

รายการอ้างอิง

ภาษาไทย

- ควบคุมมลพิษ, กรม. 2545. มาตรฐานคุณภาพน้ำทิ้ง [ออนไลน์]. กรุงเทพมหานคร : กรมควบคุมมลพิษ กระทรวงทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม. แหล่งที่มา : http://www.pcd.go.th/info_serv/reg_std_water04.html[2553, มกราคม 26]
- ทิมากร แสงดำ. 2547. การแยกและลักษณะสมบัติของแบคทีเรียที่มีสมบัติในการเกาะติดและย่อยสลายไขมันจากปฏิกิริยาไฮโดรไลติก. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท สาขาวิชาจุลชีววิทยาทางอุตสาหกรรม ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
- ธุรกิจพลังงาน, กรม. 2552. จำนวนสถานีบริการน้ำมันเชื้อเพลิง ไตรมาส 3/2552 [ออนไลน์]. กรุงเทพมหานคร : กรมธุรกิจพลังงาน กระทรวงพลังงาน. แหล่งที่มา : http://www.doeb.go.th/information/info_station.html[2553, มกราคม 26]
- นภดล สว่างนาวัน. 2547. ผลของสารลดแรงตึงผิวต่อการย่อยสลายน้ำมันดิบโดยจุลินทรีย์ที่แยกได้จากทรายทะเลที่ปนเปื้อนคราบน้ำมัน. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท สาขาวิชาจุลชีววิทยาทางอุตสาหกรรม ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
- นวลพรรณ ณ ระนอง และมณฑล เพ็ญสายใจ. 2544. น้ำและการบำบัดน้ำเสีย. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพมหานคร: คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.
- สุเมธ ชวเดช. 2541. การออกแบบและทดลองระบบฟรอกโฟลเทชันสำหรับการบำบัดน้ำเสีย. รายงานฉบับสมบูรณ์. วิทยาลัยปิโตรเลียมและปิโตรเคมี จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

ภาษาอังกฤษ

- Alther, G. 1998. Put the breaks on wastewater emulsions. Chemical Engineering 102(2) : 82-88.
- Atlas, R.M. 1981. Microbial degradation of petroleum hydrocarbons: An environmental perspective. Microbiological Reviews 45(1) : 180-209.

- Ausubel, F.A., Brent, R., Kingston, R.E., Moore, D.D. Seidman, J.G., Smith, J.G., and Struhl, K. 1999. Current protocols in molecular biology. 4th ed. New York : John Wiley & Son.
- Boopathy, R. 2000. Factors limiting bioremediation technologies. Bioresource Technology 74 : 63-67.
- Braddock, J.F., Lindstrom, J.E., and Brown, E.J. 1995. Distribution of hydrocarbon-degrading microorganisms in sediments from Prince William Sound, Alaska, following the Exxon Valdez oil spill. Marine Pollution Bulletin 30 : 125-132.
- Cerniglia, C.E. 1993. Biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons. Current Opinion in Biotechnology 4 : 331-338.
- Colleran, E. 1997. Use of bacteria in bioremediation. In Sheehan, D. (ed.), Methods in biotechnology. Vol. 2: bioremediation protocols. pp. 3-22. New Jersey: Humana Press.
- Du, X., Reeser, P., Suidan, M.T., Huang, T., Moteleb, M., Boufadel, M.C., and Venosa, A.D. 1999. Optimum nitrogen concentration supporting maximum crude oil biodegradation in microcosms [Online]. International Oil Spill Conference. Available from : www.iosc.org/papers/01591.pdf[2009, December 23]
- Ekundayo, E.O., and Obuekwe, C.O. 2000. Hydrocarbon utilization in yeast isolates found to grow in association with petroleum in a polluted ultisol of midwestern. Environmental Monitoring and Assessment 63(2) : 381-387.
- Fritsche, W., and Hofrichter, M. 2008. Aerobic degradation by microorganisms, p.145-155. In Rehm, H.J., Reed, G. (ed.) Biotechnology volume 11b 2nd edition. Wiley-VCH. [Online]. Available from : www.wiley-vch.de/books/biotech/pdf/v11baero.pdf[2010, March 2]
- Ghazali, F.M., Abdul Rahman, R.N.Z., Salleh, A.B., and Basri, M. 2004. Biodegradation of hydrocarbons in soil by microbial consortium. International biodeterioration and biodegradation 54 : 61-67.
- Holt, J.G., Krig, N.R., Sheat, P.H.A., Syaley, J.T., and Williams, S.T. 1994. Bergey's manual of determinative bacteriology. 9th ed. USA : Williams & Wilkins.

- Huy, N.Q., Jin, S., Amada, K., Haruki, M., Huu, N.B. Hang, D.T., Ha, D.T.C., Imanaka, T., Morikawa, M., and Kanaya, S. 1999. Characterization of petroleum-degrading bacteria from oil-contaminated sites in Vietnam. Journal of Bioscience and Bioengineering 88 : 100-102.
- Jirasripongpun, K. 2002. The characterization of oil-degrading microorganisms from lubricating oil contaminated (scale) soil. Letters in Applied Microbiology 35 : 296-300.
- Jones, J.G., and Edington, M.A. 1968. An ecological survey of hydrocarbon oxidizing microorganism. Journal of General Microbiology 52 : 381-390.
- Jönsson, C., and Jönsson, A.S. 1995. The influence of degreasing agents used at car washes on the performance of ultrafiltration membranes. Desalination 100 : 115-123.
- Juhasz, A. L., and Naidu, R. 2000. Bioremediation of high molecular weight polycyclic aromatic hydrocarbons: a review of the microbial degradation of benzo[a]pyrene. International Biodeterioration and Biodegradation 45 : 57-88.
- Kılıç, N.K. 2009. Enhancement of phenol biodegradation by *Ochrobactrum* sp. isolated from industrial wastewaters. International Biodeterioration and Biodegradation 63(6) : 778-781.
- Kim, J.D., and Lee, C.G. 2007. Microbial degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons in soil by bacterium-fungus co-cultures. Biotechnology and Bioprocess Engineering 12(4) : 410-416.
- Kloet, J.V., and Schramm L.L. 2002. The effect of shear and oil/water ratio on the required hydrophile-lipophile balance for emulsification. Journal of Surfactants and Detergents 5 : 19-24.
- Koma, D., Hasumi, F., Yamamoto, E., Ohta, T., Chung, S.Y., and Kubo, M. 2001. Biodegradation of long-chain *n*-paraffins from waste oil of car engine by *Acinetobacter* sp. Journal of Bioscience and Bioengineering 91(1) : 94-96.
- Lal, B., and Khanna, S. 1996. Degradation of crude oil by *Acinetobacter calcoaceticus* and *Alcaligenes odorans*. Journal of Applied Bacteriology 81 : 355-362.

- Leahy, J.G., and Colwell, R.R. 1990. Microbial degradation of hydrocarbons in the environment. Microbiological Reviews 54(3) : 305-315.
- Lee, S.H., Lee, S., Kim, D.Y., and Kim, J.G. 2007. Degradation characteristics of waste lubricants under different nutrient conditions. Journal of Hazardous Materials 143 : 65-72.
- Lemarchand, K., Berthiaumea, F., Maynarda, C., Harel J., Payment, P., Bayardelled, P., Massona, L., and Brousseaua, R. 2005. Optimization of microbial DNA extraction and purification from raw wastewater samples for downstream pathogen detection by microarrays. Journal of Microbiological Methods 63 : 115– 126.
- Lu, S.J., Wang, H.Q., and Yao, Z.H. 2006. Isolation and characterization of gasoline-degrading bacteria from gas station leaking-contaminated soils. Journal of Environmental Sciences 18 : 969-972.
- Mang, T., and Dresel, W. 2007. Lubricants and Lubrication. 2nd ed. Weinheim : Wiley-VCH.
- Maruyama, A., Ishiwata, H., Kitamura, K., Sunamura, M., Fujita, T., Matsuo, M., and Higashihara, T. 2003. Dynamics of microbial populations and strong selection for *Cycloclasticus pugetii* following the Nakhodka oil spill. Microbial Ecology 46 : 442–453.
- Mishra, S., Jyot, J., Kuhad, R.C., and Lal, B. 2001. Evaluation of inoculum addition to stimulate in situ bioremediation of oily-sludge-contaminated soil. Applied and Environmental Microbiology 67 : 1675-1681.
- Mukred, A.M., Hamid, A.A., Hamzah, A., and Yusoff, W.M.W. 2008. Development of three bacteria consortium for the bioremediation of crude petroleum-oil in contaminated water. Journal of Biological Sciences 8(4) : 73-79.
- Muyzer, G., and Smalla, K. 1998. Application of denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE) and temperature gradient gel electrophoresis (TGGE) in microbial ecology. Antonie van Leeuwenhoek 73 : 127–141.

- Nakamura, S.K., Sugiura, K., Inamoto, Y.Y., Toki, H., Venkateswaran, K., Yamamoto, S., Tanaka, H., and Harayama, S. 1996. Construction of bacterial consortia that degrade Arabian light crude oil. Journal of Fermentation and Bioengineering 82 : 570-574.
- Okoro, C.C., Amund, O.O. 2010. Biodegradation of produce water hydrocarbons by pure cultures of *Alcaligenes* sp. Journal of American Science 6(4) : 107-113.
- Okpokwasili, G.C., and Amanchukwu, S.C. 1988. Petroleum hydrocarbon degradation by *Candida* species. Environment International 14(3) : 243-247.
- Panpanit, S. 2001. Oily wastewater treatment by coupling membrane filtration and ozonation. Doctoral dissertation, School of Environment Resources and Development Asian Institute of Technology.
- Paxéus, N. 1996. Vehicle washing as a source of organic pollutants in municipal wastewater. Water Science and Technology 33(6) : 1-8.
- Perelo, L.W. 2010. Review: In situ and bioremediation of organic pollutants in aquatic sediments. Journal of Hazardous Materials 177 : 81–89.
- Pettersson, A. 2007. High-performance base fluids for environmentally adapted lubricants. Tribology International 40 : 638–645.
- Powell, S.M., Snape, I., Bowman, J.P., Thompson, B.A.W., Stark, J.S., McCammon, S.A., and Riddle, M.J. 2005. A comparison of the short term effects of diesel fuel and lubricant oils on Antarctic benthic microbial communities. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology 322 : 53–65.
- Radwan, S.S., Al-Hasan, R.H., Ali, N., Salamah, S., and Khanafer, M. 2005. Oil-consuming microbial consortia floating in the Arabian Gulf. International Biodeterioration and Biodegradation 56 : 28–33.
- Rahman, K.S.M., Thahira-Rahman, J., Lakshmanaperumalsamy, P., and Banat, I.M. 2002. Towards efficient crude oil degradation by a mixed bacterial consortium. Bioresource Technology 85 : 257-261.
- Rajesh, N., and Subramanian, M.S. 2005. A study of the extraction behavior of thallium with tribenzylamine as the extractant. Journal of Hazardous Materials 135 : 74-77.

- Ratpakdi, T. 2002. Removal of oil and grease from synthetic gas station runoff using local sorbents from plant materials. Master's Thesis, Inter-Departmental Program in Environmental Management Graduate School Chulalongkorn University.
- Richard, J.Y., and Vogel, T.M. 1999. Characterization of a soil bacterial consortium capable of degrading diesel fuel. International Biodeterioration and Biodegradation 44 : 93-100.
- Sarkar, D., Ferguson, M., Datta, R., and Birnbaum, S. 2005. Bioremediation of petroleum hydrocarbons in contaminated soils: comparison of biosolids addition, carbon supplementation, and monitored natural attenuation. Environmental Pollution 136 : 187-195.
- Sei, K., Sugimoto, Y., Mori, K., Maki, H., and Kohno, T. 2003. Monitoring of alkane-degrading bacteria in a sea-water microcosm during crude oil degradation by polymerase chain reaction based on alkane-catabolic genes. Environmental Microbiology 5 : 517-522.
- Singh, C., and Lin, J. 2008. Isolation and characterization of diesel oil degrading indigenous microorganisms in Kwazulu-Natal, South Africa. African Journal of Biotechnology 7 : 1927-1932.
- Smith, J.A., Sievers, M., Huang, S., and Yu, S.L. 2000. Occurrence and phase distribution of polycyclic aromatic hydrocarbons in urban stormwater runoff. Water Science and Technology 42 : 383-388.
- Sokolovská, I., Wattiau, P., Gerin, P., and Agathos, S.N. 2002. Biodegradation of fluorene at low temperature by a psychrotrophic *Sphingomonas* sp. L-138. Chemical Papers 56(1) : 36-40.
- Stachowiak, G.W., and Batchelor, A.W. 2005. Engineering tribology. 3rd ed. USA : Elsevier Butterworth-Heinemann.
- Su, G.C., Zhou, C.Y., Cai, H.N., Su, W.J., Shi, Z.N., and Fang, S.H. 2008. Effectiveness of the cleaning performance of the bacterial strain *Acinetobacter* sp. SG06-02 in the petroleum hydrocarbon-polluted intestine of clams. World Journal of Microbiology and Biotechnology 24 : 383-386.

- Tin, V., and Cheng, D.M. 1995. Advances in oil/water separator technology [Online]. Available from : <http://sunzi1.lib.hku.hk/hkjo/view/41/4100166.pdf>[2010, March 5]
- Tri, P.T., Visvanathan, C., and Jegatheesan, V. 2006. Biological treatment of oily wastewater from gas stations by membrane bioreactor. Journal of Environmental Engineering and Science 5(4) : 309-316.
- Van Beilen, J.B., Li, Z., Duetz, W.A., Smits, T.H.M., and Witholt, B. 2003. Diversity of alkane hydroxylase systems in the environment. Oil & Gas Science and Technology - Rev. IFP 58(4) : 427-440.
- Van Hamme, J.D., Singh, A., and Ward, O.P. 2003. Recent advances in petroleum microbiology. Microbiology and Molecular Biology Reviews 67(4) : 503-549.
- Vazquez-Duhalt, R. 1989. Environmental impact of used motor oil. The Science of the Total Environment 79 : 1-23.
- Vieira, P.A., Vieira, R.B., De Franca, F.P., and Cardoso, V.L. 2007. Biodegradation of effluent contaminated with diesel fuel and gasoline. Journal of Hazardous Materials 140(1-2) : 52-59.
- Walker, J.D., and Colwell, R.R. 1975. Biodegradation rates of component of petroleum. Canadian Journal of Microbiology 22 : 1209-1213.
- Watanabe, K., Kodama, Y., and Harayama, S. 2001. Design and evaluation of PCR primers to amplify bacterial 16S ribosomal DNA fragments used for community fingerprinting. Journal of Microbiological Methods 44 : 253-262.
- Willison, J.C. 2004. Isolation and characterization of a novel Sphingomonad capable of growth with chrysene as sole carbon and energy source. FEMS Microbiology Letters 241 : 143-150.
- Wright, M.A., Taylor, F., Randles, S.J., Brown, D.E., and Higgins, I.J. 1993. Biodegradation of a synthetic lubricant by *Micrococcus roseus*. Applied and Environmental Microbiology 59(4) : 1072-1076.
- Xia, W.X., Li, J.C., Song, Z.W., and Sun, Y.J. 2007. Effects of nitrate concentration in interstitial water on the bioremediation of simulated oil-polluted shorelines. Journal of Environmental Sciences 19(12) : 1491-1495.

Zouboulis, A.I., and Avranas, A. 2000. Treatment of oil-in-water emulsions by coagulation and dissolved-air flotation. Colloids and Surfaces 172 : 153-161.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

สูตร และวิธีการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

1. อาหารเลี้ยงเชื้อเหลว Carbon Free Mineral Salt Medium (CFMM)

ก.) แอมโมเนียมไนเตรต (NH_4NO_3)	3.0	กรัม
ไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟตโดเดคะไฮเดรต ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$)	5.5	กรัม
โพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (KH_2PO_4)	0.8	กรัม
ข.) แมกนีเซียมซัลเฟตเฮปตะไฮเดรต ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)	0.01	กรัม
เฟอร์ริกคลอไรด์เฮกซะไฮเดรต ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$)	0.005	กรัม
แคลเซียมคลอไรด์ไดไฮเดรต ($\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)	0.005	กรัม

ซึ่งสารส่วน ก.) ละลายนํ้ากลั่นปริมาตร 1,000 มล. ปรับค่าความเป็นกรด-ด่าง ด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 1 นอร์มัล ให้เป็น 7.5 จากนั้นนำไปนึ่งฆ่าเชื้อแบบมาตรฐานด้วยความดันไอ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 °ซ เป็นเวลา 15 นาที เติมสารละลายในส่วน ข.) ที่ทำการเตรียมแยกแต่ละชนิด และทำให้ปราศจากเชื้อโดยกรองผ่านชุดกรองสำเร็จรูปเซลลูโลสอะซีเตต ขนาดรู 0.45 ไมโครเมตร ลงในอาหารที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว

2. อาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง Carbon Free Mineral Salt Medium (CFMM Agar)

เตรียมอาหารด้วยวิธีเดียวกับอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว CFMM แต่ละลายแบคโตอะการ์ (ก้อนผง) 15 กรัมต่ออาหารเลี้ยงเชื้อ 1,000 มล. ลงในสารละลายส่วน ก.) ปรับค่าความเป็นกรด-ด่าง ด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 1 นอร์มัล ให้เป็น 7.5 จากนั้นนำไปนึ่งฆ่าเชื้อแบบมาตรฐานด้วยความดันไอ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 °ซ เป็นเวลา 15 นาที ทิ้งไว้จนได้อุณหภูมิ 50-60 °ซ จึงเติมสารละลายในส่วน ข.) ที่ปราศจากเชื้อ ก่อนนำไปใช้

3. อาหารเลี้ยงเชื้อเหลว Luria-Bertani (LB Broth)

ทริปโตน (Tryptone)	10.0	กรัม
สารสกัดจากยีสต์ (Yeast extract)	5.0	กรัม
โซเดียมคลอไรด์ (NaCl)	5.0	กรัม

ละลายสารทั้งหมดรวมกันในน้ำกลั่นปริมาตร 1,000 มล. ปรับค่าความเป็นกรด-ด่าง ด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 1 นอร์มัล ให้เป็น 7.0 จากนั้นนำไปนึ่งฆ่าเชื้อแบบมาตรฐานด้วยความดันไอ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 °ซ เป็นเวลา 15 นาที

4. อาหารเลี้ยงเชื้อเหลว Nutrient Broth (NB)

แบคโตเพปโตน (Bactopeptone)	5.0	กรัม
สารสกัดจากเนื้อ (Beef extract)	3.0	กรัม

ละลายสารทั้งหมดรวมกันในน้ำกลั่นปริมาตร 1,000 มล. ปรับค่าความเป็นกรด-ด่าง ด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 1 นอร์มัล ให้เป็น 7.5 จากนั้นนำไปนึ่งฆ่าเชื้อแบบมาตรฐานด้วยความดันไอ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 °ซ เป็นเวลา 15 นาที

5. อาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง Nutrient Agar (NA)

เตรียมอาหารด้วยวิธีเดียวกับอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว NB แต่ละลายแบคโตอะการ์ (วุ้นผง) 15 กรัมต่ออาหารเลี้ยงเชื้อ 1,000 มล. เพิ่มลงไป จากนั้นนำไปนึ่งฆ่าเชื้อแบบมาตรฐานด้วยความดันไอ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 °ซ เป็นเวลา 15 นาที

ภาคผนวก ข

สารเคมี

1. สารปฏิชีวนะ

ละลายนิสเตติน (Nystatin) 40 มก. ในไดเมทิลซัลฟอกไซด์ 1 มล. ทำให้ปลอดเชื้อโดยการกรองละลายผ่านชุดกรองสำเร็จรูปชนิด PTFE ขนาดรูกว้าง 2 ไมโครเมตร เก็บรักษาในหลอดไมโครพีพส์ ที่อุณหภูมิ -20 °ซ

2. สารละลายทวิน-80 0.1% โดยปริมาตร

ผสมทวิน-80 ปริมาตร 0.1 มล. ในน้ำกลั่น และปรับปริมาตรสุดท้ายให้เป็น 100 มล. จากนั้นนำไปนึ่งฆ่าเชื้อแบบมาตรฐานด้วยความดันไอ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 °ซ เป็นเวลา 15 นาที

3. สารละลายโซเดียมคลอไรด์ 0.85%

ชั่งโซเดียมคลอไรด์ 0.85 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 100 มล. นึ่งฆ่าเชื้อแบบมาตรฐานด้วยความดันไอ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 °ซ เป็นเวลา 15 นาที

4. สารละลาย 10% SDS

ชั่ง sodium dodecyl sulfate น้ำหนัก 10 กรัม ค่อยๆ ละลายในน้ำปลอดประจุที่อุณหภูมิ 60 °ซ ปริมาตร 80 มล. เมื่อละลายหมดเติมน้ำปลอดประจุให้ครบปริมาตร 100 มล. นำไปนึ่งฆ่าเชื้อแบบมาตรฐานด้วยความดันไอ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 °ซ เป็นเวลา 15 นาที (หลังจากนึ่งฆ่าเชื้อครั้งแรกแล้วจะไม่สามารถนำไปนึ่งฆ่าเชื้อซ้ำได้อีกเพราะสารละลาย SDS จะเสียสภาพ)

5. สารละลาย Tris-HCl เข้มข้น 1.0 โมลาร์ ความเป็นกรด-ด่างเป็น 8.0

Trizma base ($C_4H_{11}NO_3$)	121.1	กรัม
กรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น	42	มล.

ละลาย Trizma base ในน้ำปลอดประจุปริมาตร 800 มล. จากนั้นเติมกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น คนให้เข้ากันรอให้เย็นลงแล้วจึงปรับค่าความเป็นกรด-ด่างด้วยกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้นให้เป็น 8.0 เติมน้ำปลอดประจุจนเป็นปริมาตร 1,000 มล. นำไปนึ่งฆ่าเชื้อแบบมาตรฐานด้วยความดันไอ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 °ซ เป็นเวลา 15 นาที

6. สารละลาย EDTA เข้มข้น 0.5 โมลาร์ ความเป็นกรด-ด่างเป็น 8.0

EDTA ($C_{10}H_{14}N_2O_8Na_2 \cdot 2H_2O$)	186.1	กรัม
โซเดียมไฮดรอกไซด์	20.0	กรัม

ละลาย EDTA ในน้ำปลอดประจุปริมาตร 800 มล. จากนั้นเติมโซเดียมไฮดรอกไซด์ คนให้เข้ากันรอให้เย็นลงแล้วจึงปรับค่าความเป็นกรด-ด่าง ด้วยกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้นให้เป็น 8.0 เติมน้ำปลอดประจุจนปริมาตรเป็น 1,000 มล. นำไปนึ่งฆ่าเชื้อแบบมาตรฐานด้วยความดันไอ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 °ซ เป็นเวลา 15 นาที

7. บัฟเฟอร์ TE ความเป็นกรด-ด่างเป็น 8.0

สารละลาย Tris-HCl เข้มข้น 1.0 โมลาร์ pH 8.0	10	มล.
สารละลาย EDTA เข้มข้น 0.5 โมลาร์ pH 8.0	2	มล.

ผสมสารละลาย Tris-HCl เข้มข้น 1.0 โมลาร์ ความเป็นกรด-ด่างเป็น 8.0 ปริมาตร 10 มล. เข้ากับสารละลาย EDTA เข้มข้น 0.5 โมลาร์ ความเป็นกรด-ด่างเป็น 8.0 ปริมาตร 2 มล. เติมน้ำปลอดประจุจนเป็นปริมาตร 1,000 มล. นำไปนึ่งฆ่าเชื้อแบบมาตรฐานด้วยความดันไอ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 °ซ เป็นเวลา 15 นาที

8. บัฟเฟอร์ 50X TAE

Trizma base	242	กรัม
กรดอะซีติกเข้มข้น	57.1	มล.
สารละลาย EDTA เข้มข้น 0.5 โมลาร์ pH 8.0	100	มล.

ละลายส่วนประกอบทั้งหมดในน้ำปลอดประจุปริมาตร 800 มล. แล้วเติมน้ำปลอดประจุจนเป็นปริมาตร 1,000 มล. นำไปนึ่งฆ่าเชื้อแบบมาตรฐานด้วยความดันไอ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 °ซ เป็นเวลา 15 นาที

9. สารละลาย CTAB/NaCl

CTAB	10.0	กรัม
โซเดียมคลอไรด์	4.1	กรัม

ละลาย CTAB ในน้ำปลอดประจุที่อุณหภูมิ 60 °ซ ปริมาตร 80 มล. จากนั้นเติมโซเดียมคลอไรด์ เมื่อละลายหมดแล้วเติมน้ำปลอดประจุจนเป็นปริมาตร 100 มล. นำไปนึ่งฆ่าเชื้อแบบมาตรฐานด้วยความดันไอ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 °ซ เป็นเวลา 15 นาที

10. สารละลายฟีนอล/คลอโรฟอร์ม/ไอโซเอมิลแอลกอฮอล์

ผสมสารละลายฟีนอลอิ่มตัวด้วย Tris-HCl เข้ากับคลอโรฟอร์ม และไอโซเอมิลแอลกอฮอล์ ในอัตราส่วน ฟีนอล : คลอโรฟอร์ม : ไอโซเอมิลแอลกอฮอล์ เป็น 25 : 24 : 1 (ปริมาตรต่อปริมาตรต่อปริมาตร) ผสมให้เข้ากัน เก็บไว้ในขวดสีชาที่อุณหภูมิ 4 °ซ

11. สารละลายเอธิเดียมโบรไมด์

ละลายผงเอธิเดียมโบรไมด์ในน้ำกลั่นปลอดประจุให้มีความเข้มข้นสุดท้ายเท่ากับ 10 ไมโครกรัมต่อมล. เก็บในภาชนะที่ปิดสนิทในที่มืด

12. สารละลายโซเดียมอะซีเตต เข้มข้น 3 โมลาร์ ความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 5.2

ละลายโซเดียมอะซีเตต น้ำหนัก 204 กรัม ในน้ำปลอดประจุให้ได้ปริมาตรประมาณ 400 มล. ปรับค่าความเป็นกรด-ด่างให้เป็น 5.2 ด้วยกรดอะซีติกปริมาตรประมาณ 57 มล. เติมน้ำปลอดประจุให้ได้ปริมาตรครบ 500 มล. นำไปนึ่งฆ่าเชื้อแบบมาตรฐานด้วยความดันไอ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 °ซ เป็นเวลา 15 นาที

13. สารละลายโปรตีนเนสเค (proteinase K) ความเข้มข้น 10 มก.ต่อมล.

ละลายผงโปรตีนเนสเคน้ำหนัก 10 มก. ในน้ำปลอดประจุปลอดเชื้อให้ครบปริมาตร 1 มล. เก็บที่อุณหภูมิ -20 °ซ

14. สารละลาย RNase A เข้มข้น 10 มก.ต่อมล.

ละลายผง RNase A น้ำหนัก 10 มก. ในน้ำปลอดประจุปลอดเชื้อให้ครบปริมาตร 1 มล. เก็บที่อุณหภูมิ -20 °ซ

15. 70% เอทานอล

99% เอทานอล	700	มล.
น้ำกลั่นปลอดประจุ	300	มล.

16. ไลซิสบัฟเฟอร์

สารละลาย Tris-HCl เข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์ pH 8.0	50	มล.
สารละลาย EDTA เข้มข้น 0.5 โมลาร์ pH 8.0	10	มล.
สารละลาย 10% SDS	30	มล.
น้ำปลอดประจุ	10	มล.

ผสมสารทั้งหมดเข้าด้วยกัน แล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อแบบมาตรฐานด้วยความดันไอ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 °ซ เป็นเวลา 15 นาที

17. อะกาโรสเจลเข้มข้น 0.9%

อะกาโรสเจล	0.9	กรัม
บัฟเฟอร์ TAE เข้มข้น 1 เท่า	100	มล.

หลอมให้เข้ากันด้วยไมโครเวฟหรือการต้มให้ความร้อน

18. อะกาโรสเจลเข้มข้น 2.0%

อะกาโรสเจล	2.0	กรัม
บัฟเฟอร์ TAE เข้มข้น 1 เท่า	100	มล.

หลอมให้เข้ากันด้วยไมโครเวฟหรือการต้มให้ความร้อน

19. 0% denaturing solution

40% อะคริลาไมด์/บิส	20	มล.
บัฟเฟอร์ TAE เข้มข้น 50 เท่า	2	มล.
น้ำปลอดประจุ	78	มล.

20. 100% denaturing solution

40% อะคริลาไมด์/บิส	20	มล.
บัฟเฟอร์ TAE เข้มข้น 50 เท่า	2	มล.
ฟอร์มามาไมด์	40	มล.
ยูเรีย	42	กรัม
น้ำปลอดประจุให้ครบปริมาตร	100	มล.

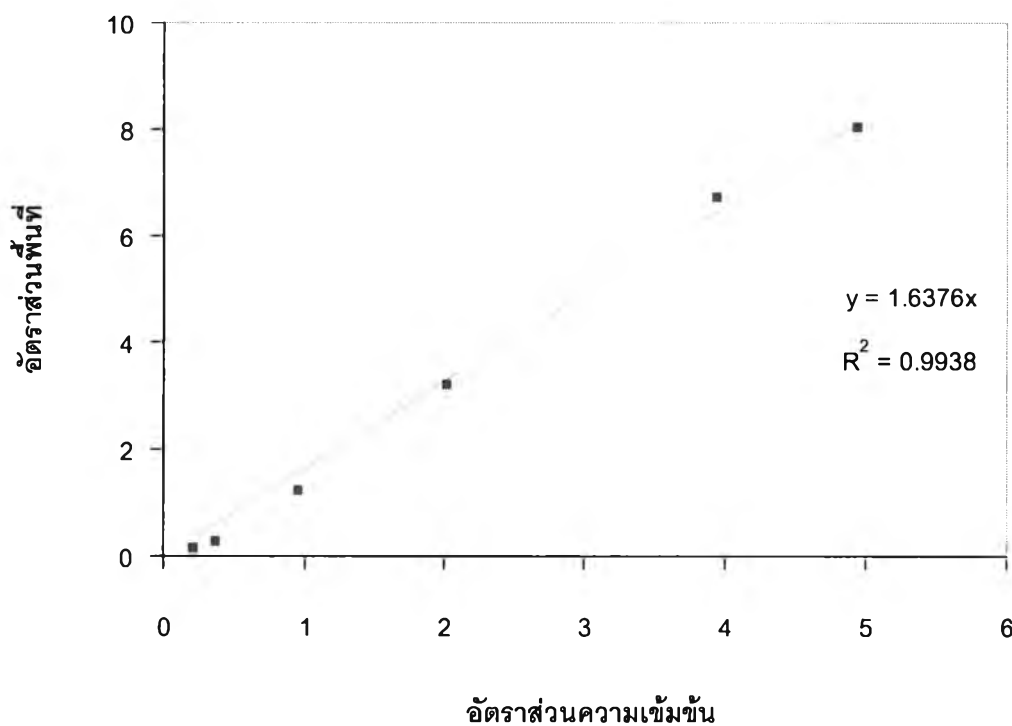
21. แอมโมเนียมเปอร์ซัลเฟตเข้มข้น 10%

แอมโมเนียมเปอร์ซัลเฟต	0.1	กรัม
น้ำปลอดประจุ	1	มล.

ภาคผนวก ค

กราฟมาตรฐาน

1. กราฟมาตรฐานของน้ำมันหล่อลื่น



รูปที่ ค.1 กราฟมาตรฐานระหว่างค่าอัตราส่วนพื้นที่ และค่าอัตราส่วนความเข้มข้นของน้ำมันหล่อลื่น

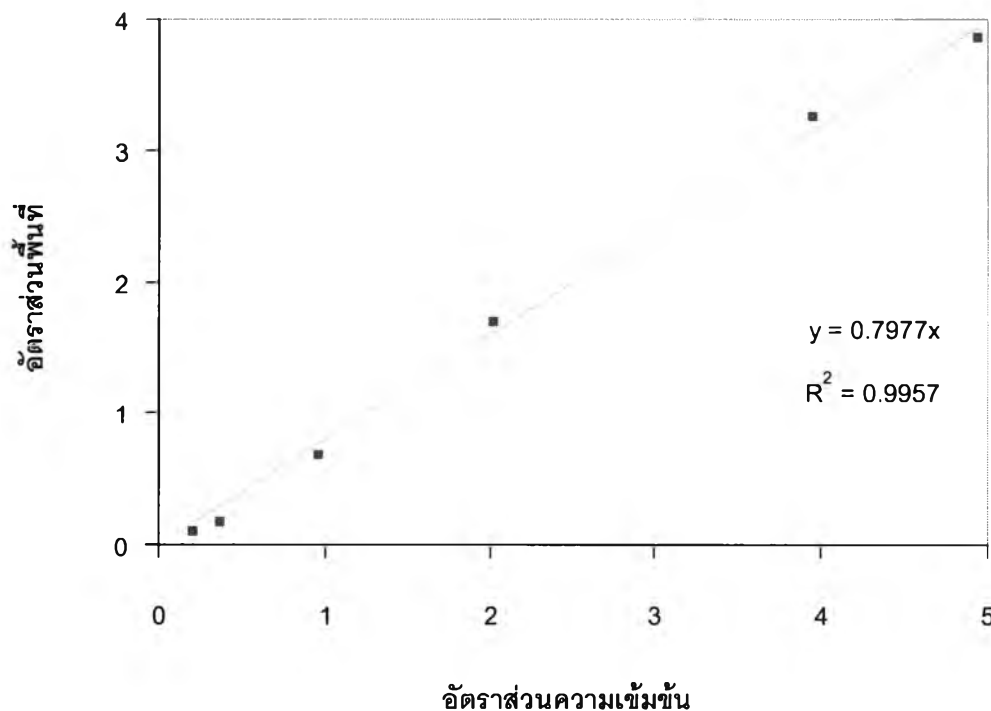
กราฟมาตรฐานของน้ำมันหล่อลื่นสร้างจากค่าอัตราส่วนพื้นที่ (พื้นที่ใต้กราฟของน้ำมันหล่อลื่น/พื้นที่ใต้กราฟของสเตียริลแอลกอฮอล์) และค่าอัตราส่วนความเข้มข้น (ความเข้มข้นของน้ำมันหล่อลื่น/ความเข้มข้นของสเตียริลแอลกอฮอล์)

หาปริมาณน้ำมันหล่อลื่นโดยการนำค่าพื้นที่ใต้กราฟที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง TLC-FID มาหาอัตราส่วนพื้นที่ แล้วแทนค่าในสมการ

$$\text{อัตราส่วนความเข้มข้น (x)} = \text{อัตราส่วนพื้นที่ (y)} / 1.6376$$

จากนั้น หาค่าปริมาณน้ำมันหล่อลื่นด้วยการแทนค่าอัตราส่วนความเข้มข้นในสมการ ปริมาณของน้ำมันหล่อลื่น (มก.) = อัตราส่วนความเข้มข้น x ปริมาณของสเตียริลแอลกอฮอล์ (มก.)

2. กราฟมาตรฐานของส่วนแซททูเรท (saturate fraction)



รูปที่ ค.2 กราฟมาตรฐานระหว่างค่าอัตราส่วนพื้นที่ และค่าอัตราส่วนความเข้มข้นของส่วนแซท

ทูเรท

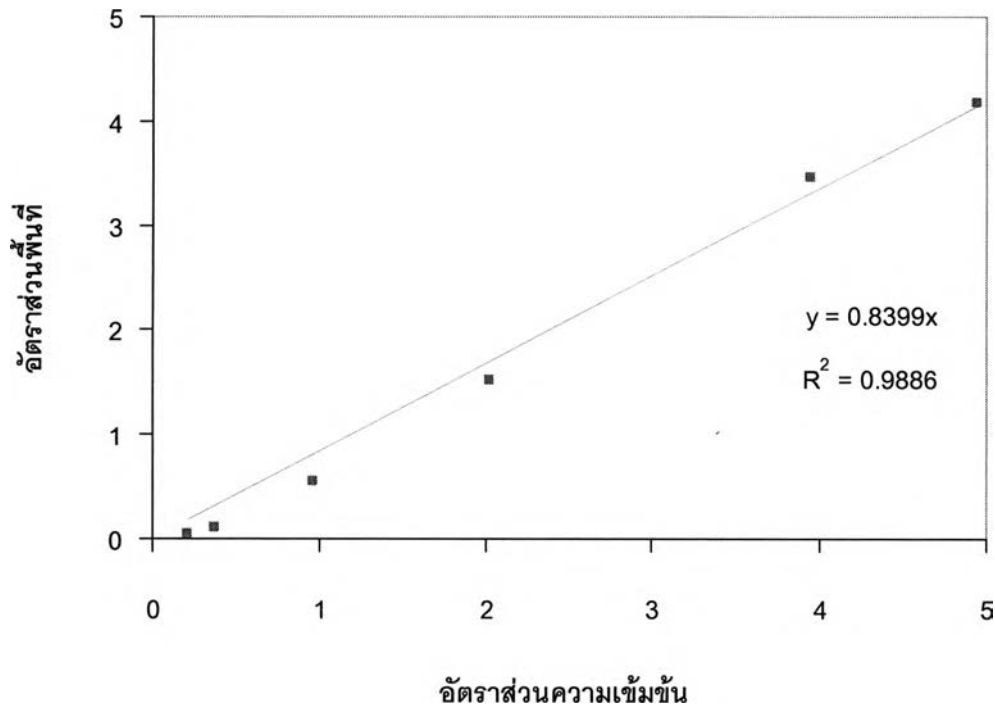
กราฟมาตรฐานของส่วนแซททูเรทสร้างจากค่าอัตราส่วนพื้นที่ (พื้นที่ใต้กราฟของส่วนแซททูเรท / พื้นที่ใต้กราฟของสเตียริลแอลกอฮอล์) และค่าอัตราส่วนความเข้มข้น (ความเข้มข้นของส่วนแซททูเรท/ความเข้มข้นของสเตียริลแอลกอฮอล์)

หาปริมาณส่วนแซททูเรทโดยการนำค่าพื้นที่ใต้กราฟที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง TLC-FID มาหาอัตราส่วนพื้นที่ แล้วแทนค่าในสมการ

$$\text{อัตราส่วนความเข้มข้น (x)} = \text{อัตราส่วนพื้นที่ (y)} / 0.7977$$

จากนั้น หาค่าปริมาณส่วนแซททูเรทด้วยการแทนค่าอัตราส่วนความเข้มข้นในสมการ
 ปริมาณของส่วนแซททูเรท (มก.) = อัตราส่วนความเข้มข้น x ปริมาณของสเตียริลแอลกอฮอล์ (มก.)

3. กราฟมาตรฐานของส่วนอะโรมาติก (aromatic fraction)



รูปที่ ค.3 กราฟมาตรฐานระหว่างค่าอัตราส่วนพื้นที่ และค่าอัตราส่วนความเข้มข้นของส่วนอะโรมาติก

กราฟมาตรฐานของส่วนอะโรมาติกสร้างจากค่าอัตราส่วนพื้นที่ (พื้นที่ใต้กราฟของส่วนอะโรมาติก/พื้นที่ใต้กราฟของสเตียริลแอลกอฮอล์) และค่าอัตราส่วนความเข้มข้น (ความเข้มข้นของส่วนอะโรมาติก/ความเข้มข้นของสเตียริลแอลกอฮอล์)

หาปริมาณส่วนอะโรมาติกโดยการนำค่าพื้นที่ใต้กราฟที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง TLC-FID มาหาอัตราส่วนพื้นที่ แล้วแทนค่าในสมการ

$$\text{อัตราส่วนความเข้มข้น (x)} = \text{อัตราส่วนพื้นที่ (y)} / 0.8399$$

จากนั้น หาค่าปริมาณส่วนอะโรมาติกด้วยการแทนค่าอัตราส่วนความเข้มข้นในสมการ ปริมาณของส่วนอะโรมาติก (มก.) = อัตราส่วนความเข้มข้น x ปริมาณของสเตียริลแอลกอฮอล์ (มก.)

ภาคผนวก ง

รูปที่ ง.1 ลำดับนิวคลีโอไทด์ของ 16 เอส ไรโบโซมัลดีเอ็นเอของแบคทีเรีย *SLY* เปรียบเทียบกับ *Sphingobium* sp. สายพันธุ์ YBL1

```

Sphingobium sp. YBL1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence
Length=1457
Score = 2562 bits (1387), Expect = 0.0
Identities = 1396/1402 (99%), Gaps = 1/1402 (0%)
Strand=Plus/Plus

Query 224   GGCTCAGAACGAACGCTGGCGGCATGCCTAATACATGCAAGTCGAACGAGCCCTTCGGGG   283
          |||
Sbjct 17     GGCTCAGAACGAACGCTGGCGGCATGCCTAATACATGCAAGTCGAACGAGCCCTTCGGGG   76

Query 284   TTAGTGGCGCACGGGTGCGTAACGCGTGGGAATCTGCCCTTGGGTTCGGAATAACGTCTG   343
          |||
Sbjct 77     TTAGTGGCGCACGGGTGCGTAACGCGTGGGAATCTGCCCTTGGGTTCGGAATAACGTCTG   136

Query 344   GAAACGGACGCTAATACCGGATGATGACGAAAGTCCAAGATTTATCGCCCAGGGATGAG   403
          |||
Sbjct 137   GAAACGGACGCTAATACCGGATGATGACGAAAGTCCAAGATTTATCGCCCAGGGATGAG   196

Query 404   CCCGCGTAGGATTAGCTAGTTGGTGAAGTAAAGGCTCACCAAGGCGACGATCCTTAGCTG   463
          |||
Sbjct 197   CCCGCGTAGGATTAGCTAGTTGGTGAAGTAAAGGCTCACCAAGGCGACGATCCTTAGCTG   256

Query 464   GTCTGAGAGGATGATCAGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCCAGACTCCTACGGGAGGC   523
          |||
Sbjct 257   GTCTGAGAGGATGATCAGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCCAGACTCCTACGGGAGGC   316

Query 524   AGCAGTAGGGAATATGGACAATGGGGCAACCCTGATCCAGCAATGCCCGGTGAGTGAT   583
          |||
Sbjct 317   AGCAGTAGGGAATATGGACAATGGGGCAACCCTGATCCAGCAATGCCCGGTGAGTGAT   376

Query 584   GAAGGCCCTTAGGGTTGTAAAGCTCTTTTACCCGGGATGATAATGACAGTACCGGGAGAAT   643
          |||
Sbjct 377   GAAGGCCCTTAGGGTTGTAAAGCTCTTTTACCCGGGATGATAATGACAGTACCGGGAGAAT   436

Query 644   AAGCCCCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGGAGGGGGCTAGCSTTGTTCG   703
          |||
Sbjct 437   AAGCCCCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGGAGGGGGCTAGCSTTGTTCG   496

Query 704   GAATTACTGGGCGTAAAGCGCACGTAGGCGGCGATTTAAGTCAGAGGTGAAAGCCCAGGG   763
          |||
Sbjct 497   GAATTACTGGGCGTAAAGCGCACGTAGGCGGCGATTTAAGTCAGAGGTGAAAGCCCAGGG   556

Query 764   CTCACCCCGGAATAGCCTTTGAGACTGGATTGCTTGAACATCGGAGAGGTGAGTGGAAAT   823
          |||
Sbjct 557   CTCACCCCGGAATAGCCTTTGAGACTGGATTGCTTGAACATCGGAGAGGTGAGTGGAAAT   616

Query 824   TCCGAGTGTAGAGGTGAAATTCGTAGATATTCGGAAGAACACCAGTGGCGAAGGCGGCTC   883
          |||
Sbjct 617   TCCGAGTGTAGAGGTGAAATTCGTAGATATTCGGAAGAACACCAGTGGCGAAGGCGGCTC   676

Query 884   ACTGGACGATTGTTGACGCTGAGGTSCGAAMGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCC   943
          |||
Sbjct 677   ACTGGACGATTGTTGACGCTGAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCC   736

Query 944   TGGTAGTCCACGCCGTAACAGATGATAACTAGCTGCTGGGGTCATGGAGTTTCGGTGGC   1003
          |||
Sbjct 737   TGGTAGTCCACGCCGTAACAGATGATAACTAGCTGCTGGGGTCATGGAGTTTCGGTGGC   796

Query 1004  GCAGCTAACGCATTAAGTTATCCGCCTGGGGAGTACGGTCGCAAGATTAACAACTCAAAGG   1063
          |||
Sbjct 797   GCAGCTAACGCATTAAGTTATCCGCCTGGGGAGTACGGTCGCAAGATTAACAACTCAAAGG   856

```

Query	1064	AATTGACGGGGCCTGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCAACGCGCAGA	1123
Sbjct	857	AATTGACGGGGCCTGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCAACGCGCAGA	916
Query	1124	ACCTTACCAACGTTTGACATCCTCATCGCGATTTCCAGAGATGGATTTCTTCAGTTCGGC	1183
Sbjct	917	ACCTTACCAACGTTTGACATCCTCATCGCGATTTCCAGAGATGGATTTCTTCAGTTCGGC	976
Query	1184	TGGATGAGTGACAGGTGCTGCATGGCTGTCGTGAGCTCGTGCCTGAGATGTTGGGTAA	1243
Sbjct	977	TGGATGAGTGACAGGTGCTGCATGGCTGTCGTGAGCTCGTGCCTGAGATGTTGGGTAA	1036
Query	1244	GTCCCGAACGAGCGCAACCCTCGCCTTTAGTTGCCATCATTTAGTTGGGTACTCTAAAG	1303
Sbjct	1037	GTCCCGAACGAGCGCAACCCTCGCCTTTAGTTGCCATCATTTAGTTGGGTACTCTAAAG	1096
Query	1304	GAACCGCCGGTGATAAGCCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCTCATGGCCCTTAC	1363
Sbjct	1097	GAACCGCCGGTGATAAGCCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCTCATGGCCCTTAC	1156
Query	1364	GCGTTGGGCTACACACGTGCTACAATGGCGACTACAGTGGGCAGCGACCATGCGAGTGGA	1423
Sbjct	1157	GCGTTGGGCTACACACGTGCTACAATGGCGACTACAGTGGGCAGCGACCATGCGAGTGGA	1216
Query	1424	AGCTAATCTCCAAAAGTCGTCTCAGTTCGGATTGTTCTCTGCAACTCGAGAGCATGAAAG	1483
Sbjct	1217	AGCTAATCTCCAAAAGTCGTCTCAGTTCGGATTGTTCTCTGCAACTCGAGAGCATGAAAG	1276
Query	1484	CGGAATCGCTAGTAATCGCGGATCAGCATGCCGCGTGAATACGTTCCAGGCCTTGATC	1543
Sbjct	1277	CGGAATCGCTAGTAATCGCGGATCAGCATGCCGCGTGAATACGTTCCAGGCCTTGATC	1336
Query	1544	ACACCGCCGTCACACCATGGGAGTTGGTTTCACCCGAAN-CAGTGCCTAACCGCAAGG	1602
Sbjct	1337	ACACCGCCGTCACACCATGGGAGTTGGTTTCACCCGAAGGAGTGCCTAACCGCAAGG	1396
Query	1603	AGGCAGCTGACCACGGTGGGAT	1624
Sbjct	1397	AGGCAGCTGACCACGGTGGGAT	1418

รูปที่ ง.2 ลำดับนิวคลีโอไทด์ของ 16 เอส โรโบโซมัลดีเอ็นเอของแบคทีเรีย SL15 เปรียบเทียบกับ *Acinetobacter junii* สายพันธุ์ p1

Acinetobacter junii strain pl 16S ribosomal RNA gene, partial sequence
 Length=1406
 Score = 2573 bits (1393), Expect = 0.0
 Identities = 1399/1402 (99%), Gaps = 2/1402 (0%)
 Strand=Plus/Plus

```

Query 1   GCAAGTCGAGCGGAGATGAGGTGCTTGACCTTATCTTAGCGGCGGACGGGTGAGTAATG 60
          |||
Sbjct 4   GCAAGTCGAGCGGAGATGAGGTGCTTGACCTTATCTTAGCGGCGGACGGGTGAGTAATG 63

Query 61  CTTAGGAATCTGCCTATTAGTGGGGGACAACATTCCGAAAGGAATGCTAATACCGCATAAC 120
          |||
Sbjct 64  CTTAGGAATCTGCCTATTAGTGGGGGACAACATTCCGAAAGGAATGCTAATACCGCATAAC 123

Query 121 GTCCTACGGGAGAAAAGCAGGGGATCTTCGGACCTTGCCTAATAGATGAGCCTAAGTCG 180
          |||
Sbjct 124 GTCCTACGGGAGAAAAGCA-GGGGATCTTCGGACCTTGCCTAATAGATGAGCCTAAGTCG 182

Query 181 GATTAGCTAGTTGGTGGGGTAAAGGCCACCAAGGCGACGATCTGTAGCGGGTCTGAGAG 240
          |||
Sbjct 183 GATTAGCTAGTTGGTGGGGTAAAGGCCACCAAGGCGACGATCTGTAGCGGGTCTGAGAG 242

Query 241 GATGATCCGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGG 300
          |||
Sbjct 243 GATGATCCGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGG 302

Query 301 GAATATTGGACAATGGGGGAACCTTGATCCAGCCATGCCCGTGTGTGAAGAAGGCCTT 360
          |||
Sbjct 303 GAATATTGGACAATGGGGGAACCTTGATCCAGCCATGCCCGTGTGTGAAGAAGGCCTT 362

Query 361 ATGTTTGTAAAGCACTTTAAGCGAGGAGGAGGCTACTGAGACTAATACTCTTGGATAGTC 420
          |||
Sbjct 363 ATGTTTGTAAAGCACTTTAAGCGAGGAGGAGGCTACTGAGACTAATACTCTTGGATAGTG 422

Query 421 GACGTTACTCGCAGAATAAGCACCGGCTAACTCTGTGCCAGCAGCCGCGTAATACAGAG 480
          |||
Sbjct 423 GACGTTACTCGCAGAATAAGCACCGGCTAACTCTGTGCCAGCAGCCGCGTAATACAGAG 482

Query 481 GGTGCGAGCGTTAATCGGATTTACTGGGCGTAAAGCGTGCGTAGGCGGCTTTTAAAGTCG 540
          |||
Sbjct 483 GGTGCGAGCGTTAATCGGATTTACTGGGCGTAAAGCGTGCGTAGGCGGCTTTTAAAGTCG 542

Query 541 GATGTGAAATCCCCGAGCTTAACTTGGGAATTGCATTCGATACTGGGAAGCTAGAGTATG 600
          |||
Sbjct 543 GATGTGAAATCCCCGAGCTTAACTTGGGAATTGCATTCGATACTGGGAAGCTAGAGTATG 602

Query 601 GGAGAGGATGGTAGAATTCCAGGTGTAGCGGTGAAATGCCGTAGAGATCTGGAGGAATACC 660
          |||
Sbjct 603 GGAGAGGATGGTAGAATTCCAGGTGTAGCGGTGAAATGCCGTAGAGATCTGGAGGAATACC 662

Query 661 GATGGCGAAGGCAGCCATCTGGCCTAATACTGACGCTGAGGTACRAAAGCATGGGGAGCA 720
          |||
Sbjct 663 GATGGCGAAGGCAGCCATCTGGCCTAATACTGACGCTGAGGTACRAAAGCATGGGGAGCA 722

Query 721 AACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCATGCCGTAACGATGTCTACTAGCCGTTGGGGCC 780
          |||
Sbjct 723 AACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCATGCCGTAACGATGTCTACTAGCCGTTGGGGCC 782

Query 781 TTTGAGGCTTTAGTGGCGCAGCTAACGCGATAAGTAGACCGCCTGGGGAGTACGGTCGCA 840
          |||
Sbjct 783 TTTGAGGCTTTAGTGGCGCAGCTAACGCGATAAGTAGACCGCCTGGGGAGTACGGTCGCA 842

Query 841 AGACTAAAAC TCAAATGAATTGACGGGGCCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAAAT 900
          |||
Sbjct 843 AGACTAAAAC TCAAATGAATTGACGGGGCCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAAAT 902
  
```

```

Query 901 TCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCTGGCCTTGACATACTAGAACTTTCCAGAGATGGA 960
          |||
Sbjct 903 TCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCTGGCCTTGACATACTAGAACTTTCCAGAGATGGA 962

Query 961 TTGGTGCCTTCGGGAATCTAGATACAGGTGCTGCATGGCTGTCGTGAGCTCGTGTGCTGA 1020
          |||
Sbjct 963 TTGGTGCCTTCGGGAATCTAGATACAGGTGCTGCATGGCTGTCGTGAGCTCGTGTGCTGA 1022

Query 1021 GATGTTGGGTAAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTTTCCTTACTTGCCAGCATTTCCGA 1080
          |||
Sbjct 1023 GATGTTGGGTAAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTTTCCTTACTTGCCAGCATTTCCGA 1082

Query 1081 TGGGAACTTTAAGGATACTGCCAGTGACAACTGGAGGAAGGCGGGGACGACGTCAAGTC 1140
          |||
Sbjct 1093 TGGGAACTTTAAGGATACTGCCAGTGACAACTGGAGGAAGGCGGGGACGACGTCAAGTC 1142

Query 1141 ATCATGGCCCTTACGGCCAGGGCTACACACGTGCTACAATGGTCGGTACAAAGGGTTGCT 1200
          |||
Sbjct 1143 ATCATGGCCCTTACGGCCAGGGCTACACACGTGCTACAATGGTCGGTACAAAGGGTTGCT 1202

Query 1201 ACACAGCGATGTGATGCTAATCTCAAAAAGCCGATCGTAGTCCGGATTGGAGTCTGCAAC 1260
          |||
Sbjct 1203 ACACAGCGATGTGATGCTAATCTCAAAAAGCCGATCGTAGTCCGGATTGGAGTCTGCAAC 1262

Query 1261 TCGACTCCATGAAGTCGGA-TCGCTAGTAATCGCGGATCAGAATGCCCGGTGAATACGT 1319
          |||
Sbjct 1263 TCGACTCCATGAAGTCGGAATCGCTAGTAATCGCGGATCAGAATGCCCGGTGAATACGT 1322

Query 1320 TCCCGGGCCTTGACACACCGCCCGTCACACCATGGGAGTTGTTGCACCAGAAGTAGGT 1379
          |||
Sbjct 1323 TCCCGGGCCTTGACACACCGCCCGTCACACCATGGGAGTTGTTGCACCAGAAGTAGGT 1382

Query 1380 AGTCTAACCGCAAGGAGGACGC 1401
          |||
Sbjct 1383 AGTCTAACCGCAAGGAGGACGC 1404

```


รูปที่ ๓.3 ลำดับนิวคลีโอไทด์ของ 16 เอส โรโบโซมัลดีเอ็นเอของแบคทีเรีย SL17 เปรียบเทียบกับ

Uncultured *Ochrobactrum* sp. clone p4

Uncultured *Ochrobactrum* sp. clone p4 16S ribosomal RNA gene, partial sequence
 Length=1451
 Score = 2579 bits (1396), Expect = 0.0
 Identities = 1405/1411 (99%), Gaps = 1/1411 (0%)
 Strand=Plus/Minus

```

Query 251  TGGCTCAGAACGAACGCTGGCGGCAGGCTTAACACATGCAAGTCGAGCGCCCCGCAAGGG 310
          |||
Sbjct 1438  TGGCTCAGAACGAACGCTGGCGGCAGGCTTAACACATGCAAGTCGAGCGCCCCGCAAGGG 1379

Query 311  GAGCGGCAGACGGGTGAGTAACGCGTGGGAACGTACCATTGCTACGGAATAACTCAGGG 370
          |||
Sbjct 1378  GAGCGGCAGACGGGTGAGTAACGCGTGGGAACGTACCATTGCTACGGAATAACTCAGGG 1319

Query 371  AAACCTGTGCTAATACCGTATGAGCCCGAAAGGGGAAAGATTTATCGGCAAAATGATCGGC 430
          |||
Sbjct 1318  AAACCTGTGCTAATACCGTATGAGCCCGAAAGGGGAAAGATTTATCGGCAAAATGATCGGC 1259

Query 431  CCGCGTTGATTAGCTAGTTGGTGGGGTAAAGGCCTACCAAGGCGACGATCCATAGCTGG 490
          |||
Sbjct 1258  CCGCGTTGATTAGCTAGTTGGTGGGGTAAAGGCCTACCAAGGCGACGATCCATAGCTGG 1199

Query 491  TCTGAGAGGATGATCAGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCAGACTCCTACGGGAGGCA 550
          |||
Sbjct 1198  TCTGAGAGGATGATCAGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCAGACTCCTACGGGAGGCA 1139

Query 551  GCAGTGGGGAATATTGGACAATGGGCGCAAGCCTGATCCAGCCATGCCGCGTGAGTGATG 610
          |||
Sbjct 1138  GCAGTGGGGAATATTGGACAATGGGCGCAAGCCTGATCCAGCCATGCCGCGTGAGTGATG 1079

Query 611  AAGGCCCTAGGGTTGTAAAGCTCTTTCACCGGTGAAGATAATGACGGTAACCGGAGAAGA 670
          |||
Sbjct 1078  AAGGCCCTAGGGTTGTAAAGCTCTTTCACCGGTGAAGATAATGACGGTAACCGGAGAAGA 1019

Query 671  AGCCCCGGCTAACTTCGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGAAGGGGGSTAGCGTTGTTCCGG 730
          |||
Sbjct 1018  AGCCCCGGCTAACTTCGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGAAGGGGGCTAGCGTTGTTCCGG 959

Query 731  ATTTACTGGGCGTAAAGCGCACGTAGGCGGGCTAATAAGTCAGGGGTGAAATCCCGGGGC 790
          |||
Sbjct 958  ATTTACTGGGCGTAAAGCGCACGTAGGCGGGCTAATAAGTCAGGGGTGAAATCCCGGGGC 899

Query 791  TCAACCCCGAACTGCCTTTGATACTGTTAGTCTTGAGTATGGTAGAGGTGAGTGGAAAT 850
          |||
Sbjct 898  TCAACCCCGAACTGCCTTTGATACTGTTAGTCTTGAGTATGGTAGAGGTGAGTGGAAAT 839

Query 851  CCGAGTGTAGAGGTGAAATTCGTAGATATTCGGAGGAACACCAGTGGCGAAGGCGGCTCA 910
          |||
Sbjct 838  CCGAGTGTAGAGGTGAAATTCGTAGATATTCGGAGGAACACCAGTGGCGAAGGCGGCTCA 779

Query 911  CTGGACCATTACTGACGCTGAGKYGMGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCT 970
          |||
Sbjct 778  CTGGACCATTACTGACGCTGAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCT 719

Query 971  GGTAGTCCACGCCGTAACGATGAATGTTAGCCGTTGGGGAGTTTACTCTTCGGTGGCGC 1030
          |||
Sbjct 718  GGTAGTCCACGCCGTAACGATGAATGTTAGCCGTTGGGGAGTTTACTCTTCGGTGGCGC 659

Query 1031  AGCTAACGCATTAACATTCGCCCTGGGGAGTACGGTCGCAAGATTAACAACTCAAAGGAA 1090
          |||
Sbjct 658  AGCTAACGCATTAACATTCGCCCTGGGGAGTACGGTCGCAAGATTAACAACTCAAAGGAA 599

Query 1091  TTGACGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGAGCATGTGGTTAATTCGAAGCAACGCGCAGAAC 1150
          |||
Sbjct 598  TTGACGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGAGCATGTGGTTAATTCGAAGCAACGCGCAGAAC 539
  
```

```

Query 1151 CTTACCAGCCCTTGACATCCCGATCGCGGTTAGTGGAGACACTATCCTTCAGTTCGGCTG 1210
          |||
Sbjct 538 CTTACCAGCCCTTGACATCCCGATCGCGGTTAGTGGAGACACTATCCTTCAGTTCGGCTG 479

Query 1211 GATCGGAGACAGGTGCTGCATGGCTGTCGTGAGCTCGTGTGAGATGTTGGGTTAAGT 1270
          |||
Sbjct 478 GATCGGAGACAGGTGCTGCATGGCTGTCGTGAGCTCGTGTGAGATGTTGGGTTAAGT 419

Query 1271 CCCGCAACGAGCGCAACCCTCGCCCTTAGTTGCCAGCATTTCAGTTGGGCACTCTAAGGGG 1330
          |||
Sbjct 418 CCCGCAACGAGCGCAACCCTCGCCCTTAGTTGCCAGCATTTCAGTTGGGCACTCTAAGGGG 359

Query 1331 ACTGCCGGTGATAAGCCGAGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAGTCAAGTCTCATGGCCCTTACG 1390
          |||
Sbjct 358 ACTGCCGGTGATAAGCCGAGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAGTCAAGTCTCATGGCCCTTACG 299

Query 1391 GGCTGGGCTACACACGTGCTACAATGGTGGTGACAGTGGGCAGCGAGCACGCGAGTGTGA 1450
          |||
Sbjct 298 GGCTGGGCTACACACGTGCTACAATGGTGGTGACAGTGGGCAGCGAGCACGCGAGTGTGA 239

Query 1451 GCTAATCTCCAAAAGCCATCTCAGTTCGGATTGCACTCTGCAACTCGAGTGCATGAAGTT 1510
          |||
Sbjct 238 GCTAATCTCCAAAAGCCATCTCAGTTCGGATTGCACTCTGCAACTCGAGTGCATGAAGTT 179

Query 1511 GGAATCGCTAGTAATCGCGGATCAGCATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACA 1570
          |||
Sbjct 178 GGAATCGCTAGTAATCGCGGATCAGCATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACA 119

Query 1571 CACCGCCCGTACACCATGGGAGTTGGTTTTACCCGAAAGCGCTGTGCTAACCGCAAGGA 1630
          |||
Sbjct 118 CACCGCCCGTACACCATGGGAGTTGGTTTTACCCGAAAGCGCTGTGCTAACCGCAAGGA 59

Query 1631 GGCAG-CGACCACGGTAGGGTCAGCGACTGG 1660
          ||||
Sbjct 58 GGCAGGCGACCACGGTAGGGTCAGCGACTGG 28

```

รูปที่ ง.4 ลำดับนิวคลีโอไทด์ของ 16 เอส โรโบโซมัลดีเอ็นเอของแบคทีเรีย SL27 เปรียบเทียบกับ

Alcaligenes sp. สายพันธุ์ Ic4

Alcaligenes sp. Ic4 16S ribosomal RNA gene, partial sequence
 Length=1523
 Score = 2689 bits (1456), Expect = 0.0
 Identities = 1472/1481 (99%), Gaps = 2/1481 (0%)
 Strand=Plus/Minus

```

Query 2      TACGAC-TCACCCAGTCATGAATCTCACCGTGGTAAGCGCCCCCTTGCGGTTAGGCTA 60
           |||  |||  |||  |||  |||  |||  |||  |||  |||  |||  |||  |||  |||  |||  |||  |||
Sbjct 1492    TACGACTTCACCCAGTCATGAATCTCACCGTGGTAAGCGCCCCCTTGCGGTTAGGCTA 1433

Query 61     CCTACTTCTGGTCAAACCCACTCCCATGGTGTGACGGGCGGTGTGTACAAGACCCGGGAA 120
           |||  |||  |||  |||  |||  |||  |||  |||  |||  |||  |||  |||  |||  |||  |||  |||
Sbjct 1432    CCTACTTCTGGTCAAACCCACTCCCATGGTGTGACGGGCGGTGTGTACAAGACCCGGGAA 1373

Query 121    CGTATTACCCGCGACATGCTGATCCGCGATTACTAGCGATTCCGACTTCACGCAGTCGAG 180
           |||  |||  |||  |||  |||  |||  |||  |||  |||  |||  |||  |||  |||  |||  |||  |||
Sbjct 1372    CGTATTACCCGCGACATGCTGATCCGCGATTACTAGCGATTCCGACTTCACGCAGTCGAG 1313

Query 181    TTGCAGACTGCGATCCGGACTACGATCGGG-TTCTGAGATTGGCTCCACCTCGCGGCTTG 239
           |||  |||  |||  |||  |||  |||  |||  |||  |||  |||  |||  |||  |||  |||  |||  |||
Sbjct 1312    TTGCAGACTGCGATCCGGACTACGATCGGGTTTCTGAGATTGGCTCCACCTCGCGGCTTG 1253

Query 240    GCAACCCTCTGTCCCACCATTGTATGACGTGTGAAGCCCTACCCATAAGGGCCATGAGG 299
           |||  |||  |||  |||  |||  |||  |||  |||  |||  |||  |||  |||  |||  |||  |||  |||
Sbjct 1252    GCAACCCTCTGTCCCACCATTGTATGACGTGTGAAGCCCTACCCATAAGGGCCATGAGG 1193

Query 300    ACTTGAGCTCATCCCCACCTTCTCCGGTTTGTACCCGGCAGTCCCATTAGAGTGCCCAA 359
           |||  |||  |||  |||  |||  |||  |||  |||  |||  |||  |||  |||  |||  |||  |||  |||
Sbjct 1192    ACTTGAGCTCATCCCCACCTTCTCCGGTTTGTACCCGGCAGTCCCATTAGAGTGCCCAA 1133

Query 360    CTGAATGTAGCAACTAATGGCAAGGGTTGCGCTCGTTGCGGGACTTAACCCAACATCTCA 419
           |||  |||  |||  |||  |||  |||  |||  |||  |||  |||  |||  |||  |||  |||  |||  |||
Sbjct 1132    CTGAATGTAGCAACTAATGGCAAGGGTTGCGCTCGTTGCGGGACTTAACCCAACATCTCA 1073

Query 420    CGACACGAGCTGACGACGCCATGCAGCACCTGTGTTCCGGTTCTCTTGCAGCACTCCC 479
           |||  |||  |||  |||  |||  |||  |||  |||  |||  |||  |||  |||  |||  |||  |||  |||
Sbjct 1072    CGACACGAGCTGACGACGCCATGCAGCACCTGTGTTCCGGTTCTCTTGCAGCACTCCC 1013

Query 480    AAATCTCTTCGGGATTCCAGACATGTCAAGGGTAGGTAAGGTTTTTCGCGTTGCATCGAA 539
           |||  |||  |||  |||  |||  |||  |||  |||  |||  |||  |||  |||  |||  |||  |||  |||
Sbjct 1012    AAATCTCTTCGGGATTCCAGACATGTCAAGGGTAGGTAAGGTTTTTCGCGTTGCATCGAA 953

Query 540    TTAATCCACATCATCCACCGCTTGTGCGGGTCCCCGTC AATTCCCTTGAGTTTAAATCTT 599
           |||  |||  |||  |||  |||  |||  |||  |||  |||  |||  |||  |||  |||  |||  |||  |||
Sbjct 952     TTAATCCACATCATCCACCGCTTGTGCGGGTCCCCGTC AATTCCCTTGAGTTTAAATCTT 893

Query 600    GCGACCGTACTCCCAGGCGGTCAACTTCACGCGTTAGCTGCGCTACTAAGGTTAATAAA 659
           |||  |||  |||  |||  |||  |||  |||  |||  |||  |||  |||  |||  |||  |||  |||  |||
Sbjct 892     GCGACCGTACTCCCAGGCGGTCAACTTCACGCGTTAGCTGCGCTACTAAGGTTAATAAA 833

Query 660    CCCCAACAGCTAGTTGACATCGTTTAGGGCGTGGACTACCAGGGTATCTAATCCTGTTG 719
           |||  |||  |||  |||  |||  |||  |||  |||  |||  |||  |||  |||  |||  |||  |||  |||
Sbjct 832     CCCCAACAGCTAGTTGACATCGTTTAGGGCGTGGACTACCAGGGTATCTAATCCTGTTG 773

Query 720    CTCCCCACGCTTTCGTGCATGAGCGTCAGTATCATCCCAGGGGCTGCCTTCGCCATCGG 779
           |||  |||  |||  |||  |||  |||  |||  |||  |||  |||  |||  |||  |||  |||  |||  |||
Sbjct 772     CTCCCCACGCTTTCGTGCATGAGCGTCAGTATCATCCCAGGGGCTGCCTTCGCCATCGG 713

Query 780    TATTCCTCCACATCTCTACGCATTTCACTGCTACACGTGGAATTCTACCCCCCTGAGG 839
           |||  |||  |||  |||  |||  |||  |||  |||  |||  |||  |||  |||  |||  |||  |||  |||
Sbjct 712     TATTCCTCCACATCTCTACGCATTTCACTGCTACACGTGGAATTCTACCCCCCTGAGG 653

Query 840    TACTCTAGCCCGGTAGTTAAAAGTGCAGTTCCAAGGTTAAGCCCTGGGATTTACACCTT 899
           |||  |||  |||  |||  |||  |||  |||  |||  |||  |||  |||  |||  |||  |||  |||  |||
Sbjct 652     TACTCTAGCCCGGTAGTTAAAAGTGCAGTTCCAAGGTTAAGCCCTGGGATTTACACCTT 593

```

```

Query 900 TCTTTCGAACCGCTGCGCACGCTTTACGCCAGTAATCCGATTAACGYTISCACCT 959
          |||
Sbjct 592 TCTTTCGAACCGCTGCGCACGCTTTACGCCAGTAATCCGATTAACGCTTGCACCT 533

Query 960 ACGTATTACCGCGGCTGCTGGCACGTAGTTAGCCGGTGCTTATTCTGCAGGTACCGTCAG 1019
          |||
Sbjct 532 ACGTATTACCGCGGCTGCTGGCACGTAGTTAGCCGGTGCTTATTCTGCAGGTACCGTCAG 473

Query 1020 TCGCCCGGGTATTAACCCAGGCTGTTTCTTCCCTGCCAAAAGTGCTTTACAACCCGAAG 1079
          |||
Sbjct 472 TTGCCAGGGTATTATCCAGGCCGTTTCTTCCCTGCCAAAAGTGCTTTACAACCCGAAG 413

Query 1080 GCCTTCATCGCACACGCGGGATGGCTGGATCAGGGTGCCCCATTGTCCAAAATTCCCC 1139
          |||
Sbjct 412 GCCTTCATCGCACACGCGGGATGGCTGGATCAGGGTGCCCCATTGTCCAAAATTCCCC 353

Query 1140 ACTGCTGCCTCCCGTAGGAGTCTGGGCCGTGTCTCAGTCCCAGTGTGGCTGGTCGTCCTC 1199
          |||
Sbjct 352 ACTGCTGCCTCCCGTAGGAGTCTGGGCCGTGTCTCAGTCCCAGTGTGGCTGGTCGTCCTC 293

Query 1200 TCAAACCAGCTACGGATCGTCGCCTTGGTAGGCCTTACCCACCAACTAGCTAATCCGA 1259
          |||
Sbjct 292 TCAAACCAGCTACGGATCGTCGCCTTGGTAGGCCTTACCCACCAACTAGCTAATCCGA 233

Query 1260 TATCGGCCGCTCCAATAGTGAGAGGTCTTGGCATccccccTTCCCCGTAGGGCGTAT 1319
          |||
Sbjct 232 TATCGGCCGCTCCAATAGTGAGAGGTCTTGGCATCCCCCCTTCCCCGTAGGGCGTAT 173

Query 1320 GCGGTATTAGCTGACCTTTCGGCCAGTTATCCCCGCTACTGGGCAGTTCCGATACATT 1379
          |||
Sbjct 172 GCGGTATTAGCTGACCTTTCGGCCAGTTATCCCCGCTACTGGGCAGTTCCGATACATT 113

Query 1380 ACTCACCCGTTCCGCACTCGCCGCCAAGAAAGCAAGCTTCCTTCGCGCTGCCGTTTCGAC 1439
          |||
Sbjct 112 ACTCACCCGTTCCGCACTCGCCGCCAAGAAAGCAAGCTTCCTTCGCGCTGCCGTTTCGAC 53

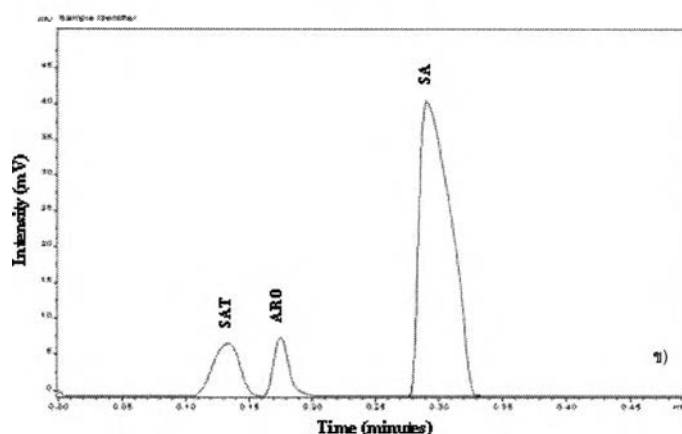
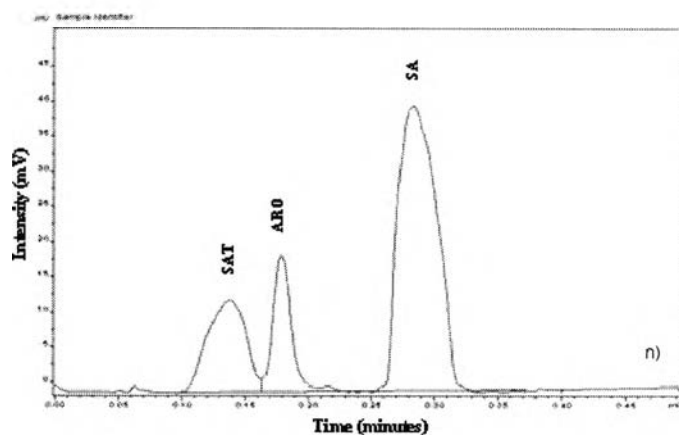
Query 1440 TTGCATGTGTAAGCATCCCGTAGCGTTCAATCTGAGCC# 1480
          |||
Sbjct 52 TTGCATGTGTAAGCATCCCGTAGCGTTCAATCTGAGCCA 12

```

ภาคผนวก จ

โครมาโตแกรมของน้ำมันหล่อลื่น

งานวิจัยนี้ได้วิเคราะห์ปริมาณน้ำมันหล่อลื่นคงเหลือจากการย่อยสลายโดยกลุ่มแบคทีเรีย SL โดยใช้ TLC-FID พบว่า น้ำมันหล่อลื่นชนิดนี้มียังคงประกอบหลักสองส่วน คือ ส่วนแซททูเรทและส่วนอะโรมาติก โดยมีเวลาที่คงอยู่ (Retention time) โดยประมาณของส่วนแซททูเรท อะโรมาติก และสเตียริลแอลกอฮอล์ คือ 0.13 0.24 และ 0.35 นาที ตามลำดับ การลดลงของพื้นที่ใต้กราฟมีความสอดคล้องกับการลดลงของปริมาณน้ำมันหล่อลื่น และปริมาณไฮโดรคาร์บอนแต่ละส่วน



รูปที่ จ.1 TLC-FID โครมาโตแกรมของน้ำมันหล่อลื่นที่ย่อยสลายโดยกลุ่มแบคทีเรีย SL ในน้ำเสียสังเคราะห์ ก) ชุดควบคุมวันที่ 0 ข) ชุดทดลองวันที่ 7, SAT คือ ส่วนแซททูเรท ARO คือ ส่วนอะโรมาติก และ SA คือ สเตียริลแอลกอฮอล์ที่เป็นสารมาตรฐาน

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นางสาวนฤมล นันทกิจโกศล เกิดเมื่อวันที่ 4 สิงหาคม พ.ศ. 2527 ที่จังหวัดราชบุรี ได้รับปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต จากภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในปีการศึกษา 2548 และเข้ารับการศึกษาคือต่อในระดับปริญญาโท สาขาวิชาจุลชีววิทยาทางอุตสาหกรรม ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในปีการศึกษา 2549 ที่อยู่ปัจจุบัน 193/1 หมู่ 3 ตำบลอ่าวน้อย อำเภอเมือง จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ 77000

ผลงานเผยแพร่

1. ส่วนหนึ่งของงานวิจัยนี้ได้เข้าร่วมเสนอผลงานในการประชุมทางวิชาการระดับนานาชาติ " TSB 2009: The 21st Annual Meeting and International Conference of the Thai Society for Biotechnology" ระหว่างวันที่ 24-25 กันยายน 2552 ณ ศูนย์การประชุมแห่งชาติสิริกิติ์ ในหัวข้อเรื่อง Isolation and characterization of bacterial consortium capable of degrading lubricant oil from gas station wastewater. ร่วมกับรองศาสตราจารย์ ดร. สุเทพ ธนียวัน และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. อรุณทัย ภิญญาคง

