

## การฟื้นฟูทางชีวภาพของดินปนเปื้อนน้ำมันผสมโดยสารลดแรงตึงผิวร่วมกับวิธีอื่น

### Bioremediation of mixed-oil contaminated soil by surfactant co-amendments

ปิยาภรณ์ สมสมักร\*, กิตติศักดิ์ จีนาคม, ชัยทัต เชื้อไพบูลย์

Piyapawn Somsamak\*, Kittisak Jeenakom, Chaitad Chuapaiboon

ภาควิชาเทคโนโลยีและการจัดการสิ่งแวดล้อม คณะสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ 10900

Department of Environmental Management and Technology, Faculty of Environment, Kasetsart University, 10900 Thailand.

\* Corresponding author. Email address: fscipys@ku.ac.th

### บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ได้ศึกษาการกระตุ้นการฟื้นฟูดินปนเปื้อนน้ำมันผสมใช้แล้วด้วยวิธีทางชีวภาพ 3 แนวทางได้แก่ การใช้สารลดแรงตึงผิวร่วมกับกลุ่มจุลินทรีย์ที่คัดแยกได้ การใช้สารลดแรงตึงผิวร่วมกับเศษพืช และการใช้สารลดแรงตึงผิวร่วมกับกากตะกอนจุลินทรีย์ ดินตัวอย่างปนเปื้อนน้ำมันผสมใช้แล้ววัดในรูปแบบ Total Petroleum Hydrocarbon (TPH) 1130 มิลลิกรัม/กิโลกรัม การเติมสารลดแรงตึงผิวร่วมกับการเติมกากตะกอน และการเติมสารลดแรงตึงผิวร่วมกับเศษพืชสามารถลด TPH ได้ถึงร้อยละ 80-90 เมื่อเติมปุ๋ยอินทรีย์ร่วมด้วยสามารถลด TPH ได้มากกว่าร้อยละ 95 เทียบกับการใช้สารลดแรงตึงผิวเพียงอย่างเดียวที่ลด TPH เหลือร้อยละ 42 การเติมจุลินทรีย์ย่อยสลายน้ำมันที่คัดเลือกร่วมกับลดแรงตึงผิวให้ผลไม่แตกต่างจากการใช้สารลดแรงตึงผิวเพียงอย่างเดียว การเติมกากตะกอนช่วยเพิ่มจุลินทรีย์และสารอาหารให้แก่ดินเปื้อน อย่างไรก็ตามจุลินทรีย์ท้องถิ่นในดินปนเปื้อนสามารถเพิ่มจำนวนได้เมื่อมีการเพิ่มเศษพืชและธาตุอาหารให้แก่ดิน ส่งผลกระตุ้นการฟื้นฟูดินปนเปื้อนโดยไม่ต้องเติมจุลินทรีย์จากภายนอก

คำสำคัญ: การกระตุ้นจุลินทรีย์, การฟื้นฟูทางชีวภาพ, ดินปนเปื้อนน้ำมัน

### Abstract

In this study, three multi-amendment strategies for biostimulation, namely surfactant with biosolid, surfactant with oil-degrading consortium, and surfactant with green waste, all with or without inorganic fertilizer, were examined for their effectiveness of treating used mixed-oil contaminated soil. The contaminated soil contained 1130 mg kg<sup>-1</sup> hydrocarbon in form of Total Petroleum Hydrocarbon (TPH). Surfactant with biosolid co-amendments and surfactant with green waste co-amendments achieved 80-90% TPH removal. The addition of inorganic fertilizer to those treatments stimulated the TPH removal to 95%, while surfactant single amendment reduced TPH to 42%. Co-addition of oil-degrading consortium with surfactant exhibited no differences to surfactant single amendments. The addition of biosolid increased substrate and bacterial density in soil. However, indigenous microorganisms proliferated in mixed-oil contaminated soil when green waste and nutrients were added, resulting in stimulation of soil remediation without the addition of external microorganisms.

**Keywords:** bioremediation, biostimulation, oil contaminated soil

## คำนำ

การใช้น้ำมันปิโตรเลียมกับเครื่องจักรเครื่องยนต์ทำให้มีน้ำมันปิโตรเลียมในรูปแบบต่างๆ รั่วไหลหรือปนเปื้อนสู่สิ่งแวดล้อม น้ำมันปิโตรเลียมมีสารไฮโดรคาร์บอนเป็นองค์ประกอบหลักแต่น้ำมันเครื่องที่ใช้แล้วก็มี การปนเปื้อนของโลหะหนักด้วย สารประกอบไฮโดรคาร์บอนสามารถสะสมในร่างกายของสิ่งมีชีวิต และถ่ายทอดผ่านห่วงโซ่อาหารได้ สารปนเปื้อนนี้จึงควรถูกกำจัดออกจากสิ่งแวดล้อมอย่างรวดเร็ว โดยวิธีการบำบัดฟื้นฟูที่ถูกต้องและเหมาะสม

เทคโนโลยีการบำบัดและฟื้นฟูทางชีวภาพอาศัยกิจกรรมของจุลินทรีย์ภายใต้สภาวะที่เหมาะสมทำการย่อยสลายมลสารให้มีความเข้มข้นลดลงและได้ผลิตภัณฑ์ที่มีผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมน้อยลง การฟื้นฟูทางชีวภาพนี้เป็นทางเลือกสำหรับพื้นที่ปนเปื้อนน้ำมันปิโตรเลียมที่ความเข้มข้นต่ำถึงปานกลางและเป็นพื้นที่มีความเสี่ยงต่อมนุษย์และระบบนิเวศในระดับที่ไม่สูงมากนัก (Atlas and Philip, 2005) กระบวนการย่อยสลายตามธรรมชาติมักใช้เวลานานและอาจไม่สามารถลดความเข้มข้นจนถึงระดับที่ต้องการได้ จึงได้มีการพัฒนาวิธีเพื่อกระตุ้นจุลินทรีย์และเร่งกระบวนการฟื้นฟู เช่น การเติมจุลินทรีย์ช่วยย่อยสลายหรือ bioaugmentation และการกระตุ้นโดยการเติมสารอินทรีย์หรือ biostimulation เช่น สารลดแรงตึงผิว ธาตุอาหาร อินทรีย์วัตถุ อากาศหรือสารให้ออกซิเจน หรือหลายวิธีร่วมกัน (Molina-Barahona et al., 2004; Suja et al., 2014; Patowarya et al., 2018; Koshlaf et al., 2019; Varjanis and Upasani, 2019; Gielnik et al., 2021) คณะผู้วิจัยได้เคยรายงานผลฟื้นฟูดินปนเปื้อนน้ำมันผสมจากบริเวณโรงงานเกี่ยวกับโลหะ โดยการเติมน้ำยาล้างผ้าเพื่อชะน้ำมันออกจากอนุภาคดินเพื่อให้จุลินทรีย์สามารถย่อยสลายได้ และการเติมกากตะกอนจุลินทรีย์จากระบบบำบัดน้ำเสียซึ่งเป็นแหล่งอาหารและแหล่งจุลินทรีย์ (กิตติศักดิ์, 2557) ซึ่งผลการศึกษาชี้ว่า การกระตุ้นจุลินทรีย์ดินด้วยวิธีเดียวสามารถเพิ่มประสิทธิภาพการฟื้นฟูได้สูงกว่าสภาวะธรรมชาติแต่สามารถกำจัดปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนได้เพียงร้อยละ 50 เท่านั้น ส่วนการกระตุ้นร่วมกันจะเพิ่มประสิทธิภาพการฟื้นฟูเป็นอย่างมาก คณะผู้วิจัยจึงนำผลการศึกษาดังกล่าวมาดัดแปลงออกแบบการศึกษารุ่นนี้โดยใช้สารลดแรงตึงผิวเป็นหลักและทดลองร่วมการเติมอินทรีย์วัตถุและธาตุอาหารโดยเลือกใช้สารเคมีและวัสดุจากในท้องถิ่น ได้แก่ กากตะกอนจุลินทรีย์จากระบบบำบัดน้ำเสีย เศษพืช และปุ๋ยเคมีทางการเกษตร เพื่อเป็นแนวทางในการประยุกต์ใช้ในการฟื้นฟูพื้นที่ปนเปื้อนจริงต่อไป

## อุปกรณ์และวิธีการ

### ดินปนเปื้อน

เก็บดินตัวอย่างมาจากส่วนซ่อมบำรุงรถยนต์ของโรงงานอุตสาหกรรมแห่งหนึ่งในจังหวัดสมุทรปราการ ขนาดพื้นที่ 400 ตารางเมตร มีการปนเปื้อนน้ำมันเครื่องและน้ำมันหล่อลื่นอย่างต่อเนื่องนานกว่า 5 ปี มีลักษณะสีดำเหนียวข้น มีกลิ่นน้ำมันชัดเจน แบ่งพื้นที่เป็น 2×2 เมตร เก็บตัวอย่าง ณ จุดตัด เก็บหน้าดินที่ระดับความลึก 0–30 เซนติเมตร นำดินตัวอย่างผสมรวมกัน ร่อนด้วยตะแกรงขนาด 2 มิลลิเมตรเพื่อกำจัดก้อนหินและเศษไม้ ตัวอย่างดินที่นำมาใช้ในการทดลองในครั้งนี้ ผลการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการเป็นไปตามที่รายงานก่อนหน้านี้ (กิตติศักดิ์, 2557) เนื้อดินเป็นดินทรายปนทรายแข็ง มีค่า C:N:P เท่ากับ 100 : 5.88 : 1.47 ปนเปื้อนน้ำมันในรูป TPH 1130 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ซึ่งเป็นความเข้มข้นปานกลาง pH 9.7 และมีความชื้นต่ำกว่าร้อยละ 20 ความหนาแน่นแบคทีเรียกลุ่ม

เฮเทอโรโทรฟ (Heterotrophic bacteria)  $7.1 \times 10^6$  เอ็มพีเอ็น/กรัม นอกจากนี้ยังมีการตรวจพบโลหะหนักโครเมียม นิกเกิล แคดเมียมและตะกั่ว 893.66, 59.03, 1.14, 199.48 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ตามลำดับ

#### การกระตุ้นจุลินทรีย์ด้วยวิธีต่างๆ

ทำการทดลองในภาคสนามขนาด 32×22×4 เซนติเมตร ใช้ดินตัวอย่าง 500 กรัม (wet weight) ทำการทดลองทั้งสิ้น 12 ชุดการทดลอง ชุดการทดลองอย่างละ 3 ซ้ำ โดยมีชุดการทดลองดังแสดงใน Table 1

**Table 1** Summary of experimental conditions conducted in this study

Treatment	Surfactant addition	Co-amendment	Inorganic nutrient	Remark
1	✓	biosolid	-	
2	✓	biosolid	✓	
3	✓	oil-degrading bacteria	-	
4	✓	oil-degrading bacteria	✓	
5	✓	green waste	-	
6	✓	green waste	✓	
7	-	oil-degrading bacteria	-	
8	-	green waste	-	
9	-	biosolid	-	
10	-	-	✓	
11	✓	-	-	
12	-	-	-	moisture control only

กากตะกอนจุลินทรีย์และเศษพืชเดิมในสัดส่วนร้อยละ 10 โดยน้ำหนัก โดยกากตะกอนจุลินทรีย์ ได้จากระบบบำบัดน้ำเสียแบบตะกอนเร่ง มีค่า C:N เท่ากับ 3.98: 1 ความชื้นร้อยละ 79 ความหนาแน่นแบคทีเรียกลุ่มเฮเทอโรโทรฟ  $7.8 \times 10^9$  เอ็มพีเอ็น/กรัม (กิตติศักดิ์, 2557) เศษพืชได้จากหญ้าและเศษผักใบเขียว หั่นให้มีขนาดไม่เกิน 2.5 เซนติเมตร สารลดแรงตึงผิวใช้น้ำยาล้างจานการค้าความเข้มข้นร้อยละ 20 โดยปริมาตร เดิมในดินตัวอย่าง 10 มิลลิลิตร ธาตุอาหารอินทรีย์ใช้ปุ๋ยยูเรียชนิดเม็ด ให้มีค่า C:N:P เท่ากับ 100: 10: 1.47 จุลินทรีย์บริสุทธิ์แยกมาจากดินปนเปื้อนน้ำมันที่ผ่านการฟื้นฟูแล้วจากการศึกษาครั้งก่อนหน้า (กิตติศักดิ์, 2557) โดยเตรียมหัวเชื้อเข้มข้น  $10^9$  ซีเอฟยู/มิลลิลิตร เดิมหัวเชื้อ 10 มิลลิลิตร ในดินตัวอย่าง ทุกชุดการทดลองจะปรับความชื้นเริ่มต้นให้อยู่ในช่วงร้อยละ 40–60 รักษาความชื้นให้ไม่ต่ำกว่าร้อยละ 40 ตลอด 60 วันของการทดลอง

### การวิเคราะห์ตัวอย่าง

วิเคราะห์สารอินทรีย์ในดินด้วยวิธี Walkley Black modified acid-dichromate digestion,  $\text{FeSO}_4$  titration method (กองวิเคราะห์ดิน, 2540) วิเคราะห์ปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนทั้งหมด (Total petroleum hydrocarbon) ตามวิธีของ Mehraşbi, 2003 โดยเติมโทลูอีน 10 มิลลิลิตร ผสมเบาๆ เพื่อให้ toluene กับดินผสมกันประมาณ 20–40 นาที นำตัวอย่างที่ได้ไปตรวจวัดปริมาณปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนด้วยเครื่อง Uv-spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 420 นาโนเมตร โดยใช้โทลูอีนที่ไม่มีการเติมตัวอย่างดินเป็นแบล็ก วิเคราะห์ปริมาณแบคทีเรียเฮเทอโรโทรบด้วยวิธี Standard plate count ตรวจวัดกิจกรรมเอนไซม์ดีไฮโดรจีเนส ตามวิธี Okuda et al., 2014 โดยชั่งตัวอย่างดิน 5 กรัม เติม 0.1% 2,3,5-triphenyltetrazolium chloride 5 มิลลิลิตร และ 0.2 โมล/ลิตร Tris/HCl buffer (pH 7.6) เขย่าให้สารเป็นเนื้อเดียวกัน 2 นาที จากนั้นบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เติม 1 M  $\text{H}_2\text{SO}_4$  และ โทลูอีน 5 มิลลิลิตร เพื่อหยุดการทำปฏิกิริยา นำตัวอย่างบ่มต่อด้วยเครื่องเขย่าเป็นเวลา 30 นาที นำไปทำการตรวจวัด Dehydrogenase activity ด้วยเครื่อง Uv-spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 484 นาโนเมตร โดยจะแสดงออกเป็นปริมาณของ triphenylformazan

### การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

เปรียบเทียบผลการศึกษาด้วยวิธี One Way Anova ใช้วิธีการเปรียบเทียบเชิงซ้อน ซึ่งอยู่ในกรอบของ equal variances assumed (ค่าแปรปรวนของแต่ละทรีตเมนต์เท่ากัน) เลือกวิธี LSD และ Duncan ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูปทางสถิติ

### ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ผลการศึกษการกระตุ้นจุลินทรีย์ด้วยวิธีเดียวได้แสดงไว้ใน Fig. 1 ชุดควบคุม และชุดเติมธาตุอาหารอนินทรีย์ซึ่งมีประสิทธิภาพในการกำจัดไฮโดรคาร์บอนในรูป TPH ประมาณร้อยละ 5 คาดว่าเป็นผลจากกลไกทางกายภาพ เช่น การระเหยของ TPH เห็นได้ว่าการเพิ่มธาตุอาหารอนินทรีย์เพียงอย่างเดียวไม่สามารถเพิ่มประสิทธิภาพการฟื้นฟูได้ ทั้งนี้ธาตุอาหารอาจไม่ใช่ปัจจัยจำกัดสำหรับการศึกษานี้หรือปัจจัยอื่นมีอิทธิพลต่อการทำงานของจุลินทรีย์มากกว่า

ชุดเติมกากตะกอนจุลินทรีย์มีไฮโดรคาร์บอนในรูป TPH คงเหลือร้อยละ 42 ไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับชุดเติมสารลดแรงตึงผิว ส่วนชุดเติมเศษพืชมี TPH คงเหลือร้อยละ 64 แม้ประสิทธิภาพการกำจัด TPH จะใกล้เคียงกัน แต่รูปแบบการลดลงของ TPH ของชุดเติมสารลดแรงตึงผิวแตกต่างจากชุดเติมเศษพืชและชุดเติมกากตะกอนจุลินทรีย์โดยสิ้นเชิง โดย TPH ในชุดเติมสารลดแรงตึงผิว ลดลงอย่างรวดเร็วในช่วง 3–7 วันแรกแล้วค่อยลดลงอย่างต่อเนื่อง จนเหลือเพียงร้อยละ 40 ในวันที่ 20 ของการทดลอง หลังจากนั้น TPH มีค่าคงที่ ส่วน TPH ของชุดเติมเศษพืชและชุดเติมกากตะกอนจุลินทรีย์ลดลงช้าๆอย่างต่อเนื่องจนสิ้นสุดการทดลอง ผลการทดลองบ่งชี้ว่ากลไกการกระตุ้นการฟื้นฟูของสารลดแรงตึงผิวแตกต่างจากกลไกการกระตุ้นของเศษพืชและกากตะกอน ทั้งนี้สารลดแรงตึงผิวจะไฮโดรคาร์บอนออกมาจากอนุภาคดินและเพิ่มการละลายของไฮโดรคาร์บอนมากขึ้น (Patowarya et al., 2018) ทำให้อัตราการกำจัด TPH เป็นไปอย่างรวดเร็วในช่วงแรก อย่างไรก็ตามการย่อยสลายกลับหยุดลงในช่วงหลังแสดงว่ายังมีปัจจัยจำกัดอื่นอยู่ การเติมเศษพืชและกากตะกอนจุลินทรีย์ลงไปดินปนเปื้อนทำให้สารประกอบ

ไฮโดรคาร์บอนที่ปนเปื้อนเชื้อจาก และปรับลักษณะทางกายภาพของดินปนเปื้อน (Molina-Barahona et al., 2004) อีกทั้งเป็นการเพิ่มอินทรีย์วัตถุที่ย่อยสลายได้ลงในดินปนเปื้อน ซึ่งให้เห็นว่าอินทรีย์วัตถุซึ่งเป็นอาหารสำหรับ จุลินทรีย์ในดินมีต่ออัตราการย่อยสลาย นอกจากนี้การเติมกากตะกอนจุลินทรีย์ยังเป็นการเพิ่มจำนวนจุลินทรีย์ เริ่มต้นในระบบด้วย (Varjanis and Upasani, 2019)

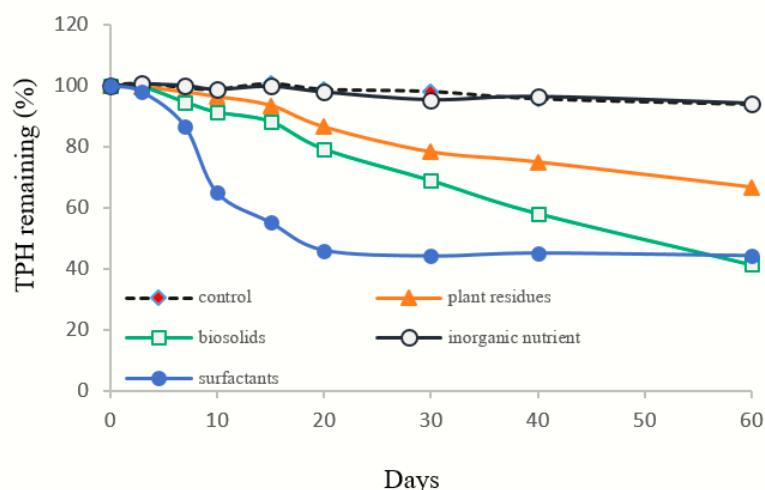


Fig. 1 TPH remaining profiles for single amendment treatment

การกระตุ้นจุลินทรีย์ร่วมหลายวิธีใช้สารลดแรงตึงผิวเป็นสารกระตุ้นหลักและใช้ร่วมกับการกระตุ้นวิธีอื่นๆ จากผลการศึกษาที่แสดงไว้ใน Fig. 2 ชุดเติมสารลดแรงตึงผิวร่วมกับกากตะกอนจุลินทรีย์ และชุดเติมสารลดแรงตึงผิวร่วมกับกากตะกอนจุลินทรีย์และธาตุอาหารอนินทรีย์มีประสิทธิภาพการบำบัดดินปนเปื้อนมากกว่าร้อยละ 95 ภายในเวลาเพียง 20 วัน แสดงว่าชุดการทดลองดังกล่าวสามารถลดอิทธิพลของปัจจัยจำกัดได้อย่างสมบูรณ์ นั่นคือจะน้ำมันที่ปนเปื้อนออกมาจากอนุภาคดิน และสามารถย่อยสลายน้ำมันนั้นได้เกือบทั้งหมด แสดงว่ากากตะกอนการเพิ่มจำนวนและความหลากหลายทางชีวภาพของจุลินทรีย์เริ่มต้นและการเพิ่มอินทรีย์คาร์บอนที่ย่อยสลายได้ง่ายตลอดจนธาตุอาหารที่จำเป็นลงไปดินเป็นการกระตุ้นจุลินทรีย์และส่งเสริมให้มีการเพิ่มจำนวนจุลินทรีย์ที่ย่อยสลายไฮโดรคาร์บอนเมื่อใช้ร่วมกับการเติมสารลดแรงตึงผิวจึงทำให้เกิดการฟื้นฟูอย่างมีประสิทธิภาพสูงสุด

ชุดเติมเศษพืชร่วมกับสารลดแรงตึงผิวและธาตุอาหารอนินทรีย์มีประสิทธิภาพในการกำจัด TPH มากกว่าร้อยละ 90 ซึ่งไม่มีความแตกต่างทางสถิติจากชุดเติมกากตะกอน ส่วนชุดเติมเศษพืชร่วมกับสารลดแรงตึงผิวก็มีประสิทธิภาพในการกำจัด TPH มากกว่าร้อยละ 80 มีความแตกต่างทางสถิติจากชุดการทดลองทั้งสามชุดที่กล่าวแล้ว อย่างไรก็ตามการทดลองชุดนี้แสดงให้เห็นว่า จุลินทรีย์ท้องถิ่นสามารถฟื้นฟูดินปนเปื้อนได้อย่างมีประสิทธิภาพภายใต้สภาวะที่เหมาะสม การเติมเศษพืชช่วยเพิ่มอินทรีย์วัตถุ อีกทั้งเมื่อจุลินทรีย์ย่อยสลายเศษพืชเพื่อการเจริญเติบโตเป็นการเพิ่มจำนวนจุลินทรีย์และความหลากหลายทางชีวภาพคล้ายกับการทำปุ๋ยหมัก (Molina-Barahona et al., 2004) ส่วนการเติมจุลินทรีย์บริสุทธิ์ที่คัดเลือกได้จากตัวอย่างดินที่ผ่านการฟื้นฟูมาแล้วกลับไม่มีประสิทธิภาพแม้ว่าจะมีการเติมธาตุอาหารอนินทรีย์ร่วมด้วย ส่วนหนึ่งอาจเกิดจากจุลินทรีย์เริ่มต้นที่เดิมมีปริมาณไม่เหมาะสม สาเหตุอีกประการหนึ่งคือสภาวะของดินปนเปื้อนไม่ส่งเสริมการดำรงชีวิตและเพิ่มจำนวนของ

จุลินทรีย์ที่เติมลงไปโดยเฉพาะการขาดอินทรีย์วัตถุที่เป็นอาหารสำหรับจุลินทรีย์ ทำให้ผลการฟื้นฟูใกล้เคียงกับชุดการทดลองที่เติมสารลดแรงตึงผิวเพียงอย่างเดียว

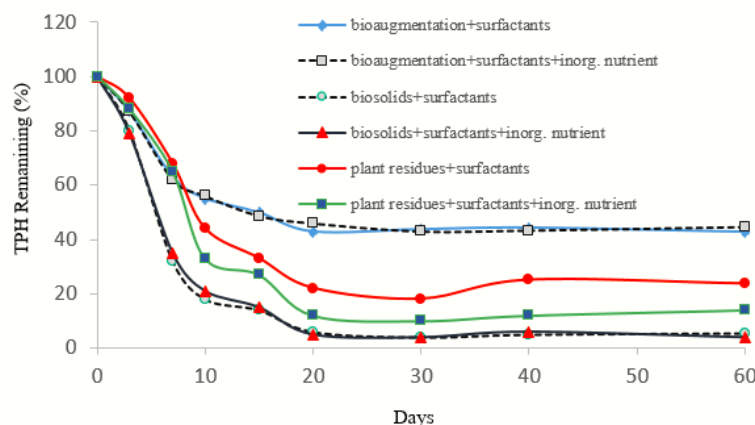
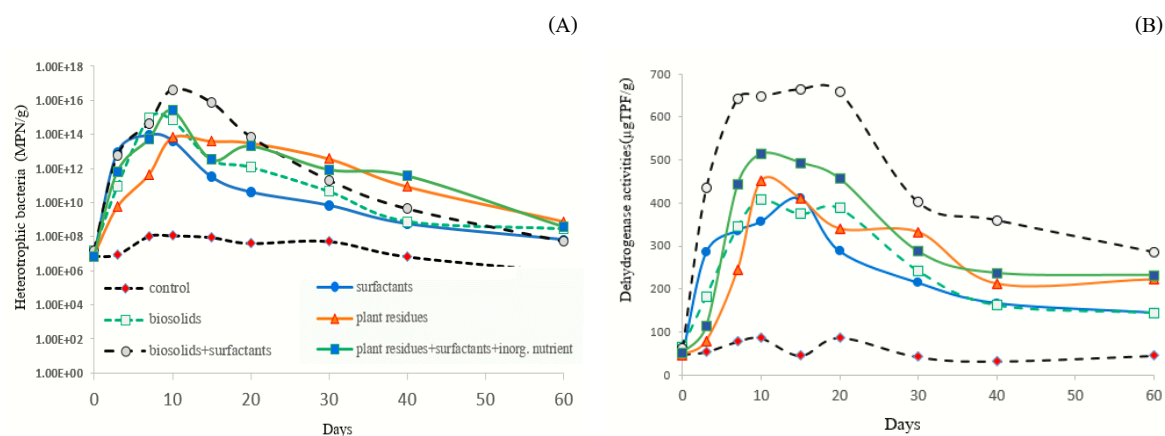


Fig. 2 TPH remaining profiles for surfactant and co-amendments

แบคทีเรียเฮเทอโรโทรปเป็นกลุ่มแบคทีเรียที่ใช้สารอินทรีย์เป็นแหล่งอาหารและแหล่งพลังงาน แบคทีเรียกลุ่มนี้จะเพิ่มจำนวนเมื่อได้รับสับสเตรทและมีจำนวนลดลงเมื่อสับสเตรทหมดไป การเติมกากตะกอนจุลินทรีย์เป็นการเติมทั้งจุลินทรีย์และสับสเตรท ดังนั้นจึงทำให้แบคทีเรียเฮเทอโรโทรปเพิ่มขึ้นสูงสุด (Fig. 3A) การเพิ่มจำนวนของแบคทีเรียท้องถิ่นอันเป็นผลจากการกระตุ้นสามารถเห็นได้ชัดเจนในชุดการทดลองเติมสารลดแรงตึงผิวเพียงอย่างเดียว การเพิ่มขึ้นของแบคทีเรียเฮเทอโรโทรปอย่างรวดเร็วเป็นผลมาจากปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนที่ถูกสารลดแรงตึงผิวชะออกมากลายเป็นสับสเตรทให้จุลินทรีย์ในดิน การเติมเศษพืชเพียงอย่างเดียวแม้จะทำให้แบคทีเรียเพิ่มขึ้นช้ากว่าชุดการทดลองที่เติมสารลดแรงตึงผิวหรือกากตะกอน แต่ชุดการทดลองเติมเศษพืชจะสามารถรักษาความหนาแน่นแบคทีเรียเฮเทอโรโทรปในระดับสูงได้นานกว่าชุดการทดลองเติมกากตะกอนหรือสารลดแรงตึงผิวเพียงอย่างเดียว อย่างไรก็ตาม การเพิ่มขึ้นของแบคทีเรียเฮเทอโรโทรปตอบสนองการเพิ่มขึ้นของคาร์บอนสับสเตรทซึ่งจุลินทรีย์จำนวนหนึ่งอาจไม่มีความเกี่ยวข้องกับการย่อยสลายสารปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนที่ปนเปื้อนในดินโดยตรงดังจะเห็นได้จากความหนาแน่นของแบคทีเรียเฮเทอโรโทรปของชุดการทดลองกากตะกอนจุลินทรีย์ เศษพืช เศษพืชร่วมกับสารลดแรงตึงผิวร่วมกับธาตุอาหารอินทรีย์มีค่าใกล้เคียงกัน

กิจกรรมเอนไซม์ดีไฮโดรจีเนสเป็นพารามิเตอร์ที่นิยมใช้ในการบอกระดับการตอบสนองการฟื้นฟูพื้นที่ปนเปื้อนโดยจุลินทรีย์ กิจกรรมเอนไซม์ดีไฮโดรจีเนสมีความสูงระหว่างวันที่ 7-20 ของการทดลองซึ่งสอดคล้องกับช่วงเวลาที่มีการลดลงของ TPH มากที่สุด (Fig. 3B) การแสดงออกของกิจกรรมเอนไซม์ดีไฮโดรจีเนสสามารถให้ข้อมูลในภาพ รวมถึงการตอบสนองของจุลินทรีย์ที่มีต่อการกระตุ้นแต่ละวิธีจึงมีเพียงชุดควบคุมที่มีการแสดงออกของเอนไซม์ดีไฮโดรจีเนสในระดับต่ำตลอดการทดลอง ส่วนชุดเติมกากตะกอนร่วมกับสารลดแรงตึงผิวเป็นชุดการทดลองที่มีประสิทธิภาพการฟื้นฟูสูงมากกว่าร้อยละ 90 และมีระดับกิจกรรมเอนไซม์ดีไฮโดรจีเนสสูงกว่าชุดการทดลองอื่นอย่างชัดเจน



**Fig. 3** Density of heterotrophic bacteria (A) and dehydrogenase activities (B) of selected treatments

## สรุป

พื้นที่ปนเปื้อนน้ำมันในระดับความเข้มข้นที่ไม่สูงมากพบได้ทั่วไปทั้งในเขตชุมชนและโรงงานอุตสาหกรรม ในการฟื้นฟูพื้นที่ดังกล่าว คณะผู้วิจัยจึงเน้นกระบวนการย่อยสลายโดยจุลินทรีย์ที่มีค่าใช้จ่ายต่ำกว่าและไม่ส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม ในสภาวะที่ศึกษาการทดลองที่มีการเติมสารลดแรงตึงผิวร่วมกับการกระตุ้นจุลินทรีย์วิธีอื่นสามารถกระตุ้นการฟื้นฟูได้สูงกว่าการบำบัดด้วยวิธีเดียว เพราะสามารถเพิ่มความสามารถเข้าถึงมลสารของจุลินทรีย์และสร้างสภาวะที่สนับสนุนการดำรงชีวิตและเพิ่มจำนวนของจุลินทรีย์ที่ทำหน้าที่ย่อยสลาย ในการศึกษาการใช้สารลดแรงตึงผิวในรูปน้ำยาล้างจานทางการค้าความเข้มข้นร้อยละ 20 ปริมาตร 10 มล. ร่วมกับการเติมกากตะกอนในสัดส่วนร้อยละ 10 น้ำหนักเปียกของดินบำบัดได้สูงถึงร้อยละ 95 การใช้สารลดแรงตึงผิวร่วมกับเศษพืชในสัดส่วนร้อยละ 10 น้ำหนักเปียกของดินบำบัดได้ร้อยละ 80 โดยการเติมธาตุอาหารอินทรีย์ในชุดเศษพืชเพิ่มประสิทธิภาพของบำบัดได้เป็นร้อยละ 90 การทดลองนี้ยังแสดงให้เห็นว่าในสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญและเพิ่มจำนวนของจุลินทรีย์ท้องถิ่นสามารถฟื้นฟูดินปนเปื้อนได้อย่างมีประสิทธิภาพโดยไม่ต้องเติมจุลินทรีย์จากภายนอกแต่อย่างใด

## กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากสถาบันวิจัยและพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ปีงบประมาณ 2558

## เอกสารอ้างอิง

กิตติศักดิ์ จินาคม. 2557. การเพิ่มประสิทธิภาพการบำบัดทางชีวภาพของดินปนเปื้อนน้ำมันเครื่องโดยการเติมกากชีวภาพและสารลดแรงตึงผิว. วิทยานิพนธ์ระดับปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

- กองวิเคราะห์ดิน. 2540. คุณสมบัติทางกายภาพและเคมีดินกับการวิเคราะห์ดินในห้องปฏิบัติการ. กรมพัฒนาที่ดิน, กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กรุงเทพฯ.
- Atlas, R.M., Philp, J.C. 2005. Bioremediation: Applied microbial solutions for real-world environmental cleanup. ASM press, Washington DC, USA.
- Gielnik, A., Pechaud, Y., Huguenot, D., C'ebren, A., Esposito, G., Hullebusch, E. 2021. Functional potential of sewage sludge digestate microbes to degrade aliphatic hydrocarbons during bioremediation of a petroleum hydrocarbons contaminated soil. J. Environ. Management 280: 111648.  
doi.org/10.1016/j.jenvman.2020.111648
- Koshlaf E., Shahsavari, E., Haleyur, N., Osborn, A., Ball., A.S. 2019. Effect of biostimulation on the distribution and composition of the microbial community of a polycyclic aromatic hydrocarbon-contaminated landfill soil during bioremediation. Geoderma 338: 216–225.
- Mehrasbi, M., Haghighi, B., Shariat, M., Naseri, S., Naddafi, K. 2003. Biodegradation of petroleum hydrocarbons in soil. Iran J. Public Health. 32: 28–32.
- Molina-Barahona, L., Rodriguez-Vaquez, R., Hernandez-Velasco, M., Vega-JarQuin, C., Zapata-Paez, O., Mendoza Cantuand, A., Albores, A. 2004. Diesel removal from contaminated soil by biostimulation and supplement with crop residues. Appl. Soil Ecol. 27: 165–175.
- Patowarya, R., Patowarya, K., Kalitab, M., Deka, S. 2018. Application of biosurfactant for enhancement of bioremediation process of crude oil contaminated soil. Int. Biodeter. Biodegr. 129: 50–60.
- Suja, F., Rahim, F., Taha, M.R., Hambali, N., Razali, M.R., Khalid, A., Hamzah, A. 2014. Effects of local microbial bioaugmentation and biostimulation on the bioremediation of total petroleum hydrocarbons (TPH) in crude oil contaminated soil based on laboratory and field observations. Int. Biodeter. Biodegr. 90: 115–122.
- Varjani, S., Upasani, V.N. 2019. Influence of abiotic factors, natural attenuation, bioaugmentation and nutrient supplementation on bioremediation of petroleum crude contaminated agricultural soil. J. Environ. Management 245: 358–366.