บทที่ 4
ผลการวิจัย

1. แยกแบคทีเรียที่ตรึงไนโตรเจนและละลายฟอสเฟตจากแหล่งต่างๆ ตามธรรมชาติ

ในการทดลองนี้ได้ทำการเก็บตัวอย่างดิน ปุ๋ยอินทรีย์ สลัดจ์น้ำเสีย ตัวปลวก และดินรังปลวก จากพื้นที่ต่างๆ ในประเทศไทยจำนวนทั้งหมด 166 ตัวอย่าง มาแยกแบคทีเรียที่สามารถตรึงไนโตรเจนและละลายฟอสเฟตได้ โดยแยกเชื้อบนอาหารปราศจากไนโตรเจนที่เติมแคลเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟตตามสูตร 1 ในภาคผนวก ก พบว่ามีแบคทีเรียที่สามารถเจริญและเกิดวงใสรอบโคโลนีทั้งหมด 18 สายพันธุ์ ดังแสดงในตารางที่ 4

ตารางที่ 4 แบคทีเรียที่สามารถตรึงไนโตรเจนและละลายฟอสเฟตที่แยกได้จากแหล่งต่างๆ

แบคทีเรียสายพันธุ์	แหล่งเก็บตัวอย่าง
N1	เชื้อ Hi-tech : ปุ๋ยหมักสมบูรณ์ สวนจิตรลดา
N2	พด.1 : ปุ๋ยหมักจากเครื่องหมักญี่ปุ่น สวนจิตรลดา
N3	เชื้อญี่ปุ่นจากเครื่องหมักญี่ปุ่น สวนจิตรลดา
N4	ปุ๋ยหมักกอง 8 เกือบสมบูรณ์ (แกลบ+ฟาง) สวนจิตรลดา
N10	ปุ๋ยหมักอินทรีย์ บริษัทเอเชียปุ๋ย
N11	มูลค้างคาวแท้ 100%
N12	ปุ๋ยอินทรีย์ นูโก้
M2	ตัวเร่งปุ๋ยหมักไบโอนิค
S8	ดิน จาก อ.สายบุรี จ.ปัตตานี (สวนมะพร้าว)
S11	ดิน จาก อ.สายบุรี จ.ปัตตานี (ใต้ต้นสน บริเวณหาดวาสุกรี)
S32	ดิน จาก อ.เมือง จ.ประจวบคีรีขันธ์
S54	ดิน ที่ผ่านการปรับปรุงโดยปูนมาร์ล สถานีพัฒนาที่ดิน จ.ปทุมธานี
T18	ปลวกดิน จาก อ.สายบุรี จ.ปัตตานี
T27	ปลวกดิน จากอุทยานแห่งชาติ เขาใหญ่ (บริเวณที่ 1)
ST20	ดินรังปลวก จาก อ.สายบุรี จ.ปัตตานี
ST26	ดินรังปลวก จากอุทยานแห่งชาติ เขาใหญ่ (บริเวณที่ 1)
ST27	ดินรังปลวก จากอุทยานแห่งชาติ เขาใหญ่ (บริเวณที่ 3)
ST30	ดินรังปลวก จากอุทยานแห่งชาติ เขาใหญ่ (บริเวณที่ 6)

2. คัดเลือกแบคทีเรียสายพันธุ์ที่มีประสิทธิภาพในการตรึงไนโตรเจนและละลายฟอสเฟตได้สูง

2.1 ทดสอบประสิทธิภาพในการตรึงไนโตรเจนของแบคทีเรียที่แยกได้

ทดสอบประสิทธิภาพในการตรึงไนโตรเจนของของแบคทีเรียที่แยกได้ทั้ง 18 สายพันธุ์ โดยวัดอัตราการตรึงไนโตรเจนด้วยวิธีอะเซธิลีน รีดักชันตามขั้นตอนในข้อ 2.1 พบว่าแบคทีเรียทั้ง 18 สายพันธุ์ มีการตรึงไนโตรเจนโดยการวัดปริมาณเอธิลีนที่สร้างขึ้นต่อน้ำหนักเซลล์แห้งอยู่ในช่วง 15.74 – 113.51 nmole/mg cell dry wt./hr. และแบคทีเรียสายพันธุ์ M2 มีประสิทธิภาพในการตรึงไนโตรเจนได้สูงสุด คือ สามารถสร้างเอธิลีนได้ 113.51 nmole/mg cell dry wt./hr. และเมื่อวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติ พบว่าแบคทีเรียสายพันธุ์ M2 มีปริมาณเอธิลีนที่สร้างสูงกว่าแบคทีเรียสายพันธุ์อื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ยกเว้นแบคทีเรียสายพันธุ์ ST30 ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับแบคทีเรียสายพันธุ์ M2 ดังแสดงในตารางที่ 5 และรูปภาคผนวกที่ 1

2.2 ทดสอบประสิทธิภาพในการละลายฟอสเฟตของแบคทีเรียที่แยกได้

ทดสอบประสิทธิภาพในการละลายฟอสเฟตของแบคทีเรียที่แยกได้ทั้ง 18 สายพันธุ์ โดยวิเคราะห์หาปริมาณฟอสเฟตที่อยู่ในรูปสารละลายจากน้ำเลี้ยงเชื้อในวันที่ 2, 6, 10 และ 14 ด้วยวิธีคัลเลอริเมตริก ดีเทอร์มิเนชัน ตามขั้นตอนในข้อ 2.2 พบว่าแบคทีเรียมีอัตราการละลายฟอสเฟตเพิ่มขึ้นตั้งแต่วันที่ 2 ถึงวันที่ 14 ทั้ง 18 สายพันธุ์ โดยในวันที่ 14 ของการเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียทั้ง 18 สายพันธุ์มีการละลายฟอสเฟตให้อยู่ในรูปสารละลายได้สูงสุด อยู่ในช่วง 1.07–7.57 µg/ml. และแบคทีเรียสายพันธุ์ N1 มีประสิทธิภาพในการละลายฟอสเฟตได้สูงสุด คือ มีฟอสเฟตอยู่ในรูปสารละลายในวันที่ 14 ได้ 7.57 µg/ml. และเมื่อวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติ พบว่าในวันที่ 14 ของการเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์ N1 มีปริมาณฟอสเฟตอยู่ในรูปสารละลายมากกว่าแบคทีเรียสายพันธุ์อื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ยกเว้นแบคทีเรียสายพันธุ์ N2 N10 N11 และ N12 ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับแบคทีเรียสายพันธุ์ N1 ดังแสดงในตารางที่ 6 และรูปภาคผนวกที่ 2

2.3 คัดเลือกแบคทีเรียสายพันธุ์ที่มีความสามารถทั้งในการตรึงไนโตรเจนและละลายฟอสเฟตได้สูง

จากผลการทดสอบประสิทธิภาพในการตรึงไนโตรเจนและละลายฟอสเฟตของแบคทีเรียที่แยกได้ทั้ง 18 สายพันธุ์ ในข้อ 2.1 และ 2.2 พบว่าแบคทีเรียสายพันธุ์ M2 มีประสิทธิภาพในการตรึงไนโตรเจนได้สูงสุด โดยสร้างเอธิลีนได้ 113.51 nmole/mg cell dry wt./hr. และมีปริมาณฟอสเฟตในรูปสารละลายในระดับปานกลางคือ 5.72 µg/ml และแบคทีเรียสายพันธุ์ N1 มีประสิทธิภาพในการละลายฟอสเฟตได้สูงสุด โดยมีปริมาณฟอสเฟตในรูปสารละลายในวันที่ 14 ของการเลี้ยงเชื้อ 7.57 µg/ml และสามารถสร้างเอธิลีนได้ในระดับปานกลาง คือ 45.95 nmole/mg cell dry wt./hr จึงคัดเลือกแบคทีเรียทั้ง 2 สายพันธุ์นี้ นอกจากนี้ยังคัดเลือกแบคทีเรียสายพันธุ์ที่มีประสิทธิภาพทั้งในการตรึงไนโตรเจนและละลายฟอสเฟตอยู่ในกลุ่มปานกลางอีกหนึ่งสายพันธุ์ คือ

แบคทีเรียสายพันธุ์ S54 ซึ่งสามารถตรึงไนโตรเจนโดยสร้างเอธิลีนได้ 50.05 nmole/mg cell dry wt./hr. และสามารถละลายฟอสเฟตได้ 5.90 μg/ml

ตารางที่ 5 ผลการวิเคราะห์ประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนจากปริมาณเอธิลีนที่สร้างขึ้นโดยวิธีอะเซธิลีน รีดักชันของแบคทีเรียที่แยกได้ทั้ง 18 สายพันธุ์

แบคทีเรียสายพันธุ์	ปริมาณเอธิลีนที่สร้าง (nmole/mg cell dry wt./hr.)
N1	45.95 cdefg
N2	23.73 fg
N3	15.74 g
N4	21.84 fg
N10	29.37 fg
N11	29.84 fg
N12	29.97 fg
M2	113.51 a
S8	75.47 bc
S11	33.28 efg
S32	47.16 cdef
S54	50.05 cdef
T18	63.17 bcde
T27	67.24 bcd
ST20	42.27 defg
ST26	21.29 fg
ST27	33.63 fg
ST30	89.48 ab
เฉลี่ย	46.28

หมายเหตุ เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยตามอักษรในแนวตั้ง
ตัวเลขที่มีอักษรกำกับด้านขวาที่ต่างกันแสดงว่าค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกัน ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 6 ผลการวิเคราะห์ประสิทธิภาพในการละลายฟอสเฟตจากปริมาณฟอสเฟตในรูปสารละลายของแบคทีเรีย 18 สายพันธุ์ เมื่อเลี้ยงเชื้อในอาหารเหลวปราศจากไนโตรเจนที่ใส่ไตรแคลเซียมฟอสเฟตเป็นแหล่งฟอสฟอรัส ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 14 วัน

แบคทีเรียสายพันธุ์	ปริมาณฟอสเฟตในรูปสารละลาย (µg/ml)			
	วันที่ 2	วันที่ 6	วันที่ 10	วันที่ 14
N1	0.43 bc	3.31 ab	6.08 a	7.57 a
N2	0.40 cde	3.22 ab	5.00 bc	7.51 a
N3	0.37 cdef	2.65 bcde	4.91 c	6.59 bc
N4	0.28 fg	2.23 def	4.52 cd	6.41 bcd
N10	0.52 ab	3.76 a	6.53 a	7.42 a
N11	0.42 bcde	3.37 ab	6.02 ab	7.42 a
N12	0.46 bc	2.86 bcd	5.96 ab	7.00 ab
M2	0.16 h	2.41 cdef	3.94 cd	5.72 defg
S8	0.36 cdefg	2.47 cdef	3.94 cd	5.63 defg
S11	0.43 bcd	2.95 bcd	4.76 c	6.08 cde
S32	0.25 gh	2.11 ef	3.61 d	5.27 fg
S54	0.36 cdefg	2.74 bcde	4.15 cd	5.90 cdef
T18	0.63 a	3.10 abc	4.67 cd	5.18 fg
T27	0.60 a	3.07 abc	4.61 cd	4.98 g
ST20	0.31 defg	1.81 fg	2.56 e	3.16 h
ST26	0.27 fg	1.20 gh	1.57 f	1.82 I
ST27	0.31 defg	2.47 cdef	4.06 cd	5.42 efg
ST30	0.30 efg	0.81 h	0.96 f	1.07 j
เฉลี่ย	0.38	2.59	4.33	5.56

หมายเหตุ เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยตามอักษรในแนวตั้ง

ตัวเลขที่มีอักษรกำกับด้านขวาที่ต่างกัน แสดงว่าค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกัน ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 7 เรียงลำดับจากมากไปน้อยของประสิทธิภาพในการตรึงไนโตรเจนจากปริมาณเอธิลีนที่สร้างขึ้น และประสิทธิภาพการละลายฟอสเฟตจากปริมาณฟอสเฟตในรูปสารละลายในวันที่ 14 ของแบคทีเรีย 18 สายพันธุ์

ลำดับที่	แบคทีเรียสายพันธุ์	
	ปริมาณเอธิลีนที่สร้าง (nmole/mg cell dry wt./hr.)	ปริมาณฟอสเฟตในรูปสารละลาย (µg/ml)
1	M2 a	N1 a
2	ST30 ab	N2 a
3	S8 bc	N11 a
4	T27 bcd	N10 a
5	T18 bcde	N12 ab
6	S54 cdef	N3 bc
7	S32 cdef	N4 bcd
8	N1 cdefg	S11 cde
9	ST20 defg	S54 cdef
10	ST27 fg	M2 defg
11	S11 efg	S8 defg
12	N12 fg	ST27 efg
13	N11 fg	S32 fg
14	N10 fg	T18 fg
15	N2 fg	T27 g
16	N4 fg	ST20 h
17	ST26 fg	ST26 I
18	N3 g	ST30 j

หมายเหตุ เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยตามอักษรในแนวตั้ง
ตัวเลขที่มีอักษรกำกับด้านขวาที่ต่างกัน แสดงว่าค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกัน ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

3. แปรผันปัจจัยที่มีผลต่อประสิทธิภาพในการตรึงไนโตรเจนและละลายฟอสเฟตของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่คัดเลือกได้

จากการคัดเลือกแบคทีเรียที่มีความสามารถในการตรึงไนโตรเจนและละลายฟอสเฟตได้สูงจำนวน 3 สายพันธุ์ คือสายพันธุ์ N1 M2 และ S54 มาหาแหล่งคาร์บอน แหล่งไนโตรเจน อุณหภูมิ และค่าความเป็นกรด-ด่างที่เหมาะสมต่อการตรึงไนโตรเจนและละลายฟอสเฟตของแบคทีเรียทั้ง 3 สายพันธุ์ มีผลการทดลองดังนี้

3.1 แปรผันปัจจัยที่มีผลต่อประสิทธิภาพในการตรึงไนโตรเจนของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่คัดเลือกได้

3.1.1 ผลการแปรผันแหล่งคาร์บอน

เมื่อเลี้ยงแบคทีเรียสายพันธุ์ N1 M2 และ S54 ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากไนโตรเจนที่แปรผันแหล่งคาร์บอนเป็น 3 ชนิด ได้แก่ กลูโคส ซูโครส และแมนนิทอล ที่ความเป็นกรด-ด่าง 7.0 ± 0.2 บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 48 ชั่วโมง นำไปวิเคราะห์ประสิทธิภาพในการตรึงไนโตรเจนจากปริมาณเอธิลีนที่สร้างขึ้น ด้วยเทคนิคอะเซธิลีน รีดักชัน ได้ผลการทดลองดังนี้

แบคทีเรียสายพันธุ์ N1 มีประสิทธิภาพในการตรึงไนโตรเจนได้สูงสุดเมื่อใช้กลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน รองลงมาคือ ซูโครส และแมนมิทอล ตามลำดับ (รูปภาคผนวกที่ 3) โดยมีปริมาณเอธิลีนที่สร้างขึ้นเมื่อแปรผันแหล่งคาร์บอนเป็นกลูโคส ซูโครส และแมนนิทอล มีค่า 60.08 41.04 และ 37.41 nmole/mg cell dry wt./hr.ตามลำดับ และเมื่อวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติพบว่าปริมาณเอธิลีนที่สร้างขึ้นเมื่อใช้กลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน สูงกว่าใช้ซูโครสและแมนนิทอลเป็นแหล่งคาร์บอนอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 8)

แบคทีเรียสายพันธุ์ M2 มีประสิทธิภาพในการตรึงไนโตรเจนได้สูงสุดเมื่อใช้กลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน รองลงมาคือ ซูโครส และแมนมิทอล ตามลำดับ (รูปภาคผนวกที่ 3) โดยมีปริมาณเอธิลีนที่สร้างขึ้นเมื่อแปรผันแหล่งคาร์บอนเป็นกลูโคส ซูโครส และแมนนิทอล มีค่า 17.96 14.03 และ 2.31 nmole/mg cell dry wt./hr. ตามลำดับ และเมื่อวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติพบว่าปริมาณเอธิลีนที่สร้างขึ้นเมื่อใช้กลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอนสูงกว่าเมื่อใช้แมนนิทอลเป็นแหล่งคาร์บอนอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับใช้ซูโครสเป็นแหล่งคาร์บอน (ตารางที่ 8)

แบคทีเรียสายพันธุ์ S54 มีประสิทธิภาพในการตรึงไนโตรเจนได้สูงสุดเมื่อใช้กลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน รองลงมาคือ ซูโครส และแมนมิทอล ตามลำดับ (รูปภาคผนวกที่ 3) โดยมีปริมาณเอธิลีนที่สร้างขึ้นเมื่อแปรผันแหล่งคาร์บอนเป็นกลูโคส ซูโครส และแมนนิทอล มีค่า 31.45 17.52 และ 7.57 nmole/mg cell dry wt./hr. ตามลำดับ และเมื่อวิเคราะห์ความแตกต่างทาง

สถิติพบว่าปริมาณเอธิลีนที่สร้างขึ้นเมื่อใช้กลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอนสูงกว่าเมื่อใช้แมนนิทอลเป็นแหล่งคาร์บอนอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับใช้ซูโครสเป็นแหล่งคาร์บอน (ตารางที่ 8)

ตารางที่ 8 ผลการวิเคราะห์ประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนจากปริมาณเอธิลีนที่สร้างขึ้น เมื่อเลี้ยงเชื้อในอาหารเหลวปราศจากไนโตรเจนที่แปรผันแหล่งคาร์บอนเป็นกลูโคส ซูโครส และแมนนิทอล ความเป็นกรดด่าง7.0 ± 0.2บ่มที่อุณหภูมิห้อง48 ชั่วโมงของแบคทีเรียสายพันธุ์ N1 M2 และS54

แบคทีเรียสายพันธุ์	ปริมาณเอธิลีนที่สร้างขึ้นในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีแหล่งคาร์บอนต่างกัน (nmole/mg cell dry wt./hr.)		
	กลูโคส	ซูโครส	แมนนิทอล
N1	60.08 a	41.04 b	37.41 b
M2	17.96 a	14.03 a	2.31 b
S54	31.45 a	17.52 ab	3.97 b

หมายเหตุ เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยตามอักษรในแนวนอน
ตัวเลขที่มีอักษรกำกับด้านขวาที่ต่างกัน แสดงว่าค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกัน ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

3.1.2 ผลการแปรผันแหล่งไนโตรเจน

เมื่อเลี้ยงแบคทีเรียสายพันธุ์ N1 M2 และ S54 ในอาหารเหลวที่มีกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอนและแปรผันแหล่งไนโตรเจนเป็น 4 ชนิดได้แก่ แอมโมเนียมคลอไรด์ โซเดียมไนเตรท เปปโตน และไม่ได้เติมแหล่งไนโตรเจน ที่ความเป็นกรด-ด่าง 7.0 ± 0.2 บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 48 ชั่วโมง นำไปวิเคราะห์ประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนจากปริมาณเอธิลีนที่สร้างขึ้น ด้วยเทคนิคอะเซธิลีน รีดักชัน ได้ผลการทดลองดังนี้

แบคทีเรียสายพันธุ์ N1 มีประสิทธิภาพในการตรึงไนโตรเจนได้สูงสุด เมื่อไม่ได้เติมแหล่งไนโตรเจน รองลงมาคือ เมื่อใช้แหล่งไนโตรเจนเป็นโซเดียมไนเตรท แอมโมเนียมคลอไรด์ และเปปโตนตามลำดับ (รูปภาคผนวกที่ 4) โดยมีปริมาณเอธิลีนที่สร้างขึ้นเมื่อแปรผันแหล่งไนโตรเจนเป็นแอมโมเนียมคลอไรด์ โซเดียมไนเตรท เปปโตน และไม่ได้เติมแหล่งไนโตรเจน มีค่าเป็น 3.80 8.49 3.37 และ 60.08 nmole/mg cell dry wt./hr. ตามลำดับ และเมื่อวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติพบว่าปริมาณเอธิลีนที่สร้างขึ้นเมื่อไม่ได้เติมแหล่งไนโตรเจนสูงกว่าเมื่อใส่แหล่งไนโตรเจนทั้งสามชนิดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 9)

แบคทีเรียสายพันธุ์ M2 มีประสิทธิภาพในการตรึงไนโตรเจนได้สูงสุด เมื่อไม่ได้เติมแหล่งไนโตรเจน รองลงมาคือ เมื่อใช้แหล่งไนโตรเจนเป็นโซเดียมไนเตรท เปปโตน และ

แอมโมเนียมคลอไรด์ตามลำดับ (รูปภาคผนวกที่ 4) โดยมีปริมาณเอธิลีนที่สร้างขึ้นเมื่อแปรผันแหล่งไนโตรเจนเป็นแอมโมเนียมคลอไรด์ โซเดียมไนเตรท เปปโตน และไม่ได้เติมแหล่งไนโตรเจน มีค่าเป็น 0.11 4.73 0.50 และ 17.96 nmole/mg cell dry wt./hr. ตามลำดับ และเมื่อวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติพบว่าปริมาณเอธิลีนที่สร้างขึ้นเมื่อไม่ได้เติมแหล่งไนโตรเจนสูงกว่าเมื่อใส่แหล่งไนโตรเจนทั้งสามชนิดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 9)

แบคทีเรียสายพันธุ์ S54 มีประสิทธิภาพในการตรึงไนโตรเจนได้สูงสุด เมื่อไม่ได้เติมแหล่งไนโตรเจน รองลงมา คือ เมื่อใช้แหล่งไนโตรเจนเป็นโซเดียมไนเตรท แอมโมเนียมคลอไรด์ และเปปโตน ตามลำดับ (รูปภาคผนวกที่ 4) โดยมีปริมาณเอธิลีนที่สร้างขึ้นเมื่อแปรผันแหล่งไนโตรเจนเป็นแอมโมเนียมคลอไรด์ โซเดียมไนเตรท เปปโตน และไม่ได้เติมแหล่งไนโตรเจน มีค่าเป็น 3.82 8.01 3.05 และ 31.45 nmole/mg cell dry wt./hr. ตามลำดับ และเมื่อวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติพบว่าปริมาณเอธิลีนที่สร้างขึ้นเมื่อไม่ได้เติมแหล่งไนโตรเจนสูงกว่าเมื่อใส่แหล่งไนโตรเจนทั้งสามชนิดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 9)

ตารางที่ 9 ผลการวิเคราะห์ประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนจากปริมาณเอธิลีนที่สร้างขึ้นเมื่อเลี้ยงเชื้อในอาหารเหลวที่มีกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน และแปรผันแหล่งไนโตรเจนเป็นแอมโมเนียมคลอไรด์(NH_4Cl) โซเดียมไนเตรท($NaNO_3$) เปปโตน(Peptone) และไม่ได้เติมแหล่งคาร์บอน(N-free) ความเป็นกรด-ด่าง 6.8 บ่มที่อุณหภูมิห้อง 48 ชั่วโมงของแบคทีเรียสายพันธุ์ N1 M2 และ S54

แบคทีเรียสายพันธุ์	ปริมาณเอธิลีนที่สร้างขึ้นในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีแหล่งไนโตรเจนต่างกัน (nmole/mg cell dry wt./hr.)			
	NH_4Cl	$NaNO_3$	Peptone	N-free
N1	3.80 b	8.49 b	3.37 b	60.08 a
M2	0.11 b	4.73 a	0.50 b	17.96 a
S54	3.82 b	8.01 ab	3.05 b	31.45 a

หมายเหตุ เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยตามอักษรในแนวนอน
ตัวเลขที่มีอักษรกำกับด้านขวาที่ต่างกัน แสดงว่าค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกัน ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

3.1.3 ผลการแปรผันอุณหภูมิ

เมื่อเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์ N1 M2 และ S54 ในอาหารเหลวปราศจากไนโตรเจนที่มีกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน ความเป็นกรด-ด่าง 7.0 ± 0.2 และแปรผันอุณหภูมิในการบ่มเชื้อเป็น 20 30 และ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง นำไปวิเคราะห์ประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนจากปริมาณเอธิลีนที่สร้างขึ้น ด้วยเทคนิคอะเซธิลีน รีดักชัน ได้ผลการทดลองดังนี้

แบคทีเรียสายพันธุ์ N1 มีประสิทธิภาพในการตรึงไนโตรเจนได้สูงสุด เมื่อบ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส รองลงมาคือ 40 และ 20 องศาเซลเซียส ตามลำดับ (รูปภาคผนวกที่ 5) โดยมีปริมาณเอธิลีนที่สร้างขึ้นเมื่อแปรผันอุณหภูมิในการบ่มเชื้อเป็น 20 30 และ 40 องศาเซลเซียส มีค่าเป็น 25.35 70.49 และ 36.56 nmole/mg cell dry wt./hr. ตามลำดับ และเมื่อวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติพบว่าปริมาณเอธิลีนที่สร้างขึ้นเมื่อบ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส สูงกว่าเมื่อบ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 20 และ 40 องศาเซลเซียสอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 10)

แบคทีเรียสายพันธุ์ M2 มีประสิทธิภาพในการตรึงไนโตรเจนได้สูงสุด เมื่อบ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส รองลงมาคือ 40 และ 20 องศาเซลเซียส ตามลำดับ (รูปภาคผนวกที่ 5) โดยมีปริมาณเอธิลีนที่สร้างขึ้นเมื่อแปรผันอุณหภูมิในการบ่มเชื้อเป็น 20 30 และ 40 องศาเซลเซียส มีค่าเป็น 5.25 30.71 และ 12.33 nmole/mg cell dry wt./hr. ตามลำดับ และเมื่อวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติพบว่าปริมาณเอธิลีนที่สร้างขึ้นเมื่อบ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส สูงกว่าเมื่อบ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเทียบกับเมื่อบ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส (ตารางที่ 10)

แบคทีเรีย S54 มีประสิทธิภาพในการตรึงไนโตรเจนได้สูงสุด เมื่อบ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส รองลงมาคือ 40 และ 20 องศาเซลเซียส ตามลำดับ (รูปภาคผนวกที่ 5) โดยมีปริมาณเอธิลีนที่สร้างขึ้นเมื่อแปรผันอุณหภูมิในการบ่มเชื้อเป็น 20 30 และ 40 องศาเซลเซียส มีค่าเป็น 11.44 41.70 และ 26.73 nmole/mg cell dry wt./hr. ตามลำดับ และเมื่อวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติพบว่าปริมาณเอธิลีนที่สร้างขึ้นเมื่อบ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส สูงกว่าเมื่อบ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียสอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับบ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส (ตารางที่ 10)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 10 ผลการวิเคราะห์ประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนจากปริมาณเอธิลีนที่สร้างขึ้นเมื่อเลี้ยงเชื้อในอาหารเหลวปราศจากไนโตรเจนที่มีกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน ค่าความเป็นกรด-ด่าง 7.0 ± 0.2 และแปรผันอุณหภูมิในการบ่มเชื้อเป็น 20 30 และ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมงของแบคทีเรียสายพันธุ์ N1 M2 และ S54

แบคทีเรียสายพันธุ์	ปริมาณเอธิลีนที่สร้างขึ้นในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีอุณหภูมิต่างกัน (nmole/mg cell dry wt./hr.)		
	20°C	30°C	40°C
N1	25.35 b	70.49 a	36.56 b
M2	5.25 b	30.71 a	12.33 ab
S54	11.44 b	41.70 a	26.73 ab

หมายเหตุ เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยตามอักษรในแนวนอน

ตัวเลขที่มีอักษรกำกับด้านขวาที่ต่างกัน แสดงว่าค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกัน ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

3.1.4 ผลการแปรผันค่าความเป็น กรด-ด่าง

เมื่อเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์ N1 M2 และ S54 ในอาหารเลี้ยงเชื้อปราศจากไนโตรเจนที่มีกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอนและแปรผันความเป็นกรด-ด่างเป็น 5 6 7 8 และ 9 บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 48 ชั่วโมง ได้ผลการทดลองดังนี้

แบคทีเรียสายพันธุ์ N1 มีประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนได้สูงสุด เมื่อปรับค่าความเป็นกรด-ด่างในอาหารเลี้ยงเชื้อเป็น 7 รองลงมาคือ 8 6 9 และ 5 ตามลำดับ (รูปภาคผนวกที่ 6) โดยมีปริมาณเอธิลีนที่สร้างขึ้นเมื่อแปรผันความเป็นกรด-ด่างในอาหารเลี้ยงเชื้อเป็น 5 6 7 8 และ 9 มีค่าเป็น 15.43 35.01 53.31 49.17 และ 33.51 nmole/mg cell dry wt./hr.ตามลำดับ และเมื่อวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติพบว่าปริมาณเอธิลีนที่สร้างขึ้นเมื่อปรับค่าความเป็นกรด-ด่างในอาหารเลี้ยงเชื้อเป็น 7 สูงกว่าเมื่อปรับค่าความเป็นกรด-ด่างเป็น 5 6 และ 9 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับปรับค่าความเป็นกรด-ด่างในอาหารเลี้ยงเชื้อเป็น 8 (ตารางที่ 11)

แบคทีเรียสายพันธุ์ M2 มีประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนได้สูงสุดเมื่อปรับค่าความเป็นกรด-ด่างในอาหารเลี้ยงเชื้อเป็น 7 รองลงมาคือ 8 6 9 และ 5 ตามลำดับ (รูปภาคผนวกที่ 6) โดยมีปริมาณเอธิลีนที่สร้างขึ้นเมื่อแปรผันความเป็นกรด-ด่างในอาหารเลี้ยงเชื้อเป็น 5 6 7 8 และ 9 มีค่าเป็น 3.23 13.61 24.58 22.79 และ 10.81 nmole/mg cell dry wt./hr. ตามลำดับ และเมื่อวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติพบว่า ปริมาณเอธิลีนที่สร้างขึ้นเมื่อปรับค่าความเป็นกรด-ด่างในอาหารเลี้ยงเชื้อเป็น 7 สูงกว่า เมื่อปรับค่าความเป็นกรด-ด่างเป็น 5 6 และ 9 อย่างมีนัยสำคัญทาง

สถิติ แต่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับเมื่อปรับค่าความเป็นกรด-ด่างในอาหารเลี้ยงเชื้อเป็น 8 (ตารางที่11)

แบคทีเรียสายพันธุ์ S54 มีประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนได้สูงสุดเมื่อปรับค่าความเป็นกรด-ด่างในอาหารเลี้ยงเชื้อเป็น 7 รองลงมาคือ 8 9 6 และ 5 ตามลำดับ (รูปภาคผนวกที่ 6) โดยมีปริมาณเอธิลีนที่สร้างขึ้นเมื่อแปรผันความเป็นกรด-ด่างในอาหารเลี้ยงเชื้อเป็น 5 6 7 8 และ 9 มีค่าเป็น 6.67 21.69 36.74 36.14 และ 28.23 nmole/mg cell dry wt./hr. ตามลำดับ และเมื่อวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติพบว่า ปริมาณเอธิลีนที่สร้างขึ้นเมื่อปรับค่าความเป็นกรด-ด่างในอาหารเลี้ยงเชื้อเป็น 7 สูงกว่าเมื่อปรับค่าความเป็นกรด-ด่างเป็น 5 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับเมื่อปรับค่าความเป็นกรด-ด่างในอาหารเลี้ยงเชื้อเป็น 6 8 และ 9 (ตารางที่ 11)

ตารางที่ 11 ผลการวิเคราะห์ประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนจากปริมาณเอธิลีนที่สร้างขึ้น เมื่อเลี้ยงเชื้อในอาหารเหลวปราศจากไนโตรเจนที่มีกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน และแปรผันค่าความเป็นกรด-ด่างเป็น 5 6 7 8 และ 9 ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 48 ชั่วโมงของแบคทีเรียสายพันธุ์ N1 M2 และ S54

แบคทีเรียสายพันธุ์	ปริมาณเอธิลีนที่สร้างขึ้นในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีความเป็นกรด-ด่างต่างกัน (nmole/mg cell dry wt./hr.)				
	pH 5	pH 6	pH 7	pH 8	pH 9
N1	15.43 c	35.01 b	53.31 a	49.13 a	33.51 b
M2	3.23 c	13.61 bc	24.58 a	22.79 ab	10.81 c
S54	6.67 b	21.69 ab	36.74 ab	36.14 a	28.23 a

หมายเหตุ เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยตามอักษรในแนวนอน
ตัวเลขที่มีอักษรกำกับด้านขวาที่ต่างกัน แสดงว่าค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกัน ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

3.2 แปรผันปัจจัยที่มีผลต่อประสิทธิภาพการละลายฟอสเฟต

3.2.1 ผลการแปรผันแหล่งคาร์บอน

เมื่อเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์ N1 M2 และ S54 ในอาหารเลี้ยงเชื้อปราศจากไนโตรเจนที่มีไตรแคลเซียมฟอสเฟตเป็นแหล่งฟอสฟอรัส และแปรผันแหล่งคาร์บอนเป็น 3 ชนิด คือ กลูโคส ซูโครส และแมนนิทอล ที่ความเป็นกรด-ด่าง 7.0 ± 0.2 บ่มที่อุณหภูมิห้องบนเครื่องเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที จากนั้นเก็บตัวอย่างน้ำเลี้ยงเชื้อในวันที่ 2 6 10 และ 14 ของอาหาร

เลี้ยงเชื้อ ไปวิเคราะห์ปริมาณฟอสเฟตในรูปสารละลายด้วยวิธีคัลเลอริเมตริก ดีเทอร์มิเนชันตามวิธีในข้อ 2.2.3 ได้ผลการทดลองดังนี้

แบคทีเรียสายพันธุ์ N1 มีอัตราการละลายฟอสเฟตเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในวันที่ 2 ถึงวันที่ 10 ของการเลี้ยงเชื้อ เมื่อใช้กลูโคสและซูโครสเป็นแหล่งคาร์บอน หลังจากนั้นมีการละลายฟอสเฟตเพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อยในกลูโคส และเริ่มมีการละลายฟอสเฟตลดลงในซูโครส ส่วนเมื่อใช้แมนนิทอลเป็นแหล่งคาร์บอนละลายฟอสเฟตได้เพียงเล็กน้อยเท่านั้นและเมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการละลายฟอสเฟตเมื่อแปรผันแหล่งคาร์บอนทั้ง 3 ชนิดในอาหารเลี้ยงเชื้อ พบว่าเมื่อใช้กลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอนมีประสิทธิภาพในการละลายฟอสเฟตได้สูงสุด รองลงมา คือ ซูโครส และแมนนิทอล ตามลำดับ (รูปภาคผนวกที่ 7) โดยมีปริมาณฟอสเฟตในรูปสารละลายสูงสุดเมื่อใช้กลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอนจะเกิดในวันที่ 14 ของการเลี้ยงเชื้อ มีค่าเป็น 7.49 ไมโครกรัมต่อลิตร ส่วนเมื่อใช้ซูโครสและแมนนิทอลเป็นแหล่งคาร์บอนมีปริมาณฟอสเฟตในรูปสารละลายสูงสุดในวันที่ 10 ของการเลี้ยงเชื้อ มีค่าเป็น 5.27 และ 0.09 ไมโครกรัมต่อลิตร ตามลำดับ และเมื่อวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติพบว่าปริมาณฟอสเฟตในรูปสารละลายเมื่อใช้กลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอนสูงกว่าเมื่อใช้ซูโครสและแมนนิทอลเป็นแหล่งคาร์บอนอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และเมื่อเปรียบเทียบตามระยะเวลาที่บ่มเชื้อพบว่าที่เวลา 2 6 10 และ 14 วัน มีปริมาณฟอสเฟตในรูปสารละลายแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อใช้กลูโคสและซูโครสเป็นแหล่งคาร์บอน แต่เมื่อใช้แมนนิทอลเป็นแหล่งคาร์บอน ปริมาณฟอสเฟตในรูปสารละลายที่เวลา 2 10 และ 14 วัน ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ แต่แตกต่างจากวันที่ 6 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 12)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 12 ผลการวิเคราะห์ประสิทธิภาพในการละลายฟอสเฟตจากปริมาณฟอสเฟตในรูปสารละลายของแบคทีเรียสายพันธุ์ N1 เมื่อเลี้ยงเชื้อในอาหารเหลวปราศจากไนโตรเจนที่มีไตรแคลเซียมฟอสเฟตเป็นแหล่งฟอสฟอรัส แปรผันแหล่งคาร์บอนเป็นกลูโคส ซูโครส และแมนนิทอล ความเป็นกรด-ด่าง 7.0 ± 0.2 และบ่มเชื้อที่อุณหภูมิเป็นเวลา 14 วัน

วันที่	ปริมาณฟอสเฟตในรูปสารละลายในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีแหล่งคาร์บอนต่างกัน (μg/ml)		
	กลูโคส	ซูโครส	แมนนิทอล
2	0.52 a(d)	0.24 b(d)	0.02 c(b)
6	3.40 a(c)	2.71 b(c)	0.09 b(a)
10	6.92 a(b)	5.27 b(a)	0.06 c(ab)
14	7.49 a(a)	4.94 b(b)	0.00 c(b)

หมายเหตุ เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยตามอักษรในแนวนอน ตัวเลขที่มีอักษรกำกับด้านขวาที่ต่างกันแสดงว่าค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกัน ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยตามอักษรในแนวตั้ง ตัวเลขที่มีอักษรในวงเล็บกำกับด้านขวาที่ต่างกัน แสดงว่าค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกัน ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

แบคทีเรียสายพันธุ์ M2 มีอัตราการละลายฟอสเฟตเพิ่มขึ้นตั้งแต่วันที่ 2 ถึงวันที่ 14 ของการเลี้ยงเชื้อเมื่อใช้กลูโคสและซูโครสเป็นแหล่งคาร์บอน ส่วนเมื่อใช้แมนนิทอลเป็นแหล่งคาร์บอนสามารถละลายฟอสเฟตได้เพียงเล็กน้อย และเมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการละลายฟอสเฟตเมื่อแปรผันแหล่งคาร์บอนทั้ง 3 ชนิดในอาหารเลี้ยงเชื้อ พบว่าเมื่อใช้กลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอนมีประสิทธิภาพในการละลายฟอสเฟตได้สูงสุด รองลงมาคือ ซูโครส และแมนนิทอล ตามลำดับ (รูปภาคผนวกที่ 8) โดยมีปริมาณฟอสเฟตในรูปสารละลายสูงสุดเมื่อใช้กลูโคส ซูโครส และแมนนิทอลเป็นแหล่งคาร์บอนอยู่ในวันที่ 14 ของการเลี้ยงเชื้อ มีค่าเป็น 5.12 3.31 และ 0.06 ไมโครกรัมต่อลิตร ตามลำดับ เมื่อวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติพบว่าปริมาณฟอสเฟตในรูปสารละลายเมื่อใช้กลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอนสูงกว่าเมื่อใช้ซูโครสและแมนนิทอลเป็นแหล่งคาร์บอนอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และเมื่อเปรียบเทียบตามระยะเวลาที่บ่มเชื้อพบว่าที่เวลา 2 6 10 และ 14 วัน มีปริมาณฟอสเฟตในรูปสารละลายแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อใช้กลูโคสและซูโครสเป็นแหล่งคาร์บอน แต่เมื่อใช้แมนนิทอลเป็นแหล่งคาร์บอนปริมาณฟอสเฟตในรูปสารละลายที่เวลา 2 6 10 และ 14 วัน ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 13)

ตารางที่ 13 ผลการวิเคราะห์ประสิทธิภาพในการละลายฟอสเฟตจากปริมาณฟอสเฟตในรูปสารละลายของแบคทีเรียสายพันธุ์ M2 เมื่อเลี้ยงเชื้อในอาหารเหลวปราศจากไนโตรเจนที่มีไตรแคลเซียมฟอสเฟตเป็นแหล่งฟอสฟอรัส แปรผันแหล่งคาร์บอนเป็นกลูโคส ซูโครส และแมนนิทอล ความเป็นกรด-ด่าง 7.0 ± 0.2 และบ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 14 วัน

วันที่	ปริมาณฟอสเฟตในรูปสารละลายในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีแหล่งคาร์บอนต่างกัน (μg/ml)		
	กลูโคส	ซูโครส	แมนนิทอล
2	0.19 a (d)	0.01 b (d)	0.00 b (a)
6	1.51 a (c)	0.99 b (c)	0.06 c (a)
10	3.61 a (b)	2.47 b (b)	0.06 c (a)
14	5.12 a (a)	3.31 b (a)	0.06 c (a)

หมายเหตุ เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยตามอักษรในแนวนอน ตัวเลขที่มีอักษรกำกับด้านขวาที่ต่างกัน แสดงว่าค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกัน ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05
เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยตามอักษรในแนวตั้ง ตัวเลขที่มีอักษรในวงเล็บกำกับด้านขวาที่ต่างกัน แสดงว่าค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกัน ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

แบคทีเรียสายพันธุ์ S54 มีอัตราการละลายฟอสเฟตเพิ่มขึ้นตั้งแต่วันที่ 2 ถึงวันที่ 14 ของการเลี้ยงเชื้อเมื่อใช้กลูโคสและซูโครสเป็นแหล่งคาร์บอน ส่วนเมื่อใช้แมนนิทอลเป็นแหล่งคาร์บอนสามารถละลายฟอสเฟตได้เพียงเล็กน้อย และเมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการละลายฟอสเฟตเมื่อแปรผันแหล่งคาร์บอนทั้ง 3 ชนิดในอาหารเลี้ยงเชื้อ พบว่าเมื่อใช้กลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอนมีประสิทธิภาพในการละลายฟอสเฟตได้สูงสุด รองลงมาคือ ซูโครสและแมนนิทอล มีประสิทธิภาพในการละลายฟอสเฟตต่ำสุด (รูปภาคผนวกที่ 9) โดยมีปริมาณฟอสเฟตในรูปสารละลายสูงสุดเมื่อใช้กลูโคสและซูโครสเป็นแหล่งคาร์บอนอยู่ในวันที่ 14 ของการเลี้ยงเชื้อมีค่า 6.32 และ 4.27 ไมโครกรัมต่อลิตร ตามลำดับ ส่วนเมื่อใช้แมนนิทอลเป็นแหล่งคาร์บอนมีฟอสเฟตในรูปสารละลายสูงสุดในวันที่ 2 และ 6 ของการเลี้ยงเชื้อมีค่า 0.06 ไมโครกรัมต่อลิตร เมื่อวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติ พบว่าปริมาณฟอสเฟตในรูปสารละลายเมื่อใช้กลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอนสูงกว่าเมื่อใช้ซูโครสและแมนนิทอลเป็นแหล่งคาร์บอนอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และเมื่อเปรียบเทียบตามระยะเวลาที่บ่มเชื้อพบว่าที่เวลา 2 6 10 และ 14 วัน มีปริมาณฟอสเฟตในรูปสารละลายแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อใช้กลูโคสและซูโครสเป็นแหล่งคาร์บอน แต่เมื่อใช้แมนนิทอลเป็นแหล่งคาร์บอนปริมาณฟอสเฟตในรูปสารละลายที่เวลา 2 6 10 และ 14 วัน ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 14)

ตารางที่ 14 ผลการวิเคราะห์ประสิทธิภาพในการละลายฟอสเฟตจากปริมาณฟอสเฟตในรูปสารละลายของแบคทีเรียสายพันธุ์ S54 เมื่อเลี้ยงเชื้อในอาหารเหลวปราศจากไนโตรเจนที่มีไตรแคลเซียมฟอสเฟตเป็นแหล่งฟอสฟอรัส แปรผันแหล่งคาร์บอนเป็นกลูโคส ซูโครส และแมนนิทอล ที่ความเป็นกรด-ด่าง 7.0 ± 0.2 และบ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 14 วัน

วันที่	ปริมาณฟอสเฟตในรูปสารละลายในอาหารเลี้ยงเชื้อ ที่มีแหล่งคาร์บอนต่างกัน (µg/ml)		
	กลูโคส	ซูโครส	แมนนิทอล
2	0.27 a(d)	0.06 b(d)	0.03 b(ab)
6	2.44 a(c)	1.69 b(c)	0.06 c(a)
10	4.55 a(b)	3.43 b(b)	0.06 c(a)
14	6.32 a(a)	4.27 b(a)	0.00 c(b)

หมายเหตุ เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยตามอักษรในแนวนอน ตัวเลขที่มีอักษรกำกับด้านขวาที่ต่างกัน แสดงว่าค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกัน ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยตามอักษรในแนวตั้ง ตัวเลขที่มีอักษรในวงเล็บกำกับด้านขวาที่ต่างกัน แสดงว่าค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกัน ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

3.2.2 ผลการแปรผันแหล่งไนโตรเจน

เมื่อเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์ N1 M2 และ S54 ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีไตรแคลเซียมฟอสเฟตเป็นแหล่งฟอสฟอรัส มีกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน แปรผันแหล่งไนโตรเจนเป็น 4 ชนิด ได้แก่ แอมโมเนียมคลอไรด์ โซเดียมไนเตรท เปปโตน และไม่ได้เติมแหล่งไนโตรเจน ที่ความเป็นกรด-ด่าง 7.0 ± 0.2 บ่มที่อุณหภูมิห้องบนเครื่องเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที จากนั้นเก็บตัวอย่างน้ำเลี้ยงเชื้อในวันที่ 2 6 10 และ 14 ของการเลี้ยงเชื้อไปวิเคราะห์หาปริมาณฟอสเฟตในรูปสารละลายด้วยวิธีคัลเลอริเมตริก ดีเทอร์มิเนชัน ตามวิธีในข้อ 2.2.3 ได้ผลการทดลองดังนี้

แบคทีเรียสายพันธุ์ N1 มีอัตราการละลายฟอสเฟตเพิ่มขึ้นตั้งแต่วันที่ 2 ถึงวันที่ 14 ของการเลี้ยงเชื้อ เมื่อแปรผันแหล่งไนโตรเจนเป็น แอมโมเนียมคลอไรด์ โซเดียมไนเตรท เปปโตน และไม่ได้เติมแหล่งไนโตรเจน และเมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการละลายฟอสเฟตเมื่อแปรผันแหล่งไนโตรเจนทั้ง 4 ชนิดในอาหารเลี้ยงเชื้อ พบว่าแอมโมเนียมคลอไรด์มีผลให้ประสิทธิภาพในการละลายฟอสเฟตได้สูงสุด รองลงมาคือ เปปโตน โซเดียมไนเตรท และไม่ได้เติมไนโตรเจน ตามลำดับ (รูปภาคผนวกที่ 10) โดยปริมาณฟอสเฟตในรูปสารละลายสูงสุดเมื่อแปรผันแหล่งไนโตรเจนเป็นแอมโมเนียมคลอไรด์ โซเดียมไนเตรท เปปโตน และไม่ได้เติมแหล่งไนโตรเจน จะอยู่ในวันที่ 14 ของการเลี้ยงเชื้อ มีค่าเป็น 13.21 9.18 11.98 และ 7.49 ไมโครกรัมต่อ

มิลลิลิตร ตามลำดับ เมื่อวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติ พบว่าในวันที่ 2 ของการเลี้ยงเชื้อเมื่อใช้เปปโตนเป็นแหล่งไนโตรเจนมีฟอสเฟตในรูปสารละลายสูงกว่าเมื่อแปรผันแหล่งไนโตรเจนเป็นโซเดียมไนเตรท และไม่ได้เติมแหล่งไนโตรเจนอย่างมีนัยสำคัญ แต่ไม่มีความแตกต่างจากแอมโมเนียมคลอไรด์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในวันที่ 6 ของการเลี้ยงเชื้อเมื่อใช้แอมโมเนียมคลอไรด์เป็นแหล่งไนโตรเจนมีฟอสเฟตในรูปสารละลายสูงสุด แต่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับ เปปโตน และในวันที่ 10 และ 14 ของการเลี้ยงเชื้อเมื่อใช้แอมโมเนียมคลอไรด์เป็นแหล่งไนโตรเจนมีปริมาณฟอสเฟตในรูปสารละลายสูงกว่าแหล่งไนโตรเจนอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และเมื่อเปรียบเทียบตามระยะเวลาในการบ่มเชื้อพบว่าที่เวลา 2 6 10 และ 14 วัน มีปริมาณฟอสเฟตในรูปสารละลายแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในทุกแหล่งไนโตรเจน (ตารางที่ 15)

ตารางที่ 15 ผลการวิเคราะห์ประสิทธิภาพในการละลายฟอสเฟตจากปริมาณฟอสเฟตในรูปสารละลายของแบคทีเรียสายพันธุ์ N1 เมื่อเลี้ยงเชื้อในอาหารเหลวปราศจากไนโตรเจนที่มีไตรแคลเซียมฟอสเฟตเป็นแหล่งฟอสฟอรัส มีกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน แปรผันแหล่งไนโตรเจนเป็น แอมโมเนียมคลอไรด์ (NH_4Cl) โซเดียมไนเตรท($NaNO_3$) เปปโตน(Peptone) และไม่ได้เติมแหล่งไนโตรเจน(N-free) ที่ความเป็นกรดด่าง 7.0 ± 0.2 และบ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 14 วัน

วันที่	ปริมาณฟอสเฟตในรูปสารละลายในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีแหล่งไนโตรเจนต่างกัน (µg/ml)			
	NH_4Cl	$NaNO_3$	Peptone	N-free
2	1.29 a (d)	0.57 b(d)	1.41 a (d)	0.52 b (d)
6	5.75 a (c)	3.01 b (c)	5.60 a (c)	3.40 b (c)
10	8.46 a (b)	6.05 d (b)	7.71 b (b)	6.92 c (b)
14	13.21 a (a)	9.18 c (a)	11.98 b (a)	7.49 d (a)

หมายเหตุ เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยตามอักษรในแนวนอน ตัวเลขที่มีอักษรกำกับด้านขวาที่ต่างกันแสดงว่าค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกัน ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยตามอักษรในแนวตั้ง ตัวเลขที่มีอักษรในวงเล็บกำกับด้านขวาที่ต่างกัน แสดงว่าค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกัน ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

แบคทีเรียสายพันธุ์ M2 มีอัตราการละลายฟอสเฟตเพิ่มขึ้นตั้งแต่วันที่ 2 ถึงวันที่ 14 ของการเลี้ยงเชื้อ เมื่อแปรผันแหล่งไนโตรเจนเป็น แอมโมเนียมคลอไรด์ โซเดียมไนเตรท เปปโตน และไม่ได้เติมแหล่งไนโตรเจน และเมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการละลายฟอสเฟตเมื่อ

แปรผันแหล่งไนโตรเจนทั้ง 4 ชนิดในอาหารเลี้ยงเชื้อ พบว่าแอมโมเนียมคลอไรด์มีผลให้ประสิทธิภาพในการละลายฟอสเฟตได้สูงสุด รองลงมาคือ เปปโตน โซเดียมไนเตรท และไม่ได้เติมแหล่งไนโตรเจน ตามลำดับ (รูปภาคผนวกที่ 11) โดยปริมาณฟอสเฟตที่อยู่ในรูปสารละลายสูงสุดเมื่อแปรผันแหล่งไนโตรเจนเป็นแอมโมเนียมคลอไรด์ โซเดียมไนเตรท เปปโตน และไม่ได้เติมแหล่งไนโตรเจน จะอยู่ในวันที่ 14 ของการเลี้ยงเชื้อมีค่าเป็น 8.91 5.69 8.16 และ 5.12 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ และเมื่อวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติพบว่าในวันที่ 2 ของการเลี้ยงเชื้อเมื่อใช้เปปโตนเป็นแหล่งไนโตรเจนมีปริมาณฟอสเฟตในรูปสารละลายสูงกว่าเมื่อแปรผันแหล่งไนโตรเจนเป็นแอมโมเนียมคลอไรด์ โซเดียมไนเตรท และไม่ได้เติมแหล่งไนโตรเจนอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนวันที่ 6 10 และ 14 เมื่อใช้แอมโมเนียมคลอไรด์เป็นแหล่งไนโตรเจนมีปริมาณฟอสเฟตในรูปสารละลายสูงกว่าเมื่อใช้แหล่งไนโตรเจนเป็นโซเดียมไนเตรท เปปโตน และไม่ได้เติมแหล่งไนโตรเจน และเมื่อเปรียบเทียบตามระยะเวลาในการบ่มเชื้อพบว่าที่เวลา 2 6 10 และ 14 วัน มีปริมาณฟอสเฟตในรูปสารละลายแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในทุกแหล่งไนโตรเจน (ตารางที่ 16)

ตารางที่ 16 ผลการวิเคราะห์ประสิทธิภาพในการละลายฟอสเฟตจากปริมาณฟอสเฟตในรูปสารละลายของแบคทีเรียสายพันธุ์ M2 เมื่อเลี้ยงเชื้อในอาหารเหลวปราศจากไนโตรเจนที่มีไตรแคลเซียมฟอสเฟตเป็นแหล่งฟอสฟอรัส มีกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน แปรผันแหล่งไนโตรเจนเป็นแอมโมเนียมคลอไรด์(NH_4Cl) โซเดียมไนเตรท($NaNO_3$) เปปโตน(Peptone) และไม่ได้เติมแหล่งไนโตรเจน(N-free) ที่ความเป็นกรด-ด่าง 7.0 ± 0.2 และบ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 14 วัน

วันที่	ปริมาณฟอสเฟตในรูปสารละลายในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีแหล่งไนโตรเจนต่างกัน (µg/ml)			
	NH_4Cl	$NaNO_3$	Peptone	N-free
2	0.63 b (d)	0.33 c (d)	0.78 a (d)	0.19 d (d)
6	1.96 a (c)	1.11 c (c)	1.73 ab (c)	1.51 b (c)
10	5.18 a (b)	3.88 c (b)	4.33 b (b)	3.61 c (b)
14	8.91 a (a)	5.69 c (a)	8.16 b (a)	5.12 d (a)

หมายเหตุ เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยตามอักษรในแนวนอน ตัวเลขที่มีอักษรกำกับด้านขวาที่ต่างกันแสดงว่าค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกัน ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยตามอักษรในแนวตั้ง ตัวเลขที่มีอักษรในวงเล็บกำกับด้านขวาที่ต่างกัน แสดงว่าค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกัน ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

แบคทีเรียสายพันธุ์ S54 มีอัตราการละลายฟอสเฟตเพิ่มขึ้นตั้งแต่วันที่ 2 ถึงวันที่ 14 ของการเลี้ยงเชื้อ เมื่อแปรผันแหล่งไนโตรเจนเป็น แอมโมเนียมคลอไรด์ โซเดียมไนเตรท เปปโตน และไม่ได้เติมแหล่งไนโตรเจน และเมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการละลายฟอสเฟตเมื่อแปรผันแหล่งไนโตรเจนทั้ง 4 ชนิดในอาหารเลี้ยงเชื้อ พบว่าแอมโมเนียมคลอไรด์มีผลให้ประสิทธิภาพในการละลายฟอสเฟตได้สูงสุด รองลงมาคือ เปปโตน โซเดียมไนเตรท และไม่ได้เติมไนโตรเจน ตามลำดับ (รูปภาคผนวกที่ 12) โดยปริมาณฟอสเฟตในรูปสารละลายสูงสุดเมื่อแปรผันแหล่งไนโตรเจนเป็นแอมโมเนียมคลอไรด์ โซเดียมไนเตรท เปปโตน และไม่ได้เติมแหล่งไนโตรเจน จะอยู่ในวันที่ 14 ของการเลี้ยงเชื้อ มีค่าเป็น 10.23 7.53 9.21 และ 6.32 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ เมื่อวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติพบว่า ในวันที่ 2 ของการเลี้ยงเชื้อเมื่อใช้เปปโตนเป็นแหล่งไนโตรเจนมีปริมาณฟอสเฟตในรูปสารละลายสูงกว่าเมื่อแปรผันแหล่งไนโตรเจนเป็นแอมโมเนียมคลอไรด์ โซเดียมไนเตรท และไม่ได้เติมแหล่งไนโตรเจนอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในวันที่ 6 และ 10 ของการเลี้ยงเชื้อเมื่อใช้แอมโมเนียมคลอไรด์เป็นแหล่งไนโตรเจนมีปริมาณฟอสเฟตในรูปสารละลายสูงกว่าเมื่อใช้โซเดียมไนเตรท และไม่ได้เติมแหล่งไนโตรเจนอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนในวันที่ 14 ของการเลี้ยงเชื้อพบว่าเมื่อใช้แอมโมเนียมคลอไรด์เป็นแหล่งไนโตรเจนมีปริมาณฟอสเฟตในรูปสารละลายสูงสุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และเมื่อเปรียบเทียบตามระยะเวลาในการบ่มเชื้อพบว่าที่เวลา 2 6 10 และ 14 วัน มีปริมาณฟอสเฟตในรูปสารละลายแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในทุกแหล่งไนโตรเจน (ตารางที่ 17)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 17 ผลการวิเคราะห์ประสิทธิภาพในการละลายฟอสเฟตจากปริมาณฟอสเฟตในรูปสารละลายของแบคทีเรียสายพันธุ์ S54 เมื่อเลี้ยงเชื้อในอาหารเหลวปราศจากไนโตรเจนที่มีไตรแคลเซียมฟอสเฟตเป็นแหล่งฟอสฟอรัส มีกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน แปรผันแหล่งไนโตรเจนเป็น แอมโมเนียมคลอไรด์(NH_4Cl) โซเดียมไนเตรท($NaNO_3$) เปปโตน(Peptone) และไม่ได้เติมแหล่งไนโตรเจน(N-free) ที่ความเป็นกรด-ด่าง 7.0 ± 0.2 และบ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 14 วัน

วันที่	ปริมาณฟอสเฟตในรูปสารละลายในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีแหล่งไนโตรเจนต่างกัน (μg/ml)			
	NH_4Cl	$NaNO_3$	Peptone	N-free
2	0.90 b (d)	0.48 c (d)	1.02 a (d)	0.27 d (d)
6	3.10 a (c)	2.29 b (c)	3.01 a (c)	2.44 b (c)
10	6.05 a (b)	4.82 bc (b)	5.57 ab (b)	4.55 c (b)
14	10.23 a[n] (a)	7.53 c (a)	9.21 b (a)	6.32 d (a)

หมายเหตุ เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยตามอักษรในแนวนอน ตัวเลขที่มีอักษรกำกับด้านขวาที่ต่างกันแสดงว่าค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกัน ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยตามอักษรในแนวตั้ง ตัวเลขที่มีอักษรในวงเล็บกำกับด้านขวาที่ต่างกัน แสดงว่าค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกัน ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

3.2.3 การแปรผันอุณหภูมิ

เมื่อเลี้ยงแบคทีเรียสายพันธุ์ N1 M2 และ S54 ในอาหารเลี้ยงเชื้อปราศจากไนโตรเจน และที่มีไตรแคลเซียมฟอสเฟตเป็นแหล่งฟอสฟอรัส ใช้กลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน ที่ความเป็นกรด-ด่าง 7.0 ± 0.2 แล้วแปรผันอุณหภูมิในการบ่มเชื้อเป็น 20 30 และ 40 องศาเซลเซียส เขย่าด้วยความเร็ว 200 รอบต่อนาที จากนั้นเก็บตัวอย่างน้ำเลี้ยงเชื้อในวันที่ 2 6 10 และ 14 ของการเลี้ยงเชื้อไปวิเคราะห์ปริมาณฟอสเฟตในรูปสารละลายด้วยวิธีคัลเลอริเมตริก ดีเทอร์มิเนชัน ตามวิธีในข้อ 2.2.3 ได้ผลการทดลองดังนี้

แบคทีเรียสายพันธุ์ N1 มีอัตราการละลายฟอสเฟตเพิ่มขึ้นในวันที่ 2 ถึงวันที่ 14 ของการเลี้ยงเชื้อ เมื่อแปรผันอุณหภูมิในการบ่มเชื้อเป็น 20 30 และ 40 องศาเซลเซียส และเมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการละลายฟอสเฟตเมื่อแปรผันอุณหภูมิทั้ง 3 ระดับในการบ่มเชื้อ พบว่าที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส มีผลให้ประสิทธิภาพในการละลายฟอสเฟตได้สูงสุด รองลงมาคือ 40 และ 20 องศาเซลเซียส ตามลำดับ (รูปภาคผนวกที่ 13) โดยปริมาณฟอสเฟตในรูปสารละลายสูงสุดเมื่อแปรผันอุณหภูมิในการบ่มเชื้อเป็น 20 30 และ 40 องศาเซลเซียส อยู่ในวันที่ 14 ของการเลี้ยง

เชื้อ มีค่าเป็น 6.29 9.03 และ 6.83 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรตามลำดับ และเมื่อวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติพบว่าปริมาณฟอสเฟตในรูปสารละลายเมื่อบ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสสูงกว่าเมื่อบ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 20 และ 40 องศาเซลเซียสอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และเมื่อเปรียบเทียบตามระยะเวลาในการบ่มเชื้อพบว่าที่เวลา 2 6 10 และ 14 วัน มีปริมาณฟอสเฟตในรูปสารละลายแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในทุกระดับอุณหภูมิของการบ่มเชื้อ (ตารางที่ 18)

ตารางที่ 18 ผลการวิเคราะห์ประสิทธิภาพในการละลายฟอสเฟตจากปริมาณฟอสเฟตในรูปสารละลายของแบคทีเรียสายพันธุ์ N1 เมื่อเลี้ยงเชื้อในอาหารเหลวปราศจากไนโตรเจนที่มีไตรแคลเซียมฟอสเฟตเป็นแหล่งฟอสฟอรัส มีกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน ความเป็นกรด-ด่าง 7.0 ± 0.2 และแปรผันอุณหภูมิในการบ่มเชื้อเป็น20 30 และ40 องศาเซลเซียส ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 14 วัน

วันที่	ปริมาณฟอสเฟตในรูปสารละลาย ที่อุณหภูมิในการบ่มเชื้อต่างกัน (μg/ml)		
	20°C	30°C	40°C
2	0.63 c (d)	1.05 a (d)	0.78 b (d)
6	2.77 b (c)	3.52 a (c)	2.50 b (c)
10	5.03 c (b)	6.74 a (b)	5.81 b (b)
14	6.29 c (a)	9.03 a (a)	6.83 b (a)

หมายเหตุ เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยตามอักษรในแนวนอน ตัวเลขที่มีอักษรกำกับด้านขวาที่ต่างกัน แสดงว่าค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกัน ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05
เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยตามอักษรในแนวตั้ง ตัวเลขที่มีอักษรในวงเล็บกำกับด้านขวาที่ต่างกัน แสดงว่าค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกัน ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

แบคทีเรียสายพันธุ์ M2 มีอัตราการละลายฟอสเฟตเพิ่มขึ้นตั้งแต่วันที่ 2 ถึงวันที่ 14 ของการเลี้ยงเชื้อ เมื่อแปรผันอุณหภูมิในการบ่มเชื้อเป็น 20 30 และ 40 องศาเซลเซียส และเมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการละลายฟอสเฟตเมื่อแปรผันอุณหภูมิทั้ง 3 ระดับในการบ่มเชื้อ พบว่าในวันที่ 2 ถึงวันที่ 10 ของการเลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียสมีผลให้ประสิทธิภาพในการละลายฟอสเฟตได้สูงสุด รองลงมาคือ 30 และ 20 องศาเซลเซียส ตามลำดับ แต่ในวันที่ 14 ของการเลี้ยงเชื้อ พบว่าที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส มีผลให้ประสิทธิภาพในการละลายฟอสเฟตได้สูงสุด รองลงมาคือ 40 และ 20 องศาเซลเซียส ตามลำดับ (รูปภาคผนวกที่ 14) โดยปริมาณฟอสเฟตในรูปสารละลายสูงสุดเมื่อแปรผันอุณหภูมิในการบ่มเชื้อเป็น 20 30 และ 40 องศาเซลเซียส อยู่ในวันที่ 14 ของการเลี้ยงเชื้อ มีค่าเป็น 3.01 5.90 และ 5.69 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรตามลำดับ และเมื่อวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติ พบว่าในวันที่ 2 และ 10 ของการเลี้ยงเชื้อเมื่อบ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียสมีปริมาณฟอสเฟตในรูปสารละลายสูงกว่าเมื่อบ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส

อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ในวันที่ 6 ของการเลี้ยงเชื้อเมื่อบ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส มีปริมาณฟอสเฟตในรูปสารละลายสูงกว่าที่อุณหภูมิ 20 และ 30 องศาเซลเซียสอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และในวันที่ 14 ของการเลี้ยงเชื้อเมื่อบ่มเชื้อที่ 30 องศาเซลเซียสมีปริมาณฟอสเฟตที่ละลายได้สูงสุด แต่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับเมื่อที่ 40 องศาเซลเซียส และเมื่อเปรียบเทียบตามระยะเวลาในการบ่มเชื้อพบว่าที่เวลา 2 6 10 และ 14 วัน มีปริมาณฟอสเฟตในรูปสารละลายแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในทุกระดับอุณหภูมิของการบ่มเชื้อ (ตารางที่ 19)

ตารางที่ 19 ผลการวิเคราะห์ประสิทธิภาพในการละลายฟอสเฟตจากปริมาณฟอสเฟตในรูปสารละลายของแบคทีเรียสายพันธุ์ M2 เมื่อเลี้ยงเชื้อในอาหารเหลวปราศจากไนโตรเจนที่มีไตรแคลเซียมฟอสเฟตเป็นแหล่งฟอสฟอรัส มีกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน ความเป็นกรด-ด่าง 7.0 ± 0.2 และแปรผันอุณหภูมิในการบ่มเชื้อเป็น20 30 และ40 องศาเซลเซียส ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 14 วัน

วันที่	ปริมาณฟอสเฟตในรูปสารละลาย ที่อุณหภูมิในการบ่มเชื้อต่างกัน (μg/ml)		
	20°C	30°C	40°C
2	0.24 c(d)	0.45 ab (d)	0.69 a (d)
6	096 c(c)	1.75 b (c)	2.53 a (c)
10	2.05 b(b)	3.97 a (b)	4.21 a (b)
14	3.01 b(a)	5.90 a (a)	5.69 a (a)

หมายเหตุ เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยตามอักษรในแนวนอน ตัวเลขที่มีอักษรกำกับด้านขวาที่ต่างกันแสดงว่าค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกัน ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยตามอักษรในแนวตั้ง ตัวเลขที่มีอักษรในวงเล็บกำกับด้านขวาที่ต่างกัน แสดงว่าค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกัน ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

แบคทีเรียสายพันธุ์ S54 มีอัตราการละลายฟอสเฟตเพิ่มขึ้นในวันที่ 2 ถึงวันที่ 14 ของการเลี้ยงเชื้อ เมื่อแปรผันอุณหภูมิในการบ่มเชื้อเป็น 20 30 และ 40 องศาเซลเซียส และเมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการละลายฟอสเฟตเมื่อแปรผันอุณหภูมิทั้ง 3 ระดับในการบ่มเชื้อ พบว่าที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส มีผลให้ประสิทธิภาพในการละลายฟอสเฟตได้สูงสุด รองลงมาคือ 40 และ 20 องศาเซลเซียส ตามลำดับ (รูปภาคผนวกที่ 15) โดยปริมาณฟอสเฟตในรูปสารละลายสูงสุดเมื่อแปรผันอุณหภูมิในการบ่มเชื้อเป็น 20 30 และ 40 องศาเซลเซียส อยู่ในวันที่ 14 ของการเลี้ยงเชื้อ มีค่าเป็น 4.00 7.22 และ 4.30 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรตามลำดับ และเมื่อวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติ พบว่าในวันที่ 2 และ 6 ของการเลี้ยงเชื้อเมื่อบ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสมีปริมาณฟอสเฟตในรูปสารละลายสูงสุดแต่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับ

บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ในวันที่ 10 และ 14 ของการเลี้ยงเชื้อเมื่อบ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส มีปริมาณฟอสเฟตในรูปสารละลายสูงกว่าเมื่อเทียบกับบ่มเชื้อที่ 20 และ 40 องศาเซลเซียสอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และเมื่อเปรียบเทียบตามระยะเวลาในการบ่มเชื้อพบว่าที่เวลา 2 6 10 และ 14 วัน มีปริมาณฟอสเฟตในรูปสารละลายแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อบ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 20 และ 30 องศาเซลเซียส แต่เมื่อบ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ในวันที่ 10 และ 14 ของการเลี้ยงเชื้อไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 20)

ตารางที่ 20 ผลการวิเคราะห์ประสิทธิภาพในการละลายฟอสเฟตจากปริมาณฟอสเฟตในรูปสารละลายของแบคทีเรียสายพันธุ์ S54 เมื่อเลี้ยงเชื้อในอาหารเหลวปราศจากไนโตรเจนที่มีไตรแคลเซียมฟอสเฟตเป็นแหล่งฟอสฟอรัส มีกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน ความเป็นกรด-ด่าง 7.0 ± 0.2 และแปรผันอุณหภูมิในการบ่มเชื้อเป็น20 30 และ 40 องศาเซลเซียสที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 14 วัน

วันที่	ปริมาณฟอสเฟตในรูปสารละลาย ที่อุณหภูมิในการบ่มเชื้อต่างกัน (μg/ml)		
	20°C	30°C	40°C
2	0.42 b(d)	0.63 a (d)	0.57 ab (d)
6	1.57 b(c)	2.50 a (c)	2.14 a b(b)
10	2.92 c(b)	5.06 a (b)	3.91 b (b)
14	4.00 b(a)	7.22 a (a)	4.30 b (a)

หมายเหตุ เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยตามอักษรในแนวนอน ตัวเลขที่มีอักษรกำกับด้านขวาที่ต่างกันแสดงว่าค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกัน ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยตามอักษรในแนวตั้ง ตัวเลขที่มีอักษรในวงเล็บกำกับด้านขวาที่ต่างกัน แสดงว่าค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกัน ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

3.2.4 การแปรผันความเป็นกรด-ด่าง

เมื่อเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์ N1 M2 และ S54 ในอาหารเลี้ยงเชื้อปราศจากไนโตรเจน ที่มีไตรแคลเซียมฟอสเฟตเป็นแหล่งฟอสฟอรัส มีกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน และแปรผันความเป็นกรด-ด่างเป็น 5 6 7 8 และ 9 บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง บนเครื่องเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาทีจากนั้นเก็บตัวอย่างน้ำเลี้ยงเชื้อไปวิเคราะห์ปริมาณฟอสเฟตในรูปสารละลายด้วยวิธีคัลเลอริเมตริก ดีเทอมิเนชัน ตามวิธีการในข้อ 2.2.3 ได้ผลการทดลองดังนี้

แบคทีเรียสายพันธุ์ N1 มีอัตราการละลายฟอสเฟตเพิ่มขึ้นตั้งแต่วันที่ 2 ถึงวันที่ 14 ของการเลี้ยงเชื้อ เมื่อแปรผันความเป็นกรด-ด่างในอาหารเลี้ยงเชื้อเป็น 5 6 7 8 และ 9 และเมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการละลายฟอสเฟตเมื่อแปรผันความเป็นกรด-ด่าง พบว่าในแต่ละความ

เป็นกรด-ด่างให้ผลไม่แตกต่างกันมากนัก โดยในวันที่ 2 ถึงวันที่ 10 ของการเลี้ยงเชื้อที่ความเป็นกรด-ด่าง 5 สามารถละลายฟอสเฟตได้สูงสุด รองลงมาคือ ความเป็นกรด-ด่าง 6 7 8 และ 9 ตามลำดับ ส่วนในวันที่ 14 พบว่าที่ความเป็นกรด-ด่าง 7 สามารถละลายฟอสเฟตได้สูงสุด รองลงมาคือ ความเป็นกรด-ด่าง 6 5 9 และ 8 ตามลำดับ (รูปภาคผนวกที่ 16) โดยปริมาณฟอสเฟตในรูปสารละลายสูงสุดเมื่อแปรผันความเป็นกรด-ด่างเป็น 5 6 7 8 และ 9 อยู่ในวันที่ 14 ของการเลี้ยงเชื้อมีค่าเป็น 7.62 7.77 7.86 7.19 และ 7.43 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ และเมื่อวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติพบว่าในวันที่ 2 ถึงวันที่ 6 ของการเลี้ยงเชื้อปริมาณฟอสเฟตในรูปสารละลายที่ความเป็นกรด-ด่าง 5 สูงกว่าที่ความเป็นกรด-ด่าง 7 8 และ 9 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับที่ความเป็นกรด-ด่าง 6 ส่วนในวันที่ 10 ของการเลี้ยงเชื้อที่ความเป็นกรด-ด่าง 5 มีปริมาณฟอสเฟตในรูปสารละลายสูงกว่าที่ความเป็นกรด-ด่าง 8 และ 9 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ไม่มีความแตกต่างจากที่ความเป็นกรด-ด่าง 6 และ 7 อย่างมีนัยสำคัญ และในวันที่ 14 ของการเลี้ยงเชื้อพบว่าที่ความเป็นกรด-ด่าง 7 มีปริมาณฟอสเฟตในรูปสารละลายสูงกว่าที่ความเป็นกรด-ด่าง 5 8 และ 9 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับที่ความเป็นกรด-ด่าง 6 และเมื่อเปรียบเทียบระยะเวลาในการบ่มเชื้อ พบว่าที่เวลา 2 6 10 และ 14 วัน มีปริมาณฟอสเฟตในรูปสารละลายแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญในทุกระดับค่าความเป็นกรด-ด่าง (ตารางที่ 21)

ตารางที่ 21 ผลการวิเคราะห์ประสิทธิภาพในการละลายฟอสเฟตจากปริมาณฟอสเฟตในรูปสารละลายของแบคทีเรียสายพันธุ์ N1 เมื่อเลี้ยงเชื้อในอาหารเหลวปราศจากไนโตรเจนที่มีไตรแคลเซียมฟอสเฟตเป็นแหล่งฟอสฟอรัส มีกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน และแปรผันค่าความเป็นกรด-ด่างเป็น 5 6 7 8 และ 9 บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 14 วัน

วันที่	ปริมาณฟอสเฟตในรูปสารละลาย ที่ค่าความเป็นกรด-ด่างต่างกัน (μg/ml)				
	pH 5	pH 6	pH 7	pH 8	pH 9
2	0.90 a (d)	0.84 ab (d)	0.75 bc (d)	0.72 bc (d)	0.66 c (d)
6	3.52 a (c)	3.40 ab (c)	3.19 bc (c)	3.19 bc (c)	3.04 c (c)
10	6.23 a (b)	6.05 ab (b)	5.02 ab (b)	5.87 b (b)	5.51 c (b)
14	7.62 b (a)	7.77 ab (a)	7.86 a (a)	7.19 d (a)	7.43 c (a)

หมายเหตุ เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยตามอักษรในแนวนอน ตัวเลขที่มีอักษรกำกับด้านขวาที่ต่างกัน แสดงว่าค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกัน ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยตามอักษรในแนวตั้ง ตัวเลขที่มีอักษรในวงเล็บกำกับด้านขวาที่ต่างกัน แสดงว่าค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกัน ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

แบคทีเรียสายพันธุ์ M2 มีอัตราการละลายฟอสเฟตเพิ่มขึ้นตั้งแต่วันที่ 2 ถึงวันที่ 14 ของการเลี้ยงเชื้อ เมื่อแปรผันความเป็นกรด-ด่างในอาหารเลี้ยงเชื้อเป็น 5 6 7 8 และ 9 และเมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการละลายฟอสเฟตเมื่อแปรผันความเป็นกรด-ด่าง พบว่าในแต่ละความเป็นกรด-ด่างให้ผลในภาพรวมไม่แตกต่างกันมากนัก แต่มีลำดับประสิทธิภาพในการละลายฟอสเฟตในแต่ละวันของการเลี้ยงเชื้อแตกต่างกันดังนี้ วันที่ 2 และ 6 ของการเลี้ยงเชื้อที่ความเป็นกรด-ด่าง 5 สามารถละลายฟอสเฟตได้สูงสุด รองลงมาคือ ที่ความเป็นกรด-ด่าง 6 7 8 และ 9 ตามลำดับ ในวันที่ 10 ของการเลี้ยงเชื้อที่ความเป็นกรด-ด่าง 9 สามารถละลายฟอสเฟตได้สูงสุด รองลงมาคือ ที่ความเป็นกรด-ด่าง 5 7 8 และ 6 ตามลำดับ วันที่ 14 ของการเลี้ยงเชื้อที่ความเป็นกรด-ด่าง 7 สามารถละลายฟอสเฟตได้สูงสุด รองลงมาคือ ที่ความเป็นกรด-ด่าง 9 5 8 และ 6 ตามลำดับ (รูปภาคผนวกที่ 17) โดยปริมาณฟอสเฟตในรูปสารละลายสูงสุดที่ความเป็นกรด-ด่าง 5 6 7 8 และ 9 อยู่ในวันที่ 14 ของการเลี้ยงเชื้อมีค่าเป็น 5.36 5.09 5.48 5.15 และ 5.39 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ และเมื่อวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติพบว่าในวันที่ 2 ของการเลี้ยงเชื้อปริมาณฟอสเฟตในรูปสารละลายที่ความเป็นกรด-ด่าง 5 สูงกว่าที่ความเป็นกรด-ด่าง 9 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับที่ความเป็นกรด-ด่าง 6 7 และ 8 ในวันที่ 6 ของการเลี้ยงเชื้อที่ความเป็นกรด-ด่าง 5 มีปริมาณฟอสเฟตในรูปสารละลายสูงสุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนในวันที่ 10 ของการเลี้ยงเชื้อที่ความเป็นกรด-ด่าง 9 มีปริมาณฟอสเฟตในรูปสารละลายสูงสุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และในวันที่ 14 ของการเลี้ยงเชื้อพบว่าที่ความเป็นกรด-ด่าง 7 มีปริมาณฟอสเฟตในรูปสารละลายสูงกว่าที่ความเป็นกรด-ด่าง 6 และ 8 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับที่ความเป็นกรด-ด่าง 5 และ 9 และเมื่อเปรียบเทียบระยะเวลาในการบ่มเชื้อ พบว่าที่เวลา 2 6 10 และ 14 วัน มีปริมาณฟอสเฟตในรูปสารละลายแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญในทุกระดับค่าความเป็นกรด-ด่าง (ตารางที่ 22)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 22 ผลการวิเคราะห์ประสิทธิภาพในการละลายฟอสเฟตจากปริมาณฟอสเฟตในรูปสารละลายของแบคทีเรียสายพันธุ์ M2 เมื่อเลี้ยงเชื้อในอาหารเหลวปราศจากไนโตรเจนที่มีไตรแคลเซียมฟอสเฟตเป็นแหล่งฟอสฟอรัส มีกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน และแปรผันค่าความเป็นกรด-ด่างเป็น 5 6 7 8 และ 9 บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 14 วัน

วันที่	ปริมาณฟอสเฟตในรูปสารละลาย ที่ค่าความเป็นกรด-ด่างต่างกัน (µg/ml)				
	pH 5	pH 6	pH 7	pH 8	pH 9
2	0.60 a (d)	0.54 ab (d)	0.51 ab (d)	0.51 ab (d)	0.48 b (d)
6	1.87 a (c)	1.72 b (c)	1.66 bc (c)	1.63 bc (c)	1.60 c (c)
10	3.04 b (b)	2.92 b (b)	2.98 b (b)	2.92 b (b)	3.19 a (b)
14	5.36 ab (a)	5.09 c (a)	5.48 a (a)	5.15 bc (a)	5.39 ab (a)

หมายเหตุ เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยตามอักษรในแนวนอน ตัวเลขที่มีอักษรกำกับด้านขวาที่ต่างกัน แสดงว่าค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกัน ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05
เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยตามอักษรในแนวตั้ง ตัวเลขที่มีอักษรในวงเล็บกำกับด้านขวาที่ต่างกัน แสดงว่าค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกัน ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

แบคทีเรียสายพันธุ์ S54 มีอัตราการละลายฟอสเฟตเพิ่มขึ้นตั้งแต่วันที่ 2 ถึงวันที่ 14 ของการเลี้ยงเชื้อเมื่อแปรผันความเป็นกรด-ด่างในอาหารเลี้ยงเชื้อเป็น 5 6 7 8 และ 9 และเมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการละลายฟอสเฟตเมื่อแปรผันความเป็นกรด-ด่าง พบว่าในแต่ละความเป็นกรด-ด่างให้ผลในภาพรวมไม่แตกต่างกันมากนัก โดยมีลำดับความสามารถในการละลายฟอสเฟตในแต่ละวันของการเลี้ยงเชื้อต่างกันดังนี้ คือ วันที่ 2 ของการเลี้ยงเชื้อที่ความเป็นกรด-ด่าง 5 สามารถละลายฟอสเฟตได้สูงสุด รองลงมาคือ ความเป็นกรด-ด่าง 6 7 8 และ 9 ตามลำดับ ในวันที่ 6 ของการเลี้ยงเชื้อที่ความเป็นกรด-ด่าง 8 สามารถละลายฟอสเฟตได้สูงสุด รองลงมาคือ ความเป็นกรด-ด่าง 5 6 7 และ 9 ตามลำดับ ในวันที่ 10 ของการเลี้ยงเชื้อที่ความเป็นกรด-ด่าง 5 สามารถละลายฟอสเฟตได้สูงสุด รองลงมาคือความเป็นกรด-ด่าง 9 6 7 และ 8 ตามลำดับ วันที่ 14 ของการเลี้ยงเชื้อที่ความเป็นกรด-ด่าง 5 สามารถละลายฟอสเฟตได้สูงสุด รองลงมาคือ ความเป็นกรด-ด่าง 7 9 8 และ 6 ตามลำดับ (รูปที่ภาคผนวกที่ 18) โดยปริมาณฟอสเฟตในรูปสารละลายสูงสุดเมื่อแปรผันความเป็นกรด-ด่างเป็น 5 6 7 8 และ 9 ในวันที่ 14 ของการเลี้ยงเชื้อมีค่าเป็น 6.47 5.72 6.02 5.78 และ 5.96 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ และเมื่อวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติพบว่าในวันที่ 2 ของการเลี้ยงเชื้อปริมาณฟอสเฟตที่ละลายได้เมื่อความเป็นกรด-ด่างเป็น 5 สูงกว่าเมื่อที่ความเป็นกรด-ด่าง 7 8 และ 9 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับที่ความเป็นกรด-ด่าง 6 ส่วนในวันที่ 6 ของ

การเลี้ยงเชื้อพบว่าที่ความเป็นกรด-ด่าง 8 มีฟอสเฟตในรูปสารละลายสูงกว่าที่ความเป็นกรด-ด่าง 6 7 และ 9 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับที่ความเป็นกรด-ด่าง 5 ในวันที่ 10 และ 14 ของการเลี้ยงเชื้อพบว่าที่ความเป็นกรด-ด่าง 5 มีปริมาณฟอสเฟตในรูปสารละลายสูงกว่าเมื่อเทียบกับที่ความเป็นกรด-ด่าง 6 7 8 และ 9 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และเมื่อเปรียบเทียบระยะเวลาในการบ่มเชื้อพบว่าที่เวลา 2 6 10 และ 14 วันมีปริมาณฟอสเฟตในรูปสารละลายแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ในทุกระดับค่าความเป็นกรด-ด่าง (ตารางที่ 23)

ตารางที่ 23 ผลการวิเคราะห์ประสิทธิภาพในการละลายฟอสเฟตจากปริมาณฟอสเฟตในรูปสารละลายของแบคทีเรียสายพันธุ์ S54 เมื่อเลี้ยงเชื้อในอาหารเหลวปราศจากไนโตรเจนที่มีไตรแคลเซียมฟอสเฟตเป็นแหล่งฟอสฟอรัส มีกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน และแปรผันค่าความเป็นกรด-ด่างเป็น 5 6 7 8 และ 9 บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 14 วัน

วันที่	ปริมาณฟอสเฟตในรูปสารละลาย ที่ค่าความเป็นกรด-ด่างต่างกัน (µg/ml)				
	pH 5	pH 6	pH 7	pH 8	pH 9
2	0.72 a (d)	0.69 a (d)	0.57 b (d)	0.54 b (d)	0.39 c (d)
6	2.44 a (c)	2.23 b (c)	2.08 bc (c)	2.44 a (c)	1.99 c (c)
10	4.09 a (b)	3.64 b (b)	3.55 bc (b)	3.43 c (b)	3.67 b (b)
14	6.47 a (a)	5.72 c (a)	6.02 b (a)	5.78 bc (a)	5.96 bc (a)

หมายเหตุ เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยตามอักษรในแนวนอน ตัวเลขที่มีอักษรกำกับด้านขวาที่ต่างกัน แสดงว่าค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกัน ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยตามอักษรในแนวตั้ง ตัวเลขที่มีอักษรในวงเล็บกำกับด้านขวาที่ต่างกัน แสดงว่าค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกัน ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

3.3 สรุปสภาวะที่เหมาะสมต่อการตรึงไนโตรเจนและละลายฟอสเฟตของแบคทีเรียสายพันธุ์ N1 M2 และ S54

จากผลการทดลองการแปรผันปัจจัยที่มีผลต่อประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนและการละลายฟอสเฟตของแบคทีเรียสายพันธุ์ N1 M2 และ S54 ในข้อ 3.1 และ 3.2 สามารถสรุปสภาวะที่เหมาะสมต่อการตรึงไนโตรเจนและละลายฟอสเฟตของแบคทีเรียทั้ง 3 สายพันธุ์ได้ดังนี้

3.3.1 สภาวะที่เหมาะสมต่อการตรึงไนโตรเจน

เมื่อแปรผันปัจจัยที่มีผลต่อประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนของแบคทีเรียสายพันธุ์ N1 M2 และ S54 พบว่าแบคทีเรียทั้ง 3 สายพันธุ์ต้องการสภาวะที่เหมาะสมเหมือนกันในการตรึงไนโตรเจนได้ดีที่สุด ได้แก่ เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้กลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน ไม่เติมแหล่งไนโตรเจน ค่าความเป็นกรด-ด่าง 7 และบ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส (ตารางที่ 24) และแบคทีเรียที่มีประสิทธิภาพมากที่าดในการตรึงไนโตรเจนได้ดีที่สุดในทุกการทดลอง คือ แบคทีเรียสายพันธุ์ N1

ตารางที่ 24 สรุปสภาวะที่เหมาะสมต่อการตรึงไนโตรเจนของแบคทีเรียสายพันธุ์ N1 M2 และ S54

สายพันธุ์	สภาวะที่เหมาะสมต่อการตรึงไนโตรเจน			
	แหล่งคาร์บอน	แหล่งไนโตรเจน	อุณหภูมิ (°C)	ความเป็นกรด-ด่าง
N1	กลูโคส	ไม่เติมแหล่งไนโตรเจน	30	7
M2	กลูโคส	ไม่เติมแหล่งไนโตรเจน	30	7
S54	กลูโคส	ไม่เติมแหล่งไนโตรเจน	30	7

3.3.2 สภาวะที่เหมาะสมต่อการละลายฟอสเฟต

เมื่อแปรผันปัจจัยที่มีผลต่อประสิทธิภาพการละลายฟอสเฟตของแบคทีเรียสายพันธุ์ N1 M2 และ S54 พบว่าแบคทีเรียทั้ง 3 สายพันธุ์ต้องการสภาวะที่เหมาะสมในการละลายฟอสเฟตได้ดีที่สุดที่เหมือนกัน คือ ใช้กลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน ใช้แอมโมเนียมคลอไรด์เป็นแหล่งไนโตรเจน ค่าความเป็นกรด-ด่าง 7 ส่วนสภาวะที่ทั้ง 3 สายพันธุ์ต้องการแตกต่างกัน คือ แบคทีเรียสายพันธุ์ N1 และ S54 ใช้อุณหภูมิในการบ่มเชื้อที่ 30 องศาเซลเซียส แต่แบคทีเรียสายพันธุ์ M2 ใช้อุณหภูมิในการบ่มเชื้อที่ 40 องศาเซลเซียส (ตารางที่ 25) และแบคทีเรียที่มีประสิทธิภาพในการละลายฟอสเฟตได้ดีที่สุดในทุกการทดลอง คือ แบคทีเรียสายพันธุ์ N1

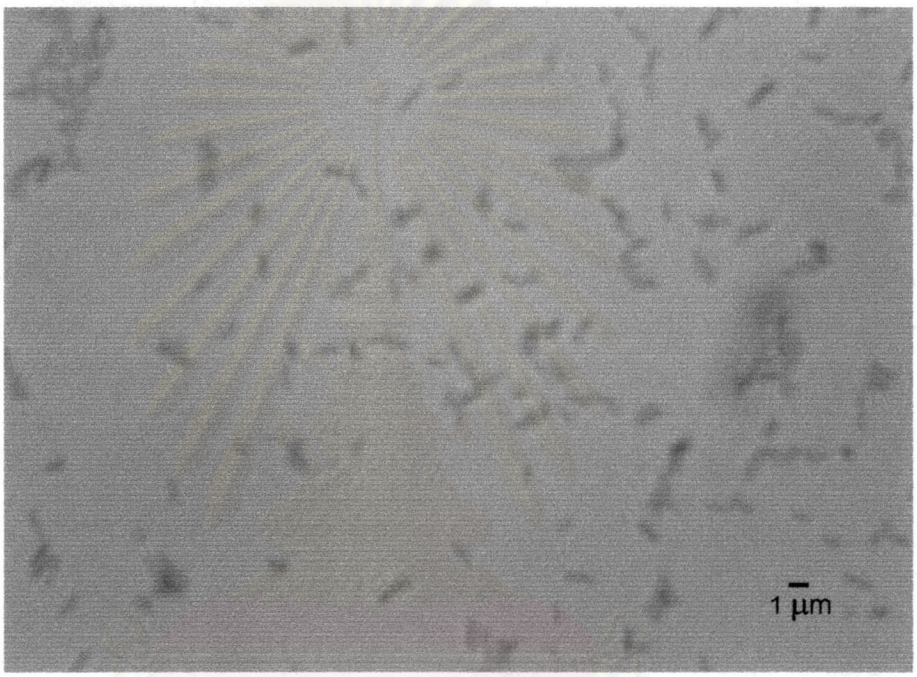
ตารางที่ 25 สรุปสภาวะที่เหมาะสมต่อการละลายฟอสเฟตของแบคทีเรียสายพันธุ์ N1 M2 และ S54

สายพันธุ์	สภาวะที่เหมาะสมต่อการละลายฟอสเฟต			
	แหล่งคาร์บอน	แหล่งไนโตรเจน	อุณหภูมิ (°C)	ความเป็นกรด-ด่าง
N1	กลูโคส	NH_4Cl	30	5
M2	กลูโคส	NH_4Cl	40	5
S54	กลูโคส	NH_4Cl	30	5

4. การตรวจสอบลักษณะและคุณสมบัติของแบคทีเรียที่คัดเลือกได้

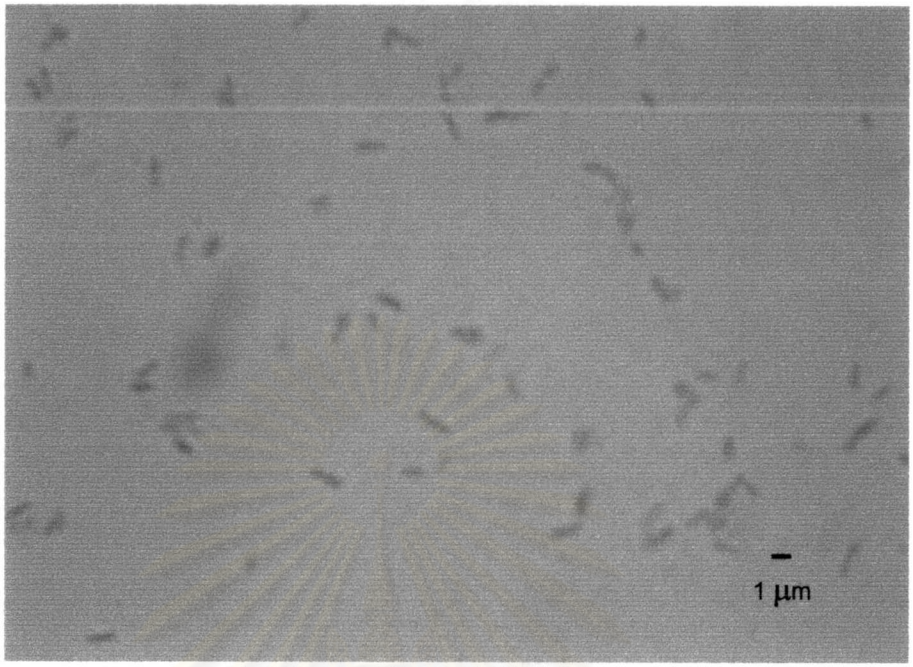
4.1 ผลการตรวจสอบลักษณะทางสัณฐานวิทยา ภายใต้กล้องจุลทรรศน์

จากผลการคัดเลือกแบคทีเรียที่มีประสิทธิภาพสูงในการตรึงไนโตรเจนและละลายฟอสเฟตคือ สายพันธุ์ N1 M2 และ S54 นำมาศึกษารูปร่างและการย้อมติดสีแกรมของเซลล์แบคทีเรียโดยส่องกล้องจุลทรรศน์ พบว่าแบคทีเรียทั้ง 3 สายพันธุ์มีลักษณะเหมือนกันคือ มีรูปร่างแท่ง ย้อมติดสีแกรมลบ (รูปที่ 4, 5 และ 6)

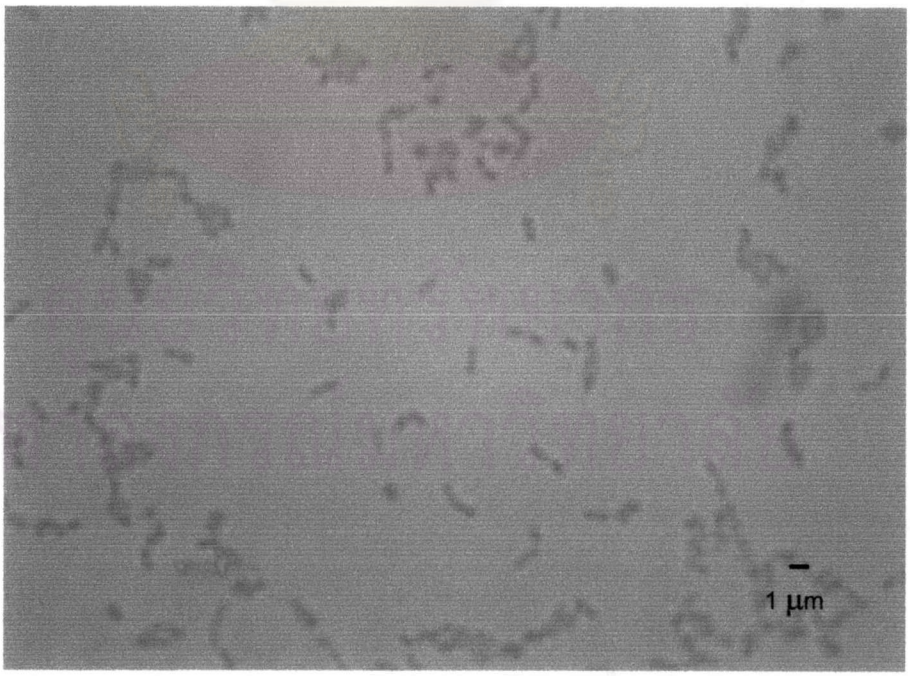


รูปที่ 4 ลักษณะของเซลล์และการย้อมติดสีแกรมของแบคทีเรียสายพันธุ์ N1 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ กำลังขยาย 2,500 เท่า

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 5 ลักษณะของเซลล์และการย้อมติดสีแกรมของแบคทีเรียสายพันธุ์ M2 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 2,500 เท่า



รูปที่ 6 ลักษณะของเซลล์และการย้อมติดสีแกรมของแบคทีเรียสายพันธุ์ S54 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 2,500 เท่า

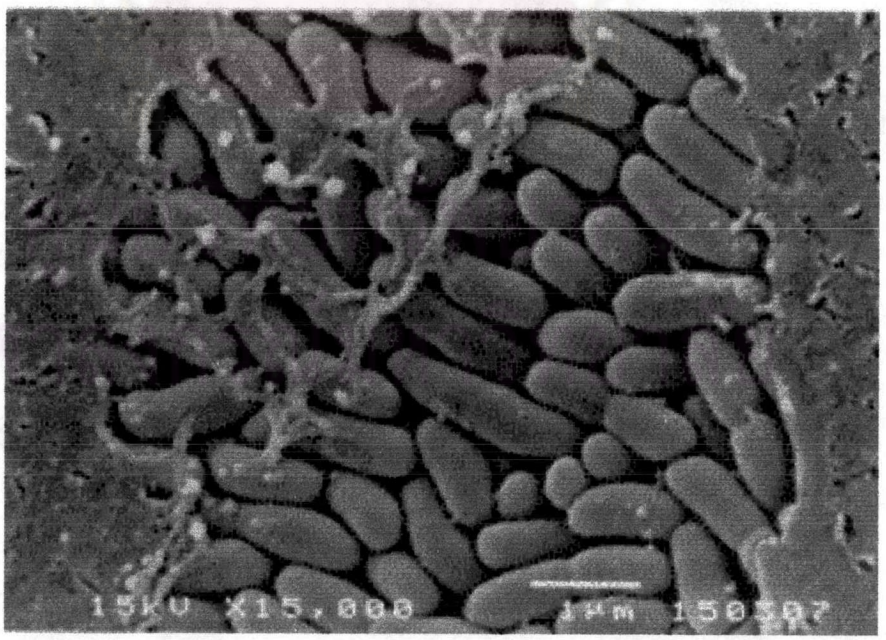
4.2 ผลการตรวจสอบลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเซลล์ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนแบบส่องกราด (SEM)

โดยการนำแบคทีเรียสายพันธุ์ N1 M2 และ S54 เลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อปราศจากไนโตรเจนอายุ 3 วัน มาเตรียมตัวอย่างแล้วส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนแบบส่องกราดกำลังขยาย 15,000 เท่า และถ่ายภาพด้วยกล้อง Maniya รุ่น RB67 Pro SD120 พบว่าแบคทีเรียทั้ง 3 สายพันธุ์มีลักษณะดังนี้

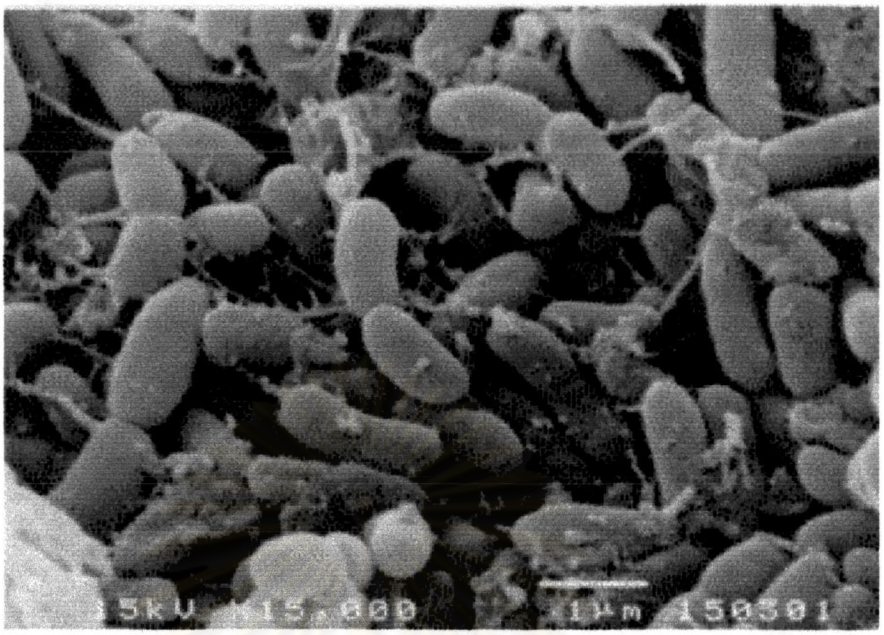
แบคทีเรียสายพันธุ์ N1 มีเซลล์รูปแท่งโค้งเล็กน้อย ปลายมน ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเซลล์ประมาณ 0.5 ไมโครเมตร ยาว 1-2.5 ไมโครเมตร เป็นเซลล์เดี่ยว มีการสร้างเมือก ปกคลุมโคโลนี โดยเฉพาะบริเวณส่วนบนของโคโลนีมีเมือกปกคลุมอย่างหนาทึบ จนมองไม่เห็นตัวเซลล์บนพื้นผิวส่วนใหญ่ของโคโลนี นอกจากบริเวณพื้นผิวบางส่วนของโคโลนีที่มีการหลุดลอกของเมือก ซึ่งแสดงให้เห็นว่าเซลล์มีลักษณะการเรียงตัวอย่างหนาแน่น ดังรูปที่ 7

แบคทีเรียสายพันธุ์ M2 มีเซลล์รูปแท่งโค้งเล็กน้อย ปลายมน ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเซลล์ประมาณ 0.5-0.7 ไมโครเมตร ยาว 0.7-1.5 ไมโครเมตร เป็นเซลล์เดี่ยว มีการสร้างเมือกปกคลุมโคโลนีจนมองไม่เห็นเซลล์ในบริเวณส่วนบนของโคโลนี แต่บริเวณฐานของโคโลนีการสร้างเมือกน้อยกว่า ทำให้เซลล์มีลักษณะการเรียงตัวไม่หนาแน่นมากนัก ดังรูปที่ 8

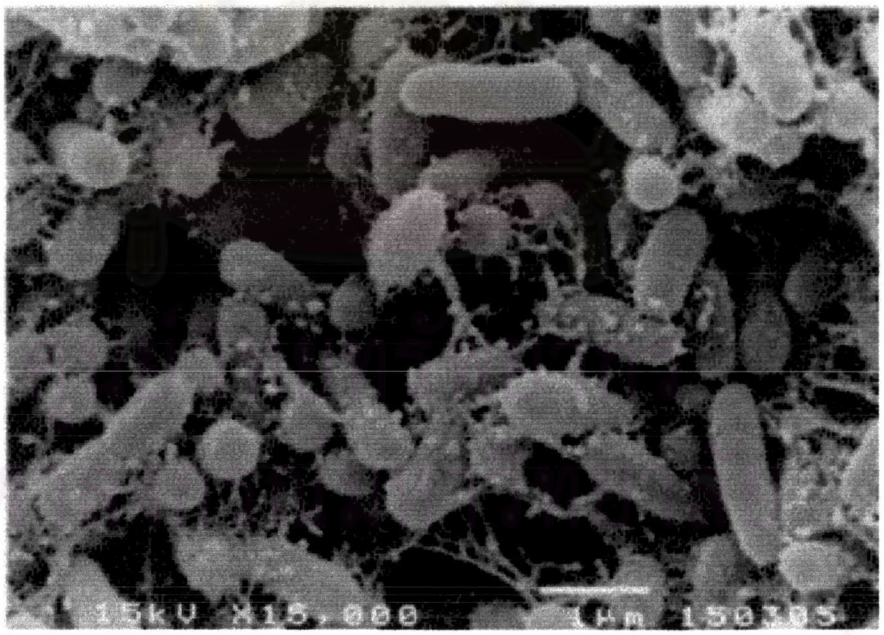
แบคทีเรียสายพันธุ์ S54 มีเซลล์รูปแท่งตรงหรือโค้งเล็กน้อย ปลายมน ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเซลล์ประมาณ 0.5 ไมโครเมตร ยาว 1-2 ไมโครเมตร เป็นเซลล์เดี่ยว มีการสร้างเมือกปกคลุมโคโลนี จนมองไม่เห็นเซลล์ในบริเวณส่วนบนของโคโลนี แต่บริเวณฐานของโคโลนีการสร้างเมือกน้อยกว่า ทำให้เซลล์มีลักษณะการเรียงตัวไม่หนาแน่นมากนัก ดังรูปที่ 9



รูปที่ 7 ภาพถ่ายแบคทีเรียสายพันธุ์ N1 อายุ 3 วัน จากกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนแบบส่องกราด กำลังขยาย 27,000 เท่า



รูปที่ 8 ภาพถ่ายแบคทีเรียสายพันธุ์ M2 อายุ 3 วัน จากกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนแบบส่องกราด กำลังขยาย 27,000 เท่า



รูปที่ 9 ภาพถ่ายแบคทีเรียสายพันธุ์ S54 อายุ 3 วัน จากกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนแบบส่องกราด กำลังขยาย 27,000 เท่า

4.3 ผลการทดสอบทางชีวเคมีของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่คัดเลือกได้

โดยนำแบคทีเรียสายพันธุ์ N1 M2 และ S54 มาทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมีเบื้องต้น ได้แก่ การเคลื่อนที่ กิจกรรมของเอนไซม์คะตะเลสและออกซิเดส ไนเตรทรีดักเทสและไนไตรท์รีดักเทส การทดสอบอินโดล MR-VP การใช้ซิเตรท การย่อยแป้ง การย่อยเจลาติน การสร้าง H_2S การใช้น้ำตาลชนิดต่างๆ ตามวิธีการทดสอบในบทที่ 3 ข้อ 4.3 ได้ผลดังตารางที่ 26

ตารางที่ 26 แสดงลักษณะและคุณสมบัติจากการทดสอบทางชีวเคมีของแบคทีเรีย N1, M2 และ S54

คุณสมบัติ	แบคทีเรีย		
	สายพันธุ์ N1	สายพันธุ์ M2	สายพันธุ์ S54
colony color	สีครีม	สีครีม	สีเหลือง
mucoid growth on nutrient agar	+	+	+
gram	-	-	-
shape	rod	rod	rod
endospore	-	-	-
cyst	-	-	-
motile	+	+	+
catalase	-	+	-
oxidase	-	-	+
starch hydrolysis	+	+	+
gelatin hydrolysis	-	-	-
indole	-	-	-
MR	-	-	-
VP	-	-	-
citrate utilization	-	-	-
nitrate ⟶ nitrite	+	+	+
H_2S production	-	-	-
Utilization of carbon source			
Glucose	+	+	+
Galactose	+	+	+
Mannitol	-	-	-
Fructose	+	+	+
Sucrose	-	-	-
Maltose	-	-	-
Lactose	-	-	-