



**THE EFFECTS OF TEMPERATURE ON THE
BIODEGRADATION OF CRUDE OIL AND
BIOFILM DEVELOPMENT**

NI-ORN PHURAT
๕

**With compliments
of**

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยมหิดล

**A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT
OF THE REQUIREMENTS FOR
THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE
(ENVIRONMENTAL BIOLOGY)
FACULTY OF GRADUATE STUDIES
MAHIDOL UNIVERSITY**

2003

ISBN 974-04-3073-2

COPYRIGHT OF MAHIDOL UNIVERSITY

TH
N 718e
2003
C.2

THE EFFECTS OF TEMPERATURE ON THE BIODEGRADATION OF CRUDE OIL AND BIOFILM DEVELOPMENT.

NI-ORN PHURAT 4137559 SCEB/M

M.Sc. (ENVIRONMENTAL BIOLOGY)

THESIS ADVISOR : PRAYAD POKETHITIYOOK, Ph.D. (CHEMICAL ENGINEERING), SUCHART UPATHAM, Ph.D. (NATURAL RESOURCES), MALEEYA KRUTRACHUE, Ph.D. (BOTANY)

ABSTRACT

The effects of temperature on the biodegradation of Tapis crude oil and on the development of biofilm formation by the indigenous microorganism, *Acinetobacter calcoaceticus* were investigated. The experiments were performed in the batch-reactor system for 0, 10, 20, 40 and 60 days at the temperatures of 20⁰ and 30⁰C. The results showed that the highest percentage of total oil removal by *A. calcoaceticus* was obtained at 30⁰C. The total petroleum hydrocarbons (TPH) removal percentage was 80.39% and the aliphatic hydrocarbons (AH; C₉-C₃₀) removal percentage was 77.39%. At 20⁰C, the percentage of oil removal was lower, 69.08% for total petroleum hydrocarbons and 64.79% for aliphatic hydrocarbons. The development of biofilm formation was investigated by measuring the thickness of biofilm using a confocal laser scanning microscope (CLSM). The results indicated that the formation of biofilm was non-uniformed. The highest average thickness of biofilm was achieved at 30⁰C, which was 113.32 μm, while the average biofilm thickness at 20⁰C was 88.10 μm on the same day of the experiment. Under abiotic experiments, the formation of biofilm was also observed at both temperatures. However, the highest average thickness of biofilm was lower than that under biotic experiments (32.98 μm at 20⁰C). The rate of crude oil degradation at 30⁰C was higher than at 20⁰C. The results showed that temperature has an effect on crude oil biodegradation and biofilm formation.

**KEY WORDS : BIODEGRADATION/ CRUDE OIL/ TEMPERATURE/ BIOFILM/
CONFOCAL MICROSCOPY**

101 P. ISBN 974-04-3073-2

ผลของอุณหภูมิต่อการย่อยสลายน้ำมันดิบและการพัฒนาของไบโอฟิล์ม (THE EFFECTS OF TEMPERATURE ON THE BIODEGRADATION OF CRUDE OIL AND BIOFILM DEVELOPMENT)

นือร ภูรัตน์ 4137559 SCEB/M

วท.ม. (ชีววิทยาสาขาระบาดวิทยา)

คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์ : ประหยัด โภคจิตติคุณต์, Ph.D. (Chemical Engineering),
สุชาติ อุปถัมภ์, Ph.D. (Natural Resources), มาลีญา เครือตราฐ, Ph.D. (Botany)

บทคัดย่อ

การทดลองครั้งนี้ ได้ทำการศึกษาผลของอุณหภูมิต่อการย่อยสลายน้ำมันดิบและการพัฒนาของไบโอฟิล์มโดยเชื้อจุลินทรีย์ *Acinetobacter calcoaceticus* โดยทำการศึกษาในระบบ batch reactor โดยใช้เวลาในการศึกษาต่างๆกันคือ 0, 10, 20, 40 และ 60 วัน ที่ระดับอุณหภูมิ 20° และ 30°ซ ผลการทดลองพบว่า *A. calcoaceticus* สามารถย่อยสลายน้ำมันดิบได้ดีที่สุดที่อุณหภูมิ 30°ซ โดยสารไฮโดรคาร์บอนทั้งหมด (total petroleum hydrocarbons, TPH) ย่อยสลายได้ 80.39% และสารประกอบไฮโดรคาร์บอนสายตรงในน้ำมันดิบ (aliphatic hydrocarbons, AH) ซึ่งมีคาร์บอนอะตอมระหว่าง 9 ถึง 30 ย่อยสลายได้ 77.39% ส่วนที่อุณหภูมิ 20°ซ เปอร์เซ็นต์การย่อยสลายน้ำมันดิบลดลงคือ สารประกอบไฮโดรคาร์บอนทั้งหมดถูกย่อยสลายไป 69.08% และสารประกอบไฮโดรคาร์บอนสายตรงถูกย่อยสลายไป 64.79% ตามลำดับ

การศึกษาผลของอุณหภูมิต่อการสร้างไบโอฟิล์มโดยใช้กล้อง confocal laser scanning microscopy (CLSM) ผลการทดลองพบว่า การสร้างไบโอฟิล์มของ *A. calcoaceticus* ไม่มีรูปแบบแน่นอน ความหนาเฉลี่ยของไบโอฟิล์มสูงสุดวัดได้ที่อุณหภูมิ 30°ซ โดยมีค่าความหนา 113.32 ไมครอน ในขณะที่ความหนาเฉลี่ยของไบโอฟิล์มที่อุณหภูมิ 20°ซ มีค่าเท่ากับ 88.10 ไมครอน นอกจากนี้ในการทดลองที่ปราศจากเชื้อ *A. calcoaceticus* (abiotic experiment) พบว่ามีไบโอฟิล์มเกิดขึ้นด้วย ซึ่งความหนาเฉลี่ยของไบโอฟิล์มจะน้อยกว่าผลจากการทดลองที่มีเชื้อจุลินทรีย์ คือมีความหนาเฉลี่ยที่ 32.98 ไมครอนที่ 20°ซ จากการศึกษาสรุปได้ว่าอุณหภูมิจึงมีผลต่อการย่อยสลายน้ำมันดิบและการสร้างไบโอฟิล์มของ *A. calcoaceticus* และพบว่าอัตราการย่อยสลายน้ำมันดิบที่อุณหภูมิ 30°ซ สูงกว่าที่อุณหภูมิ 20°ซ