

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์ การคัดกรองแบคทีเรียที่ผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจากหลุม
เจาะน้ำมัน ศูนย์พัฒนาปิโตรเลียมภาคเหนือ จังหวัดเชียงใหม่

ผู้เขียน นายธนชัย เพ็ชรรัตน์

ปริญญา วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (จุลชีววิทยาประยุกต์)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สกุณฉวี บวรสมบัติ

บทคัดย่อ

Microbial enhanced oil recovery หรือ MEOR เป็นวิธีการขุดตักปิโตรเลียมที่ถูกนำมาใช้ในการเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตน้ำมันดิบที่ยังคงหลงเหลืออยู่ หลังจากการผลิตขั้นปฐมภูมิและขั้นทุติยภูมิ ซึ่งมีปริมาณถึงสองในสาม กระบวนการ MEOR มีสารลดแรงตึงผิวชีวภาพเป็นสารสำคัญทำหน้าที่ลดแรงตึงผิวของของเหลว ส่งผลให้น้ำกับน้ำมันดิบสามารถรวมตัวกัน ทำให้น้ำมันดิบเคลื่อนตัวได้ดีขึ้น การวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อคัดกรองแบคทีเรียประจำถิ่นที่สามารถสร้างสารลดแรงตึงผิวชีวภาพได้ โดยใช้ตัวอย่างทรายน้ำมันจากศูนย์พัฒนาปิโตรเลียมภาคเหนือที่ระดับความลึก 2,080 – 2,490 ฟุต จำนวน 18 ตัวอย่าง และดินปนเปื้อนน้ำมันดิบบริเวณปากหลุมเจาะจำนวน 3 ตัวอย่าง ค่าความเป็นกรด-ด่างของตัวอย่างอยู่ระหว่าง 5.5-6.1 อุณหภูมิหลุมเจาะ 69-78 องศาเซลเซียส เมื่อนำตัวอย่างมาหาปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดโดยใช้วิธี pour plate และคัดแยกแบคทีเรียโดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อที่แตกต่างกัน 4 ชนิด ได้แก่ nutrient broth, half nutrient broth, soil extract และ tryptic soy broth บ่มที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 7 วัน พบว่าปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดเป็น 1.03×10^6 - 3.73×10^8 cfu/g สามารถคัดแยกเชื้อบริสุทธิ์ได้ 60 ไอโซเลท เป็นแกรมบวก รูปแท่ง 42 เปอร์เซ็นต์ เป็นแบคทีเรียแกรมบวก รูปแท่ง และมีเอนโดสปอร์ 35 เปอร์เซ็นต์ เป็นแบคทีเรียแกรมแปรผัน รูปแท่ง 8 เปอร์เซ็นต์ เป็นแบคทีเรียแกรมแปรผัน รูปแท่ง และสร้างเอนโดสปอร์ 13 เปอร์เซ็นต์ และเป็นแบคทีเรียแกรมลบ รูปแท่ง 2 เปอร์เซ็นต์ เมื่อนำไปทดสอบการสร้าง

สารลดแรงตึงผิวชีวภาพด้วยวิธี drop-collapse พบแบคทีเรียที่สร้างสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ 3 ไอโซเลท ได้แก่ 18^T-04-3, 23^T-01-3 และ 23^T-03-3 เมื่อระบุสายพันธุ์โดยใช้ชุดทดสอบมาตรฐาน API 50 CHE และ 16S rRNA sequencing พบว่าทั้ง 3 ไอโซเลทเป็น *Bacillus licheniformis* ได้นำแบคทีเรียนี้ไปเป็นแม่แบบเปรียบเทียบความหลากหลายของประชากรแบคทีเรียในทรายน้ำมันโดยวิธี PCR-DGGE จากผลของการศึกษาประเมินได้ว่าเป็นไปได้ในการใช้แบคทีเรียประจำถิ่นในการทำ MEOR ของแหล่งน้ำมันศูนย์พัฒนาปิโตรเลียมภาคเหนือ

Thesis Title Screening of Biosurfactant Producing Bacteria from Oil Reservoir of Northern Petroleum Development Center, Chiang Mai Province

Author Mr.Thanachai Phetcharat

Degree Master of Science (Applied Microbiology)

Thesis Advisor Assistant Professor Dr.Sakunnee Bovonsombut

Abstract

Microbial enhanced oil recovery (MEOR) is a tertiary recovery method used to increase the efficiency of oil recovery from the remaining two-thirds residue oil in the reservoirs after the primary and secondary recoveries. Biosurfactants are important substances in MEOR. The biosurfactants reduce surface tension between aqueous solutions and hydrocarbon mixtures causing the crude oil to mix with water and improve the mobility of the crude oil. The aim of this research was to screen for the local biosurfactant-producing bacteria from oil reservoir of Northern Petroleum Development Center. Eighteen samples of oil sand at the depth of 2080-2490 feet and tree samples of contaminated petroleum soil were collected from Northern Petroleum Development Center. The pH of the samples was 5.5 – 6.1. The temperature at the depth of sampling was 69 – 78 °C. Total bacterial count was done on nutrient agar. Four media: nutrient broth, half nutrient broth, soil extract and tryptic soy broth were used for screening of bacteria from oil sand samples by incubation at 50 °C for 7 days. Total bacterial count was 1.03×10^6 - 3.73×10^8 cfu/g. Sixty pure cultures were isolated. Thirty-five percent was gram positive rod, forty-two percent was gram positive rod with endospore, eight percent was gram variable rod,

thirteen percent was gram variable rod with endospore and two percent was gram negative rod. The Drop-collapse method was used for detecting biosurfactants. Three isolates, 18^T-04-3, 23^T-01-3 and 23^T-03-3 were found to produce biosurfactants and were identified by API and 16S rRNA sequencing. They were found to be *Bacillus licheniformis* and were used as reference template for bacterial community in oil sand by PCR-DGGE. The result from this study indicated that indigenous bacteria of oil reservoir of Northern Petroleum Development Center may be used for MEOR process.