บทที่ 4

ผลการทดลอง

4.1 ผลการวิเคราะห์ลักษณะทางกายภาพและองค์ประกอบทางเคมีของดินและใบไม้ที่นำมาใช้ในการทดลอง

ดินที่นำมาใช้ในการทดลองเก็บมาจากเนินเขาในป่า อ.สวนผึ้ง จ.ราชบุรี โดยที่แหล่งดินนี้ไม่มีประวัติการปนเปื้อนจากสาร PAHs มาก่อน ตรวจสอบ PAHs ในดินโดยการสกัดและวิเคราะห์ด้วยวิธี HPLC แล้วไม่พบว่ามีการปนเปื้อนสารดังกล่าว

ผลการวิเคราะห์ลักษณะทางกายภาพ และองค์ประกอบทางเคมีของดินที่นำมาใช้ในการทดลองนี้ได้มาจากฝ่ายวิเคราะห์ดินและน้ำ กองเกษตรเคมี กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ และภาควิชาปฐพีวิทยา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ บางเขน กรุงเทพมหานคร ดังแสดงในตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 ลักษณะทางกายภาพและองค์ประกอบทางเคมีของดินที่นำมาใช้ในการทดลอง

พารามิเตอร์	ผลการวิเคราะห์
ลักษณะเนื้อดิน	ดินทราย (sandy soil)
ทราย	73%*
ดินทรายแป้ง	19%*
ดินเหนียว	8%*
ปริมาณสารอินทรีย์	2.12%**
ปริมาณสารอินทรีย์คาร์บอน	1.23%**
ปริมาณไนโตรเจน	0.10%**
อัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน	12:1**
ปริมาณฟอสเฟต	0.02%**
ปริมาณโปแตสเซียม	0.22%**
ความเป็นกรดด่าง	6.5**
ความสามารถในการแลกเปลี่ยนประจุและอิออน	5.2 me/ 100 กรัม*
ความจุสูงสุดในการอุ้มน้ำ	30.73%*

หมายเหตุ * วิเคราะห์โดยฝ่ายวิจัยดิน กองเกษตรเคมี กระทรวงเกษตรและสหกรณ์

** วิเคราะห์โดยภาควิชาปฐพีวิทยา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ใบไม้ที่นำมาใช้ในการทดลองมี 3 ชนิด ได้แก่ ใบจามจุรี ใบมะขาม และใบนนทรี ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของใบไม้ที่นำมาใช้ในการทดลอง ลักษณะทางกายภาพและองค์ประกอบทางเคมีของดินผสมใบไม้ในอัตราส่วน 9 : 1 ได้มาจากภาควิชาปฐพีวิทยา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ บางเขน กรุงเทพฯ ดังแสดงไว้ในตารางที่ 4.2 และ 4.3 ตามลำดับ

ตารางที่ 4.2 องค์ประกอบทางเคมีของใบจามจุรี ใบมะขาม และใบนนทรี

พารามิเตอร์	ผลการวิเคราะห์		
	ใบจามจุรี	ใบมะขาม	ใบนนทรี
ปริมาณไนโตรเจน (%)	3.10	0.87	0.67
ปริมาณฟอสเฟต (%)	0.49	0.12	0.10
ปริมาณโพแทสเซียม (%)	0.90	0.44	0.46

ตารางที่ 4.3 ลักษณะทางกายภาพองค์ประกอบทางเคมีของดินผสมใบจามจุรี ใบมะขาม และใบนนทรี ในอัตราส่วน 9 : 1

พารามิเตอร์	ผลการวิเคราะห์		
	ใบจามจุรี	ใบมะขาม	ใบนนทรี
ความชื้น (%) *	0.29	0.29	0.18
ความเป็นกรดด่าง *	6.4	6.6	6.4
ปริมาณไนโตรเจน (%) **	0.40	0.18	0.16
ปริมาณฟอสเฟต (%) **	0.07	0.03	0.03
ปริมาณโพแทสเซียม (%) **	0.29	0.24	0.24
ปริมาณอินทรีย์คาร์บอน (%) *	36.42	19.41	11.97
อัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน (%)	9:1	11:1	8:1

หมายเหตุ * วิเคราะห์โดยภาควิชาปฐพีวิทยา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

** ค่าโดยประมาณจากการคำนวณตาราง 4.1 และ 4.2

4.2 ผลการเปรียบเทียบการเร่งย่อยสลายไพรีนในดินโดยผสมเศษใบไม้ 3 ชนิด จากต้นจามจุรี มะขาม นนทรี

การคัดเลือกใบไม้ ได้แก่ ใบจามจุรี ใบมะขาม ใบนนทรี ที่สามารถเร่งการย่อยสลายไพรีนในดินได้ แบ่งการทดลองออกเป็น 8 ชุด ได้แก่

ชุดการทดลองที่ 1 ดินปลอดเชื้อ

ชุดการทดลองที่ 2 ดินไม่ปลอดเชื้อ

ชุดการทดลองที่ 3 ดินปลอดเชื้อผสมใบจามจุรีปลอดเชื้อ

ชุดการทดลองที่ 4 ดินปลอดเชื้อผสมใบมะขามปลอดเชื้อ

ชุดการทดลองที่ 5 ดินปลอดเชื้อผสมใบนนทรีปลอดเชื้อ

ชุดการทดลองที่ 6 ดินผสมใบจามจุรี

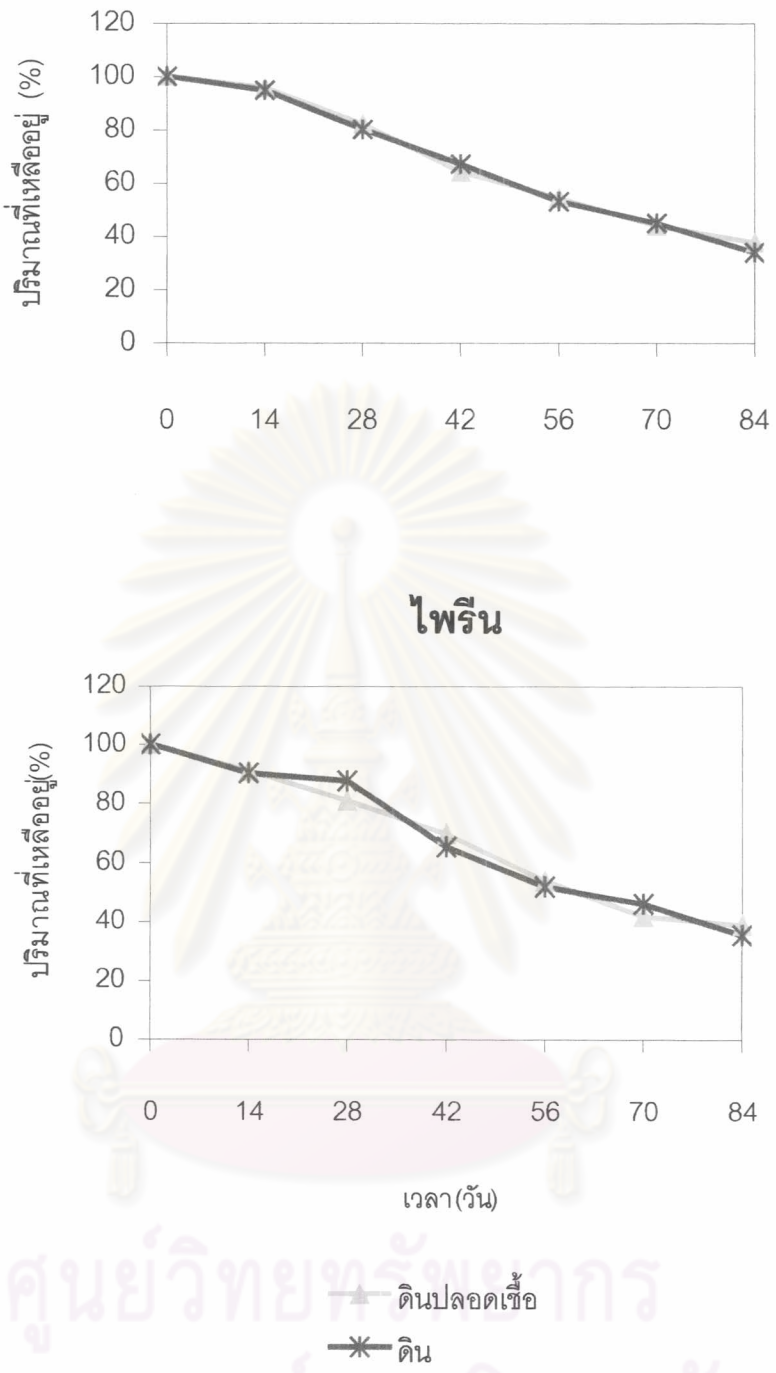
ชุดการทดลองที่ 7 ดินผสมใบมะขาม

ชุดการทดลองที่ 8 ดินผสมใบนนทรี

4.2.1 การศึกษาปัจจัยชีวภาพและกายภาพในดินในการย่อยสลายไพรีนในดิน ศึกษาจากชุดการทดลองที่ 1 และชุดการทดลองที่ 2

ผลการวิเคราะห์ปริมาณสารไพรีนและฟีแนนทรีนที่เหลืออยู่ โดยคิดเป็นเปอร์เซ็นต์เปรียบเทียบกับวันที่ 0 ซึ่งให้เป็นปริมาณเริ่มต้นที่ 100% เมื่อสกัดด้วยไดคลอโรมีเทน และนำไปวิเคราะห์ด้วย HPLC พบว่า ในวันที่ 84 ดินปลอดเชื้อ (ชุดการทดลองที่ 1) ซึ่งเป็นชุดควบคุมมีเพียงปัจจัยกายภาพที่ทำให้ปริมาณสาร PAHs ในดินลดลง มีไพรีนและฟีแนนทรีนเหลืออยู่ 38.83% และ 37.64% ตามลำดับ เปรียบเทียบกับดินไม่ปลอดเชื้อ (ชุดการทดลองที่ 2) ซึ่งมีทั้งปัจจัยกายภาพและชีวภาพที่ทำให้ปริมาณสาร PAHs ในดินลดลงมีไพรีนและฟีแนนทรีนเหลืออยู่ 35.24%และ 33.90% ตามลำดับ ดังแสดงในรูปที่ 4.1

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่4.1 การเปลี่ยนแปลงปริมาณไพรีนและฟีแนนทรีนเมื่อมีสิ่งมีชีวิตและไม่มีชีวิตในดินโดยเปรียบเทียบระหว่างดินปลอดเชื้อและไม่ปลอดเชื้อ

จากรูปที่ 4.1 พบว่าการเปลี่ยนแปลงสาร PAHs ทั้ง 2 ชนิดของดินไม่ปลอดเชื้อ (ชุดการทดลองที่ 2) ไม่มีความแตกต่างจากดินปลอดเชื้อ (ชุดการทดลองที่ 1) อาจกล่าวได้ว่าการลดลงของไพรีนและฟีแนนทรีนในดิน เกิดจากปัจจัยกายภาพในดินโดยสิ่งมีชีวิตในแหล่งดินที่นำมาใช้ในการทดลองไม่มีบทบาทสำคัญในการเปลี่ยนแปลงสาร PAHs ทั้ง 2 ชนิดนี้

โดยนารีรัตน์ เจริญช่าง ได้รายงานปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดและราทั้งหมดที่ตรวจพบในดินระหว่างการทดลอง 0 -42 วัน ไว้ดังนี้

ตารางที่ 4.4 จำนวนแบคทีเรียทั้งหมดและราทั้งหมดที่ตรวจพบในดินระหว่างการทดลอง0 -42 วัน

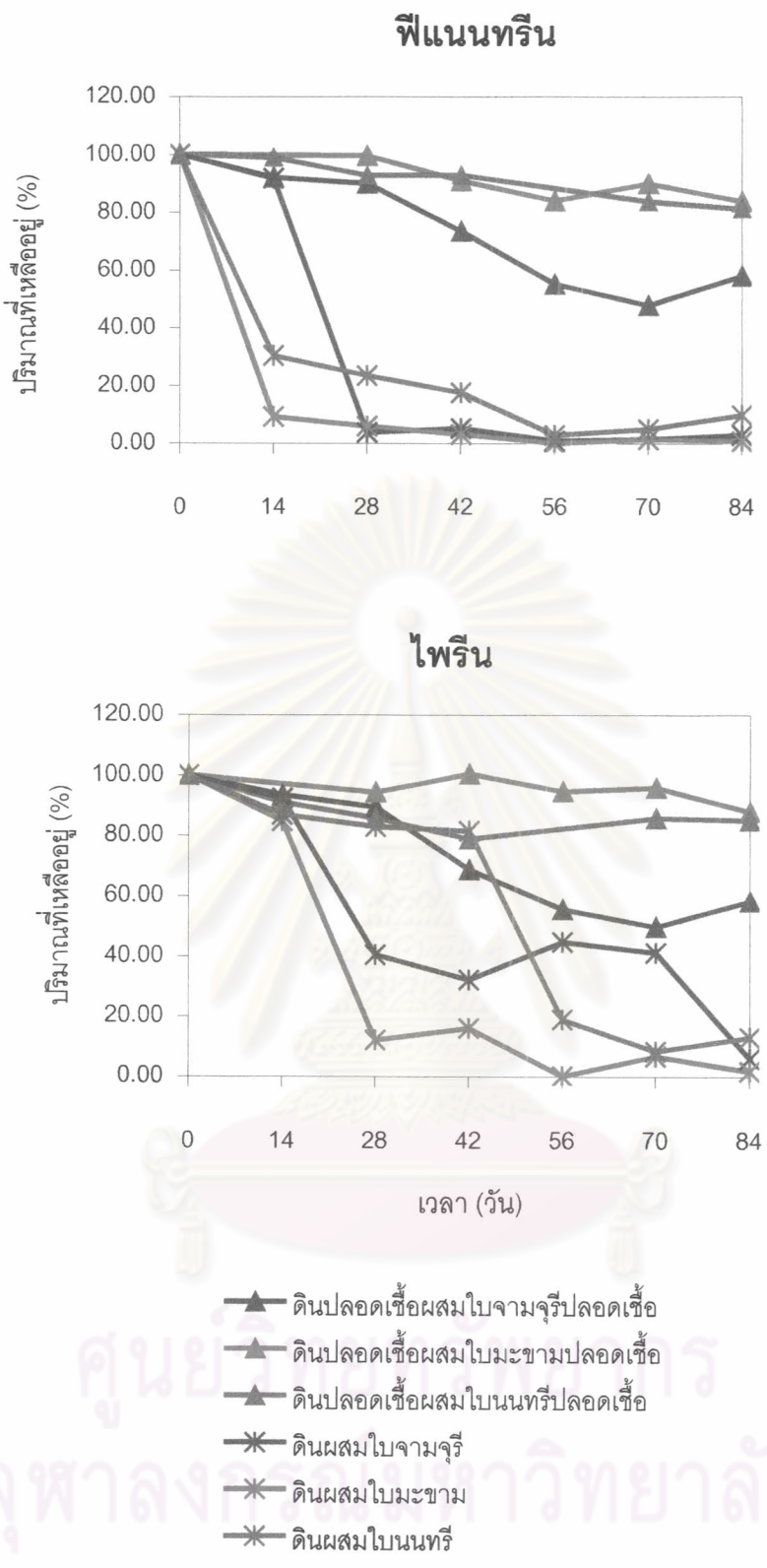
จุลินทรีย์	จำนวนเซลล์ CFU x 10^5 / ดิน 1 กรัม			
	0 วัน	14 วัน	28 วัน	42 วัน
แบคทีเรีย	30	30	80	31
รา	0.005	0.89	6.45	1.83

4.2.2 การศึกษาปัจจัยชีวภาพและกายภาพจากดินและใบไม้ในการเร่งการย่อยสลายไพรีนและฟีแนนทรีนในดิน โดยศึกษาจากชุดการทดลองที่ 3 ถึงชุดการทดลองที่ 8

เมื่อบ่มชุดการทดลองไว้ในที่มืด ระยะเวลานาน 84 วัน นำไปสกัดและวิเคราะห์ด้วยวิธี HPLC ในช่วงเวลาต่างๆ พบว่าดินผสมใบมะขาม (ชุดการทดลองที่ 7) และดินผสมใบนนทรี (ชุดการทดลองที่ 8) ฟีแนนทรีนลดลงอย่างรวดเร็วในวันที่ 14 มีปริมาณฟีแนนทรีนเหลืออยู่ 9.15% และ 30.29% ตามลำดับ และฟีแนนทรีนลดลงจนตรวจไม่พบในดินผสมใบมะขามในวันที่ 56 ของการทดลอง ในขณะที่ดินผสมใบจามจุรี (ชุดการทดลองที่ 6) มีปริมาณฟีแนนทรีนยังคงสูงในช่วง 14 วันแรก และลดลงอย่างรวดเร็วเหลือ 3.61% ในวันที่ 28 ในทางตรงกันข้าม ดินปลอดเชื้อผสมใบจามจุรีปลอดเชื้อ (ชุดการทดลองที่ 3) ดินปลอดเชื้อผสมใบมะขามปลอดเชื้อ (ชุดการทดลองที่ 4) และดินปลอดเชื้อผสมใบนนทรีปลอดเชื้อ (ชุดการทดลองที่ 5) มีปริมาณฟีแนนทรีนเหลืออยู่ 57.90% 83.64% และ 81.07% ตามลำดับ ในวันที่ 84 ของการทดลอง

ปริมาณไพรีนในดินผสมใบจามจุรี (ชุดการทดลองที่ 6) และดินผสมใบมะขาม (ชุดการทดลองที่ 7) จะลดลงอย่างรวดเร็วใน 28 วันแรกของการทดลอง ตรวจพบไพรีน 40.34% และ 11.92% ตามลำดับ และไพรีนจะลดลงจนตรวจไม่พบในชุดดินผสมใบมะขามในวันที่ 56 ของการทดลอง ในขณะที่ดินผสมใบนนทรี (ชุดการทดลองที่ 8) ปริมาณไพรีนยังคงสูงในช่วง 42 วันแรก และลดลงอย่างชัดเจนเหลือ 18.89% ในวันที่ 56 ของการทดลอง ซึ่งในชุดควบคุม ดินปลอดเชื้อผสมใบจามจุรีปลอดเชื้อ (ชุดการทดลองที่ 3) ดินปลอดเชื้อผสมใบมะขามปลอดเชื้อ (ชุดการทดลองที่ 4) และดินปลอดเชื้อผสมใบนนทรีปลอดเชื้อ (ชุดการทดลองที่ 5) มีปริมาณไพรีนเหลืออยู่ 58.24% 87.89% และ 85.04% ตามลำดับ ในวันที่ 84 ของการทดลอง

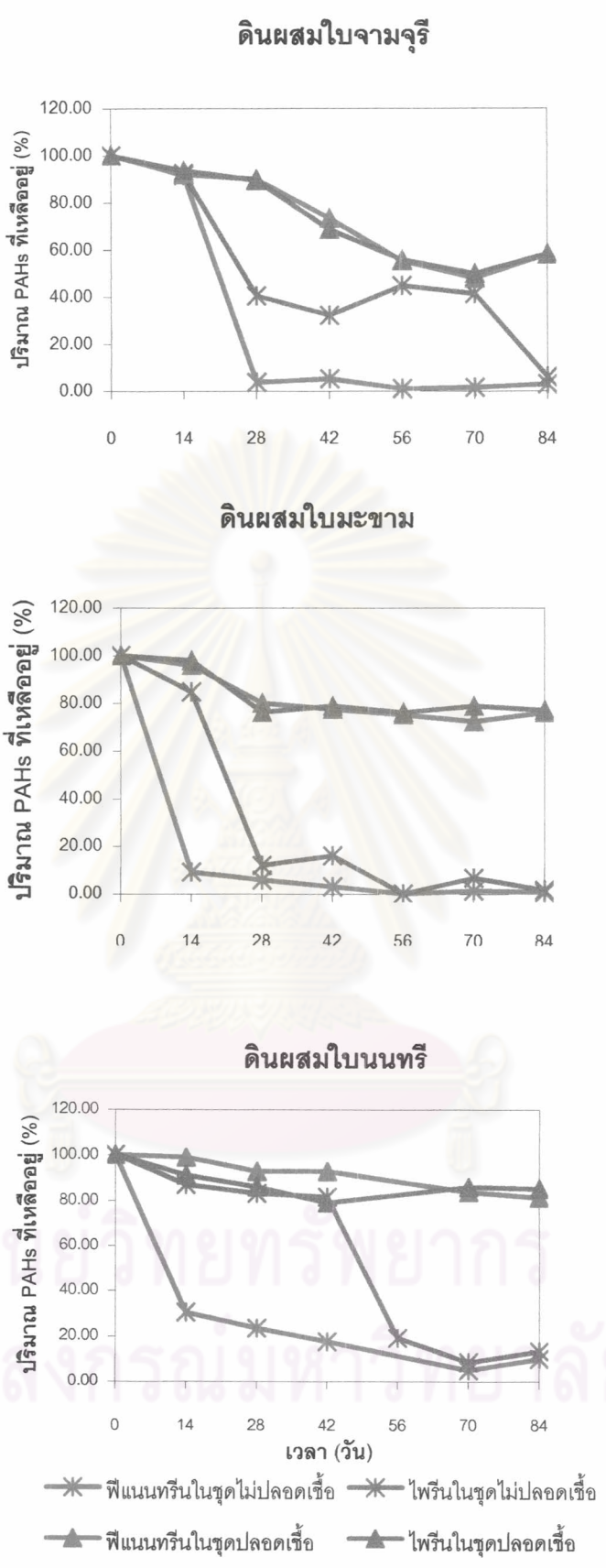
ผลการทดลองการเปลี่ยนแปลงปริมาณสาร PAHs ทั้ง 2 ชนิด ได้แก่ ไพรีนและฟีแนนทรีนในชุดการทดลองต่างๆ โดยมีปัจจัยชีวภาพและกายภาพที่ทำให้ปริมาณสาร PAHs ลดลงเมื่อผสมใบไม้ลงในดิน แสดงในรูปที่ 4.2



รูปที่ 4.2 การเปลี่ยนแปลงปริมาณสาร PAHs (ไพรีนและฟีแนนทรีน) ในชุดการทดลองต่างๆ เมื่อมีปัจจัยชีวภาพและกายภาพที่ทำให้ปริมาณสาร PAHs ลดลง เมื่อผสมใบไม้ในดิน

เมื่อเปรียบเทียบการเร่งการย่อยสลายไพรีนและฟีแนนทรีนในดินเมื่อผสมใบไม้แต่ละชนิด แสดงในรูปที่ 4.3

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 4.3 การเปลี่ยนแปลงปริมาณสารไพรีนและฟีแนนทรีนในดินผสมใบจามจุรี ดินผสมใบมะขาม และดินผสมใบนนทรี โดยคิดเป็นเปอร์เซ็นต์ของปริมาณ PAHs ที่เหลืออยู่

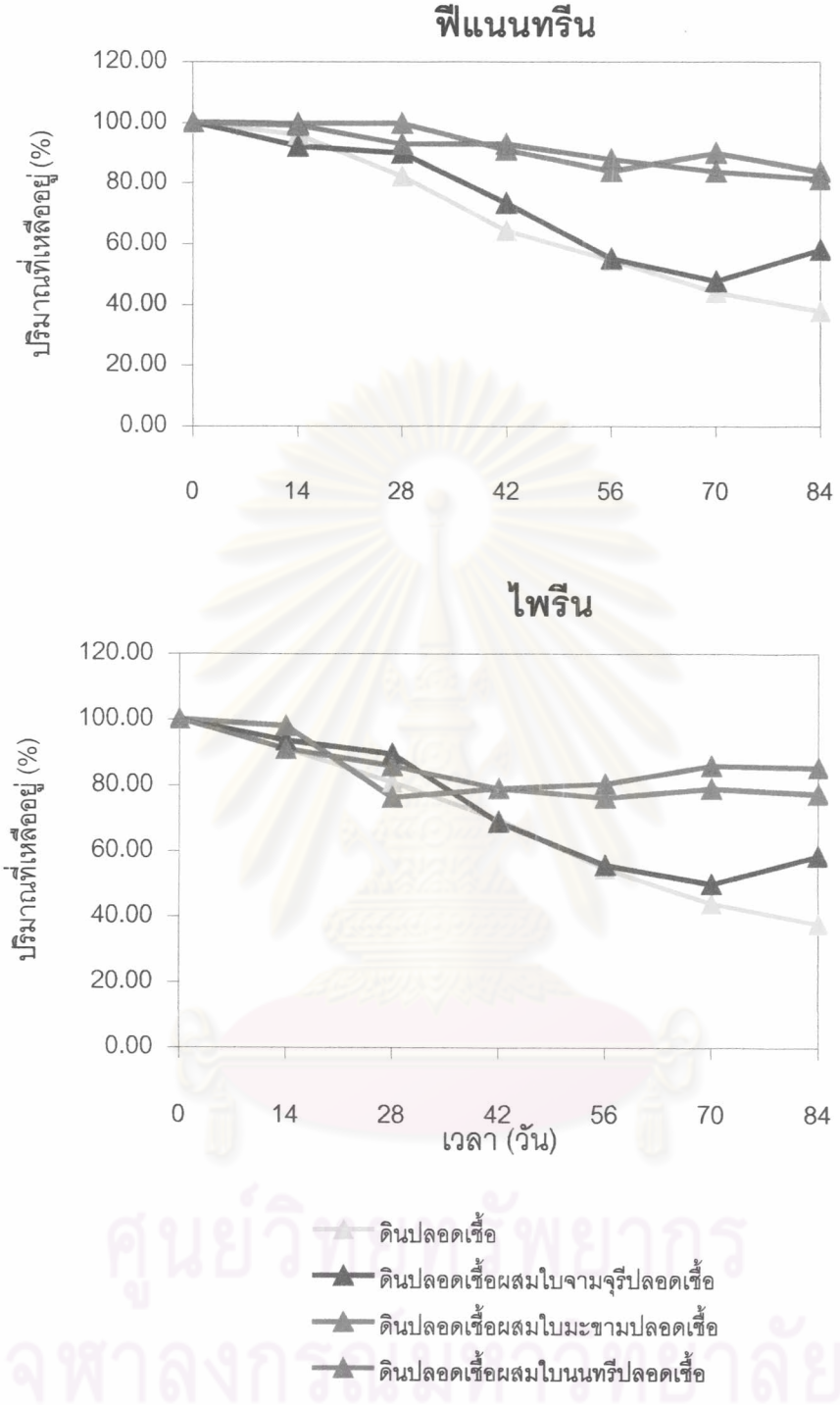
จากรูปที่4.3 พบว่าดินปลอดเชื้อผสมใบจามจุรีปลอดเชื้อ (ชุดการทดลองที่ 3) และดินผสมใบจามจุรี (ชุดการทดลองที่ 6) มีปริมาณไพรีนและฟีแนนทรีนใกล้เคียงกันใน 14 วันแรก หลังจากนั้นฟีแนนทรีนและไพรีนจะลดลงอย่างรวดเร็วในดินผสมใบจามจุรีเหลือเพียง 3.61% และ 40.34% ตามลำดับในวันที่ 28 และลดลงเหลือ 2.85% และ 5.89% ตามลำดับในวันที่ 84 ของการทดลอง ในขณะที่ดินปลอดเชื้อผสมใบจามจุรีปลอดเชื้อ ซึ่งเป็นชุดควบคุมยังมีปริมาณฟีแนนทรีนและไพรีนเหลืออยู่ในวันที่ 84 เท่ากับ 57.80% และ 58.24% ตามลำดับ

ดินผสมใบมะขาม (ชุดการทดลองที่ 7) ปริมาณฟีแนนทรีนลดลงอย่างรวดเร็วในวันที่ 14 เหลือเพียง 9.15% และไพรีนเหลือ 11.92% ในวันที่ 28 ของการทดลอง และตรวจไม่พบฟีแนนทรีน ไพรีนในวันที่ 56 ในขณะที่ดินปลอดเชื้อผสมใบมะขามปลอดเชื้อ (ชุดการทดลองที่ 4) ซึ่งเป็นชุดควบคุม มีปริมาณฟีแนนทรีนและไพรีนเหลืออยู่ 76.05% และ 77.14% ตามลำดับ ในวันที่ 84 ของการทดลอง

ดินผสมใบนนทรี (ชุดการทดลองที่ 8) ปริมาณฟีแนนทรีนจะลดลงอย่างรวดเร็วเหลือ 30.29% ในวันที่ 14 แต่ไพรีนยังคงมีปริมาณสูง 86.81% ใกล้เคียงกับชุดควบคุมดินปลอดเชื้อผสมใบนนทรีปลอดเชื้อ (90.92%) และไพรีนจะลดลงอย่างชัดเจนเหลือเพียง 18.89% ในวันที่ 56 และยังคงเหลือฟีแนนทรีนและไพรีนในชุดควบคุม 81.07% และ 85.04% ตามลำดับ ในวันที่ 84 ของการทดลอง

จากรูปที่4.2 แสดงให้เห็นว่า เมื่อมีปัจจัยชีวภาพจากใบไม้เป็นผลให้เกิดการย่อยสลายสาร PAHs ทั้ง 2 ชนิดในดินได้ โดยจะเห็นการลดลงอย่างชัดเจนเมื่อมีปัจจัยชีวภาพจากใบไม้ในชุดการทดลองที่ 6-8 เท่านั้น

เมื่อเปรียบเทียบระหว่างชุดทดลองที่ 1 ดินปลอดเชื้อ กับชุดการทดลองที่ 3, 4 และ 5 ซึ่งเป็นชุดควบคุมทั้ง 4 ชุด (รูปที่4.4) พบว่าปริมาณสาร PAHs ที่เหลืออยู่ในดินปลอดเชื้อ (ชุดการทดลองที่ 1) และดินปลอดเชื้อผสมใบจามจุรีปลอดเชื้อ (ชุดการทดลองที่ 3) มีเปอร์เซ็นต์ใกล้เคียงกันเมื่อสิ้นสุดการทดลอง คือ ฟีแนนทรีน 37.64% และ 57.90% ไพรีน 38.83% และ 58.24% ตามลำดับ ส่วนในดินปลอดเชื้อผสมใบมะขามปลอดเชื้อ (ชุดการทดลองที่ 4) และดินปลอดเชื้อผสมใบนนทรีปลอดเชื้อ (ชุดการทดลองที่ 5) มีเปอร์เซ็นต์ใกล้เคียงกันเมื่อสิ้นสุดการทดลองคือ ฟีแนนทรีน 83.64% และ 81.07% ไพรีน 87.89% และ 85.04% ตามลำดับ ซึ่งปริมาณสาร PAHs ยังคงใกล้เคียงกับวันเริ่มต้นการทดลองและสามารถสกัดออกมาได้มากกว่าในชุดดินปลอดเชื้อ (ชุดการทดลองที่ 1) และดินปลอดเชื้อผสมใบจามจุรีปลอดเชื้อ (ชุดการทดลองที่ 3) แสดงว่าค่าความสามารถในการสกัดออกมาได้ (extractability) ของดินที่ผสมใบมะขามและใบนนทรีสูงกว่าดินที่ผสมใบจามจุรี ซึ่งเป็นผลให้ค่า bioavailability สูงเช่นกัน



รูปที่4.4 แสดงปริมาณฟีแนนทรีนและไพรีนที่เหลืออยู่ในชุดควบคุม ได้แก่ ดินปลอดเชื้อ (ชุดการทดลองที่ 1) ดินปลอดเชื้อผสมใบจามจุรีปลอดเชื้อ (ชุดการทดลองที่ 3) ดินปลอดเชื้อผสมใบมะขามปลอดเชื้อ (ชุดการทดลองที่ 4) และดินปลอดเชื้อผสมใบนนทรีปลอดเชื้อ (ชุดการทดลองที่ 5) เนื่องจากการเปลี่ยนแปลงสาร PAHs จากปัจจัยกายภาพและเป็นการแสดงว่าสารอินทรีย์จากใบมะขามและใบนนทรีมีบทบาทในการเพิ่มปริมาณสาร PAHs ที่สกัดได้มากกว่าดินปลอดเชื้อและดินปลอดเชื้อผสมใบจามจุรีปลอดเชื้อ

4.3 ติดตามการย่อยสลายที่เกิดขึ้นจากแบคทีเรียในดินที่ผสมเศษใบไม้โดยนับจำนวนแบคทีเรียที่ย่อยสลายไพรีนและฟีแนนทรีน

โดยทำการทดลองศึกษาจำนวนแบคทีเรียที่ย่อยสลายฟีแนนทรีนและแบคทีเรียที่ย่อยสลายไพรีนในชุดการทดลองต่างๆ ระหว่างการทดลอง 0 –84 วัน แสดงดังตารางที่ 4.5 และ 4.6

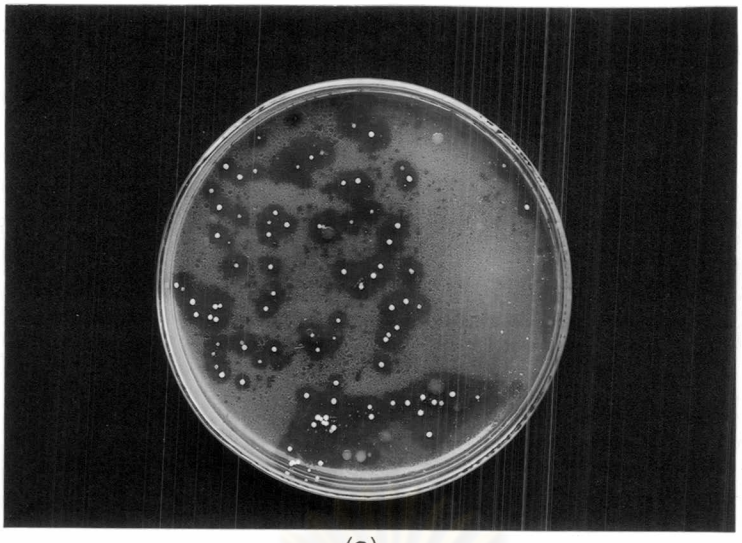
ตารางที่4.5 แสดงจำนวนแบคทีเรียย่อยสลายฟีแนนทรีนที่ตรวจพบในชุดการทดลองต่างๆ ของการศึกษาการเร่งการย่อยสลาย PAHs ในดินที่ปนเปื้อน เมื่อเติมใบจามจุรี ใบมะขาม และใบนนทรี ระหว่างการทดลอง 0 –84 วัน

ชุดการทดลอง	จำนวนแบคทีเรียย่อยสลายฟีแนนทรีน (CFU x 10^5/ ดิน 1 กรัม)						
	0 วัน	14 วัน	28 วัน	42 วัน	56 วัน	70 วัน	84 วัน
ดิน	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
ดินผสมใบจามจุรี	0.00	4.95	33.90	1.00	88.00	9.75	13.00
ดินผสมใบมะขาม	0.015	11.50	27.00	7.00	24.10	220.00	13.00
ดินผสมใบนนทรี	0.065	35.00	39.50	22.00	3.50	5.15	2.25

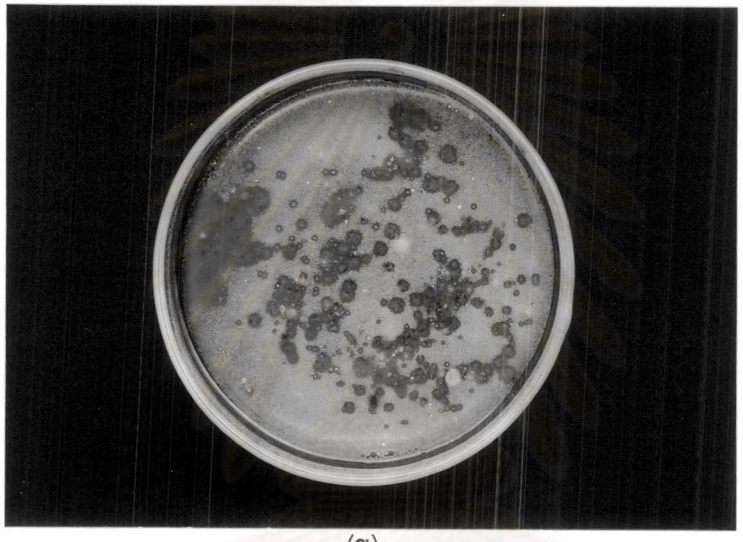
จากตารางที่ 4.5 จำนวนแบคทีเรียย่อยสลายฟีแนนทรีนจะตรวจนับบนอาหารเลี้ยงเชื้อ CFMM ที่พ่นทับด้วยฟีแนนทรีนในชุดการทดลองต่างๆ ได้แก่ ดิน (ชุดการทดลองที่ 2) ดินผสมใบจามจุรี (ชุดการทดลองที่ 6) ดินผสมใบมะขาม (ชุดการทดลองที่ 7) และดินผสมใบนนทรี (ชุดการทดลองที่ 8) จากการทดลองจะตรวจพบแบคทีเรียย่อยสลายฟีแนนทรีนสร้างบริเวณใสรอบโคโลนีได้ในเฉพาะในชุดการทดลองที่มีการเติมใบจามจุรี ใบมะขาม และใบนนทรีเท่านั้น

ในรูปที่ 4.5 แสดงแบคทีเรียที่ตรวจพบบนอาหารเลี้ยงเชื้อดังกล่าว

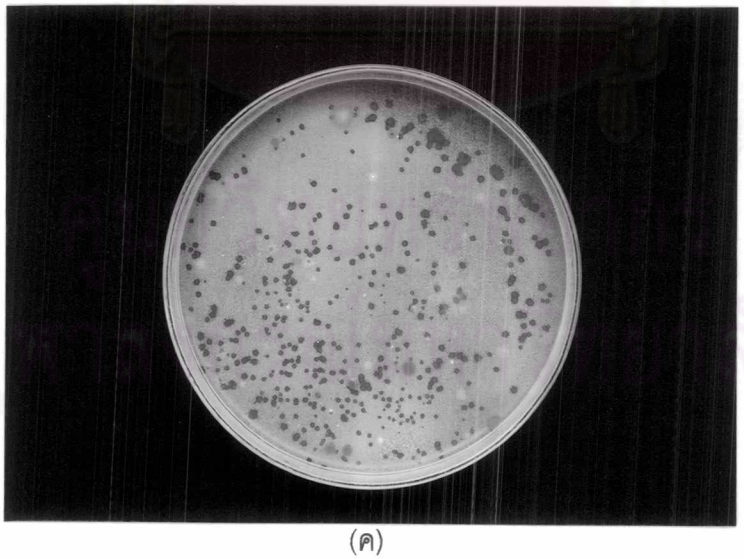
ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



(ก)



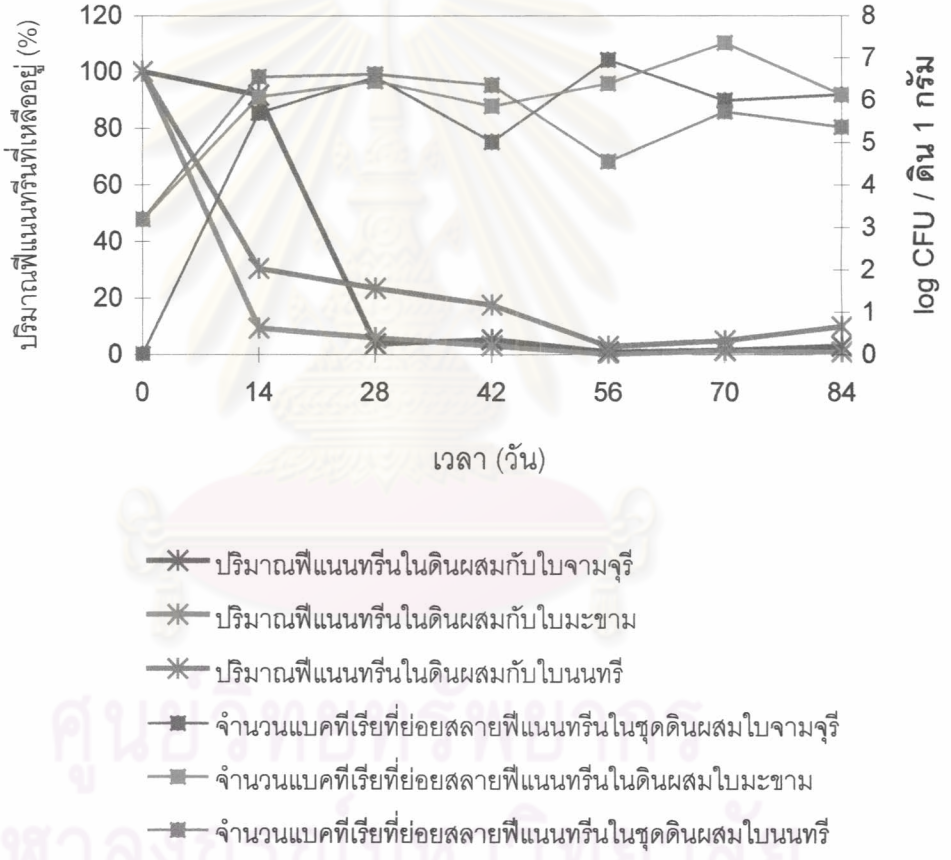
(ข)



(ค)

รูปที่4.5 แสดงลักษณะโคโลนีของแบคทีเรียที่ย่อยสลายฟีแนนทรีน ซึ่งสร้างบริเวณใสรอบโคโลนี อาหารเลี้ยงเชื้อ CFMM ที่พ่นทับด้วยฟีแนนทรีนโดยแยกได้จากชุดการทดลองดินผสมใบจามจุรี (ก) ดินผสมใบมะขาม (ข) และดินผสมใบนนทรี (ค)

ในวันแรกของการทดลองจะไม่พบแบคทีเรียย่อยสลายฟีแนนทรีนในชุดการทดลองดินผสมใบจามจุรี โดยเริ่มตรวจพบวันที่ 14 ของการทดลองที่ 4.95 x 10^5 CFU ต่อดิน 1 กรัม ในขณะที่ดินผสมใบมะขาม และดินผสมใบนนทรี เริ่มตรวจพบแบคทีเรียย่อยสลายฟีแนนทรีนตั้งแต่วันที่เริ่มต้นการทดลองที่จำนวน 1.5x10^3 และ 6.5x10^3 CFU ต่อดิน 1 กรัม ตามลำดับ และจำนวนแบคทีเรียที่พบในดินผสมใบไม้ทั้ง 3 ชนิดเพิ่มปริมาณขึ้นสูงและค่อนข้างคงที่ใกล้เคียงกันจนถึงวันที่ 84 ของการทดลอง แสดงดังรูปที่ 4.6



รูปที่4.6 ปริมาณฟีแนนทรีนที่เหลืออยู่และจำนวนแบคทีเรียย่อยสลายฟีแนนทรีนในชุดการทดลองดินผสมใบจามจุรี ดินผสมใบมะขาม และดินผสมใบนนทรี

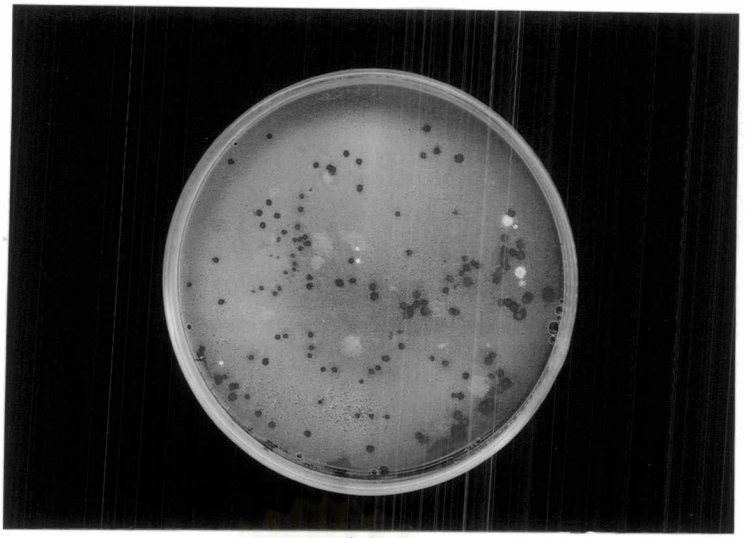
จากรูปที่ 4.6 การเพิ่มจำนวนของแบคทีเรียย่อยสลายฟีแนนทรีนในทุกชุดการทดลองสอดคล้องกับปริมาณฟีแนนทรีนที่ลดลง โดยที่การลดลงของฟีแนนทรีนในดินผสมใบมะขามรวดเร็วกว่าในดินที่ผสมใบนนทรีและใบจามจุรี เนื่องจากพบแบคทีเรียย่อยสลายฟีแนนทรีนในดินผสมใบมะขามและดินผสมใบนนทรีตั้งแต่วันเริ่มต้นการทดลองจึงทำให้ย่อยสลายฟีแนนทรีนได้อย่างรวดเร็วใน 14 วันแรก แต่ในดินผสมใบจามจุรีตรวจไม่พบแบคทีเรียย่อยสลายฟีแนนทรีนในวันเริ่มต้น ปริมาณฟีแนนทรีนใน 14 วันแรกจึงใกล้เคียงกับวันเริ่มต้น และเริ่มพบแบคทีเรียย่อยสลายฟีแนนทรีนในวันที่ 14 แสดงให้เห็นถึงจุลินทรีย์ในใบจามจุรีมีการปรับตัว ปริมาณฟีแนนทรีนหลังจากที่มีการปรับตัวเพิ่มจำนวนแล้ว จึงลดลงอย่างรวดเร็ว

ตารางที่ 4.6 แสดงจำนวนแบคทีเรียย่อยสลายไพรีนที่ตรวจพบในชุดการทดลองต่างๆ ของการศึกษาการเร่งการย่อยสลาย PAHs ในดินที่ปนเปื้อน เมื่อเติมใบจามจุรี ใบมะขาม และใบนนทรี ระหว่างการทดลอง 0 –84 วัน

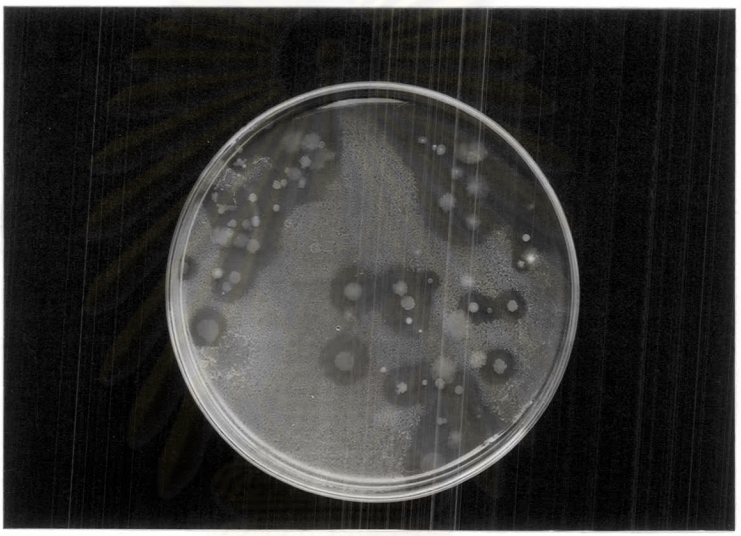
ชุดการทดลอง	จำนวนแบคทีเรียย่อยสลายไพรีน (CFU x 10^5/ ดิน 1 กรัม)						
	0 วัน	14 วัน	28 วัน	42 วัน	56 วัน	70 วัน	84 วัน
ดิน	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
ดินผสมใบจามจุรี	0.00	77.40	429.50	70.00	520.00	30.00	899.40
ดินผสมใบมะขาม	0.0024	81.00	102.00	151.00	105.00	15.60	4.50
ดินผสมใบนนทรี	0.00	6.25	8.50	18.00	2.50	21.00	1.00

จากตารางที่ 4.6 จำนวนแบคทีเรียย่อยสลายไพรีนจะตรวจนับบนอาหารเลี้ยงเชื้อ CFMM ที่พ่นทับด้วยไพรีนในชุดการทดลองต่างๆ ได้แก่ ดิน (ชุดการทดลองที่ 2) ดินผสมใบจามจุรี (ชุดการทดลองที่ 6) ดินผสมใบมะขาม (ชุดการทดลองที่ 7) และดินผสมใบนนทรี (ชุดการทดลองที่ 8) จากการทดลองจะตรวจพบแบคทีเรียย่อยสลายไพรีนรีนสร้างบริเวณใสรอบโคโลนีได้ในเฉพาะในชุดการทดลองที่มีการเติมใบจามจุรี ใบมะขาม และใบนนทรีเท่านั้น

ในรูปที่ 4.7 แสดงแบคทีเรียที่ตรวจพบบนอาหารเลี้ยงเชื้อดังกล่าว



(ก)

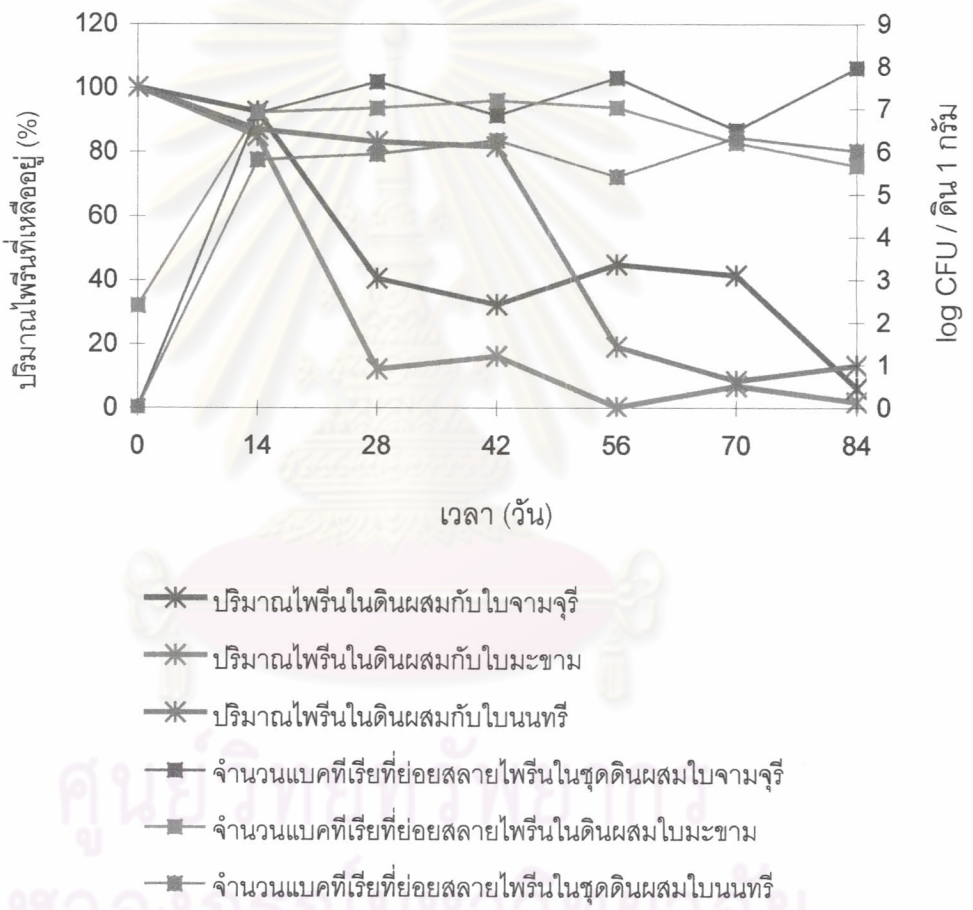


(ข)

(ค)

รูปที่ 4.7 แสดงลักษณะโคโลนีของแบคทีเรียที่ย่อยสลายไพรีน ซึ่งสร้างบริเวณใสรอบโคโลนีอาหารเลี้ยงเชื้อ CFMM ที่พ่นทับด้วยไพรีนโดยแยกได้จากชุดการทดลองดินผสมใบจามจุรี (ก) ดินผสมใบมะขาม (ข) และดินผสมใบนนทรี (ค)

ในวันแรกของการทดลองจะไม่พบแบคทีเรียย่อยสลายไพรีนในชุดการทดลองดินผสมใบจามจุรี และดินผสมใบนนทรี โดยเริ่มตรวจพบวันที่ 14 ของการทดลองที่ 77.40×10^5 และ 6.25×10^5 CFU ต่อดิน 1 กรัม ตามลำดับในขณะที่ดินผสมใบมะขาม เริ่มตรวจพบแบคทีเรียย่อยสลายฟีแนนทรีนตั้งแต่วันที่เริ่มต้นการทดลองที่จำนวน 2.4×10^2 CFU ต่อดิน 1 กรัม และจำนวนแบคทีเรียที่พบในดินผสมใบไม้ทั้ง 3 ชนิดเพิ่มปริมาณขึ้นสูงและค่อนข้างคงที่ใกล้เคียงกันจนถึงวันที่ 84 ของการทดลอง แสดงดังรูปที่ 4.8



รูปที่ 4.8 ปริมาณไพรีนที่เหลืออยู่และจำนวนแบคทีเรียย่อยสลายไพรีนในชุดการทดลองดินผสมใจามจุรี ดินผสมใบมะขาม และดินผสมใบนนทรี

จากรูปที่ 4.8 การเพิ่มจำนวนของแบคทีเรียย่อยสลายไพรีนในทุกชุดการทดลองสอดคล้องกับปริมาณไพรีนที่ลดลง โดยที่ไพรีนในดินผสมใบมะขามลดลงรวดเร็วกว่าในดินที่ผสมใบนนทรีและใบจามจุรี เนื่องจากพบแบคทีเรียย่อยสลายไพรีนในดินผสมใบมะขามตั้งแต่วันเริ่มต้นการทดลองจึงทำให้ย่อยสลายไพรีนได้อย่างรวดเร็วใน 28 วันแรก แต่ในดินผสมใบจามจุรีและดินผสมใบนนทรีตรวจไม่พบแบคทีเรียย่อยสลายไพรีนในวันเริ่มต้น ปริมาณไพรีนใน 28 วันแรกจึงใกล้เคียงกับวันเริ่มต้น และจุลินทรีย์ในดินผสมใบจามจุรีและใบนนทรีที่มีการปรับตัวแล้วจะเพิ่มจำนวนขึ้นสูงในวันที่ 28 ปริมาณไพรีนหลังจากนั้นจึงลดลงอย่างรวดเร็ว

จุลินทรีย์ในดินผสมใบมะขามและดินผสมใบนนทรีใช้เวลาในการปรับตัวเพื่อย่อยสลายฟีแนนทรีนเพียง 14 วัน แต่ดินผสมใบจามจุรีใช้เวลา 28 วัน และจุลินทรีย์ในดินผสมใบมะขามและดินผสมใบจามจุรีใช้เวลาในการปรับตัวเพื่อย่อยสลายไพรีนเพียง 28 วัน ในขณะที่ใบนนทรีต้องใช้เวลา 56 วัน

ตั้งแต่วันเริ่มต้นการทดลอง พบแบคทีเรียย่อยฟีแนนทรีนและไพรีนในดินผสมใบมะขาม ในขณะที่ดินผสมใบนนทรีพบแต่แบคทีเรียย่อยสลายฟีแนนทรีน และในดินผสมใบจามจุรีไม่พบทั้งแบคทีเรียย่อยสลายฟีแนนทรีนและไพรีนเลย ซึ่งการพบแบคทีเรียในวันแรกของการทดลองแสดงว่าเป็นแบคทีเรียที่มีอยู่แล้วในใบไม้นั้นและสามารถปรับตัวย่อยสลายสาร PAHs ได้รวดเร็ว

ดังนั้นจึงคัดเลือกใบมะขามมาทำการทดลองในขั้นต่อไป เพราะว่าใบมะขามพบทั้งจุลินทรีย์ย่อยสลายฟีแนนทรีนและไพรีนในวันแรกของการทดลองและจุลินทรีย์ในใบมะขามใช้เวลาในการย่อยสลายฟีแนนทรีนและไพรีนได้รวดเร็วกว่าใบนนทรีและจามจุรี

4.4 หาปริมาณไพรีนที่สูงที่สุดที่สามารถถูกย่อยสลายได้ในดินผสมใบมะขาม

ศึกษาการย่อยสลายไพรีนความเข้มข้นสูงในดินโดยใช้ใบมะขามซึ่งเป็นใบไม้ที่คัดเลือกได้ โดยเปลี่ยนความเข้มข้นของไพรีนและฟีแนนทรีนจาก 1.0 มก. ต่อดิน 1 กรัม เป็น 2.0, 3.0 และ 4.0 มก.ต่อดิน 1 กรัม โดยแบ่งการทดลองออกเป็น 8 ชุด ได้แก่

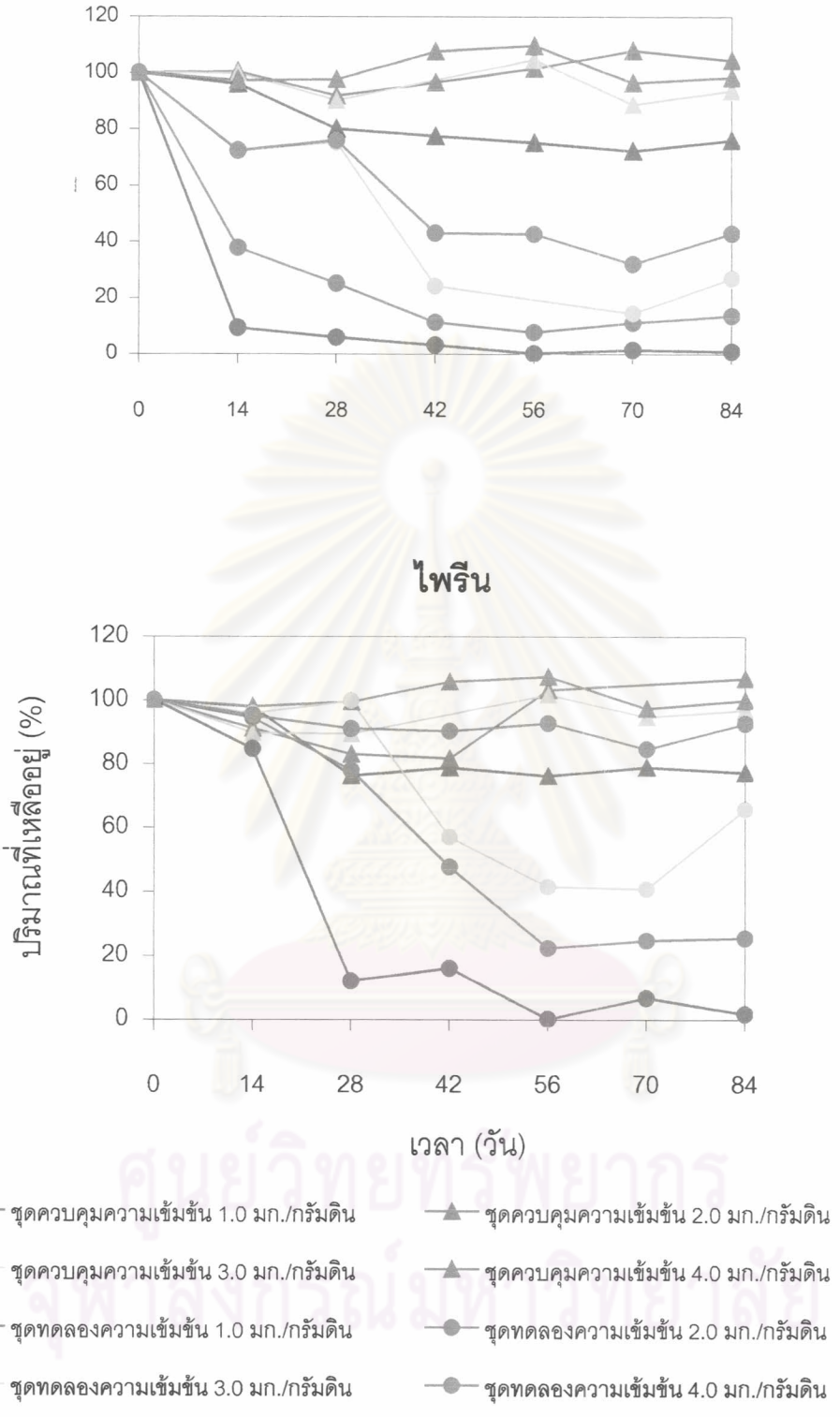
1. ดินปลอดเชื้อผสมใบมะขามปลอดเชื้อเติมสาร PAHs เข้มข้น 1.0 มก. /กรัมดิน
2. ดินปลอดเชื้อผสมใบมะขามปลอดเชื้อเติมสาร PAHs เข้มข้น 2.0 มก. /กรัมดิน
3. ดินปลอดเชื้อผสมใบมะขามปลอดเชื้อเติมสาร PAHs เข้มข้น 3.0 มก. /กรัมดิน
4. ดินปลอดเชื้อผสมใบมะขามปลอดเชื้อเติมสาร PAHs เข้มข้น 4.0 มก. /กรัมดิน
5. ดินผสมใบมะขามเติมสาร PAHs เข้มข้น 1.0 มก. /กรัมดิน
6. ดินผสมใบมะขามเติมสาร PAHs เข้มข้น 2.0 มก. /กรัมดิน
7. ดินผสมใบมะขามเติมสาร PAHs เข้มข้น 3.0 มก. /กรัมดิน
8. ดินผสมใบมะขามเติมสาร PAHs เข้มข้น 4.0 มก. /กรัมดิน

ผลการวิเคราะห์ปริมาณฟีแนนทรีนและไพรีนความเข้มข้นต่าง ๆ ที่เหลืออยู่ในช่วงระยะเวลา 84 วัน พบว่า เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสาร PAHs จาก 1.0 เป็น 2.0, 3.0 และ 4.0 มก. /กรัมดินแล้ว ความเร็วในการย่อยสลายจะลดลงตามลำดับ โดยที่ความเข้มข้น 1.0 มก./ กรัมดิน เป็นความเข้มข้นสาร PAHs ที่จุลินทรีย์ในดินผสมใบมะขาม (ชุดการทดลองที่ 5) สามารถย่อยสลายได้ดี กล่าวคือ ปริมาณฟีแนนทรีนในวันที่ 14 ลดลงเหลือ 9.15% และไพรีนเริ่มลดลงเหลือ 11.92% ในวันที่ 28 และตรวจไม่พบฟีแนนทรีนและไพรีนในวันที่ 56 ของการทดลอง ในขณะที่ฟีแนนทรีนและไพรีนในชุดควบคุม (ชุดการทดลองที่ 1) ยังคงเหลือ 76.05% และ 77.14% ตามลำดับในวันที่ 84 ของการทดลอง

เมื่อเพิ่มความเข้มข้นเป็น 2 มก./กรัมดิน (ชุดการทดลองที่ 6) จุลินทรีย์ในใบมะขามยังคงย่อยสลายฟีแนนทรีนและไพรีนได้ แต่น้อยกว่าความเข้มข้น 1 มก./กรัมดิน เหลือฟีแนนทรีน 37.69% ในวันที่ 14 ของการทดลองและในวันที่ 84 ของการทดลองเหลือ 13.48% แต่การย่อยสลายไพรีนจะค่อย ๆ ลดลงอย่างช้า ๆ จนเหลือ 25.34% ในวันที่ 84 ของการทดลอง ในขณะที่ฟีแนนทรีนและไพรีนในชุดควบคุม (ชุดการทดลองที่ 2) ในวันที่ 84 ของการทดลองไม่ลดลง

เมื่อเพิ่มความเข้มข้นเป็น 3 มก./กรัมดิน (ชุดการทดลองที่ 7) จุลินทรีย์ในใบมะขามใช้เวลาในการปรับตัวมากขึ้นเพื่อย่อยสลายฟีแนนทรีนและไพรีน โดยที่ฟีแนนทรีนถูกย่อยสลายเหลือ 72.19% ในวันที่ 14 และลดลงเหลือ 26.82% ในวันที่ 84 ของการทดลอง ในขณะที่ปริมาณไพรีนยังคงเหลือใกล้เคียงกับวันเริ่มต้นจนถึงวันที่ 28 ของการทดลอง แล้วจึงค่อยๆลดลงเหลือ 56.89% ในวันที่ 42 และค่อนข้างคงที่จนถึงวันที่ 84 ของการทดลอง ในขณะที่ฟีแนนทรีนและไพรีนในชุดควบคุม (ชุดการทดลองที่ 3) ยังเหลือ 93.65% และ 96.76% ตามลำดับในวันที่ 84 ของการทดลอง

เมื่อเพิ่มความเข้มข้นเป็น 4 มก./กรัมดิน (ชุดการทดลองที่ 8) จุลินทรีย์ในใบมะขามใช้เวลาในการปรับตัวมากขึ้นเพื่อย่อยสลายฟีแนนทรีนและไพรีน ซึ่งปริมาณฟีแนนทรีนจะค่อยๆ ลดลงเหลือ 42.76% ในวันที่ 84 ของการทดลอง ในขณะที่ไพรีนในวันที่ 84 ของการทดลองยังคงเหลือปริมาณใกล้เคียงกับปริมาณไพรีนในวันเริ่มต้นของการทดลองคือ 92.48% ในขณะที่ฟีแนนทรีนและไพรีนในชุดควบคุม (ชุดการทดลองที่ 4) ยังเหลือ 98.23% และ 99.86% ตามลำดับในวันที่ 84 ของการทดลอง แสดงในรูปที่ 4.9



รูปที่ 4.9 ปริมาณฟีแนนทรีนและไพรีนความเข้มข้น 1.0, 2.0, 3.0 และ 4.0 มก./กรัมดิน ที่เหลืออยู่ในชุดการทดลองดินผสมใบมะขามและชุดควบคุมดินปลอดเชื้อผสมใบมะขามปลอดเชื้อ

จากรูปที่ 4.9 พบว่าอัตราเร็วในการย่อยสลายจะเกิดได้เร็วที่สุดเมื่อความเข้มข้น PAHs น้อยสุด คือ 1.0 มก./ กรัมดิน และอัตราเร็วจะลดน้อยลงเมื่อความเข้มข้นเพิ่มสูงขึ้นเป็น 2.0, 3.0 และ 4.0 มก./ กรัมดินตามลำดับ เนื่องจากจุลินทรีย์ต้องปรับตัวในระยะแรกให้ทนกับ PAHs ความเข้มข้นสูง ๆ ได้ ซึ่งความเข้มข้น 2.0 และ 3.0 มก./ กรัมดิน จุลินทรีย์ยังสามารถย่อยสลายฟีแนนทรีนและไพรีนได้ แต่เมื่อเพิ่มเป็น 4.0 มก./ กรัมดินแล้ว การย่อยสลายไพรีนเกือบไม่เกิดขึ้น

เมื่อพิจารณาความเร็วในการย่อยสลายและปริมาณ PAHs ที่เหลืออยู่เมื่อสิ้นสุดการทดลองเพื่อคัดเลือกความเข้มข้น PAHs ที่เหมาะสมนำไปทดลองปรับพารามิเตอร์ต่าง ๆ ในการบ่มให้เกิดการย่อยสลายได้ดีขึ้น พบว่าที่ความเข้มข้นฟีแนนทรีนและไพรีน 1.0 มก./ กรัมดิน จุลินทรีย์สามารถย่อยสลายได้รวดเร็วจนตรวจไม่พบ PAHs ในวันที่ 56 แต่เมื่อเพิ่มความเข้มข้นเป็น 2.0 มก./ กรัมดิน จุลินทรีย์จะใช้เวลาในการปรับตัวระยะแรกนานนานมากกว่าการย่อยสลายที่ความเข้มข้น 1.0 มก./ กรัมดิน จึงจะเกิดการย่อยสลายอย่างชัดเจน และยังคงมีปริมาณ PAHs เหลืออยู่เมื่อสิ้นสุดการทดลอง และเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ PAHs เป็น 3.0 มก./ กรัมดิน จุลินทรีย์ต้องใช้เวลาในการปรับตัวเพื่อย่อยสลายไพรีนนานมากกว่าการย่อยสลายที่ความเข้มข้น 2.0 มก./ กรัมดิน และมีปริมาณ PAHs เหลืออยู่เมื่อสิ้นสุดการทดลองมากกว่าปริมาณ PAHs เหลืออยู่จากการย่อยสลาย PAHs ความเข้มข้น 2.0 มก./ กรัมดิน และเมื่อเพิ่มความเข้มข้น PAHs เป็น 4.0 มก./ กรัมดิน จุลินทรีย์จะใช้เวลาปรับตัวนานที่สุด เมื่อสิ้นสุดการทดลองในวันที่ 84 ปริมาณไพรีนที่พบยังใกล้เคียงกับวันเริ่มต้นการทดลอง อาจยังไม่เกิดการย่อยสลายใน 84 วัน ดังนั้นจึงเลือกใช้ความเข้มข้น PAHs 2.0 มก./ กรัมดินในการทดลองขั้นต่อไป เนื่องจากมีระยะเวลาที่จุลินทรีย์ใช้ในการปรับตัวช่วงแรกไม่นานเกินไปและมีปริมาณ PAHs ที่เหลืออยู่หลังจากสิ้นสุดการทดลอง เมื่อนำไปทดลองปรับพารามิเตอร์ต่าง ๆ ให้เหมาะสมแล้ว น่าจะใช้เวลาในการปรับตัวสั้นลง เกิดการย่อยสลายได้มากขึ้น และอาจทำให้ปริมาณ PAHs ที่เหลืออยู่เมื่อสิ้นสุดการทดลองลดน้อยลงกว่าการทดลองที่ยังไม่ได้มีการปรับพารามิเตอร์ต่าง ๆ

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

4.5 หาพารามิเตอร์ที่เหมาะสมบางประการเพื่อเพิ่มอัตราการย่อยสลายไพรีนในดินผสม

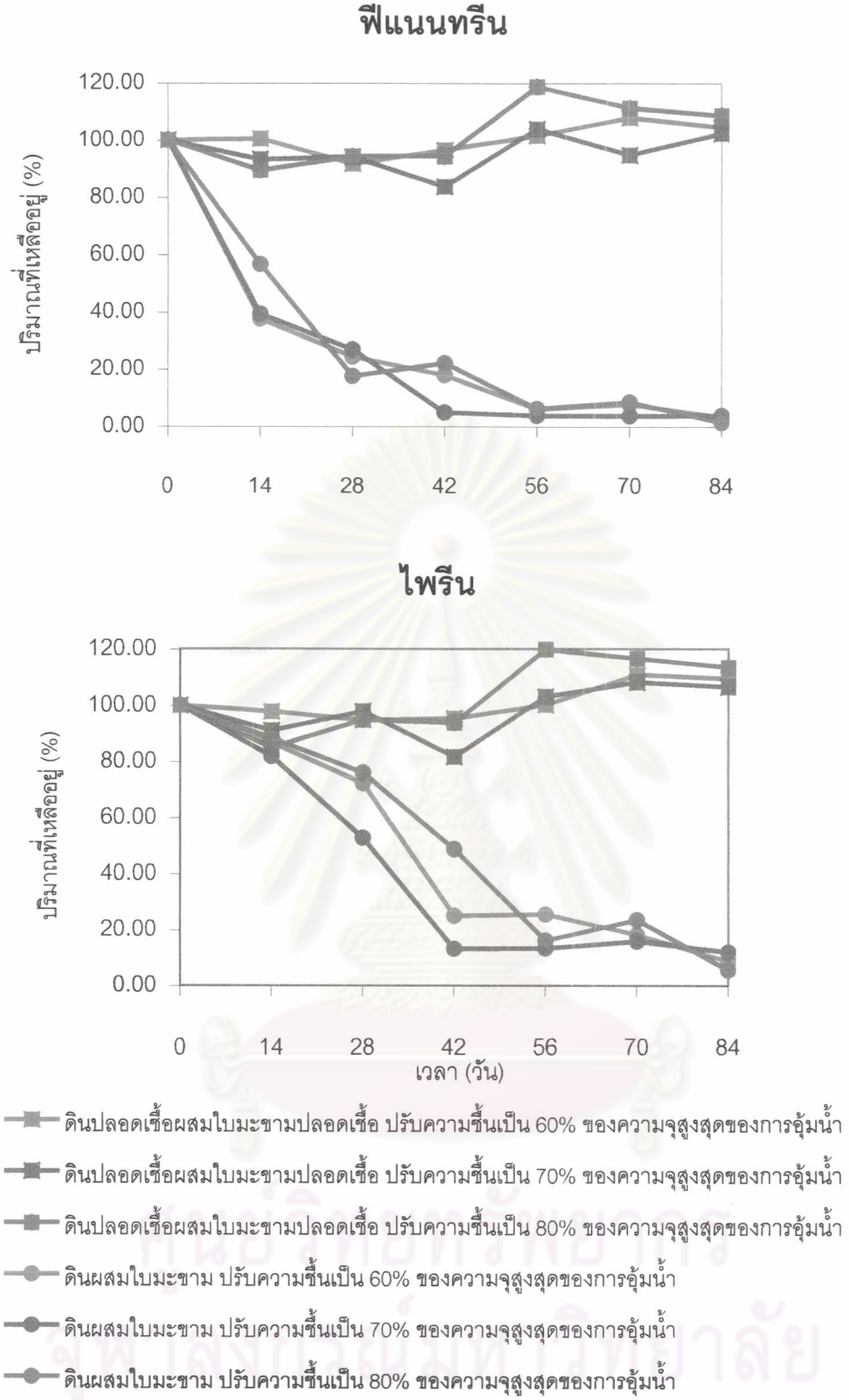
4.5.1 การปรับความชื้น

โดยใช้อัตราส่วนดินต่อใบมะขาม 9:1 ใช้ความเข้มข้น PAHs 2.0 มก./ กรัมดินซึ่งเป็นความเข้มข้นที่คัดเลือกได้จากการทดลองข้อ 4.4 บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เปิดฝาเกลียวให้อากาศ 1 ครั้งต่อสัปดาห์ และปรับความชื้นภายในหลอดทดลองให้เป็น 60%, 70% และ 80% ของความจุสูงสุดของการอุ้มน้ำ บ่มในที่มืดเป็นเวลา 84 วัน และนำมาตรวจสอบทุก 14 วัน เพื่อหาปริมาณสาร PAHs ที่เหลืออยู่ แบ่งการทดลองออกเป็น 6 ชุด ได้แก่

1. ดินปลอดเชื้อผสมใบมะขามปลอดเชื้อปรับความชื้นเป็น 60%ของความจุสูงสุดของการอุ้มน้ำ
2. ดินปลอดเชื้อผสมใบมะขามปลอดเชื้อปรับความชื้นเป็น 70%ของความจุสูงสุดของการอุ้มน้ำ
3. ดินปลอดเชื้อผสมใบมะขามปลอดเชื้อปรับความชื้นเป็น 80%ของความจุสูงสุดของการอุ้มน้ำ
4. ดินผสมใบมะขามปรับความชื้นเป็น 60% ของความจุสูงสุดของการอุ้มน้ำ
5. ดินผสมใบมะขามปรับความชื้นเป็น 70% ของความจุสูงสุดของการอุ้มน้ำ
6. ดินผสมใบมะขามปรับความชื้นเป็น 80% ของความจุสูงสุดของการอุ้มน้ำ

ผลการทดลองปรับความชื้นภายในหลอดทดลองเพื่อช่วยให้เกิดการย่อยสลายสาร PAHs ในหลอดทดลองได้ดีที่สุด พบว่าในวันที่14 ของการทดลอง หลอดทดลองที่ปรับความชื้นเป็น 60% และ 70%ของความจุสูงสุดในการอุ้มน้ำ (ชุดการทดลองที่ 4 และ 5) เกิดการย่อยสลายฟีแนนทรีนอย่างรวดเร็วใกล้เคียงกัน เหลือ 37.69% และ 39.35% ตามลำดับ ในขณะที่หลอดทดลองที่ปรับความชื้นเป็น 80% ของความจุสูงสุดของการอุ้มน้ำ (ชุดการทดลองที่ 6) เหลือฟีแนนทรีน 56.66% และทั้ง 3 ชุดการทดลองจะค่อย ๆ ลดลงจนเหลือปริมาณฟีแนนทรีน 13.48%, 3.74% และ 1.36% ตามลำดับ ในวันที่ 84 ของการทดลอง ในขณะที่ชุดควบคุมที่ปรับความชื้นเป็น 60%, 70% และ 80% (ชุดการทดลองที่ 1, 2 และ 3) ปริมาณฟีแนนทรีนในวันที่ 84 ของการทดลองไม่ลดลง

ส่วนไพรีนนั้นจะพบว่ามีปริมาณลดลงอย่างชัดเจนในวันที่ 28 ของการทดลองเมื่อบ่มให้เกิดการย่อยสลายในสภาพความชื้น 70% ของความจุสูงสุดของการอุ้มน้ำ (ชุดการทดลองที่ 5) เหลือ 52.85% รองลงมาคือชุดการทดลองที่ปรับความชื้น 60% และ 80% ของความจุสูงสุดในการอุ้มน้ำ (ชุดการทดลองที่ 4 และ 6) เหลือ 72.25% และ 76.04% ตามลำดับ และค่อย ๆ ลดลงจนเหลือปริมาณไพรีนในวันที่ 84 ของการทดลอง 8.70%, 12.00% และ 5.55% เมื่อบ่มไว้ที่ความชื้น 60%, 70% และ 80% ตามลำดับ ในขณะที่ชุดควบคุมที่ปรับความชื้นเป็น 60%, 70% และ 80% (ชุดการทดลองที่ 1, 2 และ 3)ปริมาณไพรีนในวันที่ 84 ของการทดลองไม่ลดลง ดังแสดงในรูปที่ 4.10



รูปที่4.10 ปริมาณฟีแนนทรีนและไพรีนความเข้มข้น 2.0 มก./ กรัมดิน ที่เหลืออยู่ในชุดการทดลองดินผสมใบมะขามและดินปลอดเชื้อผสมใบมะขามปลอดเชื้อ เมื่อปรับความชื้นภายในหลอดเป็น 60%, 70% และ 80% ของความจุสูงสุดของการอุ้มน้ำ

จากรูปที่ 4.10 พบว่าเมื่อปรับความชื้นภายในหลอดทดลองให้เป็น 70% ของความจุสูงสุดของการอุ้มน้ำ จะทำให้เกิดการย่อยสลายฟีแนนทรีนและไพรีนได้รวดเร็วที่สุด รองลงมาคือ หลอดทดลองที่ปรับสภาพให้มีความชื้น 60% ของความจุสูงสุดของการอุ้มน้ำ จะทำให้เกิดการย่อยสลายฟีแนนทรีนได้รวดเร็วใกล้เคียงกับการย่อยสลายในสภาพความชื้น 70%ของความจุสูงสุดของการอุ้มน้ำ แต่การย่อยสลายไพรีนจะเกิดได้ช้ากว่า และเมื่อปรับความชื้นเป็น 80% ของความจุสูงสุดของการอุ้มน้ำ จะทำให้เกิดการย่อยสลายฟีแนนทรีนและไพรีนได้ช้าที่สุด ดังนั้นจึงเลือกการปรับสภาพความชื้นภายในหลอดทดลองให้เป็น 70% ของความจุสูงสุดของการอุ้มน้ำ เพราะเป็นความชื้นที่เหมาะสมที่จะทำให้เกิดการย่อยสลายฟีแนนทรีนและไพรีนได้รวดเร็วที่สุด เพื่อนำไปใช้ในการทดลองปรับพารามิเตอร์อื่น ๆ ในขั้นต่อไป

4.5.2 การปรับอุณหภูมิ

โดยใช้อัตราส่วนดินต่อใบมะขาม 9:1 ใช้ความเข้มข้น PAHs 2.0 มก./ กรัมดินซึ่งเป็นความเข้มข้นที่คัดเลือกได้จากการทดลองข้อ 4.4 และปรับความชื้นภายในหลอดทดลองให้เป็น 70% ของความจุสูงสุดของการอุ้มน้ำ ซึ่งเป็นความชื้นที่คัดเลือกได้จากข้อ 4.5.1 เปิดฝาเกลียวให้อากาศ 1 ครั้งต่อสัปดาห์ บ่มที่อุณหภูมิ 30, 35 และ 40 องศาเซลเซียส บ่มในที่มืดเป็นเวลา 84 วัน และนำมาตรวจสอบทุก 14 วันเพื่อหาปริมาณสาร PAHs ที่เหลืออยู่ แบ่งการทดลองออกเป็น 6 ชุด ได้แก่

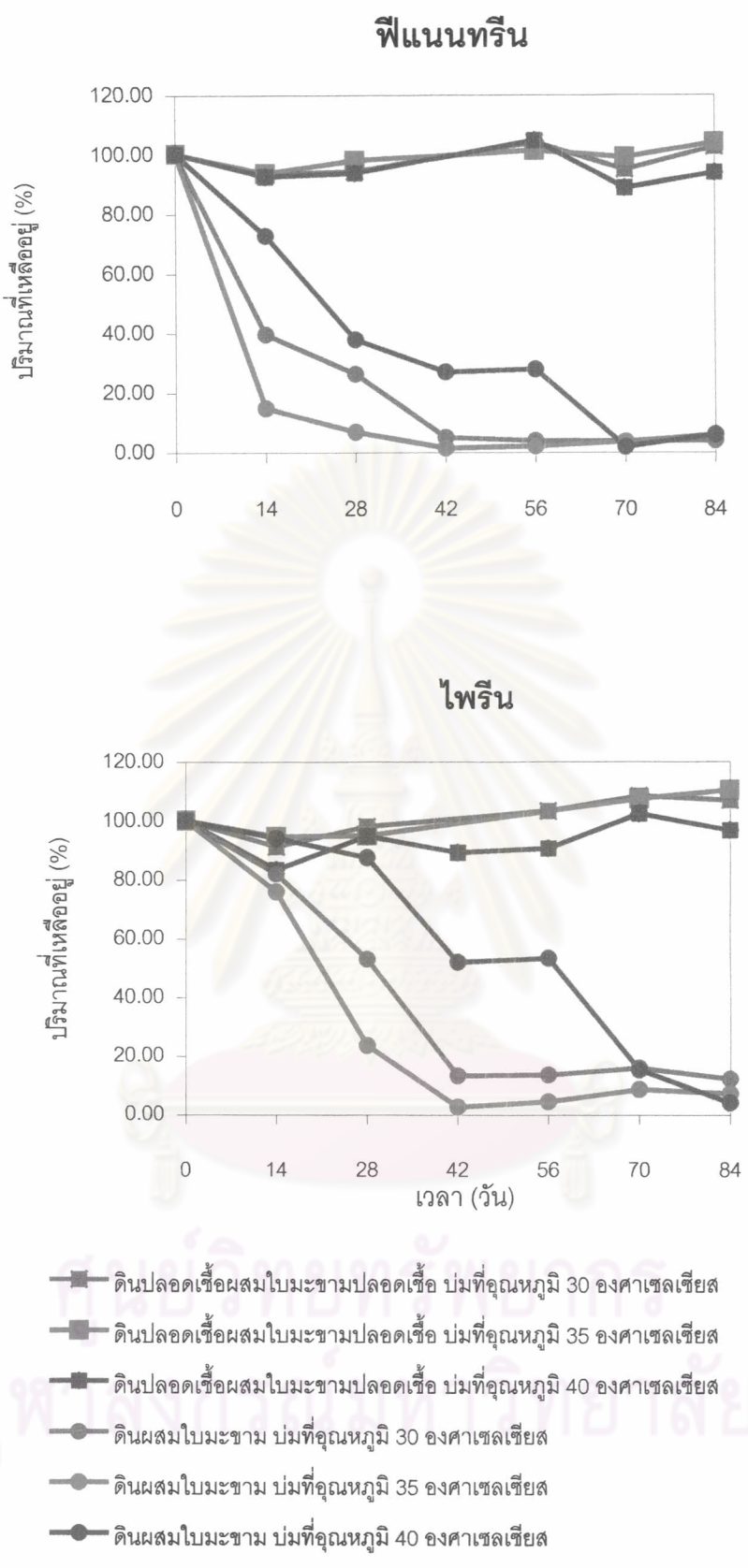
1. ดินปลอดเชื้อผสมใบมะขามปลอดเชื้อ บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส
2. ดินปลอดเชื้อผสมใบมะขามปลอดเชื้อ บ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส
3. ดินปลอดเชื้อผสมใบมะขามปลอดเชื้อ บ่มที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส
4. ดินผสมใบมะขามบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส
5. ดินผสมใบมะขามบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส
6. ดินผสมใบมะขามบ่มที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส

ผลการทดลองปรับอุณหภูมิในการบ่มเพื่อช่วยให้เกิดการย่อยสลายสาร PAHs ในหลอดทดลองได้ดีที่สุด พบว่าในวันที่14 ของการทดลอง หลอดทดลองที่บ่มไว้ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส (ชุดการทดลองที่ 5) เกิดการย่อยสลายฟีแนนทรีนอย่างรวดเร็วที่สุด เหลือ 14.57% รองลงมาคือหลอดทดลองที่บ่มไว้ที่อุณหภูมิ 30 และ 40 องศาเซลเซียส (ชุดการทดลองที่ 4 และ 6) เหลือฟีแนนทรีน 39.35% และ 72.56 % ตามลำดับ ทั้ง 3 ชุดการทดลองจะค่อย ๆ ลดลงจนเหลือปริมาณฟีแนนทรีน 3.74%, 5.61% และ 5.88% ตามลำดับ ในวันที่ 84 ของการทดลอง ในขณะที่

ชุดควบคุมที่บ่มไว้ที่อุณหภูมิ 30, 35 และ 40 องศาเซลเซียส (ชุดการทดลองที่ 1, 2 และ 3) ปริมาณฟีแนนทรีนในวันที่ 84 ของการทดลองไม่ลดลง

ส่วนไพรีนนั้นจะพบว่ามีปริมาณลดลงอย่างชัดเจนในวันที่ 28 ของการทดลองเมื่อบ่มให้เกิดการย่อยสลายที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส (ชุดการทดลองที่ 4) เหลือ 23.42% รองลงมาคือชุดการทดลองที่บ่มไว้ที่อุณหภูมิ 30 และ 40 องศาเซลเซียส (ชุดการทดลองที่ 5 และ 6) เหลือ 52.85% และ 87.36% ตามลำดับ และค่อย ๆ ลดลงจนเหลือปริมาณไพรีนในวันที่ 84 ของการทดลอง 12.00%, 7.05% และ 3.92% เมื่อบ่มไว้ที่อุณหภูมิ 30, 35 และ 40 องศาเซลเซียส ตามลำดับ ในขณะที่ชุดควบคุมที่บ่มไว้ที่อุณหภูมิ 30, 35 และ 40 องศาเซลเซียส (ชุดการทดลองที่ 1, 2 และ 3) ปริมาณไพรีนในวันที่ 84 ของการทดลองไม่ลดลง ดังแสดงในรูปที่ 4.11

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่4.11 ปริมาณฟีแนนทรีนและไพรีนความเข้มข้น 2.0 มก./ กรัมดิน ที่เหลืออยู่ในชุดการทดลองดินผสมใบมะขามและดินปลอดเชื้อผสมใบมะขามปลอดเชื้อ เมื่อบ่มไว้ที่อุณหภูมิ 30, 35 และ 40 องศาเซลเซียส

จากรูปที่ 4.11 พบว่าเมื่อบ่มหลอดทดลองไว้ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียสจะทำให้เกิดการย่อยสลายฟีแนนทรีนและไพรีนได้รวดเร็วที่สุด รองลงมาคือหลอดทดลองที่บ่มไว้ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส และหลอดทดลองที่บ่มไว้ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส จะทำให้เกิดการย่อยสลายฟีแนนทรีนและไพรีนได้ช้าที่สุด ดังนั้นจึงเลือกการบ่มหลอดทดลองที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เพราะเป็นอุณหภูมิในการบ่มที่เหมาะสมที่จะทำให้เกิดการย่อยสลายฟีแนนทรีนและไพรีนได้รวดเร็วที่สุด เพื่อนำไปใช้ในการทดลองปรับพารามิเตอร์อื่น ๆ ในขั้นต่อไป

4.5.3 การปรับปริมาณอากาศในหลอดทดลอง

โดยใช้อัตราส่วนดินต่อใบมะขาม 9:1 ใช้ความเข้มข้น PAHs 2.0 มก./ กรัมดินซึ่งเป็นความเข้มข้นที่คัดเลือกได้จากการทดลองข้อ 4.4 และปรับความชื้นภายในหลอดทดลองให้เป็น 70% ของความจุความชื้นสูงสุดซึ่งเป็นความชื้นที่คัดเลือกได้จากข้อ 4.5.1 บ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียสที่คัดเลือกได้จากข้อ 4.5.2 ปรับปริมาณอากาศโดยเปิดฝาเกลียวให้อากาศ 1 และ 2 ครั้งต่อสัปดาห์ และการเติมไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ บ่มในที่มืดเป็นเวลา 84 วัน และนำมาตรวจสอบทุก 14 วันเพื่อหาปริมาณสาร PAHs ที่เหลืออยู่ แบ่งการทดลองออกเป็น 10 ชุด ได้แก่

4.5.3.1 การปรับปริมาณอากาศโดยเปิดฝาเกลียวให้อากาศ

1. ดินปลอดเชื้อผสมใบมะขามปลอดเชื้อ เปิดฝาเกลียวให้อากาศ 1 ครั้งต่อสัปดาห์
2. ดินปลอดเชื้อผสมใบมะขามปลอดเชื้อ เปิดฝาเกลียวให้อากาศ 2 ครั้งต่อสัปดาห์
3. ดินผสมใบมะขามเปิดฝาเกลียวให้อากาศ 1 ครั้งต่อสัปดาห์
4. ดินผสมใบมะขามเปิดฝาเกลียวให้อากาศ2 ครั้งต่อสัปดาห์

4.5.3.2 การปรับปริมาณอากาศโดยการเติมไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์

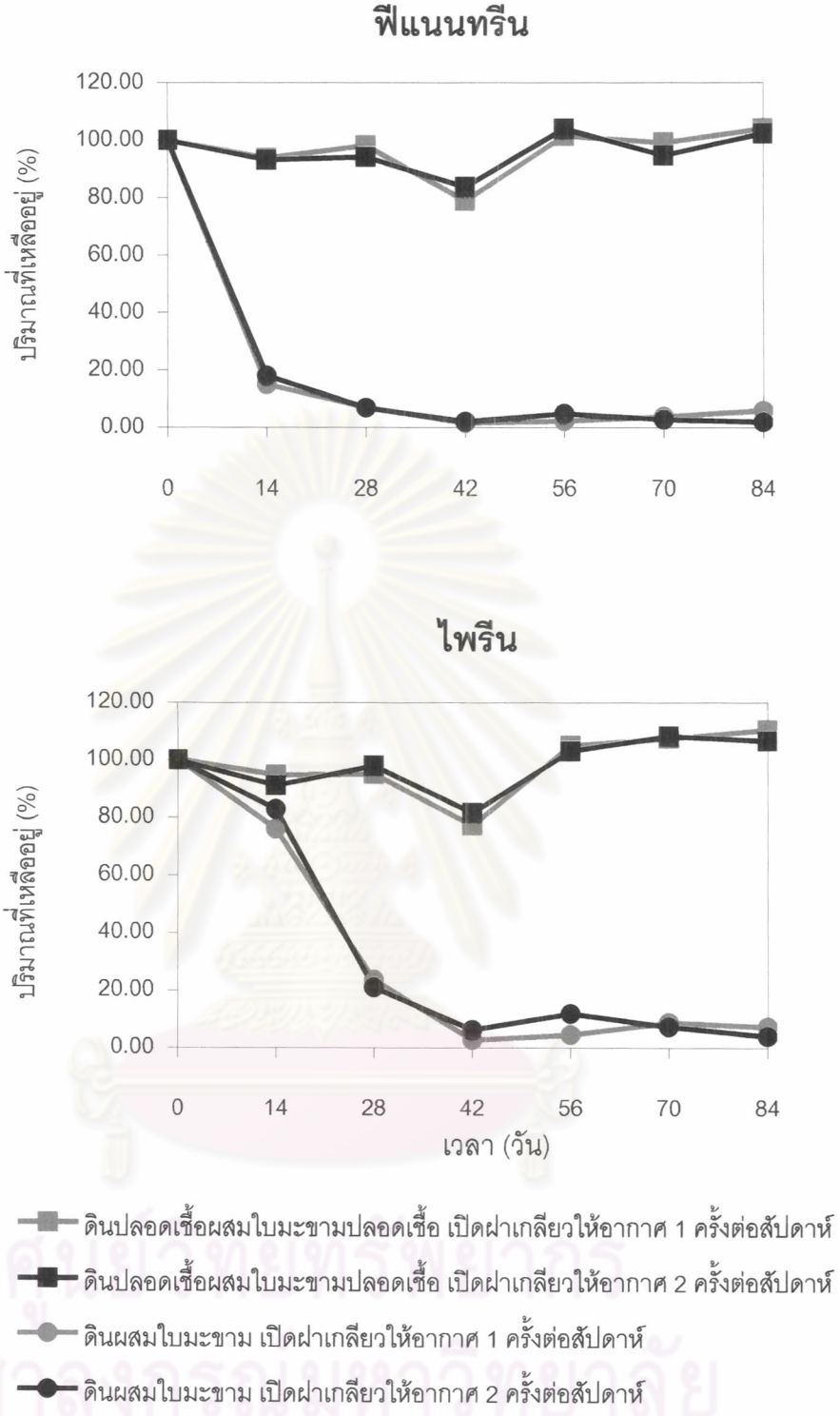
ส่วนการเติมไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์เพื่อเพิ่มปริมาณออกซิเจนในหลอดทดลองนั้นจะใช้ความเข้มข้นของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่ไม่เป็นอันตรายต่อสิ่งมีชีวิต คือ 100-500 มิลลิกรัมต่อลิตร (Bowlen และ Kosson, 1995) หรือ 0.01-0.05 เปอร์เซ็นต์ แบ่งการทดลองออกเป็น 6 ชุด ได้แก่

1. ดินปลอดเชื้อผสมใบมะขามปลอดเชื้อ เติมไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 0.01 %
2. ดินปลอดเชื้อผสมใบมะขามปลอดเชื้อ เติมไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 0.03 %
3. ดินปลอดเชื้อผสมใบมะขามปลอดเชื้อ เติมไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 0.05 %
4. ดินผสมใบมะขามเติมไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 0.01 %
5. ดินผสมใบมะขามเติมไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 0.03 %
6. ดินผสมใบมะขามเติมไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 0.05 %

ผลการทดลองปรับปริมาณอากาศในหลอดทดลองโดยเปิดฝาเกลียวให้อากาศ 1 และ 2 ครั้งต่อสัปดาห์ เพื่อช่วยให้เกิดการย่อยสลายสาร PAHs ในหลอดทดลองได้ดีที่สุด พบว่าในวันที่14 ของการทดลอง หลอดทดลองเปิดฝาเกลียวให้อากาศ 1 และ 2 ครั้งต่อสัปดาห์ (ชุดการทดลองที่ 3 และ 4) เกิดการย่อยสลายฟีแนนทรีนอย่างรวดเร็วใกล้เคียงกัน เหลือ 14.57% และ 18.00% ตามลำดับ และจะค่อย ๆ ลดลงจนเหลือปริมาณฟีแนนทรีน 5.61%และ 1.96% ตามลำดับ ในวันที่ 84 ของการทดลอง ในขณะที่ปริมาณฟีแนนทรีนในวันที่ 84 ของชุดควบคุมที่เปิดฝาเกลียวให้อากาศ 1 และ 2 ครั้งต่อสัปดาห์ (ชุดการทดลองที่ 1 และ 2) ไม่ลดลง

ส่วนการย่อยสลายไพรีนนั้นพบว่าหลอดทดลองเปิดฝาเกลียวให้อากาศ 1 และ 2 ครั้งต่อสัปดาห์ (ชุดการทดลองที่ 3 และ 4) เกิดการย่อยสลายไพรีนใกล้เคียงกันในวันที่ 28 ของการทดลอง เหลือ 23.42% และ 21.04% ตามลำดับ และค่อย ๆ ลดลงจนเหลือปริมาณไพรีนในวันที่ 84 ของการทดลอง 7.05% และ 4.07% เมื่อเปิดฝาเกลียวให้อากาศ 1 และ 2 ครั้งต่อสัปดาห์ ตามลำดับ ในขณะที่ปริมาณไพรีนในวันที่ 84 ของชุดควบคุมที่เปิดฝาเกลียวให้อากาศ 1 และ 2 ครั้งต่อสัปดาห์ (ชุดการทดลองที่ 1 และ 2) ไม่ลดลง ดังแสดงในรูปที่ 4.12

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



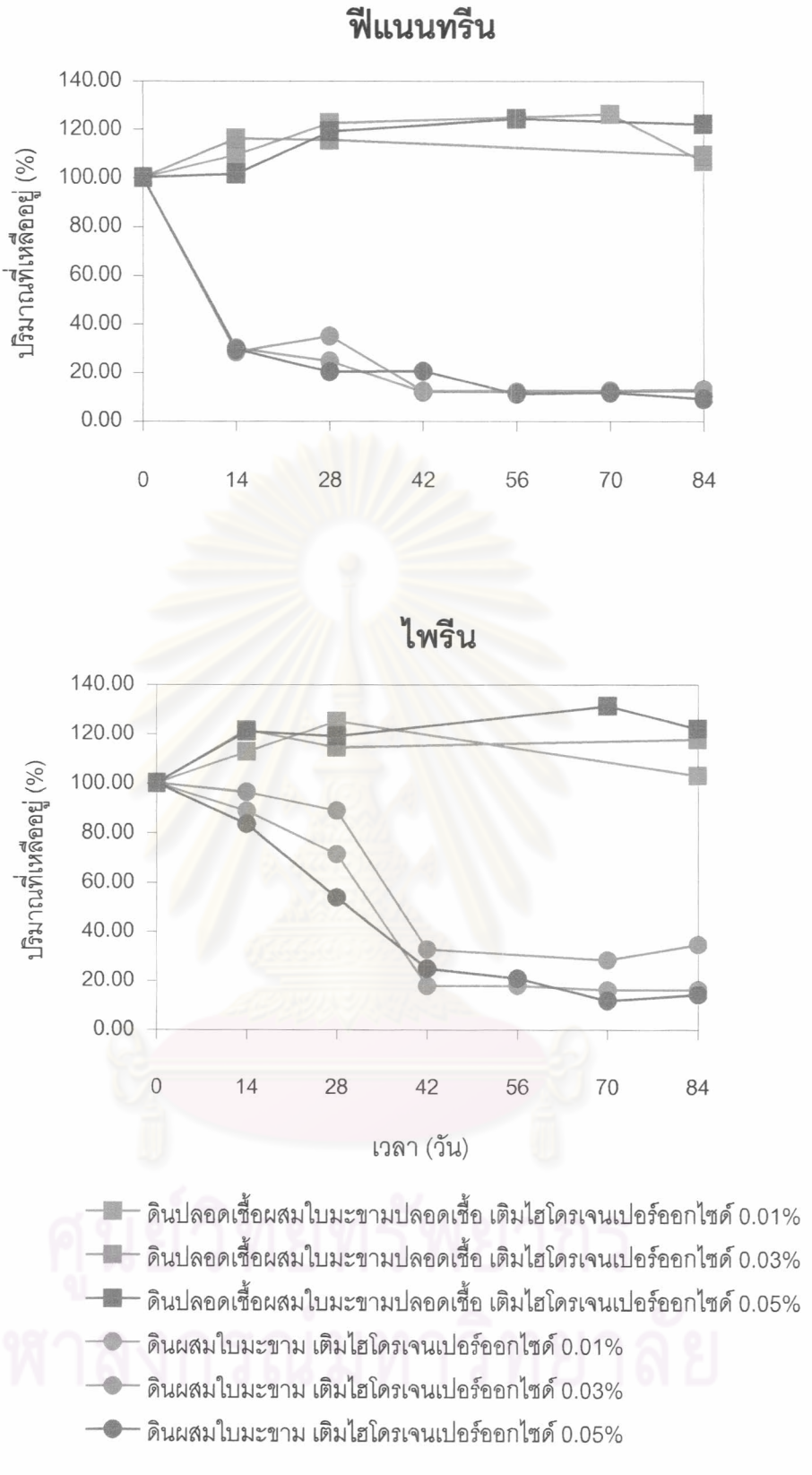
รูปที่4.12 ปริมาณฟีแนนทรีนและไพรีนความเข้มข้น 2.0 มก./ กรัมดิน ที่เหลืออยู่ในชุดการทดลองดินผสมใบมะขามและดินปลอดเชื้อผสมใบมะขามปลอดเชื้อ เมื่อเปิดฝาเกลียวให้อากาศ 1 และ 2 ครั้งต่อสัปดาห์

จากรูปที่4.12 พบว่าเมื่อเปิดฝาเกลียวให้อากาศ 1 และ 2 ครั้งต่อสัปดาห์ทำให้เกิดการย่อยสลายฟีแนนทรีนและไพรีนได้ใกล้เคียงกัน อาจกล่าวได้ว่า การเปิดฝาเกลียวให้อากาศ 1 และ 2 ครั้งต่อสัปดาห์ไม่มีผลแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญต่อการลดลงของไพรีนและฟีแนนทรีนในดิน

ผลการทดลองปรับปริมาณอากาศในหลอดทดลองโดยเติมไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์เพื่อช่วยให้เกิดการย่อยสลายสาร PAHs ในหลอดทดลองได้ดีที่สุด พบว่าในวันที่14 ของการทดลอง หลอดทดลองที่เติมไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 0.01 %, 0.03% และ 0.05% (ชุดการทดลองที่ 8, 9 และ 10) เกิดการย่อยสลายฟีแนนทรีนอย่างรวดเร็วใกล้เคียงกัน เหลือ 29.79%, 28.29% และ 29.29% ตามลำดับ และจะค่อย ๆ ลดลงจนเหลือปริมาณฟีแนนทรีน 12.29%, 12.76% และ 8.88% ตามลำดับ ในวันที่ 84 ของการทดลอง ในขณะที่ปริมาณฟีแนนทรีนในชุดควบคุมที่เติมไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 0.01 %, 0.03% และ 0.05% (ชุดการทดลองที่ 5, 6 และ 7) ไม่ลดลงในวันที่ 84 ของการทดลอง

ส่วนการย่อยสลายไพรีนนั้นพบว่าหลอดทดลองที่เติมไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 0.01 %, 0.03% และ 0.05% (ชุดการทดลองที่ 8, 9 และ 10) เกิดการย่อยสลายไพรีนอย่างชัดเจนใกล้เคียงกันในวันที่ 42 เหลือ 17.51%, 32.45% และ 24.59% ตามลำดับ และปริมาณไพรีน จะค่อนข้างคงที่เหลือ 15.97%, 34.45% และ 13.97% ตามลำดับ ในวันที่ 84 ของการทดลอง ในขณะที่ชุดควบคุมที่เติมไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 0.01 %, 0.03% และ 0.05% (ชุดการทดลองที่ 5, 6 และ 7) ปริมาณไพรีนในวันที่ 84 ของการทดลองไม่ลดลง ดังแสดงในรูปที่ 4.13

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่4.13 ปริมาณฟีแนนทรีนและไพรีนความเข้มข้น 2.0 มก./ กรัมดิน ที่เหลืออยู่ในชุดการทดลองดินผสมใบมะขามและดินปลอดเชื้อผสมใบมะขามปลอดเชื้อ เมื่อเติมไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 0.01 %, 0.03% และ 0.05%

จากรูปที่4.13 พบว่าเมื่อเติมไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 0.01 %, 0.03% และ 0.05% ทำให้เกิดการย่อยสลายฟีแนนทรีนและไพรีนได้ใกล้เคียงกัน อาจกล่าวได้ว่าเติมไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 0.01 %, 0.03% และ 0.05% ไม่มีผลแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญต่อการลดลงของไพรีนและฟีแนนทรีนในดิน

เมื่อเปรียบเทียบการให้อากาศโดยการเติมไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 0.01 %, 0.03% และ 0.05%กับการเปิดฝาเกลียวให้อากาศ 1 และ 2 ครั้งต่อสัปดาห์ พบว่าการย่อยสลายฟีแนนทรีนและไพรีนใกล้เคียงกัน แต่ปริมาณฟีแนนทรีนและไพรีนที่เหลือในวันสุดท้ายในชุดการทดลองที่เติมไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 0.01 %, 0.03% และ 0.05% เหลือมากกว่าชุดการทดลองเปิดฝาเกลียวให้อากาศเล็กน้อย ดังนั้น การเปิดฝาเกลียวให้อากาศ 1 ครั้งต่อสัปดาห์ก็เพียงพอต่อการย่อยสลายฟีแนนทรีนและไพรีนในหลอดทดลอง

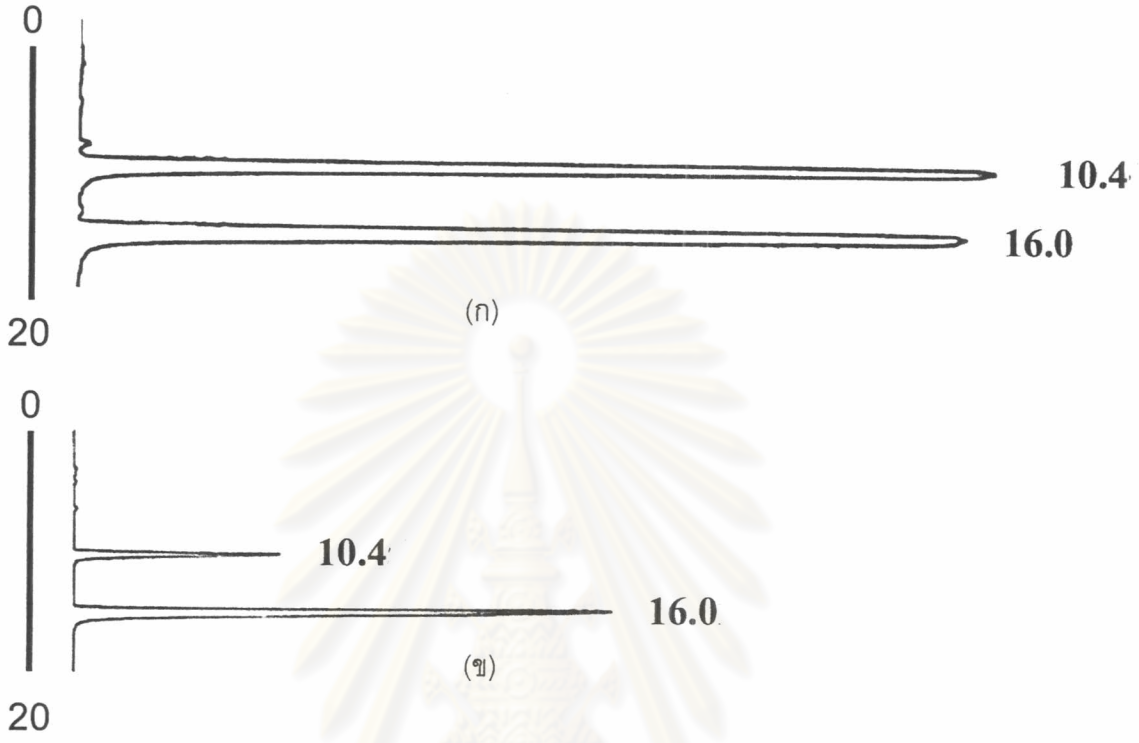
เมื่อเปรียบเทียบการย่อยสลายฟีแนนทรีนและไพรีนความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อกรัมดินในหลอดทดลองระหว่างก่อนและหลังการปรับภาวะที่เหมาะสมต่าง ๆ ได้แก่ ความชื้น อุณหภูมิ และการให้อากาศ พบว่าหลังการปรับภาวะที่เหมาะสมแล้ว จุลินทรีย์ในใบมะขามจะมีอัตราการย่อยสลายฟีแนนทรีนและไพรีนเร็วขึ้น กล่าวคือ ในชุดการทดลองก่อนและหลังการปรับภาวะที่เหมาะสม เหลือฟีแนนทรีน 37.69% และ 14.57% ตามลำดับในวันที่ 14 ของการทดลองและในวันที่ 84 ของการทดลองเหลือ 13.48% และ 5.61% ตามลำดับ ในขณะที่ฟีแนนทรีนในชุดควบคุมก่อนและหลังการปรับภาวะที่เหมาะสมในวันที่ 84 ของการทดลองไม่ลดลง ส่วนการย่อยสลายไพรีนในชุดก่อนการปรับภาวะที่เหมาะสมจะค่อย ๆ ลดลงอย่างช้า ๆ จนเหลือ 25.34% ในวันที่ 84 ของการทดลอง ในขณะที่ชุดการทดลองหลังการปรับภาวะที่เหมาะสมแล้วเกิดการย่อยสลายไพรีน อย่างชัดเจนในวันที่ 28 ของการทดลอง เหลือ 23.42% และเหลือ 7.05% ในวันที่ 84 ของการทดลอง ในขณะที่ไพรีนในชุดควบคุมก่อนและหลังการปรับภาวะที่เหมาะสมในวันที่ 84 ของการทดลองไม่ลดลง ดังแสดงในรูปที่ 4.14

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รูปที่ 4.14 ปริมาณฟีแนนทรีนและไพรีนความเข้มข้น 2.0 มก./ กรัมดิน ที่เหลืออยู่ในชุดการทดลองดินผสมใบมะขามและดินปลอดเชื้อผสมใบมะขามปลอดเชื้อ ก่อนและหลังปรับภาวะที่เหมาะสมแล้ว

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

โครมาโทแกรม HPLC แสดงปริมาณฟีแนนทรีนและไพรีนในวันที่ 84 ของชุดการทดลองก่อนการปรับภาวะที่เหมาะสมและหลังการปรับภาวะที่เหมาะสมแล้ว แสดงในรูปที่ 4.15 และ 4.16 ตามลำดับ

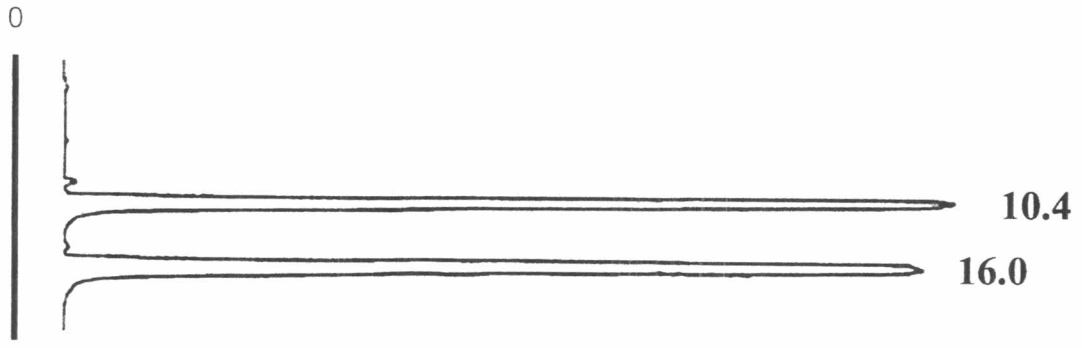


รูปที่ 4.15 แสดงโครมาโทแกรม HPLC ปริมาณฟีแนนทรีน (Rt=10.4) และไพรีน (Rt=16.0) ในวันที่ 84 ของชุดการทดลองก่อนการปรับภาวะที่เหมาะสม

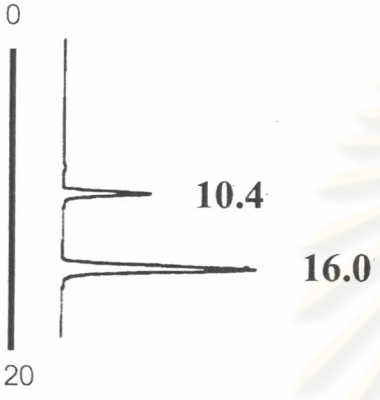
(ก) ชุดการทดลองดินปลอดเชื้อผสมใบมะขามปลอดเชื้อ

(ข) ชุดการทดลองดินผสมใบมะขาม

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



(ก)



(ข)

รูปที่ 4.16 แสดงโครมาโทแกรม HPLC ปริมาณฟีแนนทรีน (Rt=10.4) และไพรีน (Rt=16.0) ในวันที่ 84 ของชุดการทดลองหลังการปรับภาวะที่เหมาะสม

(ก) ชุดการทดลองดินปลอดเชื้อผสมใบมะขามปลอดเชื้อ

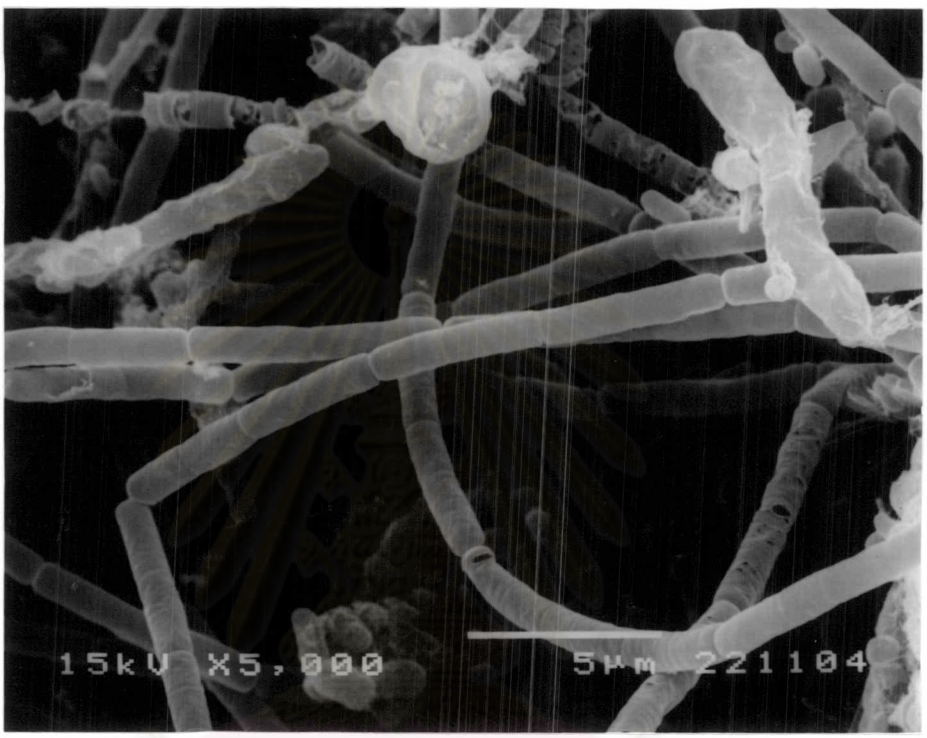
(ข) ชุดการทดลองดินผสมใบมะขาม

4.7 ศึกษาลักษณะจุลินทรีย์บนพื้นผิวใบจามจุรี ใบมะขาม และใบนนทรี ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ Scaning Electron Microscope (S.E.M.)

นำชิ้นส่วนของใบจามจุรี ใบมะขาม และใบนนทรีจากการทดลองข้อ4.3 เปรียบเทียบการเร่งการย่อยสลายไพรีนในดินโดยผสมใบไม้ทั้ง 3 ชนิด ชุดการทดลองที่ 4 (ดินไม่ปลอดเชื้อผสมใบจามจุรี ใบมะขาม หรือใบนนทรี) ที่บ่มไว้เป็นเวลา 42 วัน มาส่องดูลักษณะพื้นผิวและจุลินทรีย์บนพื้นผิวภายใต้กล้อง S.E.M. ที่ศูนย์เครื่องมือวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ได้ผลการทดลองแสดงดังรูปที่ 4.17, 4.18 และ 4.19

รูปที่ 4.17 แสดงลักษณะพื้นผิวและจุลินทรีย์ที่อยู่บนพื้นผิวของใบจามจุรีภายใต้กล้อง S.E.M. ที่กำลังขยาย 5,000 เท่า

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 4.18 แสดงลักษณะพื้นผิวและจุลินทรีย์ที่อยู่บนพื้นผิวของใบมะขามภายใต้กล้อง S.E.M. ที่กำลังขยาย 5,000 เท่า

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รูปที่ 4.19 แสดงลักษณะพื้นผิวและจุลินทรีย์ที่อยู่บนพื้นผิวของใบนนทรีภายใต้กล้อง S.E.M. ที่กำลังขยาย 5,000 เท่า

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย