

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์	การศึกษาประชากรแบคทีเรียจากหลุมเจาะน้ำมันศูนย์พัฒนาปิโตรเลียมภาคเหนือด้วยเทคนิคดีจีจีอี
ผู้เขียน	นางสาววิภา ชูช่วย
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (จุลชีววิทยาประยุกต์)
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สกฤษณี บวรสมบัติ

บทคัดย่อ

Microbial enhanced oil recovery (MEOR) เป็นกระบวนการเพิ่มปริมาณน้ำมันดิบจากหินกักเก็บน้ำมันโดยใช้จุลินทรีย์หรือผลิตภัณฑ์จากจุลินทรีย์ ซึ่งอาจทำได้ทั้งการเติมจุลินทรีย์หรือใช้การกระตุ้นจุลินทรีย์ประจำถิ่นโดยการเติมสารอาหารลงไปซึ่งเป็นวิธีที่มีต้นทุนต่ำ สามารถเห็นผลได้ในระยะยาว ดังนั้นวัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้เพื่อศึกษาประชากรจุลินทรีย์จากตัวอย่างทรายน้ำมันโดยใช้เทคนิค Denaturing Gradient Gel Electrophoresis (DGGE) เพื่อดูความเป็นไปได้ในการใช้สารอาหารกระตุ้นการเจริญของจุลินทรีย์ที่มีผลต่อกระบวนการ MEOR โดยนำตัวอย่างทรายน้ำมันบริเวณหลุมขุดเจาะของศูนย์พัฒนาปิโตรเลียมภาคเหนือ อำเภอลำปาง จังหวัดเชียงใหม่ มาสกัดดีเอ็นเอโดยเปรียบเทียบวิธีการสกัด 3 วิธีคือ วิธี protinase K, glass bead และ glass bead กับ phenol และปรับสภาพตัวอย่างทรายน้ำมันเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการสกัดดีเอ็นเอ จากนั้นเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยวิธี Polymerase Chain Reaction (PCR) โดยใช้ไพรเมอร์ V3R, V3F และ V3F-GC วิเคราะห์ความหลากหลายของแบคทีเรียโดยใช้เทคนิค DGGE และเปรียบเทียบดีเอ็นเอของแบคทีเรียที่สร้างสารลดแรงตึงผิวทางชีวภาพ พบว่าการสกัดดีเอ็นเอที่ใช้ glass bead ให้ปริมาณดีเอ็นเอมากที่สุด และพบว่าการปรับสภาพตัวอย่างทรายน้ำมันด้วยน้ำกลั่นฆ่าเชื้อ ทำให้สกัดดีเอ็นเอได้ง่ายขึ้นและเห็นความหลากหลายของแบคทีเรียมากที่สุด จากการทำ PCR พบว่าสภาวะที่เหมาะสมคือ 94°C 4 นาที, 94°C 30 วินาที; 59°C 30 วินาที; 72°C 30 วินาที (30 รอบ), 72°C 10 นาที จากการวิเคราะห์ความหลากหลายของแบคทีเรียโดยทำ DGGE ที่ acrylamide gel 10% และความเข้มข้นของสาร denaturant (urea และ formamide) ที่ 25-50% พบว่าประชากรจุลินทรีย์มีความหลากหลายถึง 22 กลุ่ม โดยมี

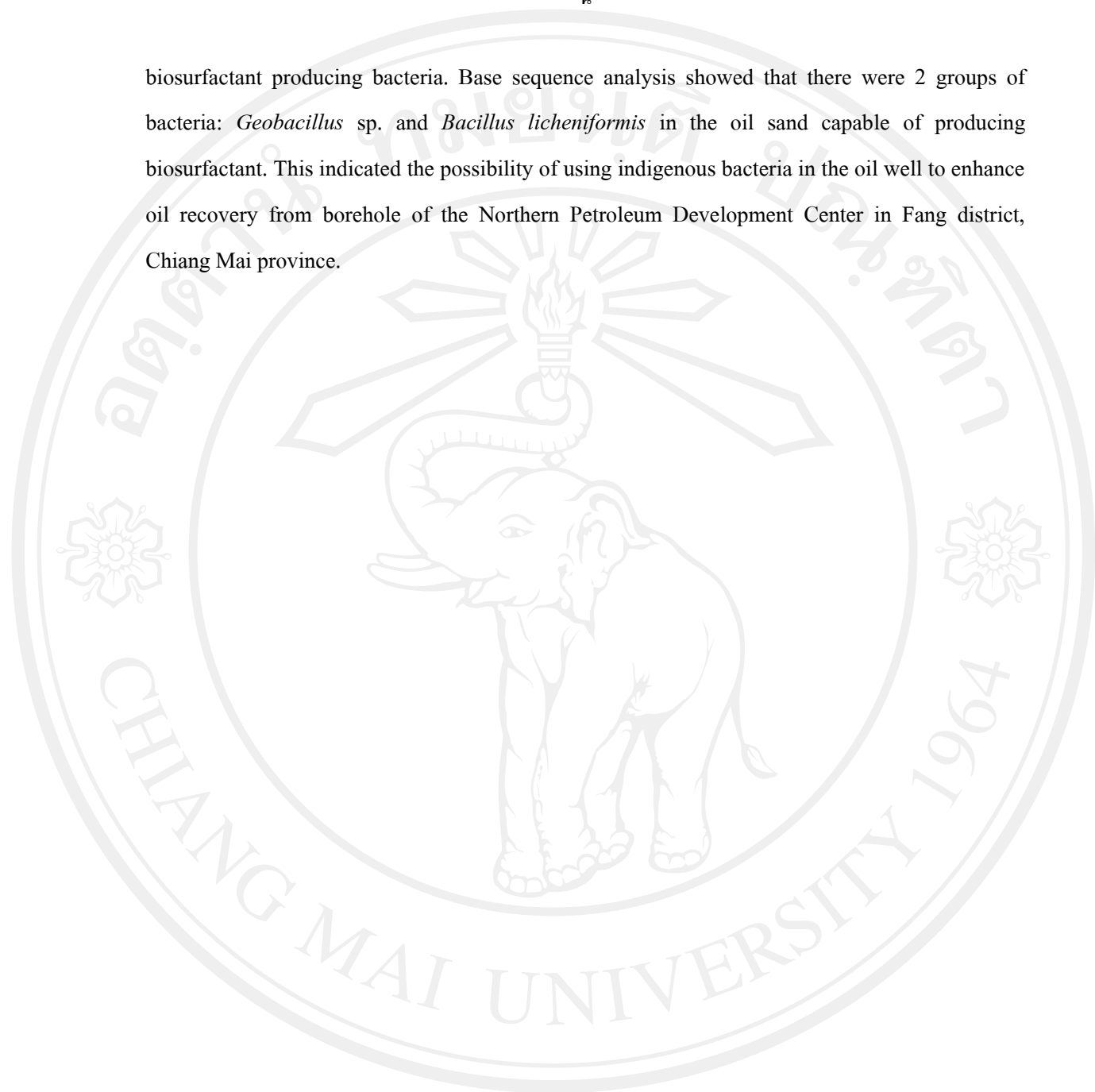
แบคทีเรียอย่างน้อย 4 กลุ่มที่มีความสัมพันธ์กับแบคทีเรียที่ผลิตสารลดแรงตึงผิวทางชีวภาพ จากการวิเคราะห์ลำดับเบสพบว่ามีแบคทีเรียกลุ่ม *Geobacillus sp.* และ *Bacillus licheniformis* ในทรายน้ำมัน ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่สร้างสารลดแรงตึงผิวทางชีวภาพ แสดงให้เห็นถึงความเป็นไปได้ในการใช้แบคทีเรียที่มีอยู่ตามธรรมชาติในหลุมขุดเจาะเพื่อเพิ่มปริมาณผลผลิตน้ำมันบริเวณหลุมเจาะน้ำมันดิบศูนย์พัฒนาปิโตรเลียมภาคเหนือ อำเภอฝาง จังหวัดเชียงใหม่

Thesis Title	Bacterial Population Study from Oil Well of Northern Petroleum Development Center by DGGE Technique
Author	Miss Paweena Choochuay
Degree	Master of Science (Applied Microbiology)
Thesis Advisor	Asst. Prof. Dr.Sakunnee Bovonsombut

ABSTRACT

Microbial enhanced oil recovery (MEOR) is a process to improve recovery of crude oil from reservoir rocks by using microorganisms or their metabolic products. It may be done by adding microorganisms or stimulating the indigenous microbes with some nutrients which is a low cost and persistent process. The objective of this study was to determine the microbial community in the oil sand by using Denaturing Gradient Gel Electrophoresis (DGGE) and to look for the possibility of stimulating microbial growth with nutrients for MEOR. DNA was extracted from soil samples in oil reservoirs of Northern Petroleum Development Center, Fang district Chiang Mai province. Three different methods were used in DNA extraction: proteinase K, glass bead and glass bead with phenol. The oil sand was pretreated to increase the efficiency of DNA extraction. DNA was amplified with Polymerase Chain Reaction (PCR) using V3R, V3F and V3F-GC primers. The bacterial diversity was analyzed using DGGE. The DNA of biosurfactant producing bacteria were compared. It was found that glass bead method gave highest DNA. Pre-treating oil sands with sterile distilled water facilitated the DNA extraction and showed the most diversity of bacteria. The suitable condition for PCR was 94°C 4 min, 94°C 30 sec; 59°C 30 sec; 72°C 30 sec (30 cycles), 72°C 10 min. Analysis of bacterial diversity with DGGE at 10% acrylamide gel and 25-50% of denaturant (urea and formamide) indicated that the diversity of bacteria in the oil well soil fell into 22 groups. At least 4 groups of bacteria were related to

biosurfactant producing bacteria. Base sequence analysis showed that there were 2 groups of bacteria: *Geobacillus* sp. and *Bacillus licheniformis* in the oil sand capable of producing biosurfactant. This indicated the possibility of using indigenous bacteria in the oil well to enhance oil recovery from borehole of the Northern Petroleum Development Center in Fang district, Chiang Mai province.



ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved