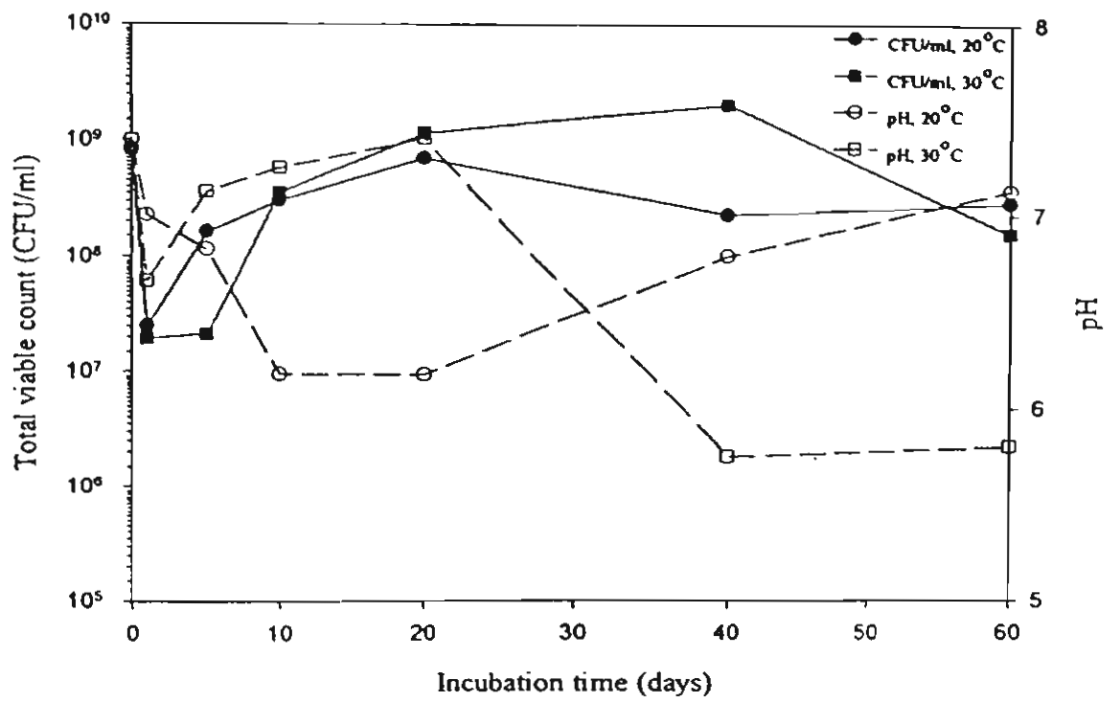
พบว่า ใน reactor ที่มีอุณหภูมิ 30°C มีการเปลี่ยนแปลงของสีของ media ใน reactor เร็วกว่าใน media ที่อุณหภูมิ 20°C โดยพบเห็น biofilm สีขาวๆ รอบๆ ลูกหิน ในวันที่ 40 ของการทดลอง การเปลี่ยนแปลงในอุณหภูมิ 20°C เกิดช้ากว่าที่ 30°C

2.3.3.2 การเติบโตของ *Acinetobacter calcoaceticus* และการเปลี่ยนแปลงของ pH

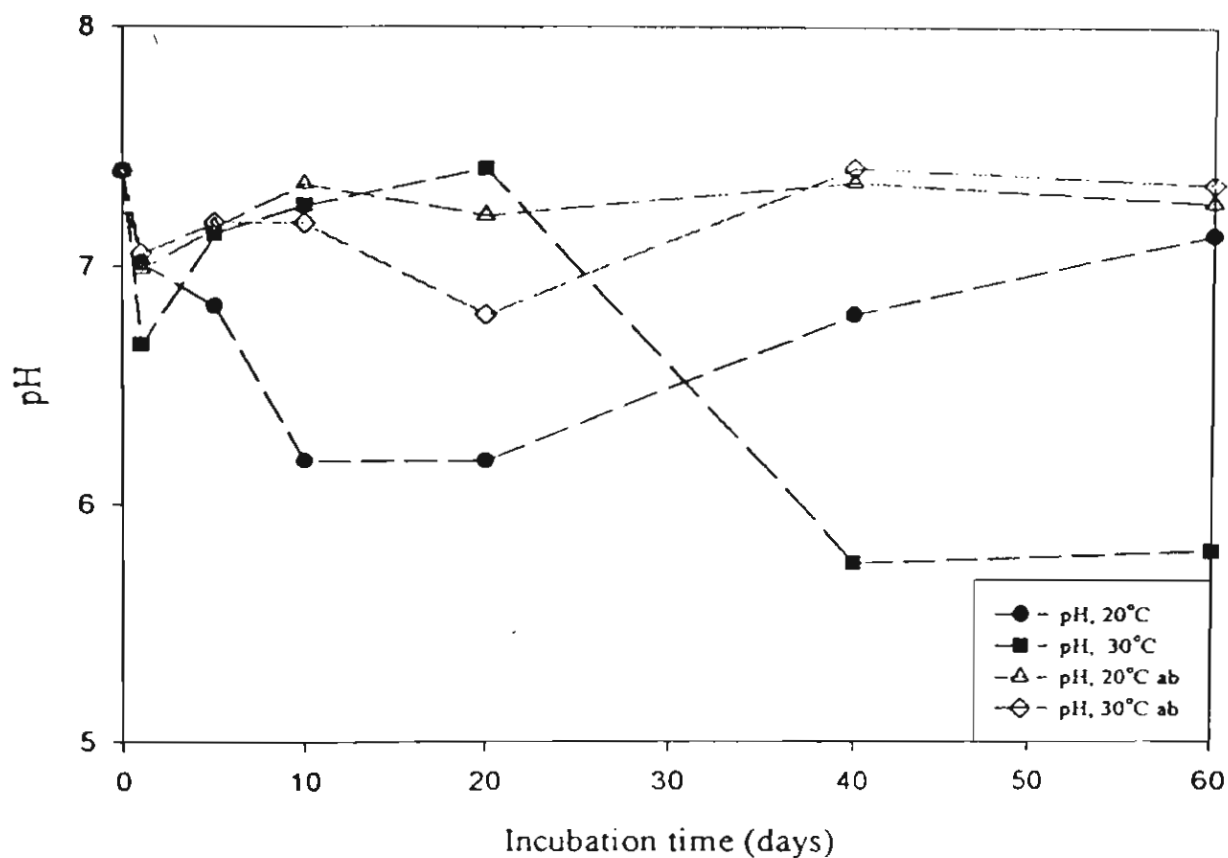
หลังจาก incubation period ของแต่ละ experiment การเติบโตของ *Acinetobacter calcoaceticus* และการเปลี่ยนแปลง pH ในระบบบำบัดในสภาพ biotic และ abiotic เป็นไปตามรูปที่ 4 และ 5 ตามลำดับ

2.3.3.3 การเปรียบเทียบ การย่อยสลายน้ำมันระหว่าง GC และ GM

ได้ทำการเปรียบเทียบเพื่อหาวิธีการที่ง่ายๆ ในการวัดปริมาณการย่อยสลายน้ำมัน เนื่องจากการใช้ GC เป็นวิธีที่เสียเวลาเป็นอย่างมาก แต่ให้ผลค่อนข้างละเอียด ผลของการทดลองระหว่าง GC และ GM แสดงรายละเอียดอยู่ในตารางที่ 3 โดยเป็นการเปรียบเทียบของเปอร์เซ็นต์ของ total oil removal จากตารางที่ 4 พบว่าการใช้ GC สามารถวิเคราะห์การย่อยสลายน้ำมันได้ sensitivity ดีกว่าการใช้ GM มาก ถึงแม้ว่าจะกินเวลามากกว่าก็ตาม



รูปที่ 4 Growth patterns and pH changes of *Acinetobacter calcoaceticus* at the temperatures of 20° and 30° C.



รูปที่ 5 The pH changes under the biotic and abiotic processes at the temperatures of 20° and 30°C.

ตารางที่ 3 เปรียบเทียบการวิเคราะห์ผลการย่อยสลายโดยวิธี Gas Chromatography (GC) และ Gravimetric Method (GM)

Days	20°		30°	
	GC	GM	GC	GM
0	0	0	0	0
1	45.95	26.68	36.32	36.38
5	49.40	38.16	50.26	29.69
10	69.90	44.84	64.19	35.11
20	56.22	43.78	73.13	42.45
40	59.10	42.15	63.43	67.08
60	65.26	46.10	72.48	46.76

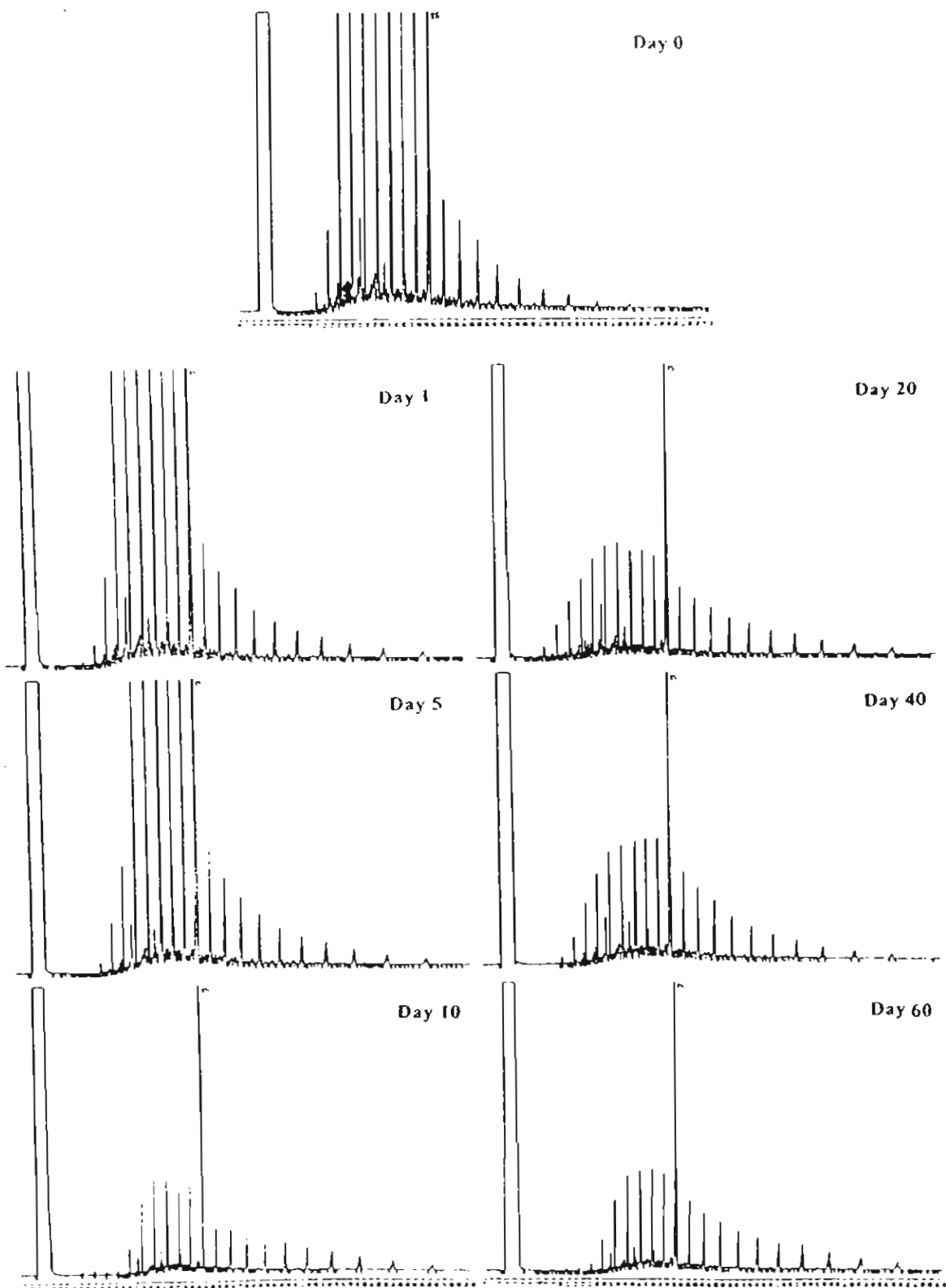
Chromatograms ของการวิเคราะห์ด้วย GC ที่อุณหภูมิ 20° และ 30°ซ แสดงอยู่ในรูปที่ 6 และ 7 การย่อยสลายสูงสุดของอุณหภูมิ 30°ซ เกิดในวันที่ 20 ของการทดลอง อย่างไรก็ตาม มีความแปรปรวนในปริมาณการย่อยสลาย น้ำมันไปตาม Reactor เนื่องจากการทำ experiment แต่ละวันอิสระจากกัน รูปที่ 8 แสดงปริมาณการย่อยสลายน้ำมันทั้ง THC และ n-alkane (MPHC) ที่ อุณหภูมิ 20° และ 30°ซ

2.3.3.4 อัตราการย่อยสลายน้ำมัน

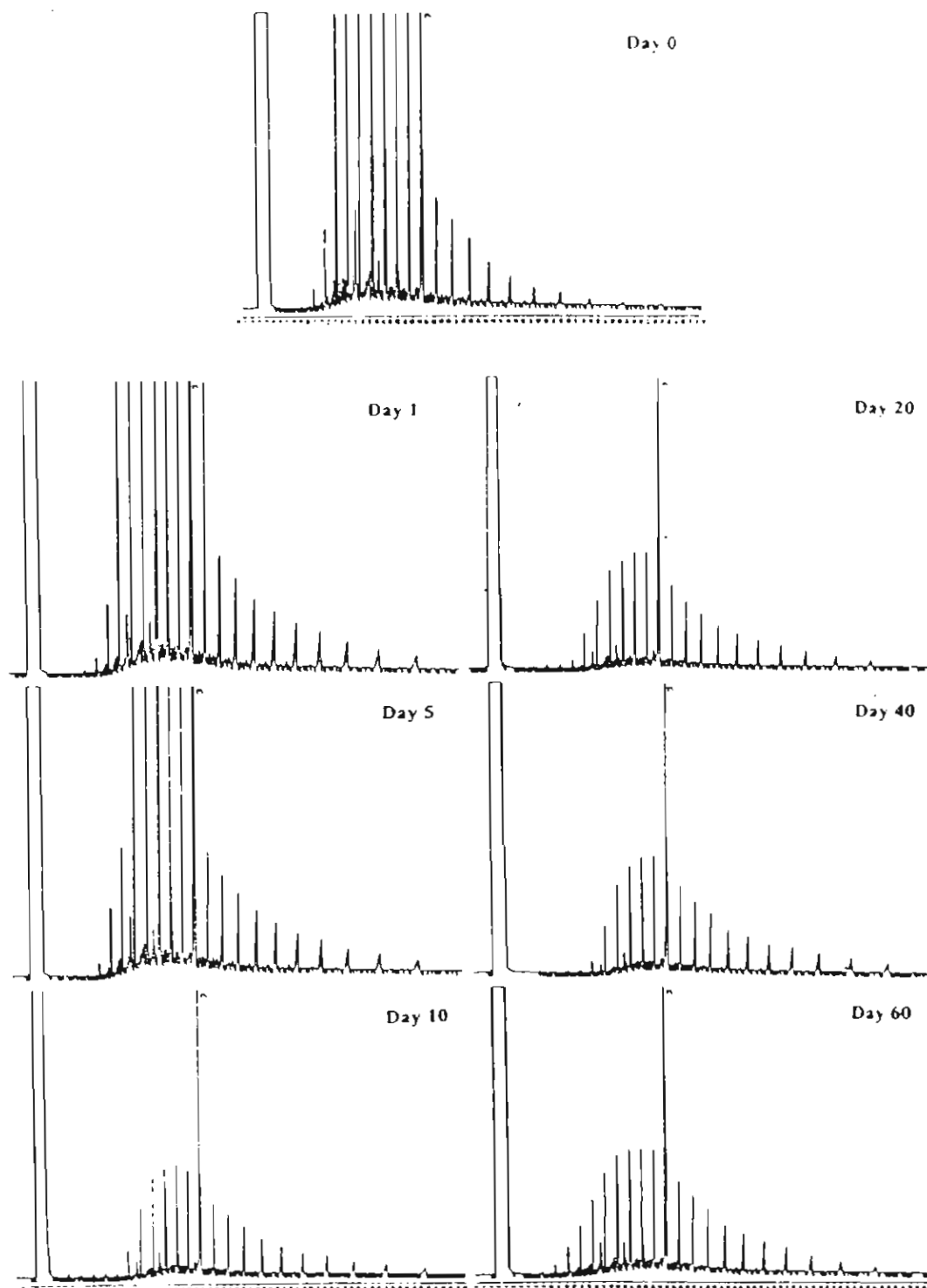
อัตราการย่อยสลายน้ำมันโดยแบคทีเรีย *Acinetobacter calcoaceticus* ที่ 20° และ 30°ซ ได้แสดงไว้ในตารางที่ 4 และรูปที่ 9 จากตารางจะเห็นได้ว่า อัตราย่อยสลายน้ำมันเกิดสูงสุดที่อุณหภูมิ 30°ซ ในวันที่ 1 และอัตราการย่อยสลายจะลดลงตามลำดับ

ตารางที่ 4 ตารางการย่อยสลายน้ำมันต่อหนึ่งหน่วยพื้นที่ ที่อุณหภูมิ 20° และ 30°ซ

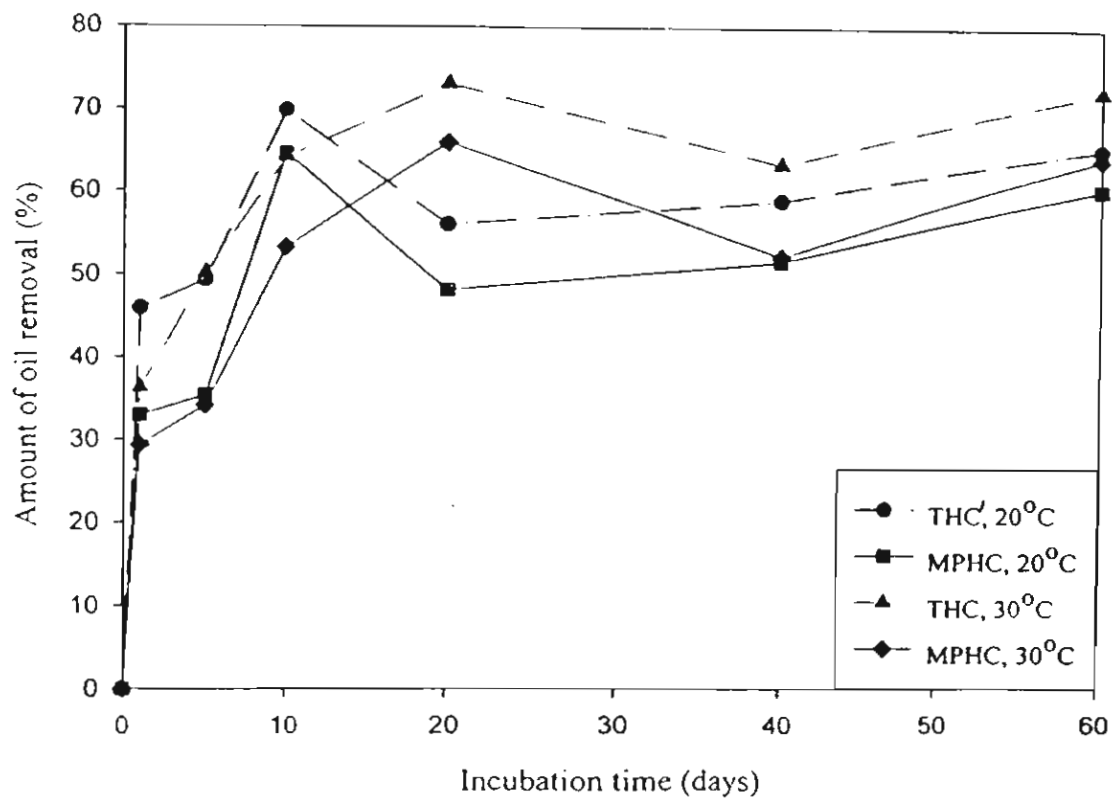
Days	20°		30°	
	Oil removal per surface area (mg/cm ²)	Rate of oil removal per surface area (mg/cm ²)	Oil removal per surface area (mg/cm ²)	Rate of oil removal per surface area (mg/cm ²)
1	22.06	22.06	31.63	31.63
5	33.91	6.78	22.96	4.59
10	31.81	3.18	23.14	2.31
20	33.69	1.63	29.60	1.48
40	29.39	0.73	57.56	1.44
60	43.52	0.72	47.24	0.79



รูปที่ 6 Chromatograms of the residual crude oil after the degradation by *Acinetobacter calcoaceticus* in each reactor incubated at 20°C.



รูปที่ 7 Chromatograms of the residual crude oil after the degradation by *Acinetobacter calcoaceticus* in each reactor incubated at 30°C.



รูปที่ 8 Percentage of oil removal using gas chromatographic analysis (GC) after the degradation at 20°C and 30°C.