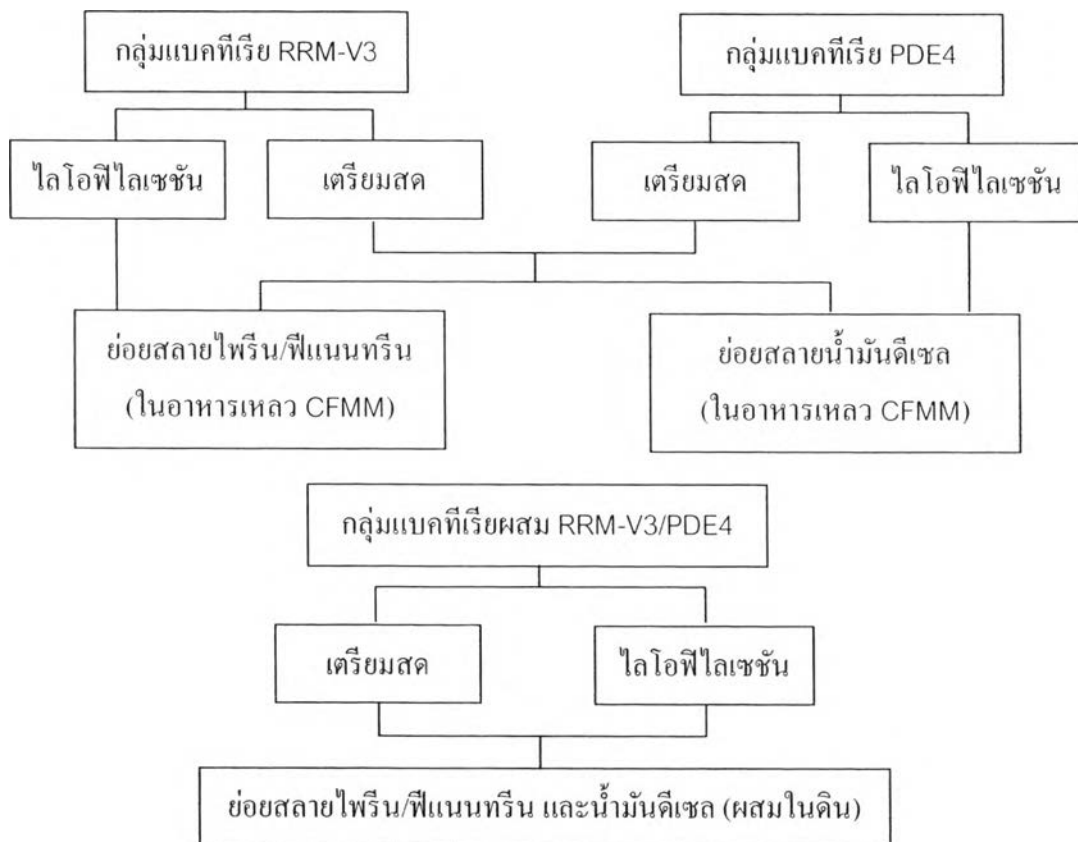


บทที่ 4

ผลการทดลอง

การทดสอบประสิทธิภาพในการย่อยสลายไฟรีน/ฟีนเทรอิน และน้ำมันดีเซลโดยกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 และ PDE4 มีขั้นตอนในการทดลองโดยทำการทดสอบการย่อยสลายไฟรีน/ฟีนเทรอินและ น้ำมันดีเซลโดยกลุ่มแบคทีเรียที่เตรียมสด หรือกลุ่มแบคทีเรียที่ผ่านการไลโอไฟไลเซชัน ในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว และในดิน ซึ่งแสดงในแผนผังการทดลองในรูปที่ 4.1



รูปที่ 4.1 แผนผังการทดลองย่อยสลายไฟรีน/ฟีนเทรอิน และน้ำมันดีเซลโดยกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 และ PDE4

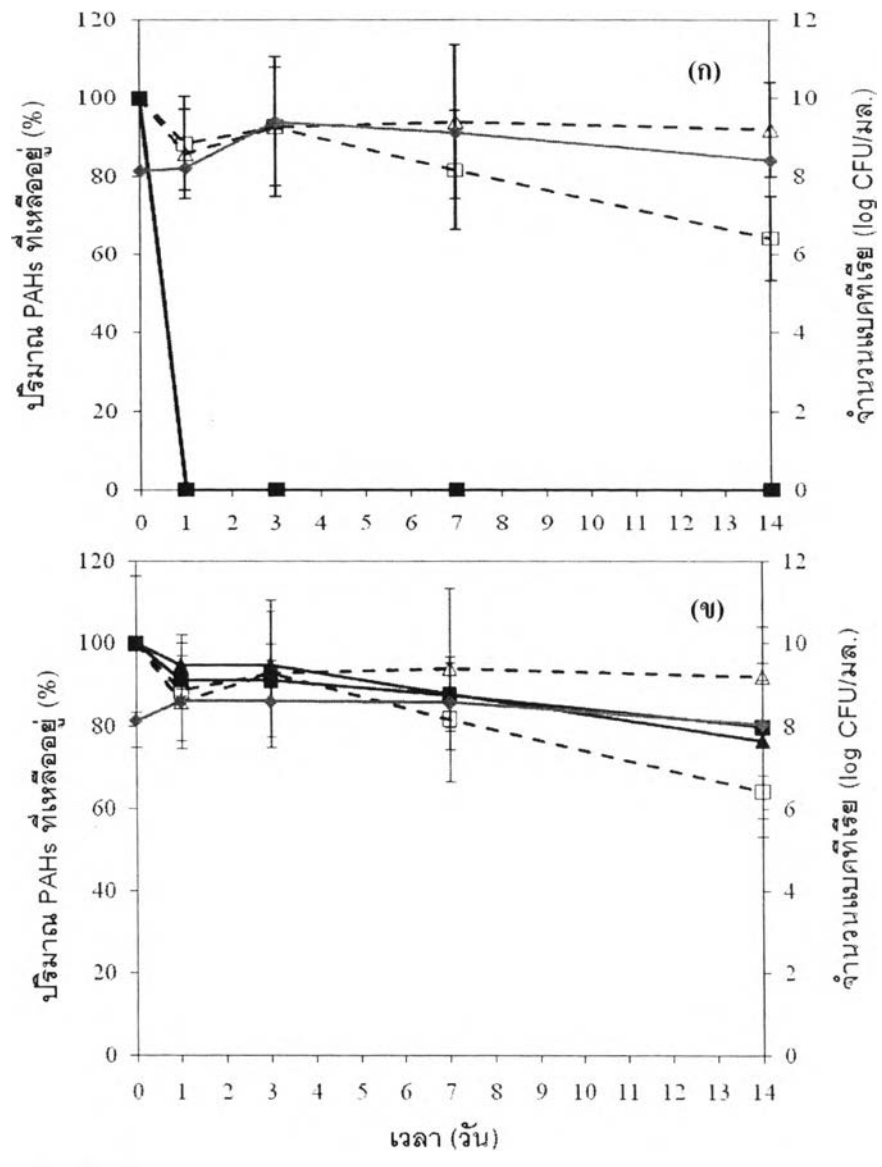
4.1 การย่อยสลายไพรีนและพีแนทรีนในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว CFMM โดยกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 และ PDE4 ที่เตรียมสด

กลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 เป็นกลุ่มแบคทีเรียที่คัดแยกจากใบจามจุรี สามารถย่อยสลายไพรีน ความเข้มข้น 0.1 กรัมต่อลิตร ในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว CFMM ได้หมดในเวลา 14 วัน (จิรทีปษ์ แสนรัก, 2547) เนื่องจากกลุ่มแบคทีเรียนี้ได้ถูกคัดแยกและเก็บรักษาไว้เป็นเวลานาน ในการทดลองนี้จึง ตรวจสอบความสามารถในการย่อยสลายไพรีนและพีแนทรีนความเข้มข้นชนิดละ 0.05 กรัมต่อลิตร ในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว CFMM โดยใช้กลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่เตรียมสดจำนวน 8-9 log CFU/มล. เป็นเวลา 14 วัน เก็บตัวอย่างเพื่อวัดปริมาณ PAHs ที่เหลืออยู่ และนับจำนวนแบคทีเรียทั้งหมด

กลุ่มแบคทีเรีย PDE4 เป็นกลุ่มแบคทีเรียที่คัดแยกจากดินปนเปื้อนน้ำมันดีเซล สามารถย่อยสลาย 1% น้ำมันดีเซลเหลือ 10.47% ในเวลา 14 วัน (ภัทราพร กวีสุทธิกุล, 2550) น้ำมันดีเซลมี PAHs เป็นองค์ประกอบ (IARC, 1989) เป็นไปได้ว่ากลุ่มแบคทีเรีย PDE4 น่าจะย่อยสลายไพรีนและพีแนทรีนได้ จึงทำการทดลองเพื่อหาประสิทธิภาพในการย่อยสลายไพรีนและพีแนทรีนในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว CFMM ความเข้มข้นชนิดละ 0.05 กรัมต่อลิตร โดยใช้กลุ่มแบคทีเรีย PDE4 ที่เตรียมสด จำนวน 8-9 log CFU/มล. เป็นเวลา 14 วัน เก็บตัวอย่างเพื่อตรวจวัดปริมาณน้ำมันดีเซลที่เหลืออยู่ และนับจำนวนแบคทีเรียทั้งหมด

การย่อยสลายไพรีนและพีแนทรีนโดยกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ในชุดควบคุมที่มีเฉพาะไพรีน และพีแนทรีน พบการสลายตัวทางกายภาพเหลือปริมาณไพรีนและพีแนทรีน $92.02 \pm 12.1\%$ และ $64.09 \pm 10.9\%$ ตามลำดับ ปริมาณไพรีนและพีแนทรีนในชุดทดลองที่เติมกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่เตรียมสด พบว่าปริมาณไพรีนและพีแนทรีนลดลงจนไม่สามารถตรวจได้โดยวิธีแก๊สโครมาโตกราฟี ในวันที่ 1 จำนวนกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 เพิ่มขึ้นสูงสุดเท่ากับ 9.4 log CFU/มล. ในวันที่ 3 (รูปที่ 4.2 ก)

การย่อยสลายไพรีนและพีแนทรีนโดยกลุ่มแบคทีเรีย PDE4 พบว่าเหลือปริมาณไพรีนและพีแนทรีนเท่ากับ $76.52 \pm 17.3\%$ และ $79.78 \pm 17.7\%$ ตามลำดับ จำนวนกลุ่มแบคทีเรีย PDE4 ลดลงจาก 8.13 log CFU/มล. เหลือ 8.04 log CFU/มล. ในวันที่ 14 (รูปที่ 4.2 ข)



- □ - ปริมาณพีแนทรีนในชุดควบคุม
- ▲ - ปริมาณไฟรีนในชุดควบคุม
- ■ - ปริมาณพีแนทรีนในชุดทดลองที่เติมกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 หรือ PDE4
- ▲ - ปริมาณไฟรีนในชุดทดลองที่เติมกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 หรือ PDE4
- ◆ - จำนวนแบคทีเรียในชุดทดลอง

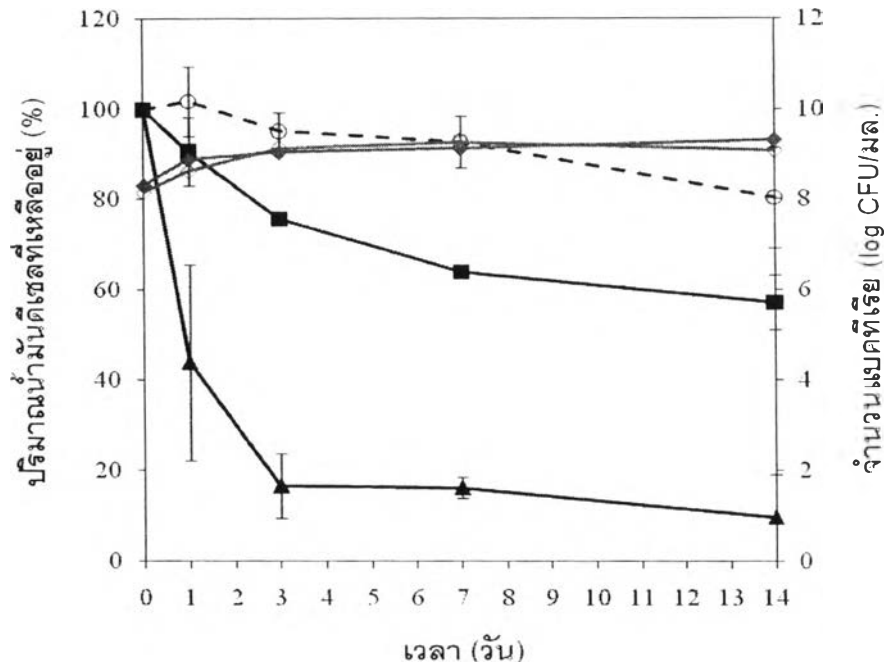
รูปที่ 4.2 การย่อยสลายไฟรีนและพีแนทรีนในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว CFMM (ก) โดยกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่เตรียมสด (ข) โดยกลุ่มแบคทีเรีย PDE4 ที่เตรียมสด

4.2 การย่อยสลายน้ำมันดีเซลในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว CFMM โดยกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 และ PDE4 ที่เตรียมสด

กลุ่มแบคทีเรีย PDE4 ที่ทำการคัดเลือกโดย ภัทราพร กวีสุทธิกุล เนื่องจากกลุ่มแบคทีเรียนี้ได้ถูกคัดเลือกและเก็บรักษาไว้เป็นเวลานาน ในการทดลองนี้จึงตรวจสอบการย่อยสลายน้ำมันดีเซล และเนื่องจาก PAHs เป็นองค์ประกอบหลักชนิดหนึ่งในน้ำมันดีเซล (IARC, 1989) ดังนั้นจึงเป็นไปได้ว่ากลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 น่าจะย่อยสลายน้ำมันดีเซลได้ด้วย ดังนั้นในการทดลองครั้งนี้จะทดสอบความสามารถของกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ในการย่อยสลาย 1% น้ำมันดีเซลในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว CFMM โดยการทดสอบจะใช้กลุ่มแบคทีเรีย PDE4 หรือ RRM-V3 จำนวน 8-9 log CFU/มล. เป็นเวลา 14 วัน เก็บตัวอย่างเพื่อตรวจวัดปริมาณน้ำมันดีเซลที่เหลืออยู่และนับจำนวนแบคทีเรียทั้งหมด

การย่อยสลายน้ำมันดีเซลในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว CFMM โดยกลุ่มแบคทีเรีย PDE4 ที่เตรียมสด ในชุดทดลองที่เติมกลุ่มแบคทีเรีย PDE4 ที่เตรียมสดเหลือปริมาณน้ำมันดีเซลเท่ากับ $9.59 \pm 9.6\%$ เทียบกับชุดควบคุมที่ไม่เติมกลุ่มแบคทีเรีย มีการสลายตัวของน้ำมันดีเซลเหลือเท่ากับ $80.29 \pm 11.1\%$ จำนวนกลุ่มแบคทีเรียที่เพิ่มจำนวนสูงสุดเท่ากับ 9.27 log CFU/มล. ในวันที่ 7 (รูปที่ 4.3)

การย่อยสลายน้ำมันดีเซลในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว CFMM โดยกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่เตรียมสด ในชุดทดลองที่เติมกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่เตรียมสดเหลือปริมาณน้ำมันดีเซลเท่ากับ $57.05 \pm 6.0\%$ เทียบกับชุดควบคุมที่ไม่เติมกลุ่มแบคทีเรีย มีการสลายตัวของน้ำมันดีเซลเหลือเท่ากับ $80.29 \pm 11.1\%$ จำนวนกลุ่มแบคทีเรียเพิ่มจาก 8.30 log CFU/มล. เป็น 9.32 log CFU/มล. (รูปที่ 4.3)



- ○ - ปริมาณน้ำมันดีเซลในชุดควบคุมที่ไม่เติมกลุ่มแบคทีเรีย
- ■ - ปริมาณน้ำมันดีเซลในชุดทดลองที่เติมกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3
- ▲ - ปริมาณน้ำมันดีเซลในชุดทดลองที่เติมกลุ่มแบคทีเรีย PDE4
- ◆ - จำนวนแบคทีเรียในชุดทดลองที่เติมกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3
- — - จำนวนแบคทีเรียในชุดทดลองที่เติมกลุ่มแบคทีเรีย PDE4

รูปที่ 4.3 การย่อยสลายน้ำมันดีเซลในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว CFMM โดยกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 และ PDE4 ที่เตรียมสด

จากผลการย่อยสลายไฟรีน/พีแนนทรินและ น้ำมันดีเซลในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว โดยกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 และ PDE4 ที่เตรียมสด พบว่ากลุ่มแบคทีเรียทั้งสองกลุ่มยังคงมีความสามารถในการย่อยสลายได้ดี ดังนั้นจึงนำกลุ่มแบคทีเรียทั้งสองชนิดมาศึกษาการเก็บด้วยวิธีไลโอไฟล์เซชันเพื่อใช้ในการทดสอบการย่อยสลายไฟรีน/พีแนนทรินและ น้ำมันดีเซลต่อไป

4.3 ไลโอฟีไลเซชันกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 และ PDE4

การทดลองในขั้นนี้เป็นการทดลองเพื่อเก็บรักษากลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 และ PDE4 โดยวิธีไลโอฟีไลเซชัน ซึ่งในกระบวนการไลโอฟีไลเซชันได้เลือกใช้ 12% ซูโครส เป็นสารป้องกันความเย็น (ประภัสสร ปานมีทรัพย์, 2550) โดยใช้จำนวนกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 และ PDE4 ชนิดละ 8-9 log CFU/มล. ละลายใน 12% ซูโครส ผสมให้เข้ากันก่อนนำเข้าไลโอฟีไลเซอร์ ในขั้นแรกของการทำแห้งใช้เวลาประมาณ 3 ชั่วโมง และขั้นที่สองใช้เวลาประมาณ 2 ชั่วโมง นับจำนวนแบคทีเรียก่อนและหลังไลโอฟีไลชัน (ตารางที่ 4.1)

ตารางที่ 4.1 การรอดชีวิตของกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 และ PDE4 ที่ผ่านการไลโอฟีไลเซชันด้วย 12% ซูโครส

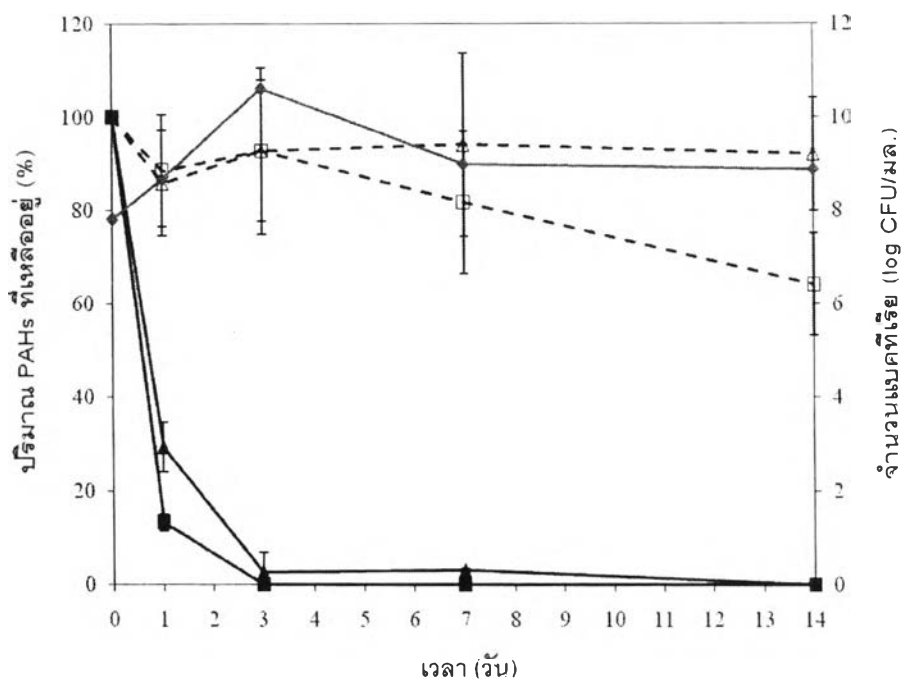
กลุ่มแบคทีเรีย	จำนวนกลุ่มแบคทีเรีย (CFU/มล.)	% จำนวนกลุ่มแบคทีเรียที่รอดชีวิตเทียบกับ จำนวนกลุ่มแบคทีเรียเริ่มต้น
ก่อนไลโอฟีไลเซชันกลุ่ม แบคทีเรีย RRM-V3	$1.57 \pm 0.2 \times 10^9$	100
หลังไลโอฟีไลเซชันกลุ่ม แบคทีเรีย RRM-V3	$1.47 \pm 0.1 \times 10^9$	99.7
ก่อนไลโอฟีไลเซชันกลุ่ม แบคทีเรีย PDE4	$5.3 \pm 1.9 \times 10^8$	100
หลังไลโอฟีไลเซชันกลุ่ม แบคทีเรีย PDE4	$4.2 \pm 1.6 \times 10^8$	98.8

ผลการไลโอฟีไลเซชันกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 และ PDE4 โดยใช้ 12 % ซูโครส เป็นสารป้องกันความเย็น มีการรอดชีวิตของกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 เท่ากับ 99.7% และ PDE4 เท่ากับ 98.8%

4.4 การย่อยสลายไฟรีนและพีแนนทรินในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว CFMM โดยกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่ผ่านการไลโอไฟไลเซชัน

จากผลการย่อยสลายไฟรีนและพีแนนทรินในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว CFMM โดยกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่เตรียมสด สามารถย่อยสลายได้หมดในเวลา 1 วัน (รูปที่ 4.2ก) ดังนั้นในขั้นนี้ จึงต้องการทดสอบผลของการเก็บกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 โดยวิธีไลโอไฟไลเซชันต่อการย่อยสลายไฟรีนและพีแนนทรินในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว CFMM ซึ่งใช้กลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่ผ่านการไลโอไฟไลเซชัน จำนวน 8-9 log CFU/มล. ทดลองในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว CFMM ที่เติมไฟรีนและพีแนนทรินความเข้มข้นชนิดละ 0.05 กรัม/ลิตร เป็นเวลา 14 วัน เก็บตัวอย่างเพื่อตรวจวัดปริมาณไฟรีนและพีแนนทรินที่เหลืออยู่ และนับจำนวนแบคทีเรียทั้งหมด จากชุดทดลองในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว CFMM 5 มิลลิลิตร จะมีปริมาณจุลินทรีย์อยู่ที่ 24 มิลลิกรัม

การสลายตัวของไฟรีนและพีแนนทรินในชุดควบคุมที่ไม่เติมกลุ่มแบคทีเรีย มีการสลายตัวของไฟรีนและพีแนนทรินเหลือ $92.02 \pm 12.1\%$ และ $64.09 \pm 10.9\%$ ตามลำดับ ชุดทดลองที่เติมกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่ผ่านการไลโอไฟไลเซชัน ปริมาณพีแนนทรินและไฟรีนลดลงจนไม่สามารถตรวจพบโดยวิธีแก๊สโครมาโตกราฟีในวันที่ 3 และ 14 ตามลำดับ จำนวนกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ในชุดทดลอง เพิ่มจาก 7.81 log CFU/มล. สูงสุดเท่ากับ 10.62 log CFU/มล. ในวันที่ 3 และลดจำนวนลงเหลือ 8.87 log CFU/มล. (รูปที่ 4.4)



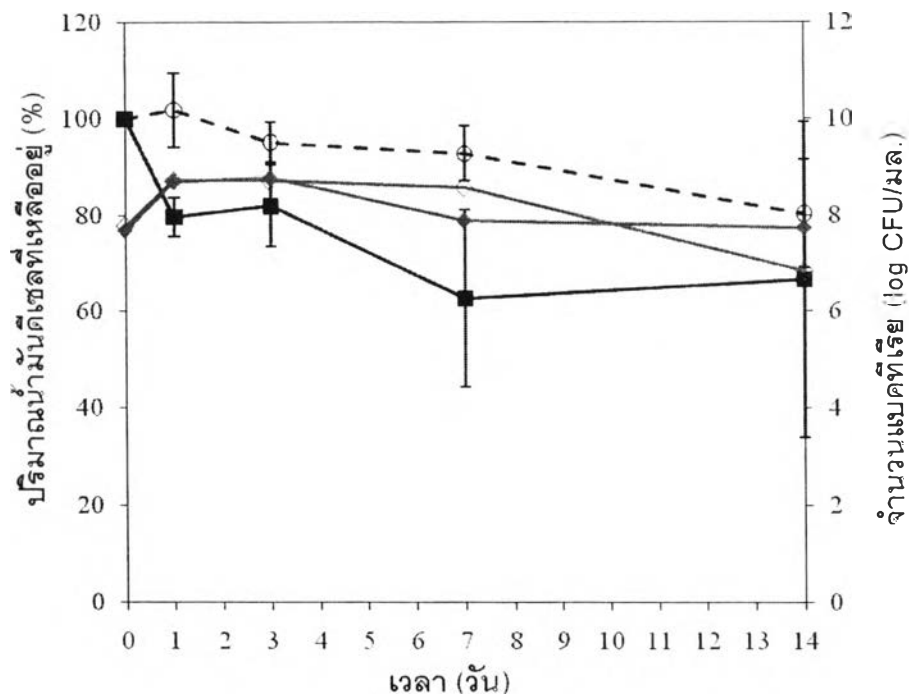
- □ - ปริมาณพีแนทรีนในชุดควบคุมที่ไม่เติมกลุ่มแบคทีเรีย
- △ - ปริมาณไพรีนในชุดควบคุมที่ไม่เติมกลุ่มแบคทีเรีย
- ■ - ปริมาณพีแนทรีนในชุดทดลองที่เติมกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่ผ่านการไลโอฟิลไลเซชัน
- ▲ - ปริมาณไพรีนในชุดทดลองที่เติมกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่ผ่านการไลโอฟิลไลเซชัน
- ● - จำนวนแบคทีเรียในชุดทดลองที่เติมกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่ผ่านการไลโอฟิลไลเซชัน

รูปที่ 4.4 การย่อยสลายไพรีนและพีแนทรีนในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว CFMM โดยกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่ผ่านการไลโอฟิลไลเซชัน

4.5 การย่อยสลายน้ำมันดีเซลในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว CFMM โดยกลุ่มแบคทีเรีย PDE4 ที่ผ่านการไลโอไฟล์เซชัน

จากผลการย่อยสลายน้ำมันดีเซลในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว CFMM โดยกลุ่มแบคทีเรีย PDE4 ที่เตรียมสด สามารถย่อยสลายเหลือปริมาณน้ำมันดีเซลเท่ากับ $9.59 \pm 9.6\%$ (รูปที่ 4.3) ดังนั้นในขั้นนี้ จึงต้องการทดสอบผลของการเก็บกลุ่มแบคทีเรีย PDE4 โดยวิธีไลโอไฟล์เซชันต่อการย่อยสลายน้ำมันดีเซลในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว CFMM ซึ่งใช้กลุ่มแบคทีเรีย PDE4 ที่ผ่านการไลโอไฟล์เซชันจำนวน $8-9 \log \text{ CFU/มล.}$ ทดลองในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว CFMM ที่เติม 1% น้ำมันดีเซล เป็นเวลา 14 วัน เก็บตัวอย่างเพื่อตรวจวัดปริมาณน้ำมันดีเซลที่เหลืออยู่และนับจำนวนแบคทีเรียทั้งหมด จากชุดทดลองในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว CFMM 5 มิลลิลิตร จะมีปริมาณซุโครสอยู่เท่ากับ 24 มิลลิกรัม

ปริมาณน้ำมันดีเซลในชุดควบคุมที่ไม่เติมกลุ่มแบคทีเรีย มีการสลายตัวของน้ำมันดีเซลเหลือ $80.29 \pm 11.1\%$ ปริมาณน้ำมันดีเซลในชุดทดลองที่เติมกลุ่มแบคทีเรีย PDE4 ที่ผ่านการไลโอไฟล์เซชันเหลือเท่ากับ $66.69 \pm 32.6\%$ จำนวนกลุ่มแบคทีเรียเพิ่มจาก $7.68 \log \text{ CFU/มล.}$ สูงสุดเท่ากับ $8.76 \log \text{ CFU/มล.}$ ในวันที่ 3 และลดลงเหลือ $7.73 \log \text{ CFU/มล.}$ (รูปที่ 4.5)



- ○ - ปริมาณน้ำมันดีเซลในชุดควบคุม
- ■ - ปริมาณน้ำมันดีเซลในชุดทดลอง
- ◆ - จำนวนแบคทีเรียในชุดทดลอง
- ▲ - จำนวนแบคทีเรียในชุดควบคุม (CFMM + กลุ่มแบคทีเรียที่ผ่านการไลโอไฟล์เซชัน)

รูปที่ 4.5 การย่อยสลายน้ำมันดีเซลในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว CFMM โดยกลุ่มแบคทีเรีย PDE4 ที่ผ่านการไลโอไฟล์เซชัน

จากผลการย่อยสลายไฟรีน/พีแนทรีนและ น้ำมันดีเซลในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว โดยกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 และ PDE4 ที่ผ่านการไลโอไฟล์เซชัน พบว่ากลุ่มแบคทีเรียทั้งสองกลุ่มยังคงมีความสามารถในการย่อยสลายไฟรีน/พีแนทรีนและ น้ำมันดีเซลได้ ดังนั้นจึงนำกลุ่มแบคทีเรียทั้งสองชนิดมาทดสอบการย่อยสลายไฟรีน/พีแนทรีนและ น้ำมันดีเซลในดินต่อไป

4.6 การย่อยสลายไพรีน/พีแนทรีนและ น้ำมันดีเซลในดิน

จากผลการทดลองย่อยสลายไพรีน/พีแนทรีนและ น้ำมันดีเซลในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว CFMM โดยกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 และ PDE4 ทั้งเตรียมสดและ ผ่านการไลโอไฟล์เซชันนั้น มีการย่อยสลายไพรีน/พีแนทรีนและ น้ำมันดีเซลได้ดี ดังนั้นในขั้นตอนนี้จะเป็นการศึกษาการย่อยสลายไพรีน/พีแนทรีน และน้ำมันดีเซลในดินทดสอบ เพื่อใช้จำลองการย่อยสลายในดินที่ปนเปื้อนในพื้นที่จริง การทดสอบการย่อยสลายในดินทำโดยเติมไพรีน/พีแนทรีนความเข้มข้นชนิดละ 0.05 กรัมต่อลิตรที่ละลายในอะซิโตนและ น้ำมันดีเซลความเข้มข้น 1 % (โดยน้ำหนัก) ลงในดินปริมาณ 2 กรัม ก่อนทำการปรับความชื้นเป็น 70% และเติมกลุ่มแบคทีเรียผสม RRM-V3 และ PDE4 ที่เตรียมสด หรือผ่านการไลโอไฟล์เซชัน ทำการทดลองนาน 14 วัน เก็บตัวอย่างเพื่อตรวจวัดปริมาณไพรีน/พีแนทรีนและ น้ำมันดีเซลที่เหลืออยู่ นับจำนวนแบคทีเรียทั้งหมด

4.6.1 ลักษณะทางกายภาพและองค์ประกอบทางเคมีของดินที่ใช้ในการทดลอง

ตัวอย่างดินเก็บจากภายในสวนผลไม้ในพื้นที่จังหวัดนครราชสีมา เป็นดินร่วนปนทราย มีสีน้ำตาลแดงค่อนข้างเข้ม ทดสอบการปนเปื้อน PAHs และน้ำมันดีเซล ตามวิธีในข้อ 3.4.3 และวิเคราะห์ปริมาณ PAHs และน้ำมันดีเซลโดยแก๊สโครมาโตกราฟี ตามวิธีในข้อ 3.3.6 ผลการวิเคราะห์ลักษณะทางกายภาพและองค์ประกอบทางเคมีส่งตรวจวิเคราะห์ที่กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ดังแสดงในตารางที่ 4.2

ตารางที่ 4.2 ลักษณะทางกายภาพและองค์ประกอบทางเคมีของดินที่นำมาใช้

พารามิเตอร์	ผลการวิเคราะห์
ค่าความเป็นกรด-ด่าง	7.4
ปริมาณสารอินทรีย์ (%)	1.81
ปริมาณฟอสฟอรัส (ppm)	1215
ปริมาณโปแตสเซียม (ppm)	342
ปริมาณสารอินทรีย์คาร์บอน (%)	1.05
ปริมาณไนโตรเจน (%)	0.091
อัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน	12
ค่าความจุของการอุ้มน้ำ (%)	33.86

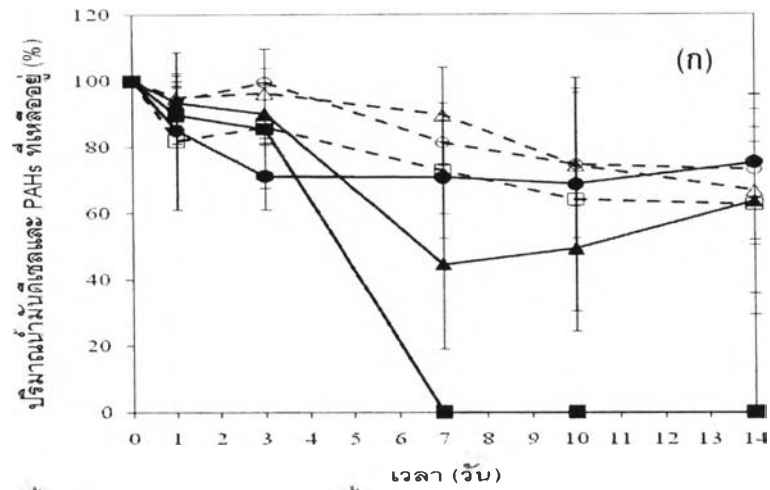
4.6.2 การย่อยสลายไพรีน/พีแนทรีนและ น้ำมันดีเซลในดิน โดยกลุ่มแบคทีเรียผสม RRM-V3/PDE4 ที่เตรียมสด

การย่อยสลายไพรีน/พีแนทรีนและ น้ำมันดีเซลในดิน โดยกลุ่มแบคทีเรียผสม RRM-V3/PDE4 โดยใช้จำนวนเซลล์เริ่มต้นชนิดละ 8-9 log CFU/มล. ทดสอบในตัวอย่างดินไม่ปลอดเชื้อ 2 กรัม ที่เติมไพรีน/พีแนทรีนความเข้มข้นชนิดละ 0.05 กรัมต่อกรัมดิน ที่ละลายในอะซิโตน และน้ำมันดีเซลความเข้มข้น 1% (โดยน้ำหนัก) บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส ติดตามเป็นเวลา 14 วัน เก็บตัวอย่างเพื่อวิเคราะห์ปริมาณไพรีน/พีแนทรีนและ น้ำมันดีเซล นับจำนวนแบคทีเรียทั้งหมด โดยแบ่งชุดการทดลองเป็นดังนี้

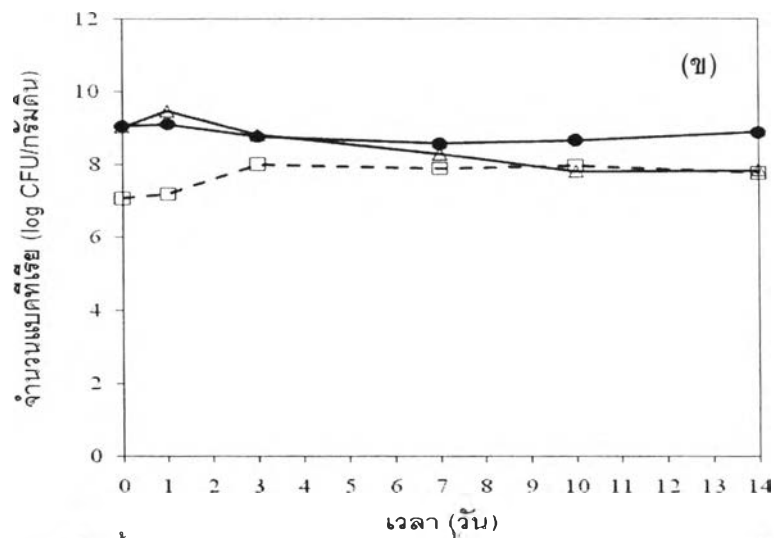
- ชุดควบคุมที่ 1 ดินผสมกับไพรีน/พีแนทรีนและ น้ำมันดีเซลเพื่อศึกษาการลดลงจากปัจจัยทางกายภาพ
- ชุดควบคุมที่ 2 ดินผสมกับกลุ่มแบคทีเรียผสมที่เตรียมสดเพื่อศึกษาความสามารถในการเจริญของกลุ่มแบคทีเรียในดิน
- ชุดทดลอง ดินผสมกับไพรีน/พีแนทรีนและ น้ำมันดีเซล และกลุ่มแบคทีเรียผสมที่เตรียมสด

การทดลองย่อยสลายไพรีน/พีแนทรีนและ น้ำมันดีเซลในดินโดยกลุ่มแบคทีเรียผสม RRM-V3/PDE4 ที่เตรียมสด พบว่าในชุดควบคุมที่ไม่เติมกลุ่มแบคทีเรีย มีการสลายตัวของน้ำมันดีเซลเหลือ $73.16 \pm 22.6\%$ ปริมาณพีแนทรีนเหลือ $62.5 \pm 33.0\%$ และปริมาณไพรีนเหลือ $66.7 \pm 14.6\%$ ในชุดทดลองที่เติมกลุ่มแบคทีเรียผสมที่เตรียมสด ปริมาณน้ำมันดีเซลเหลือ $75.27 \pm 10.5\%$ ปริมาณพีแนทรีนหมดในวันที่ 7 และปริมาณไพรีนเหลือ $44.54 \pm 25.6\%$ ในวันที่ 7 (รูปที่ 4.6ก)

จำนวนแบคทีเรียทั้งหมดในชุดควบคุมที่ไม่เติมกลุ่มแบคทีเรียผสมมีการเพิ่มจำนวนจาก 7.08 log CFU/มล. สูงสุดเท่ากับ 8.0 log CFU/มล. ในวันที่ 3 และลดลงเหลือ 7.77 log CFU/มล. จำนวนกลุ่มแบคทีเรียในชุดควบคุมที่เติมกลุ่มแบคทีเรียผสมแต่ไม่เติมไพรีน/พีแนทรีนและ น้ำมันดีเซลลดลงจาก 9.02 log CFU/มล. เหลือ 7.84 log CFU/มล. ในวันที่ 14 จำนวนแบคทีเรียทั้งหมดในชุดทดลองที่เติมกลุ่มแบคทีเรียผสมที่เตรียมสด เริ่มต้นมีทั้งหมด 9.04 log CFU/มล. และลดลงเหลือ 8.88 log CFU/มล. ในวันที่ 14 (รูปที่ 4.6ข)



- ○ - ปริมาณน้ำมันดีเซลในชุดควบคุม (ดิน + น้ำมันดีเซล/PAHs)
- □ - ปริมาณพีแนทรีนในชุดควบคุม (ดิน + น้ำมันดีเซล/PAHs)
- △ - ปริมาณไพรีนในชุดควบคุม (ดิน + น้ำมันดีเซล/PAHs)
- ● - ปริมาณน้ำมันดีเซลในชุดทดลอง (ดิน + น้ำมันดีเซล/PAHs + กลุ่มแบคทีเรียผสม)
- ■ - ปริมาณพีแนทรีนในชุดทดลอง (ดิน + น้ำมันดีเซล/PAHs + กลุ่มแบคทีเรียผสม)
- ▲ - ปริมาณไพรีนในชุดทดลอง (ดิน + น้ำมันดีเซล/PAHs + กลุ่มแบคทีเรียผสม)



- ● - จำนวนแบคทีเรียทั้งหมดในดินในชุดทดลอง (ดิน + น้ำมันดีเซล/PAHs + กลุ่มแบคทีเรียผสม)
- ▲ - จำนวนแบคทีเรียทั้งหมดในดินในชุดควบคุม (ดิน + กลุ่มแบคทีเรียผสม)
- □ - จำนวนแบคทีเรียทั้งหมดในดินในชุดควบคุม (ดิน + น้ำมันดีเซล/PAHs)

รูปที่ 4.6 การย่อยสลายไพรีน/พีแนทรีนและ น้ำมันดีเซลในดินโดยกลุ่มแบคทีเรียผสม RRM-V3/PDE4 ที่เตรียมสด (ก) การย่อยสลายน้ำมันดีเซลหรือไพรีน/พีแนทรีน (ข) จำนวนแบคทีเรียทั้งหมด

เมื่อพิจารณาแนวโน้มของการย่อยสลายทั้งไพริน/พีแนทรีนและน้ำมันดีเซลโดยกลุ่มแบคทีเรียผสม RRM-V3/PDE4 ที่เตรียมสด พบว่ากลุ่มแบคทีเรียผสมยังคงสามารถย่อยสลายไพริน/พีแนทรีนและน้ำมันดีเซลที่อยู่ในดินไม่ปลอดเชื้อได้เมื่อเทียบกับชุดควบคุม ดังนั้นจึงทำการทดสอบการเก็บกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 และ PDE4 โดยวิธีไลโอไฟล์เชชัน และทดสอบการย่อยสลายไพริน/พีแนทรีนและน้ำมันดีเซลในดินต่อไป

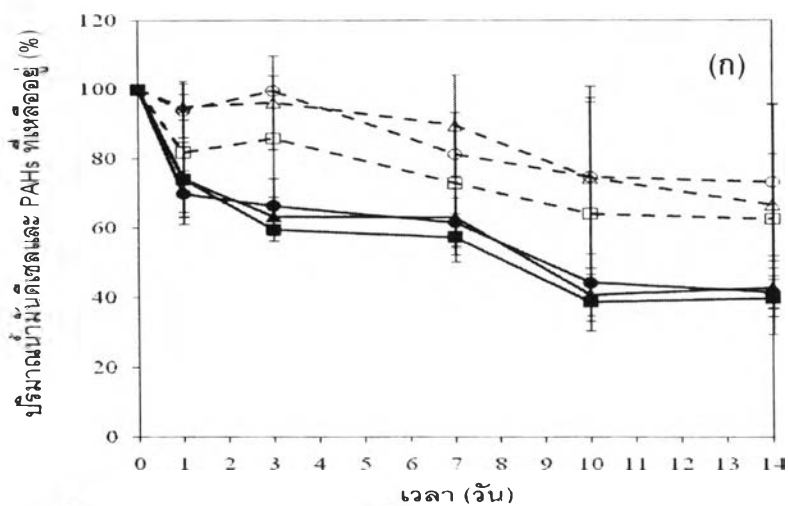
4.6.3 การย่อยสลายไพริน/พีแนทรีนและน้ำมันดีเซลในดิน โดยกลุ่มแบคทีเรียผสม RRM-V3/PDE4 ที่ผ่านการไลโอไฟล์เชชัน

การย่อยสลายไพริน/พีแนทรีนและน้ำมันดีเซลในดิน โดยกลุ่มแบคทีเรียผสม RRM-V3/PDE4 ที่ผ่านการไลโอไฟล์เชชัน โดยใช้จำนวนเซลล์เริ่มต้นชนิดละ 8-9 log CFU/มล. ทดสอบในตัวอย่างดินไม่ปลอดเชื้อ 2 กรัมที่เติมไพริน/พีแนทรีนความเข้มข้นชนิดละ 0.05 กรัมต่อกรัมดินที่ละลายในอะซิโตน และน้ำมันดีเซลความเข้มข้น 1% (โดยน้ำหนัก) บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส ติดตามเป็นเวลา 14 วัน เก็บตัวอย่างเพื่อวิเคราะห์ปริมาณไพริน/พีแนทรีนและน้ำมันดีเซล นับจำนวนแบคทีเรียทั้งหมด ชุดทดลองในดิน 2 กรัม จะมีปริมาณจุลินทรีย์อยู่เท่ากับ 48 มิลลิกรัม โดยแบ่งชุดการทดลองเป็นดังนี้

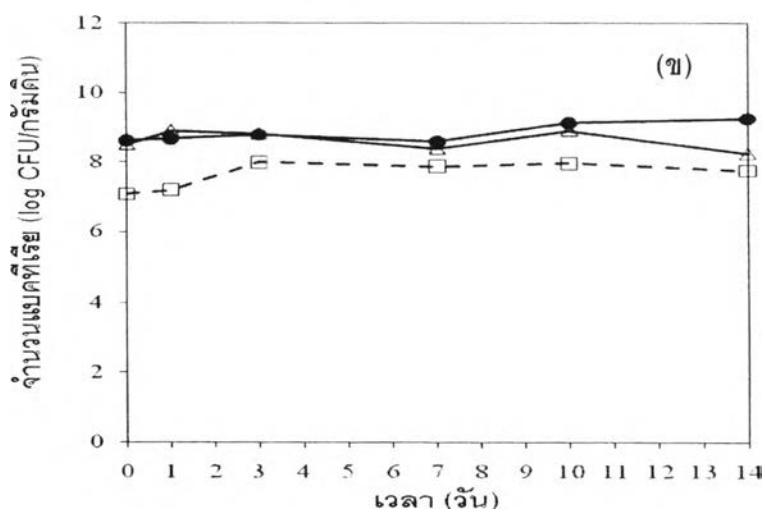
- ชุดควบคุมที่ 1 ดินผสมกับไพริน/พีแนทรีนและน้ำมันดีเซลเพื่อศึกษาการลดลงจากปัจจัยทางกายภาพ
- ชุดควบคุมที่ 2 ดินผสมกับกลุ่มแบคทีเรียผสมที่ผ่านการไลโอไฟล์เชชันเพื่อศึกษาความสามารถในการเจริญของกลุ่มแบคทีเรียในดิน
- ชุดทดลอง ดินผสมกับไพริน/พีแนทรีนและน้ำมันดีเซล และกลุ่มแบคทีเรียผสมที่ผ่านการไลโอไฟล์เชชัน

การทดลองย่อยสลายไพริน/พีแนทรีนและน้ำมันดีเซลในดินโดยกลุ่มแบคทีเรียผสม RRM-V3/PDE4 ที่ผ่านการไลโอไฟล์เชชัน พบว่าในชุดควบคุมที่ไม่เติมกลุ่มแบคทีเรีย มีการสลายตัวของน้ำมันดีเซลเหลือ $73.16 \pm 22.6\%$ ปริมาณพีแนทรีนเหลือ $62.5 \pm 33.0\%$ และปริมาณไพรินเหลือ $66.7 \pm 14.6\%$ ในชุดทดลองที่เติมกลุ่มแบคทีเรียผสมที่ผ่านการไลโอไฟล์เชชัน ปริมาณน้ำมันดีเซลเหลือ $41.51 \pm 4.8\%$ ปริมาณพีแนทรีนเหลือ $39.85 \pm 5.4\%$ และปริมาณไพรินเหลือ $42.77 \pm 5.8\%$ (รูปที่ 4.7 ก)

จำนวนแบคทีเรียทั้งหมดในชุดควบคุมที่ไม่เติมกลุ่มแบคทีเรียผสมมีการเพิ่มจำนวนจาก 7.08 log CFU/มล. สูงสุดเท่ากับ 8.0 log CFU/มล. ในวันที่ 3 และลดลงเหลือ 7.77 log CFU/มล. จำนวนแบคทีเรียทั้งหมดในชุดควบคุมที่เติมกลุ่มแบคทีเรียผสมที่ผ่านการไลโอไฟไลเซชัน แต่ไม่เติมไพริน/พีแนทรีนและ น้ำมันดีเซล เพิ่มจำนวนจาก 8.51 log CFU/มล. สูงสุด 8.92 log CFU/มล. ในวันที่ 10 และลดลงเหลือ 8.25 log CFU/มล. จำนวนแบคทีเรียทั้งหมดในชุดทดลองที่เติมกลุ่มแบคทีเรียผสมที่ผ่านการไลโอไฟไลเซชัน เพิ่มจำนวนจาก 8.63 log CFU/มล. เป็น 9.27 log CFU/มล. ในวันที่ 14 (รูปที่ 4.7ข)



- ○ - ปริมาณน้ำมันดีเซลในชุดควบคุม (ดิน + น้ำมันดีเซล/PAHs)
- □ - ปริมาณพีแนทรีนในชุดควบคุม (ดิน + น้ำมันดีเซล/PAHs)
- △ - ปริมาณไพรีนในชุดควบคุม (ดิน + น้ำมันดีเซล/PAHs)
- ปริมาณน้ำมันดีเซลในชุดทดลอง (ดิน + น้ำมันดีเซล/PAHs + กลุ่มแบคทีเรียผสม)
- ปริมาณพีแนทรีนในชุดทดลอง (ดิน + น้ำมันดีเซล/PAHs + กลุ่มแบคทีเรียผสม)
- ▲ ปริมาณไพรีนในชุดทดลอง (ดิน + น้ำมันดีเซล/PAHs + กลุ่มแบคทีเรียผสม)



- จำนวนแบคทีเรียทั้งหมดในดินในชุดทดลอง (ดิน + น้ำมันดีเซล/PAHs + กลุ่มแบคทีเรียผสม)
- ▲ จำนวนแบคทีเรียทั้งหมดในดินในชุดควบคุม (ดิน + กลุ่มแบคทีเรียผสม)
- จำนวนแบคทีเรียทั้งหมดในดินในชุดควบคุม (ดิน + น้ำมันดีเซล/PAHs)

รูปที่ 4.7 การย่อยสลายไพรีน/พีแนทรีนและ น้ำมันดีเซลในดิน โดยกลุ่มแบคทีเรียผสม RRM-V3/PDE4 ที่ผ่านการไลโอไฟไลเซชัน (ก) การย่อยสลายน้ำมันดีเซลหรือไพรีน/พีแนทรีน (ข) จำนวนแบคทีเรียทั้งหมด