

รายการอ้างอิง



ภาษาไทย

- กองจัดการสารอันตรายและกากของเสีย. 2544. พีเอช(โพลีไซคลิก อะโรมาติก ไฮโดรคาร์บอน). กรุงเทพมหานคร: กระทรวงวิทยาศาสตร์ เทคโนโลยีและสิ่งแวดล้อม.
- ควบคุมมลพิษ, กรม. 2547. รายงานสถานการณ์มลพิษของประเทศไทย. กรุงเทพมหานคร: กระทรวงทรัพยากร
- จินตนา สายวรรณ. 2541. การศึกษาโพลีไซคลิกอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอนจากอนุภาคไอเสียบรรณด์ที่อยู่ในอากาศใน กทม. รายงานฉบับสมบูรณ์ วิทยาลัยปิโตรเลียมและปิโตรเคมี จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- จิริทีปณ์ แสนรัก 2547. การย่อยสลายไพรีนและ PAHs ชนิดอื่นโดยกลุ่มแบคทีเรียที่แยกได้จากใบพืชตระกูลถั่ว. วิทยานิพนธ์ปริญญาโทบริหารศึกษาดุษฎีบัณฑิต ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- เบญจลักษณ์ กาญจนเศรษฐ์. 2546. การประเมินความเสี่ยงจากการหายใจสารก่อมะเร็งพวก PAH ประเมินจากค่าความเข้มข้นของสารบนใบไม้. รายงานฉบับสมบูรณ์ กองทุนรัชดาภิเษก จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

ภาษาอังกฤษ

- Bacci, E. Cerejeira, M.J., Gaggi, C., Chemello, G., Calamari, D., and Vighi, M. 1990. Bioconcentration of organic chemical vapours in plant leaves: the Azalea model. Chemos. 21: 525-535.
- Bakker, M.I., Casado, B., Koerselman, J.W., Tolls, J. and Kollöffel, C. 2000. Polycyclic aromatic hydrocarbons in soil and plant sample from the vicinity of an oil refinery. The Sci. of the Total Environ. 263: 91-100.
- Bakker, M.I., Tolls, J. and Kollöffel, C. 2000. Deposition of atmospheric semivolatile organic compound to vegetation. In: Lipnick, R.L., Hermens, J.L.M., Jones, K.C. and Muir, D.C.G(eds.), Persistent bioaccumulative and toxic chemicals I: Fate and exposure, p. 218-236. Washington, DC: American Chemical Society.
- Bettie, G.A. 2002. Leaf surface waxes and the process of leaf colonization by microorganism. In: Lindow, S.E., Hecht-Poinar, E.I. and Elliott, V.J.(eds.), Phyllosphere microbiology, p. 3-26. Minneapolis: American Phytopathological Society.

- Böhme F., Welsch-Pausch K., McLachlan M.S. 1999. Uptake of airborne semivolatile organic compounds in agricultural plants: field measurements of interspecies variability. Environ. Sci. Technol. 33: 1805-1813.
- Cernigia, C.E. 1992. Biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons. Biodegradation. 3: 351-368.
- Chaipuriwong. J. 2001. Accumulation of polycyclic aromatic hydrocarbons in sediments from Tha Chin estuary. Master's Thesis. Department of Marine Science, Faculty of Science, Chulalongkron University.
- Chiang, B.C., Wey, M.Y. and Yang, W.Y. 2000. Control of incinerator organics by fluidized bed activated carbon adsorber. J. Environ. Eng. 126:985-992.
- Crosse, J.E. 1959. Bacterial canker of stone fruits. IV. Investigation of a method for measuring the inoculum potential of cherry trees. Ann. Appl. Biol. 47: 306-317.
- Darlington, A.B., Dat, J.F. and Dixon, M.A. 2001. The biofiltration of indoor air: air flux and temperature influences the removal of toluene, ethylbenzene, and xylene. Environ. Sci. Technol. 35: 240-246.
- Dua, M., Singh, A., Sethunathan, N. and Johri, A.K. 2002. Biotechnology and bioremediation: successes and limitation. Appl. Microbiol. Biotechnol. 59: 143-152.
- Ercolani, G.L. 1991. Distribution of epiphytic bacteria on olive leaves and the influence of leaf age and sampling time. Microb. Ecol. 21: 35-48.
- Evan, W.C., Fernley, H.N. and Griffiths, E. 1965. Oxidative metabolism of phenanthrene and anthracene by soil Pseudomonads; the ring fission mechanism. Biochem. J. 95: 819-821.
- Fernández-Martínez, G., López-Mahía, P., Muniategui-Lorenzo, S., Prada-Rodríguez, D. and Fernández-Fernández, E. 2000. Measurement of volatile organic compounds in urban air of LA CORUÑA, SPAIN. Water, Air, and Soil Poll. 129: 267-288.
- Focht, D.D. 1994. Microbiological procedures for biodegradation research. Madison: Soil Science Society of America.
- Franzaring, J. and Eerden 2000. Accumulation of airborne persistent organic pollutants (POPs) in plants. Basic Appl. Ecol. 1: 25-30.
- Ghosh, D.K. and Mishra, A.K. 1983. Oxidation of phenanthrene by strain of *Micrococcus*: evidence of protocatechuate pathway. Curr. Microbiol. 9: 219-224.
- Gibson, D.T. and Subramanian, V. 1984. Microbial degradation of aromatic hydrocarbons. In: Gibson, D.T. Microbial degradation of organic compounds, New York: Dekker. pp.181-252.

- Hirano, S.S., Nordheim, E.V., Army, D.C. and Upper, C.D. 1982. Lognormal distribution of epiphytic bacterial populations on leaf surfaces. Appl. Environm. Microbiol. 44: 695-700.
- Houghton, J.E. and Shanley, M.S. 1994. Catabolic potential of Pseudomonads: a regulatory perspective. In: Rasul C.G. Biological degradation and bioremediation of toxic chemicals. London: Chapman Hall. pp.11-32.
- Hwang, Hyun-Min., Wade, T.L. and Sericano, J.L. 2003. Concentrations and source characterization of polycyclic aromatic hydrocarbons in pine needles from Korea, Mexico, and United States. Atmos. Environ. 37: 2259-2267.
- Iwata, K., Inui, N. and Takeuchi, T. 1981. Induction of active melanocytes in mouse skin by carcinogens: a new method for detection of skin carcinogens. Oxford J. 2: 589-591.
- Ishimaru, C., Eskridge, K.M. and Vidaver, A.K. 1991. Distribution analyses of naturally occurring epiphytic populations of *Xanthomonas compestris* pv. *phaseoli* on dry beans. Phytopathol. 81: 262-268.
- Jain, R.K., Kapur, M., Labana, S., Lal, B., Sarma, P. M., Bhattacharya, D., and Thakur I.S. 2005. Microbial diversity: application of microorganisms for the biodegradation of xenobiotics. Current Sci. 89: 101-112.
- Kamens, R.M., Guo, Z., Fulcher, J.N. and Bell, D.A. 1988. Influence of humidity, sunlight and temperature on the daytime decay of polyaromatic hydrocarbons on atmospheric soot particle. Environ. Sci. Technol. 22: 103-108.
- Kamens, R.M., Karem, H., Guo, J., Perry, J.M. and Stockburgor, L. 1989. The behavior of oxygenated polyaromatic hydrocarbons on atmospheric soot particle. Environ. Sci. Technol. 23: 801-805.
- Kanally, R.A. and Harayama, S. 2000. Biodegradation of high-molecular-weight polycyclic aromatic hydrocarbons by bacteria, A review. J. Bacteriol. 182: 2059-2067.
- Karamanoli, K., Voukou, D., Menkissoglu, U. and Constantinidou, H.-I. 2000. Bacterial colonization of phyllosphere of Mediterranean aromatic plants. J. Chem. Ecol. 26: 2035-2048.
- Karnchanasest, B., and Satayavibul, A. 2005. Orange jasmine leaves as an indicator of atmospheric polycyclic aromatic hydrocarbons. Songklanakarin J. Sci. Technol. 27: 877-888.
- Kempeneer, L.D., Sercu, B. and Vanbrabant, W. 2004. Bioaugmentation of the phyllosphere for the removal of toluene from indoor air. Appl. Microbiol Biotechnol. 64: 284-288.
- Khun, A., Ballach, H.J., and Witting, R. 1998. Seasonal variation of the distribution of polycyclic aromatic hydrocarbons in poplar leaves. Fresenius Environ. Bull. 7: 164-169.

- Kipopoulou, A.M., Manoli, E. and Samara, C. 1999. Bioconcentration of polycyclic aromatic hydrocarbons in vegetables grown in an industrial area. Environ. Poll. 106: 369-380.
- Kiyohara, H. and Nagao, K. 1978. The catabolism of phenanthrene and naphthalene by bacteria. J. Gen. Microbiol. 105: 69-75.
- Kiyohara, H., Nagao, K. and Nomi, R. 1976. Degradation of phenanthrene through *o*-phthalic acid by an *Aeromonas* sp. Agric. Biol. Chem. 40: 1075-1082.
- Knoll, D. and Schreiber, L. 1998. Influence of epiphytic micro-organisms on leaf wettability: wetting of the upper leaf surface of *Juglans regia* and of model surfaces in relation to colonization by microorganisms. New Phytol. 140: 271-282.
- Knoll, D. and Schreiber, L. 2000. Plant-microbe interactions: wetting of Ivy (*Hedera helix* L.) leaf surfaces in relation to colonization by epiphytic microorganisms. Microb. Ecol. 41: 33-42.
- Krauss M., Wilcke W., Martius C., Bandeira A.G., Garcia M.V.B. and Amelung W. 2005. Atmospheric versus biological source of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in tropical rain forest environment. Environ. Poll. 135: 143-154.
- Krimm, U., Abanda-Nkpwatt, D., Schwab, W. and Schreiber, L. 2005. Epiphytic microorganisms on strawberry plants (*Fragaria ananassa* cv. Elasant): identification of bacterial isolated and analysis of their interaction with leaf surfaces. FEMS Microb. Ecol. 53: 483-492.
- LaGrega M.D., Buckingham, P.L., and Evans, J.C. 2001. Hazardous waste management. 2nd ed. New York: McGraw-Hill.
- Librando, V., Perrini, G. and Tomasello, M. 2002. Biomonitoring of atmospheric PAHs by evergreen plants: correlations and applicability. Polycyclic Aromatic Comp. 22: 549-559.
- Limpert, E., Stahel, W.A. and Abbt, M., 2001. Log-normal distributions across the sciences: keys and clues. Bio. Sci. 51: 341-352.
- Lindow, S.E., Arny, D.C. and Upper, C.D. 1978. Distribution of ice nucleation-active bacteria on plants in nature. Appl. Environ. Microbiol. 36: 831-838.
- Lindow, S.E., and Brandl, M.T. 2003. Microbiology of the phyllosphere. Appl. Environ. Microbiol. 69: 1875-1883.
- Liu, Z.S. 2006. Control of PAHs from incineration by activated carbon fibers. J. Environ. Engin. 132: 463-469.
- Maliszewska-Kordybach B. 1999. Source, concentrations, fate and effects of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in the environment. Part A: PAHs in air, A review. Polish J. of Environ. Studies. 8: 131-136.

- Mastral, A.M., Garcia, T., Murillo, R., Callen, M.S., Lopez, J.M., and Navarro, M.V. 2002. Pollution control technology for atmospheric PAH. Electronic J. Environ. Agric. Food Chem. 2: 250-254.
- McLachlan M.S., Welsch-Paush, K. and Tolls, J. 1995. Field validation of a model of the uptake of gaseous SOC in *Lolium multiflorum* (rye grass). Environ. Sci. Technol. 14: 1524-1528.
- Mechaber, W.L., Marshall, D.B., Mechaber, R.A., Jobe, R.T. and Chew, F.S. 1996. Mapping leaf surface landscapes. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 93: 4600-4603.
- Melcher, R.J., Apitz, S.E. and Hemmingsen, B.B. 2002. Impact of irradiation and polycyclic aromatic hydrocarbons spiking in microbial populations in marine sediment for future aging and biodegradability studies. Appl. Environ. Microbiol. 68: 2858-2868.
- Mercier, J. and Lindow, S.E. 2000. Role of leaf surface sugars in colonization of plants by bacterial epiphytes. Appl. Environ. Microbiol. 66: 369-374.
- Moody, J., Freeman, J.P., Doerge, D.R. and Cerniglia, C.E. 2001. Degradation of phenanthrene and anthracene by cell suspensions of *Microbacterium* sp. Strain PYR-1. Appl. Environ. Microbiol. 67: 1476-1483.
- Moris, C.E. and Kinkel, L.L. 2002. Fifty years of phyllosphere microbiology: significant contribution to research in related fields. Phyllosphere Microbiol. 365-375.
- Nakajima, D., Yoshida, Y., Suzuki, J. and Suzuki, S. 1995. Seasonal changes in the concentration of polycyclic aromatic hydrocarbons in Azalea leaves and relationship to atmospheric concentration. Chemos. 30: 409-418.
- Norramit, P., Cheevaporn, V., Itoh, N. and Tanaka, K. 2005. Characterization and carcinogenic risk assessment of polycyclic aromatic hydrocarbons in the respirable fraction of airborne particles in the Bangkok metropolitan area. J. of Health Sci. 51: 437-446.
- Orwell, R.L., Wood, R.L., Tarran, J., Torpy, F. and Burchett, M.D. 2004. Removal of benzene by the indoor plant/substrate microcosm and implications for air quality. Water, Air, and Soil Poll. 157: 193-207.
- Pathirana, S., Connell, D.W., and Vowles, P.D. 1994. Distribution of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in urban roadway system. Ecotoxicol. Environ. Safety 28: 256-269.
- Perissol, C., Roux, M. and Le Petit, J. 1993. Succession of bacteria attached to evergreen oak leaf surface. Eur. J. Soil Biol. 29: 167-176.

- Reyes, C., Sigman, M.E., Arce, R., Barbas, J.T. and Dabestani, R. 1998. Photochemistry of acenaphthene at a silica gel/air interface. J. Photochem. Photobiol. A: Chemistry. 122: 277-283.
- Rockne, K.J. and Strand S.E. 2001. Anaerobic biodegradation of naphthalene, phenanthrene and biphenyl by a denitrifying enrichment culture. Water Res. 35: 291-299.
- Ruchirawat, V., Navasumrit, P., Settachan, D., Tuntaviroon, J., Buthbumrung, N. and Sharma, S. 2005. Measurement of genotoxic air pollutant exposure in street vendors and school children in and near Bangkok. Toxico. and Appl. Pharm. 206: 207-214.
- Samanta, S.K., Chakraborti, A.K. and Jain, R.K. 1999. Degradation of phenanthrene by different bacteria:evidence for novel transformation sequences involving the formation of 1-naphthol. Appl. Microbiol. Biotechnol. 53: 98-107.
- Samanta, S.K., Sign, O.V. and Jain, R.K. 2002. Polycyclic aromatic hydrocarbons: environmental pollution and bioremediation. Trends in Biotechnol. 20: 243-248.
- Sandhu, A., Halverson L.J., and Beattie G.A. 2007. Bacterial degradation of airborne phenol in the phyllosphere. Environ. Microbiol. 9: 383-392.
- Simonich S.L. and Hites R.A. 1994. Importance of vegetation in removing polycyclic aromatic hydrocarbons from the atmosphere. Nature. 370: 49-51.
- Slaski, J.J., Archambault, D.J. and Xiaomei, L. 2000. Evaluation of polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) accumulation in plants[Online]. Available from: <http://www.gov.ab.ca/env/>[2006, October7]
- Subramanyam V., Valsaraj K.T., Thibodeaux L.J., and Reibble D.D., 1994. Gas-to-particle partitioning of polycyclic aromatic hydrocarbons in an urban atmosphere. Atmos. Environ. 28: 3083-3091.
- Sundin, G.W., Jacobs, J.L. 1999. Ultraviolet radiation (UVR) sensitivity analysis and UVR survival strategies of a bacterial community from the phyllosphere of field-grown peanut (*Arachis hypogae* L.) Microb. Ecol. 38: 27-38.
- Thompson I.P., Bailey M.J., Fenlon J.S., Fermor T.R., Lilley A.K., Lynch J.M., McCormack P.J., McQuilken M.P., and Purdy K.J. 1993. Quantitative and qualitative seasonal changes in the microbial community from the phyllosphere of sugar beet (*Beta vulgaris*). Plant soil. 150: 177-191.
- Umlauf G. and McLachlan M.S. 1994. Deposition of semivolatile organic compounds to spruce needles. I. calculation of dry and wet fluxes. Environ. Sci. Pol. Res. Inter. 1: 146-150.

- U.S. Department of Health and Human Services. 1995. Toxicological profile for polycyclic aromatic hydrocarbons. Washington, D.C.: U.S. Department of Health and Human Services. (unpublished manuscript).
- US.EPA. 1998. Integrated risk information system[Online]. Available from: <http://www.epa.gov/iris/subst/0436.htm>[2007,May 7]
- Van Jaarsveld J.A., Van Pul W.A.J. and De Leeuw F.A. 1997. Modeling transport and deposition of persistent organic pollutant in the European region. Atm. Environm. 31: 1011-1024
- Vazquez-Duhalt, R. 1989. Environmental impact of used motor oil. The Sci. of Total Environ. 79: 1-23.
- Vineis, P., and Husgafvel-Pursiainen, K. 2005. Air pollution and cancer: biomarker studies in human populations. Carcinogenesis 26: 1846-1855.
- Waight, K. 2005. Plant leaves and their associated bacteria for the degradation of PAH deposited on leaf surface. Master Thesis. Environmental Management. Chulalongkorn University, Thailand.
- Waight, K., Pinyakong, O. and Luepromchai, E. 2007. Degradation of phenanthrene on plant leaves by phyllosphere bacteria. The J. Gen. Appl. Microb. (imprinted)
- Warner, S.D., Farant, J-P. and Butler, I.S. 2004. Photochemical degradation of selected nitropolycyclic aromatic hydrocarbons in solution and adsorbed to solid particle. Chemosphere. 54: 1207-1215.
- Wild, E., Dent, J., Barber, J.L., Thomas, G.O. and Jones, K.C. 2004. A novel analytical approach for visualizing and tracking organic chemicals in plants. Environ. Sci. Technol. 38: 4195-4199.
- Wilson, M., Hirano, S.S. and Lindow, S.E. 1999. Location and survival of leaf-associated bacteria in relation to pathogenicity and potential for growth within the leaf. Appl. Environ. Microbiol. 65: 1435-1443.
- Wilson, M., Lindow, S.E. 1994. Coexistence among epiphytic bacterial populations mediated through nutritional resource partitioning. Appl. Environ. Microbiol. 60: 4468-4477.
- Wilson, S.C. and Jones, K.C. 1993. Bioremediation of soil contaminated with polynuclear aromatic hydrocarbons (PAHs), A review. Environ. Pol. 81: 229-249.
- World Health Organization. 1998. Selectd non-heterocyclic polycyclic aromatic hydrocarbons. Stuttgart.

- Yadav, R.K.P., Hally, J.M., Karamonoli, K., Constantinidou, H.-I. and Vokou, D. 2004. Bacterial populations on the leaves of Mediterranean plants: quantitative features and testing of distribution models. Environ. Experim. Bot. 52: 63-77.
- Yadav, R.K.P., Karamanoli, K. and Vokou, D. 2005. Bacterial colonization of the phyllosphere of Mediterranean perennial species as influenced by leaf structural and chemical features. Microbiol. Ecol. 50: 185-196.
- Yang, C.-H., Crowley, D.E., Borneman, J. and Keen, N.T. 2001. Microbial phyllosphere populations are more complex than previously realized. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 33:721-720.
- Yue, Z. and Mangun, C.L. 2002. Economy J. preparation of fibrous porous materials by chemical activation of polymer-coated fibers. Carbon. 40: 1181-1191.
- Zaidi, B.R., Hinkey, L.M., Rodriguz, N.R., Govind, N.S. and Imam, S.H. 2003. Marine Poll. Bullet. 46: 418-423.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

สูตรและวิธีการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

อาหารเลี้ยงเชื้อเหลว minimal salt liquid medium (MS) (โดย Focht, 1994)

ประกอบด้วย	Trace minerals	1	มิลลิลิตร
	Fe(NO ₃) ₃	0.01	มิลลิลิตร
	Ca(NO ₃) ₂	0.1	มิลลิลิตร
	K ₂ HPO ₄	10	มิลลิลิตร
	MgSO ₄	1	มิลลิลิตร
	NaH ₂ PO ₄	3	มิลลิลิตร
	(NH ₄) ₂ SO ₄	10	มิลลิลิตร

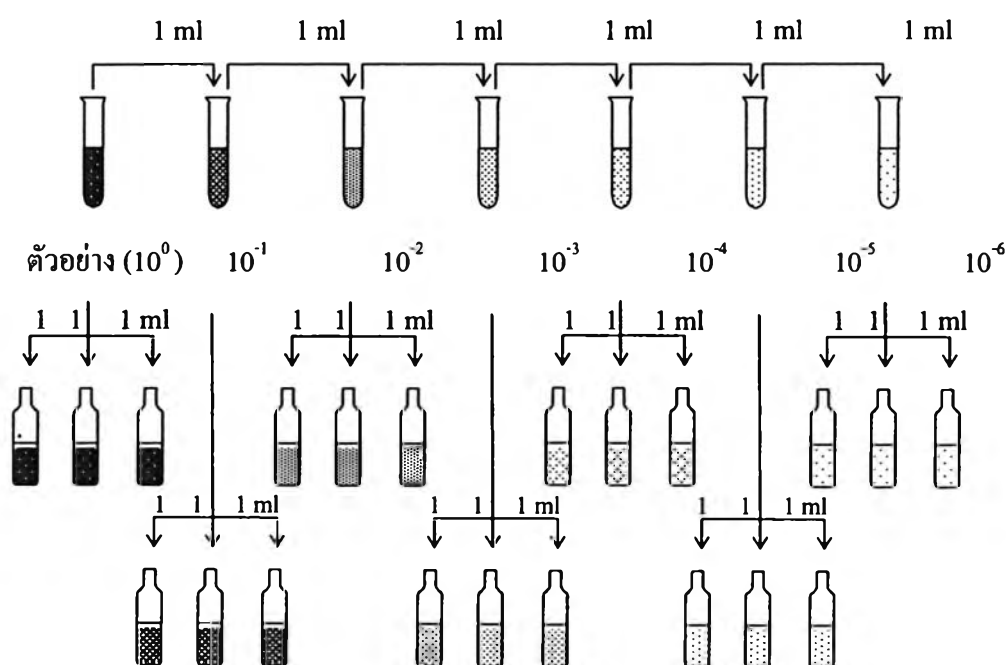
Trace Minerals

ประกอบด้วย	MnSO ₄	1	มิลลิโมลาร์
	ZnSO ₄	1	มิลลิโมลาร์
	CuSO ₄	1	มิลลิโมลาร์
	NiSO ₄	0.1	มิลลิโมลาร์
	CoSO ₄	0.1	มิลลิโมลาร์
	Na ₂ MoO ₄	0.1	มิลลิโมลาร์

ละลายสารตามลำดับในน้ำกลั่นปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร ปรับค่าความเป็นกรด-ด่างด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 1 นอร์มัล ให้เป็น 7.25 นำไปนึ่งด้วยเครื่องนึ่งอบฆ่าเชื้อที่ความดันไอ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ทิ้งไว้ให้เย็น ก่อนนำมาใช้

การหาจำนวนจุลินทรีย์ด้วยวิธี MPN (Most Probable Number)

การหาจำนวนจุลินทรีย์บนผิวใบไม้ด้วยวิธี MPN แบบ 3 หลอด (MPN 3 tube) ทำได้โดยนำตัวอย่างของเหลวที่ได้จากการเขย่าตามในข้อ 3.6.1 แล้วนำมาทำการเจือจางแบบ tenfold dilution โดยนำตัวอย่าง 1 มิลลิลิตรใส่ลงในหลอดทดลองที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว MS ปริมาตร 9 มิลลิลิตร ทำให้ได้ความเข้มข้นเป็น 1 ใน 10 เท่า หรือ 10^{-1} จากนั้นนำของเหลวในหลอดนี้ไปใส่ในหลอดทดลองที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว MS ปริมาตร 9 มิลลิลิตร ทำให้ได้ความเข้มข้นเป็น 1 ใน 10 เท่า หรือ 10^{-2} ทำเช่นเดียวกันนี้จนถึงความเข้มข้นที่ 10^{-6} แล้วจึงนำของเหลวในหลอดแต่ละความเข้มข้นตั้งแต่ $10^0 - 10^{-6}$ ไปใส่ในขวดแก้วขนาด 22 มิลลิลิตรแบบฝาเกลียวที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว MS ปริมาตร 9 มิลลิลิตร 3 หลอด หลอดละ 1 มิลลิลิตร ทำเช่นเดียวกันนี้ทุกความเข้มข้น ดังรูปที่ 3.1 จากนั้นนำไปวางบนเครื่องเขย่านาน 20 วัน สังเกตดูความขุ่นของทั้ง 3 หลอดในชุดการทดลองที่มีความเข้มข้นเดียวกัน โดยถ้าขุ่นให้ถือว่าเป็น positive และไม่ขุ่นถือว่าเป็น negative นำค่าของทั้ง 3 หลอดใน 3 ชุดของระดับความเข้มข้น ไปเทียบกับตาราง MPN จะได้ค่าจำนวนจุลินทรีย์



ภาพที่ ก.1 แสดงวิธีการนับจำนวนจุลินทรีย์ด้วยวิธี MPN

ตารางที่ ก.1 แสดงจำนวนจุลินทรีย์ที่ได้จากการหาด้วยวิธี MPN

No. of Tubes Positive in			MPN in the inoculum of the middle set of tubes
first set	middle set	last set	
0	0	0	<0.03
0	0	1	0.03
0	0	2	0.06
0	0	3	0.09
0	1	0	0.03
0	1	1	0.061
0	1	2	0.092
0	1	3	0.12
0	2	0	0.062
0	2	1	0.093
0	2	2	0.12
0	2	3	0.16
0	3	0	0.094
0	3	1	0.13
0	3	2	0.16
0	3	3	0.19
1	0	0	0.036
1	0	1	0.072
1	0	2	0.11
1	0	3	0.15
1	1	0	0.073
1	1	1	0.11
1	1	2	0.15
1	1	3	0.19
1	2	0	0.11
1	2	1	0.15
1	2	2	0.2
1	2	3	0.24

ตารางที่ ก.1 แสดงจำนวนจุลินทรีย์ที่ได้จากการหาด้วยวิธี MPN (ต่อ)

No. of Tubes Positive in			MPN in the inoculum of the middle set of tubes
first set	middle set	last set	
1	3	0	0.16
1	3	1	0.2
1	3	2	0.24
1	3	3	0.29
2	0	0	0.091
2	0	1	0.14
2	0	2	0.2
2	0	3	0.26
2	1	0	0.15
2	1	1	0.2
2	1	2	0.27
2	1	3	0.34
2	2	0	0.21
2	2	1	0.28
2	2	2	0.35
2	2	3	0.42
2	3	0	0.29
2	3	1	0.36
2	3	2	0.44
2	3	3	0.53
3	0	0	0.23
3	0	1	0.39
3	0	2	0.64
3	0	3	0.95
3	1	0	0.43
3	1	1	0.75
3	1	2	1.2
3	1	3	1.6

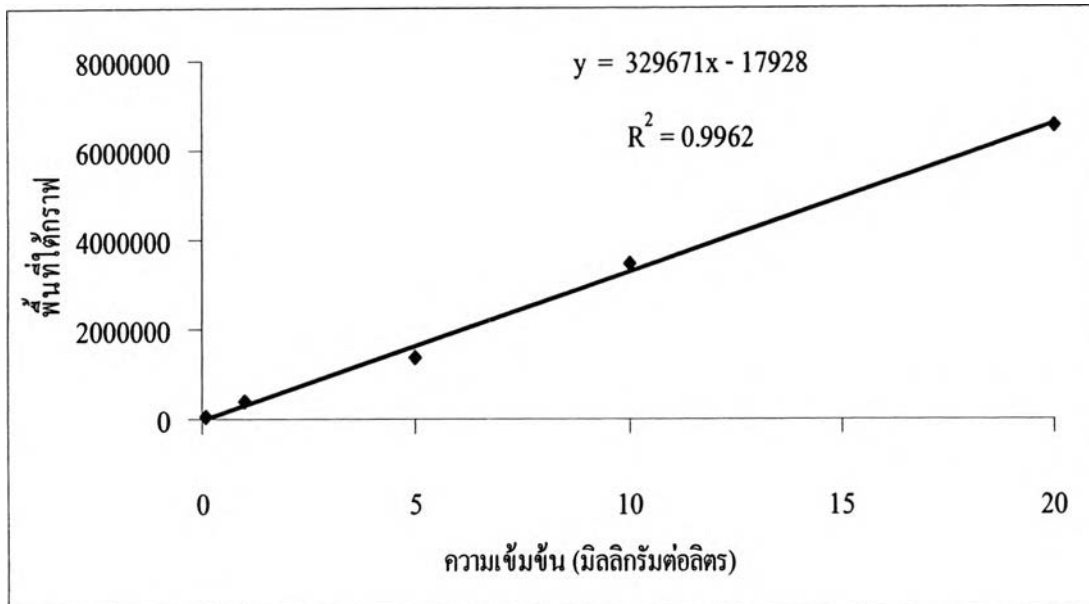
ตารางที่ ก.1 แสดงจำนวนจุลินทรีย์ที่ได้จากการหาด้วยวิธี MPN (ต่อ)

No. of Tubes Positive in			MPN in the inoculum of the middle set of tubes
first set	middle set	last set	
3	2	0	0.93
3	2	1	1.5
3	2	2	2.1
3	2	3	2.9
3	3	0	2.4
3	3	1	4.6
3	3	2	11
3	3	3	> 24

ที่มา: <http://www.jlindquist.net/generalmicro/102dil3.html>

ภาคผนวก ข

กราฟมาตรฐานของฟีแนนทริน



ภาพที่ ข.1 กราฟมาตรฐานระหว่างปริมาณฟีแนนทรินกับพื้นที่ใต้กราฟที่ได้จากการวิเคราะห์โดย GC-MS

ความเข้มข้นของฟีแนนทรินหาได้จากการนำพื้นที่ใต้กราฟที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยวิธี GC-MS มาแทนค่าในสมการเส้นตรง ดังนี้

$$\text{พื้นที่ใต้กราฟ} = (329671 \times \text{ปริมาณฟีแนนทริน}) - 17928$$

$$\text{ปริมาณฟีแนนทริน} = (\text{พื้นที่ใต้กราฟ} + 17928) / 329671 \times (\text{ปริมาตรสุทธิ} / \text{จำนวน ใบบน}(g.))$$

ปริมาตรสุทธิของสารตัวอย่างที่สกัดได้เท่ากับ 5 ml. จากใบบนหนัก 8 g. ดังนั้น จากคำนวณ จะได้ค่าเท่ากับ 0.625

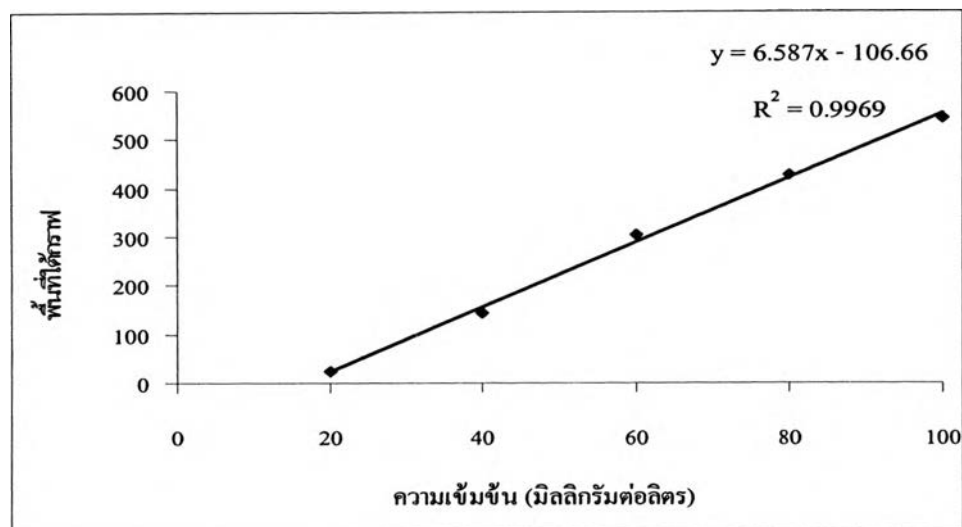
ตัวอย่าง จากการวิเคราะห์หาฟีแนนทรินบนผิวใบส้มด้วยวิธี GC-MS ได้พื้นที่ใต้กราฟเท่ากับ

74440 นำค่านี้มาคำนวณ ได้ดังสมการเส้นตรงข้างต้น แทนค่าได้ ดังนี้

$$\text{ปริมาณฟีแนนทริน} = (\text{พื้นที่ใต้กราฟ} + 17928) / 329671 \times (\text{ปริมาตรสุทธิ} / \text{จำนวน ใบบน}(g.))$$

$$\begin{aligned} \text{ปริมาณฟีแนนทริน} &= (74440 + 17928) / 329671 \times 0.625 \\ &= 0.18 \text{ mg/kg} \end{aligned}$$

กราฟมาตรฐานของพีแนนทริน



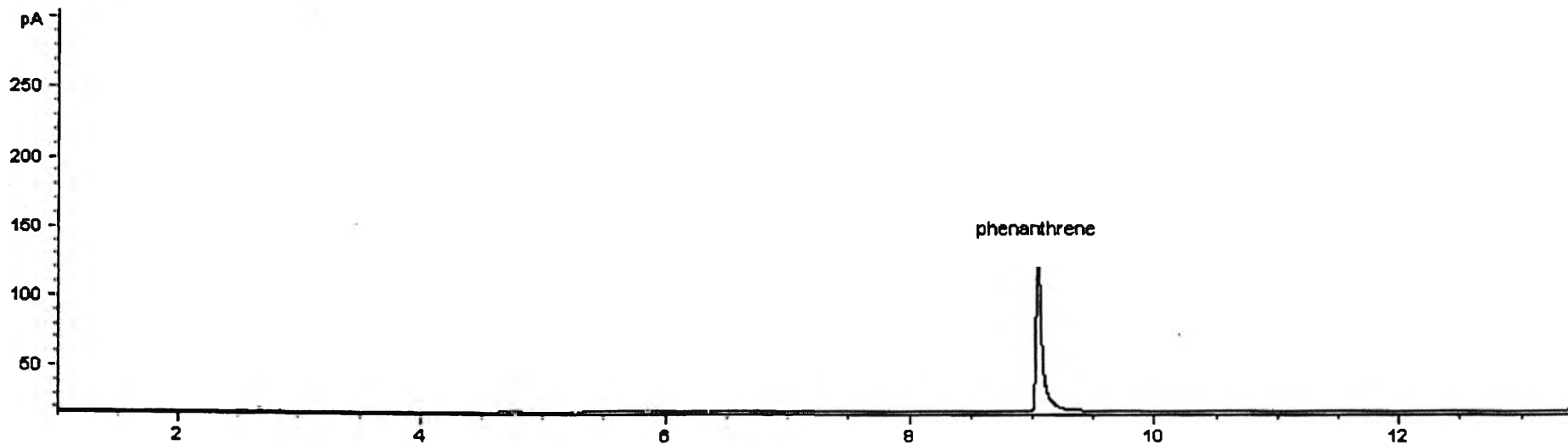
ภาพที่ ข.2 กราฟมาตรฐานระหว่างปริมาณพีแนนทรินกับพื้นที่ใต้กราฟที่ได้จากการวิเคราะห์โดย GC

วิธีการคำนวณความเข้มข้นของพีแนนทรินในตัวอย่าง เช่นเดียวกันกับการวิเคราะห์ด้วยวิธี GC-MS

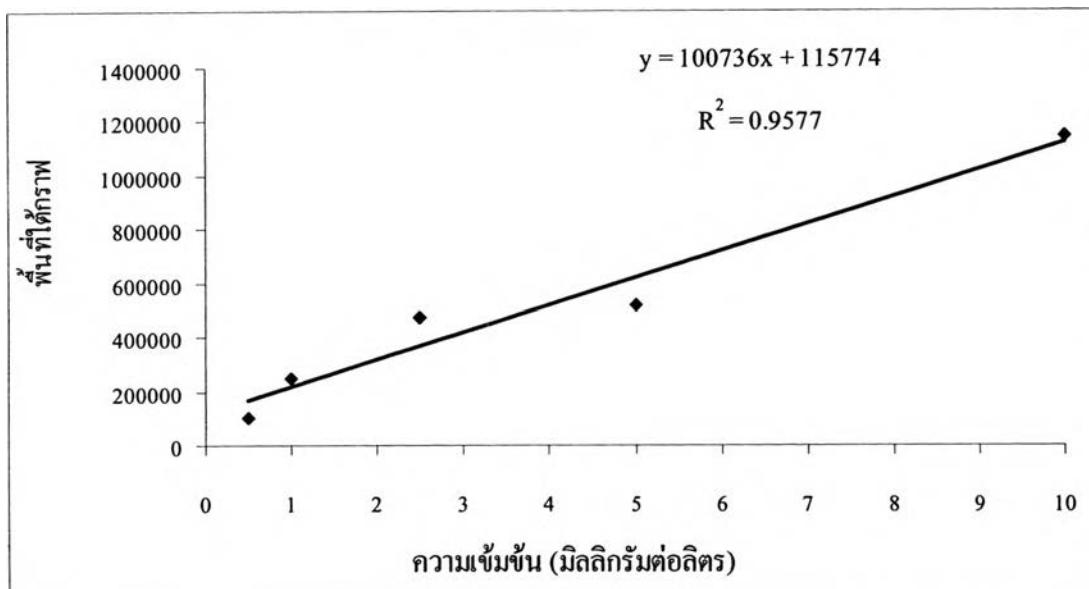
% Recovery ของการสกัด PAHs บนใบไม้

การหาค่า % recovery ของพีแนนทรินที่ทราบความเข้มข้นแน่นอน ด้วยการเตรียมสารละลายมาตรฐานพีแนนทรินใน 20% ไดคลอโรมีเทน ใส่ลงไปในใบไม้จะได้รับความเข้มข้นสุดท้ายเป็น 1, 5, 10, 25, 50 และ 100 มิลลิกรัมต่อลิตร จากนั้นนำไปสกัดหาปริมาณพีแนนทรินบนใบตามวิธีของ Kamchanasest และ Satayavibul (2005) วิเคราะห์หาปริมาณพีแนนทรินด้วยเครื่องก๊าซโครมาโตกราฟี พบว่าได้ % recovery ประมาณ 70%

ภาพที่ ข.3 โครมาโตแกรมของพีแนนทรีนที่ได้จากการวิเคราะห์โดย GC



กราฟมาตรฐานของสารละลายเนพทาลีน



ภาพที่ ข.4 กราฟมาตรฐานระหว่างปริมาณเนพทาลีนกับพื้นที่ได้กราฟที่ได้จากการวิเคราะห์โดย GC-MS

ความเข้มข้นของเนพทาลีนหาได้จากการนำพื้นที่ได้กราฟที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยวิธี GC-MS มาแทนค่าในสมการเส้นตรง ดังนี้

$$\text{พื้นที่ได้กราฟ} = (100736 \times \text{ปริมาณเนพทาลีน}) - 115774$$

$$\text{ปริมาณพีแนนทริน} = (\text{พื้นที่ได้กราฟ} - 115774) / 100736 \times (\text{ปริมาตรสุทธิ} / \text{จำนวนไบไม้(g.)})$$

ปริมาตรสุทธิของสารตัวอย่างที่สกัดได้เท่ากับ 5 ml. จากไบไม้หนัก 8 g. ดังนั้น จากคำนวณจะได้ค่าเท่ากับ 0.625

ตัวอย่าง จากการวิเคราะห์หาเนพทาลีนบนผิวใบเข็มด้วยวิธี GC-MS ได้พื้นที่ได้กราฟเท่ากับ 146610 นำค่านี้มาคำนวณได้ดังสมการเส้นตรงข้างต้น แทนค่าได้ ดังนี้

$$\text{ปริมาณพีแนนทริน} = (146610 - 115774) / 100736 \times (\text{ปริมาตรสุทธิ} / \text{จำนวนไบไม้(g.)})$$

$$\begin{aligned} \text{ปริมาณเนพทาลีน} &= (146610 - 115774) / 100736 \times 0.625 \\ &= 0.19 \text{ mg/kg} \end{aligned}$$

ภาคผนวก ก

การติดตามประชากรจุลินทรีย์ที่ผิวใบไม้โดยวิธี Denaturing Gradient Gel Electrophoresis (DGGE)
(โดย นายชนม์ภักดิ์ บุคธรรมโม)

อุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง

1. เครื่องชั่ง รุ่น P2002-S และ AG285 บริษัท Mettler Toledo, Switzerland
2. เครื่องปั่นเหวี่ยงชนิดควบคุมอุณหภูมิ (refrigerated centrifuge) รุ่น 1920 บริษัท Kubota, Japan
3. เครื่องปั่นเหวี่ยงชนิดตั้งโต๊ะ (bench-top centrifuge) รุ่น MIKRO20 บริษัท Hettich, Germany
4. เครื่องปั่นผสม (vortex mixer) รุ่น Gene 2 บริษัท Scientific Industries, USA
5. เครื่องควบคุมอุณหภูมิและระเหยแห้งแบบให้ความร้อน (Digital Dry Bath Model) รุ่น D1100 บริษัท Labnet International, Inc., USA
6. เครื่องอิเล็กโทรโฟรีซิส (Gel Electrophoresis) รุ่น *mupid*-EXU บริษัท ADVANCE, Japan
7. เครื่องตรวจสอบเจล (Gel documentation system) รุ่น Gel DOC 2000™ บริษัท Bio-Rad Laboratories Inc., USA
8. เครื่องเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ (DNA Thermal Cycler) รุ่น MJ Mini™ Personal Thermal Cycler บริษัท Biorad, USA
9. ชุดเครื่องมือ DCode™ system บริษัท Bio-Rad Laboratories Inc., USA
10. อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (water bath) รุ่น digital water bath SB-1000 บริษัท Eyla, Japan
11. ตู้แช่แข็งจุลเยือกแข็งต่ำ (deep freezer) อุณหภูมิ -70°C รุ่น ULT1786 บริษัท Forma Scientific, USA
12. เครื่องนึ่งอบฆ่าเชื้อ (autoclave) บริษัท Kakusan, Japan
13. ไมโครปิเปต (micropipette) ขนาด 20, 100, 200, 1000 และ 5000 ไมโครลิตร บริษัท Gilson, France

เคมีภัณฑ์

1. กรดไฮโดรคลอริก (HCl) บริษัท BDH Chemicals, Australia
2. โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) บริษัท Merck, Germany
3. กรดอะซิติกเข้มข้น (glacial CH_3COOH) บริษัท Merck, Germany

4. ไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟต ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$) บริษัท Merck, Germany
5. โพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (KH_2PO_4) บริษัท Merck, Germany
6. ทริส (Tris[hydroxymethyl]aminomethane) บริษัท Merck, Germany
7. ฟีนอล/คลอโรฟอร์ม/ไอโซออลกอฮอล์ (phenol : chloroform : Isoamyl Alcohol) บริษัท Merck, Germany
8. อะกาโรสเจล (agarose gel) บริษัท Amersham Biosciences, Sweden
9. 100 base pair DNA ladder บริษัท New England Biolabs, USA
10. 1 kilobase pair DNA ladder บริษัท New England Biolabs, USA
11. EDTA (ethylenediaminetetraacetic acid), ($\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_8\text{Na}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) บริษัท Amersham Biosciences, Sweden
12. SDS (sodium dodecyl sulfate), ($\text{C}_{12}\text{H}_{25}\text{OSO}_3$) บริษัท Nacal tesque, Japan
13. Proteinase K บริษัท US. Biological, USA
14. Ribonuclease A (Rnase A) บริษัท Fermentas, USA
15. ชุด QIAquick Gel Extraction kit บริษัท Qiagen, Germany
16. ชุด Tag PCR Master Mix บริษัท Qiagen, Germany
17. สารเคมีที่ใช้ในเทคนิค DGGE บริษัท Bio-Rad Laboratories Inc., USA
 - Formamide (Deionized)
 - 40% Acrylamide/Bis solution, 37.5:1 (2.6% C)
 - Urea
 - Ammonium persulfate
 - TEMED (N,N,N',N'-Tetra-methyl-ethylenediamine)
 - 50xTAE
 - Dye solution
 - Ethidium bromide solution เข้มข้น 10 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร

วิธีการทดลอง

1. เก็บตัวอย่างแบคทีเรียที่ผิวใบไม้

ชั่งใบไม้ 10 กรัม ใส่ flask ที่มี 0.1 M ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 100 มิลลิลิตร เขย่า 200 รอบต่อนาที นาน 30 นาที เทสารละลายลงในขวด centrifuge ขนาด 250 มิลลิลิตร เท 0.1 M ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 50 มิลลิลิตร ลงใน flask อีกครั้งเพื่อล้างแบคทีเรียที่ยังติดอยู่ที่ผิวใบ นำขวด centrifuge ไปปั่นเหวี่ยงเพื่อตกตะกอนเซลล์ด้วยความเร็ว 10,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 20 นาที เทส่วนน้ำใสทิ้งจนเกือบหมด ดูดสารละลายที่เหลือใส่หลอดไมโครพิพิจที่ทราบน้ำหนัก ปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 8,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 2 นาที เทส่วนน้ำใสทิ้ง ทำซ้ำจนสารละลายในขวด centrifuge หมด ชั่งน้ำหนักตะกอนที่ได้

2. สกัดดีเอ็นเอจากตัวอย่างใบไม้

ชั่งตะกอน 200 มิลลิกรัม ใส่หลอดไมโครพิพิจ เติม DNA extraction buffer 900 ไมโครลิตร ดูดสารละลายขึ้นลงจนเป็นเนื้อเดียวกัน เติม proteinase K (20 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร) ปริมาตร 10 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันด้วยการกลับลอดไปมา บ่มที่ 37°C เป็นเวลา 30 นาที เติม 20% SDS ปริมาตร 10 ไมโครลิตร บ่มที่ 65°C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง กลับลอดไปมาทุก 20 นาที นำไปแช่เย็นที่ -80°C เป็นเวลา 30 นาที และละลายน้ำแข็งที่ 65°C เป็นเวลา 5 นาที ทำซ้ำ 3 ครั้ง หลังจากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็วรอบ 12,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 20 นาที

ดูดส่วนน้ำใสลงในหลอดไมโครพิพิจใหม่ ทำลายโปรตีนด้วย phenol/chloroform ปริมาตร เท่ากับส่วนน้ำใส และทำการปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็วรอบ 12,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที ทำซ้ำ 2 ครั้ง หรือจนกระทั่งโปรตีนหมด ดูดส่วนน้ำใสลงในหลอดไมโครพิพิจใหม่ เติม chloroform-isoamyl alcohol (24:1) เท่ากับปริมาตรของส่วนน้ำใส ทำการปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็วรอบ 12,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที

ดูดส่วนน้ำใสลงในหลอดไมโครพิพิจใหม่ เติม isopropanol ปริมาตร 0.8 เท่าของปริมาตร ส่วนน้ำใส ผสมให้เข้ากันอย่างช้าๆ โดยการกลับลอดไปมา นาน 1 ชั่วโมง ทำการปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็วรอบ 12,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที ล้างตะกอนดีเอ็นเอด้วย 70% ethanol ระเหย ethanol ออกที่ 37 °C เป็นเวลา 10-15 นาที เพื่อดีเอ็นเอให้แห้ง ละลายตะกอนดีเอ็นเอใน TE buffer (RNase 0.3 ไมโครลิตร/ TE buffer 100 ไมโครลิตร) 30 ไมโครลิตร บ่มที่ 37°C นาน 30 นาที เก็บสารละลายดีเอ็นเอที่ -20°C

3. ตรวจสอบปริมาณและความสมบูรณ์ดีเอ็นเอโดย Gel Eletrophoresis

ชั่งผงวุ้น 1 กรัม ละลายใน 1X TAE buffer 100 มิลลิกรัม หลอมผงวุ้นจนละลายหมด เทลงในแบบพิมพ์ที่มีหัวเสียบอยู่ อย่าให้มีฟองอากาศ ทิ้งไว้ 30 นาที ดึงหัวออกจากแผ่นเจลช้าๆ วางแผ่นเจลลงในเครื่อง Eletrophoresis เท 1X TAE buffer จนท่วมแผ่นเจลเล็กน้อย ผสมสารละลายดีเอ็นเอกับสีย้อมดีเอ็นเอในอัตราส่วน 5:1 ไมโครลิตร หยดลงในช่องวิ่ง โดยช่องวิ่งแรกจะหยอดด้วย 1 kb Marker ปล่อยให้กระแสไฟฟ้าไหลผ่านเจล โดยใช้ความต่างศักย์ 100 โวลต์ เป็นเวลา 30 นาที ย้อมแผ่นเจลด้วย Ethylium bromide ความเข้มข้น 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เป็นเวลา 15 นาที นำไปดูภายใต้แสงอัลตราไวโอเลต (UV)

4. ทำดีเอ็นเอให้บริสุทธิ์

ชั่งผงวุ้น agarose 0.9 กรัม ละลายใน 1X TAE buffer 100 มิลลิกรัม หลอมผงวุ้น เทลงในแบบพิมพ์ที่มีหัวเสียบอยู่ เทให้หนากว่าปกติ อย่าให้มีฟองอากาศ ทิ้งไว้ 30 นาที ดึงหัวออกจากแผ่นเจลช้าๆ วางแผ่นเจลลงในเครื่อง Eletrophoresis เท 1X TAE buffer จนท่วมแผ่นเจลเล็กน้อย ผสมสารละลายดีเอ็นเอทั้งหมดกับสีย้อมดีเอ็นเอในอัตราส่วน 5:1 ไมโครลิตร หยดลงในช่องวิ่ง โดยช่องวิ่งแรกจะหยอดด้วย 1 kb Marker ปล่อยให้กระแสไฟฟ้าไหลผ่านเจล โดยใช้ความต่างศักย์ 100 โวลต์ เป็นเวลา 60 นาที ย้อมแผ่นเจลด้วย Ethylium bromide ความเข้มข้น 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เป็นเวลา 15 นาที นำไปดูภายใต้แสงอัลตราไวโอเลต (UV)

ตัดเจลที่มีส่วนจีโนมมิกดีเอ็นเออยู่ให้มีขนาดเล็กที่สุด ใส่ในหลอดไมโครพิพิจที่ทราบน้ำหนัก เติม QC buffer ปริมาตร 3 เท่าของน้ำหนักชิ้นเจล บ่มที่ 65°C เป็นเวลา 10 นาทีหรือจนชิ้นเจลละลายหมด เติม isopropanol ปริมาตร 1 เท่าของน้ำหนักชิ้นเจล ผสมให้เข้ากัน ดูดสารละลายที่ได้ 600 ไมโครลิตร ใส่ QIAquick spin column ทำการปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็วรอบ 13,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 1 นาที ทำซ้ำจนสารละลายหมด เติม 500 ไมโครลิตร ใน column แล้วทำการปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็วรอบ 13,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 1 นาที เติม PE buffer 750 ไมโครลิตร ใน column ปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็วรอบ 13,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 2 นาที นำ column ส่วนบนใส่ในหลอดไมโครพิพิจใหม่ เติม EB buffer 30 ไมโครลิตร ปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็วรอบ 13,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 2 นาที เก็บสารละลายดีเอ็นเอที่ -20°C

5. เพิ่มจำนวนชิ้นส่วนดีเอ็นเอบริเวณ 16S rDNA ของแบคทีเรียด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอไรเซชัน (Polymerase Chain Reaction, PCR)

ใช้ไพรเมอร์ PRBA338F + CG (5'-CGCCCGCCGCGCGGGCGGGCGGGCGGGCGGGCACGGGGGACTCCTACGGGAGGCAGCAG-3') ซึ่งมี GC clamp เชื่อมต่อบริเวณ 5' และ

ไพรเมอร์ PRUN518R (5'-ATTACCGCGGCTGG-3') ไพรเมอร์คู่นี้สามารถเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอในส่วน 16s rDNA ซึ่งผลิตภัณฑ์ PCR มีความยาวประมาณ 200 bp โดยที่ความเข้มข้นสุดท้ายของสารแต่ละชนิดในปฏิกิริยา คือ สารละลายดีเอ็นเอ 1 ไมโครลิตร ไพรเมอร์ PRBA 338F+CG (20 pmol) 2 ไมโครลิตร ไพรเมอร์ PRUN518R (20 pmol) 2 ไมโครลิตร Tag PCR Master Mix (Qiagen Inc.) 15 ไมโครลิตร และน้ำปลอดประจุปลอดเชื้อ 10 ไมโครลิตร รวมส่วนผสมทั้งหมด มีปริมาตรสุทธิ 30 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันระวังอย่าให้เกิดฟองอากาศและเก็บส่วนผสมทั้งหมดในน้ำแข็ง หลังจากนั้นดำเนินการปฏิกิริยาถูกโซ่พอลิเมอเรส ด้วยเครื่องเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ (DNA Thermal Cycler) (Biorad, USA) โดยตั้งโปรแกรมดังนี้

1. Initial denaturation step	อุณหภูมิ 94°ซ เวลา 5 นาที
2. Touchdown program	จำนวน 20 รอบ
2.1 Denaturation step	อุณหภูมิ 94°ซ เวลา 1 นาที
2.2 Annealing step	อุณหภูมิ 65°ซ เวลา 1 นาที (อุณหภูมิลดลงทีละ 0.5°ซ ในแต่ละรอบ)
2.3 Extension step	อุณหภูมิ 72°ซ เวลา 2 นาที
3. Denaturation step	อุณหภูมิ 94°ซ เวลา 1 นาที
4. Annealing step	อุณหภูมิ 55°ซ เวลา 1 นาที
5. Extension step	อุณหภูมิ 72°ซ เวลา 2 นาที
6. ทำขั้นตอนที่ 3-5 จำนวน 30 รอบ	
7. Final extension	อุณหภูมิ 72°ซ เวลา 10 นาที

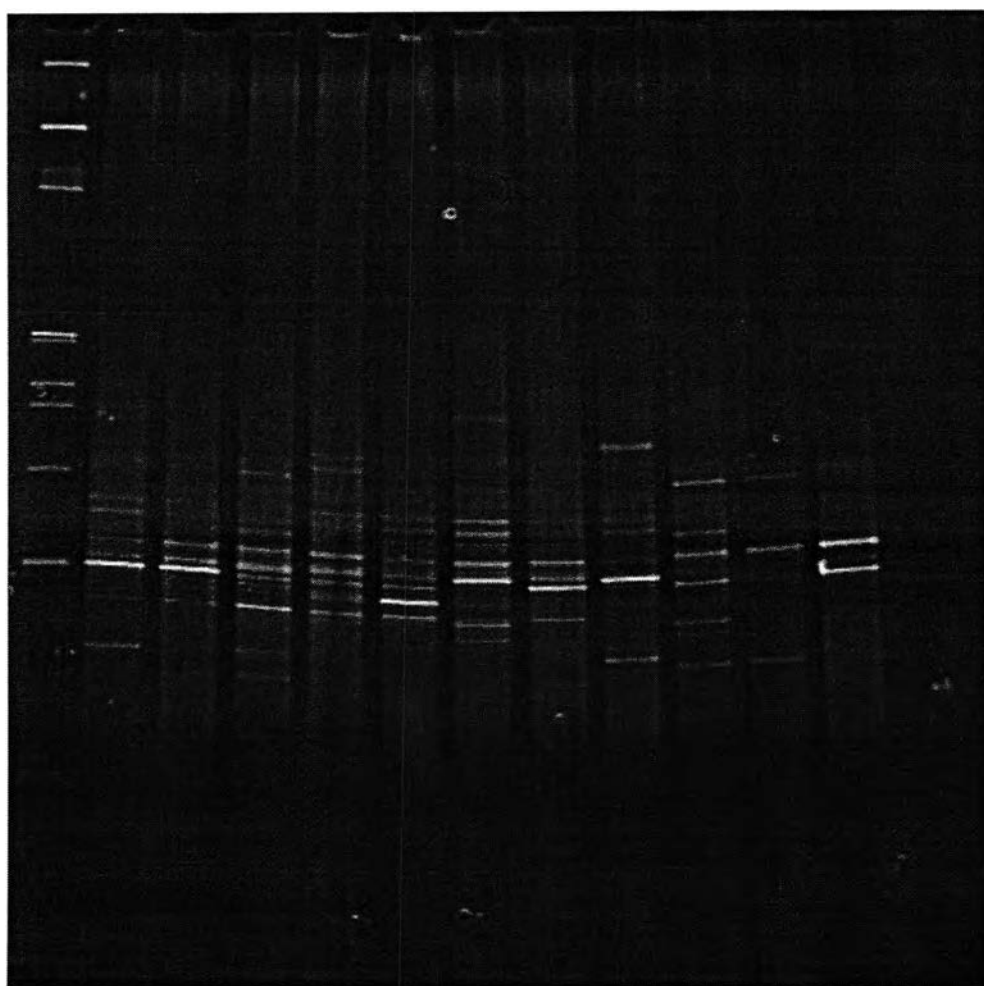
ตรวจสอบ PCR product ที่เกิดขึ้นโดย gel eletrophoresis ใช้เจลความเข้มข้น 2% เปรียบเทียบกับดีเอ็นเอ 100 bp Marker ตามวิธีในข้อ 2

6. วิเคราะห์ Denaturing Gradient Gel Electrophoresis (DGGE)

เตรียมแผ่นเจล polyacrylamide ความเข้มข้น 8% ที่มีเกรเดียนต์ของสารละลาย denaturant 20 – 70% ซึ่งทำเกรเดียนต์ของสารละลาย denaturant โดยใช้ระบบจ่ายเกรเดียนต์ตามวิธีที่ระบุในคู่มือ เมื่อทำเกรเดียนต์ของสารละลาย denaturant ลงในชุดแซนวิชเตรียมเจลแล้ว เสียบหัวลงไปในระหว่างกระจกแซนวิช ระวังอย่าให้มีฟองอากาศ ทิ้งไว้ 1 คืน เพื่อให้เจล polyacrylamide แข็งตัว นำชุดเจลแซนวิชใส่ลงในแชมเบอร์ที่มีบัฟเฟอร์ 1X TAE buffer ปริมาตร 7 ลิตรที่ผ่านการให้ความร้อนจนอุณหภูมิประมาณ 60°ซ

ผสมผลิตภัณฑ์ PCR กับสีซ้อมดีเอ็นเอหยอดลงในช่องวิ่ง จากนั้นปล่อยกระแสไฟฟ้าให้ไหลผ่าน ใช้ความต่างศักย์ 130 V ที่ 60°C เป็นเวลา 5 ชม. หรือจนกระทั่งสีซ้อมดีเอ็นเอตกออกจากเจลหมด และซ้อมเจล polyacrylamide ด้วย Ethylum bromide ความเข้มข้น 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร นาน 20 นาที นำไปดูภายใต้แสงอัลตราไวโอเลต (UV) ผลการทดลอง ดังแสดงในภาพที่ ค.1

Lane 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12



หมายเหตุ	Lane 1 = Marker	Lane 2 = ใบแก้ว	Lane 3 = ใบเข็มม่วง
	Lane 4 = ใบไทรแคระ	Lane 5 = ใบเข็ม	Lane 6 = ใบมะลิ
	Lane 7 = ใบโกสน	Lane 8 = ใบโมก	Lane 9 = ใบช่อย
	Lane 10 = ใบเฟื่องฟ้า	Lane 11 = ใบชบา	Lane 12 = ใบเฟื่องฟ้า (ชุด Kit)

ภาพที่ ค.1 แสดงแถบดีเอ็นเอที่สกัดจากแบคทีเรียบนผิวใบไม้

ภาคผนวก ง

ตารางที่ ง. 1 ผลการศึกษาลักษณะทางกายภาพ เคมี และชีวภาพของไม้ประดับ

ชนิดไม้	จำนวนจุลินทรีย์บนผิวใบ ที่ย่อยสลายพีแนมทริน (MPN / g. of leaf)	ปริมาณแวกซ์ (%)	ปริมาณ ความชื้น (%)	พื้นที่ใบ (cm ²)	จำนวนขนบนผิวใบ ด้านล่าง (เส้น / cm ²)	จำนวนขนบนผิวใบ ด้านบน (เส้น / cm ²)
โมก	3.50E+04	0.29	27.45	11.00	0	25.0
	2.10E+05	0.45	27.50	11.88	0	55.0
	1.10E+06	0.47	28.05	13.13	0	66.0
เจดีย์	4.48E+05	0.40	27.66	12.00	0	48.7
เฟื่องฟ้า	3.40E+03	0.25	22.11	29.63	220.0	80.0
	2.10E+04	0.31	22.44	32.25	230.0	82.0
	2.40E+05	0.34	23.52	36.25	295.0	114.0
เจดีย์	8.81E+04	0.30	22.69	32.71	248.3	92.0
โกสน	1.50E+04	0.34	23.92	47.63	35.0	6.0
	2.80E+04	0.36	25.05	47.75	36.0	10.0
	4.60E+05	0.44	25.16	48.18	44.0	11.0
เจดีย์	1.68E+05	0.38	24.71	47.85	38.3	9.0
เข็ม	2.30E+02	0.23	33.63	36.00	98.0	60.0
	3.90E+02	0.41	33.77	36.69	110.0	67.0
	2.80E+03	0.48	34.23	36.88	126.0	94.0
เจดีย์	1.14E+03	0.37	33.88	36.52	111.3	73.7

ตารางที่ ง. 1 ผลการศึกษาลักษณะทางกายภาพ เคมี และชีวภาพของไม้ประดับ (ต่อ)

ชนิดใบไม้	จำนวนจุลินทรีย์บนผิวใบ ที่ย่อยสลายพีแนทรีน (MPN / g. of leaf)	ปริมาณแวกซ์ (%)	ปริมาณความชื้น (%)	พื้นที่ใบ (cm ²)	จำนวนขนบนผิวใบ ด้านล่าง (เส้น / cm ²)	จำนวนขนบนผิวใบ ด้านบน (เส้น / cm ²)
มะลิ	2.00E+03	0.16	29.76	33.10	13.0	77.0
	2.80E+03	0.49	31.72	35.00	15.0	130.0
	3.50E+03	0.65	32.01	37.20	17.0	143.0
เจดีย์	2.77E+03	0.43	31.16	35.10	15.0	116.7
ข่อย	1.60E+03	0.03	44.54	8.13	23.0	2.0
	3.50E+03	0.09	48.42	8.38	25.0	2.0
	1.50E+04	0.18	50.07	9.13	32.0	4.0
เจดีย์	6.70E+03	0.10	47.68	8.54	26.7	2.7
ไทรแคระ	2.30E+01	0.22	26.89	12.18	0.0	0.0
	9.30E+01	0.35	27.04	13.50	0.0	0.0
	9.30E+01	0.39	27.21	13.88	0.0	0.0
เจดีย์	6.97E+01	0.32	27.05	13.18	0.0	0.0
แก้ว	2.00E+02	0.88	33.24	7.13	3.0	79.0
	4.30E+02	0.95	33.50	9.25	10.0	110.0
	4.30E+02	0.96	34.39	9.38	16.0	118.0
เจดีย์	3.53E+02	0.93	33.71	8.58	9.7	102.3

ตารางที่ ง. 1 ผลการศึกษาลักษณะทางกายภาพ เคมี และชีวภาพของไม้ประดับ (ต่อ)

ชนิด ไม้	จำนวนจุลินทรีย์บนผิวใบ ที่ย่อยสลายพีแนทรีน (MPN / g. of leaf)	ปริมาณแวกซ์ (%)	ปริมาณ ความชื้น (%)	พื้นที่ใบ (cm ²)	จำนวนขนบนผิวใบ ด้านล่าง (เส้น / cm ²)	จำนวนขนบนผิว ใบ ด้านบน (เส้น / cm ²)
เข็มม่วง	1.50E+01	0.08	26.36	45.60	176.0	108.0
	2.30E+01	0.08	26.51	49.00	196.0	128.0
	2.30E+01	0.09	28.01	49.50	208.0	154.0
เฉลี่ย	2.03E+01	0.08	26.96	48.03	193.3	130.0
ชบา	9.10E+00	0.10	18.76	45.60	25.0	9.0
	2.30E+01	0.06	19.27	47.43	43.0	10.0
	1.50E+02	0.12	19.57	48.58	43.0	14.0
เฉลี่ย	6.07E+01	0.09	19.20	47.20	37.0	11.0

Correlation (ต่อไป)

		bact	wax	moisture	area	Lower trichome	Upper trichome	N	P
moisture	Pearson Correlation	.664(**)	0.13	1	-.634(**)	-0.144	-0.067	-0.035	-.506(*)
	Sig. (2-tailed)	0.001	0.574		0.002	0.533	0.772	0.881	0.019
	N	21	21	21	21	21	21	21	21
area	Pearson Correlation	-0.284	-.446(*)	-.634(**)	1	.649(**)	0.359	0.175	0.343
	Sig. (2-tailed)	0.213	0.043	0.002		0.001	0.11	0.448	0.127
	N	21	21	21	21	21	21	21	21
Lower trichome	Pearson Correlation	-0.154	-0.37	-0.144	.649(**)	1	.498(*)	0.404	-0.273
	Sig. (2-tailed)	0.505	0.099	0.533	0.001		0.022	0.07	0.231
	N	21	21	21	21	21	21	21	21
Upper trichome	Pearson Correlation	-0.151	0.421	-0.067	0.359	.498(*)	1	0.343	-0.274
	Sig. (2-tailed)	0.514	0.058	0.772	0.11	0.022		0.128	0.229
	N	21	21	21	21	21	21	21	21
N	Pearson Correlation	-0.013	-0.126	-0.035	0.175	0.404	0.343	1	0.168
	Sig. (2-tailed)	0.954	0.587	0.881	0.448	0.07	0.128		0.467
	N	21	21	21	21	21	21	21	21
P	Pearson Correlation	-0.147	-0.103	-.506(*)	0.343	-0.273	-0.274	0.168	1
	Sig. (2-tailed)	0.525	0.657	0.019	0.127	0.231	0.229	0.467	
	N	21	21	21	21	21	21	21	21

** Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).

* Correlation is significant at the 0.05 level (2-tailed).

Correlations (ต่อ)

		bact	wax	moisture	area	Lower trichome	Upper trichome	N	P
moisture	Pearson								
	Correlation	0.555	0.647	1	-0.616	-0.814(**)	-0.324	-0.19	0.025
	Sig. (2-tailed)	0.121	0.059		0.077	0.008	0.394	0.624	0.949
	N	9	9	9	9	9	9	9	9
area	Pearson								
	Correlation	-0.315	-0.134	-0.616	1	0.244	-0.333	-0.604	.729(*)
	Sig. (2-tailed)	0.41	0.73	0.077		0.527	0.381	0.085	0.026
	N	9	9	9	9	9	9	9	9
Lower trichome	Pearson								
	Correlation	-0.307	-0.547	-0.814(**)	0.244	1	.776(*)	0.623	-0.484
	Sig. (2-tailed)	0.421	0.128	0.008	0.527		0.014	0.073	0.187
	N	9	9	9	9	9	9	9	9
Upper trichome	Pearson								-
	Correlation	0.13	-0.178	-0.324	-0.333	.776(*)	1	.901(*)	.850(**)
	Sig. (2-tailed)	0.739	0.646	0.394	0.381	0.014		0.001	0.004
	N	9	9	9	9	9	9	9	9
N	Pearson								-
	Correlation	0.003	-0.344	-0.19	-0.604	0.623	.901(**)	1	.985(**)
	Sig. (2-tailed)	0.994	0.365	0.624	0.085	0.073	0.001		0
	N	9	9	9	9	9	9	9	9
P	Pearson								-
	Correlation	-0.081	0.254	0.025	.729(*)	-0.484	-0.850(**)	.985(*)	1
	Sig. (2-tailed)	0.836	0.51	0.949	0.026	0.187	0.004	0	
	N	9	9	9	9	9	9	9	9

* Correlation is significant at the 0.05 level (2-tailed).

** Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).

ตารางที่ ง.4 เปรียบเทียบความแตกต่างของประสิทธิภาพการย่อยสลายฟีนแอนทรินของจุลินทรีย์ บนผิวใบโมก เข็มและชบา โดยการวิเคราะห์ความแปรปรวนโดยวิธี one – way ANOVA ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 (เปรียบเทียบโดยใช้ชนิดของไม้ประดับเป็นเกณฑ์)

Descriptives

		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum	Between- Component Variance
		Lower Bound	Upper Bound	Lower Bound	Upper Bound	Lower Bound	Upper Bound	Lower Bound	Upper Bound	Lower Bound
moke	50 ppm	3	65.1933	8.64212	4.98953	43.7251	86.6615	55.54	72.21	38.22229
	100 ppm	3	73.7667	7.65808	4.42140	54.7429	92.7904	66.38	81.67	
	500 ppm	3	81.1367	9.78162	5.64742	56.8378	105.4356	72.41	91.71	
	Total	9	73.3656	10.24716	3.41572	65.4889	81.2422	55.54	91.71	
	Model	Fixed Effects			8.73714	2.91238	66.2392	80.4919		
	Random Effects				4.60681	53.5440	93.1871			
kem	50 ppm	3	80.3267	9.05690	5.22900	57.8281	102.8253	73.05	90.47	-20.09972
	100 ppm	3	79.8700	3.85781	2.22731	70.2867	89.4533	75.44	82.49	
	500 ppm	3	75.7833	11.84543	6.83896	46.3577	105.2090	64.98	88.45	
	Total	9	78.6600	8.00000	2.66667	72.5107	84.8093	64.98	90.47	
	Model	Fixed Effects			8.89240	2.96413	71.4070	85.9130		
	Random Effects				2.96413(a)	65.9064(a)	91.4136(a)			
chaba	50 ppm	3	98.6233	4.49213	2.59353	87.4643	109.7824	95.24	103.72	191.60076
	100 ppm	3	79.2933	4.88142	2.81829	67.1672	91.4194	73.76	82.99	
	500 ppm	3	71.2800	3.14103	1.81348	63.4772	79.0828	67.79	73.88	
	Total	9	83.0656	12.71450	4.23817	73.2923	92.8388	67.79	103.72	
	Model	Fixed Effects			4.23767	1.41256	79.6092	86.5220		
	Random Effects				8.11556	48.1471	117.9840			

a Warning: Between-component variance is negative. It was replaced by 0.0 in computing this random effects measure.

ตารางที่ ๓.4 เปรียบเทียบความแตกต่างของประสิทธิภาพการย่อยสลายฟิแนนทรินของจุลินทรีย์ บนผิวใบโมก เข้มและชบา โดยการวิเคราะห์ความแปรปรวนโดยวิธี one – way ANOVA ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 (เปรียบเทียบโดยใช้ชนิดของไม้ประดับเป็นเกณฑ์) ต่อ

Test of Homogeneity of Variances

	Levene Statistic	df1	df2	Sig.
moke	.145	2	6	.868
kem	1.466	2	6	.303
chaba	.577	2	6	.590

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
moke	Between Groups	382.009	2	191.004	2.502	.162
	Within Groups	458.025	6	76.338		
	Total	840.034	8			
kem	Between Groups	37.551	2	18.776	.237	.796
	Within Groups	474.449	6	79.075		
	Total	512.000	8			
chaba	Between Groups	1185.520	2	592.760	33.008	.001
	Within Groups	107.747	6	17.958		
	Total	1293.267	8			

Post Hoc Test

Homogeneous Subsets

โสมก

Duncan^a

concentration	N	Subset for alpha = .05
	1	1
500 ppm	3	75.7833
100 ppm	3	79.8700
50 ppm	3	80.3267
Sig.		.566

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เป็ม

Duncan^a

concentration	N	Subset for alpha = .05
	1	1
50 ppm	3	65.1933
100 ppm	3	73.7667
500 ppm	3	81.1367
Sig.		.074

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ขบ

Duncan^a

concentration	N	Subset for alpha = .05	
	1	2	1
500 ppm	3	71.2800	
100 ppm	3	79.2933	
50 ppm	3		98.6233
Sig.		.060	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นางสาวนุชนาฏ ทองธรรมชาติ เกิดเมื่อวันที่ 7 กุมภาพันธ์ พ.ศ. 2519 ที่จังหวัดฉะเชิงเทรา สำเร็จการศึกษาปริญญาตรีวิทยาศาสตร์บัณฑิต จากภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา ในปีการศึกษา 2540 และเข้ารับการศึกษาคือในระดับปริญญาโทวิทยาศาสตร์ สาขาวิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในปีการศึกษา 2548 และสำเร็จการศึกษาในปี พ.ศ. 2550

