การสร้างกล้าเชื้อในวัสดุพาหะเพื่อเสริมการรอดชีวิตของกลุ่มแบคทีเรีย STKในดินที่ปนเปื้อนไพรีน

นางสาววิธัญญา ชวเจริญพันธ์

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาจุลชีววิทยาทางอุตสาหกรรม ภาควิชาจุลชีววิทยา
คณะวิทยาศาตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2549
ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ESTABLISHMENT OF INOCULUM IN CARRIER MATERIALS FOR ENHANCING SURVIVAL OF BACTERIAL CONSORTIUM STK IN PYRENE CONTAMINATED SOIL

Miss Vithanya Chawagarernpun

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements

for the Degree of Master of Science Program in Industrial Microbiology

Department of Microbiology

Faculty of Science

Chulalongkorn University

Academic Year 2006

Copyright of Chulalongkorn University

491527

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การสร้างกล้าเชื้อในวัสดุพาหะเพื่อเสริมการรอดชีวิตของกลุ่มแบคทีเรีย STK ในดินที่ปนเปื้อนไพรีน
โดย	นางสาววิธัญญา ชวเจริญพันธ์
สาขาวิชา	จุลชีววิทยาทางอุตสาหกรรม
อาจารย์ที่ปรึกษา	รองศาสตราจารย์ ดร. กาญจณา จันทองจีน

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

..... คณบดีคณะวิทยาศาสตร์

(ศาสตราจารย์ ดร. เปี่ยมศักดิ์ เมนะเศวต)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุเทพ ธนียวัน)

..... อาจารย์ที่ปรึกษา

(รองศาสตราจารย์ ดร. กาญจณา จันทองจีน)

..... กรรมการ

(รองศาสตราจารย์ ดร. ไพเราะ ปิ่นพานิชการ)

.....กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. กอบชัย ภัทรกุลวณิชย์)

.....กรรมการ

(อาจารย์ ดร. เอกวัล ลือพร้อมชัย)

วิธัญญา ชวเจริญพันธ์ : การสร้างกล้าเชื้อในวัสดุพาหะเพื่อเสริมการรอดชีวิตของกลุ่มแบคทีเรีย STK ในดินที่ปนเปื้อนไพรีน (ESTABLISHMENT OF INOCULUM IN CARRIER MATERIALS FOR ENHANCING SURVIVAL OF BACTERIAL CONSORTIUM STK IN PYRENE CONTAMINATED SOIL)
อ.ที่ปรึกษา : รศ.ดร. กาญจณา จันทองจีน, 96 หน้า.

กลุ่มแบคทีเรีย STK ซึ่งประกอบด้วยสกุล *Zoogloea* sp., *Stenotrophomonas* sp. และ *Mesorhizobium* sp. เป็นกลุ่มแบคทีเรียที่มีสมบัติไฮโดรโฟบิกสูง สามารถย่อยสลายและใช้ไพรีนเป็นแหล่งคาร์บอนและพลังงานได้ งานวิจัยนี้ได้ทดลองสร้างกล้าเชื้อแบคทีเรียนี้ในวัสดุพาหะปลอดเชื้อ ซึ่งประกอบด้วย เปลือกถั่ว เศษใบไม้ชนิดต่างๆ ใบมะขามและสารเร่ง พด.1 โดยเลี้ยง STK ในวัสดุพาหะที่เติมไพรีนเข้มข้น 100 พีพีเอ็ม ปรับความชื้นให้ได้ 70% ของความจุสูงสุดในการอุ้มน้ำ บ่มไว้ที่อุณหภูมิ 30°ซ ในที่มืด ทุกๆ 7 วัน นำตัวอย่างจากชุดทดลองและชุดควบคุมซึ่งไม่เติมกลุ่มแบคทีเรีย STK ไปนับการเจริญของ STK บนอาหารเลี้ยงเชื้อและนำไปสกัดและวิเคราะห์ปริมาณไพรีนด้วยวิธี HPLC เพื่อคัดเลือกวัสดุที่ให้การเจริญและสามารถย่อยสลายไพรีนได้ดี พบว่า วันที่ 14 ของการทดลอง STK ที่เลี้ยงในเปลือกถั่วและเศษใบไม้ชนิดต่างๆสามารถเจริญได้อย่างรวดเร็วและย่อยสลายไพรีนได้ 50% ของปริมาณไพรีนเริ่มต้น ส่วน STK ที่เลี้ยงในใบมะขามและสารเร่ง พด.1 เจริญและย่อยสลายไพรีนได้น้อยกว่า จึงนำ STK มาเลี้ยงในเปลือกถั่วและเศษใบไม้ชนิดต่างๆ โดยใช้สภาวะเดียวกับการทดลองก่อนหน้านี้ โดยแบ่งการทดลองออกเป็น 2 ส่วน ส่วนที่ 1 ทดลองเลี้ยงกล้าเชื้อแบคทีเรีย เป็นเวลา 6 เดือน โดยนับจำนวนสมาชิกในกลุ่ม STK ทุกๆ 20 วัน เพื่อประเมินการมีชีวิต พบว่า STK สามารถเพิ่มจำนวนและมีจำนวนคงเดิม เป็นเวลา 60 วัน จากนั้นจะลดจำนวนลงอย่างช้าๆ และพบว่า *Stenotrophomonas* sp. เพิ่มจำนวนได้มากกว่า *Zoogloea* sp.และ *Mesorhizobium* sp. ซึ่งมีการเพิ่มจำนวนใกล้เคียงกัน ส่วนที่ 2 การใช้กล้าเชื้อแบคทีเรียในการบำบัดการปนเปื้อนของไพรีนที่มีความเข้มข้น100 และ1000 พีพีเอ็ม ในดินโดยย่อยสลายในสภาวะ solid และ slurry บ่มไว้ที่อุณหภูมิ 30°ซ ในที่มืด พบว่า ในดินสภาวะ solid ที่มีไพรีน 100 และ 1000 พีพีเอ็ม แบคทีเรีย STK ที่เลี้ยงในเปลือกถั่ว มีจำนวนเพิ่มมากขึ้นและย่อยสลายไพรีนได้ 78 และ 54% ของปริมาณไพรีนเริ่มต้น ตามลำดับ ภายใน 60 วัน ส่วนในดินสภาวะ slurry ที่มีไพรีน 100 พีพีเอ็ม พบว่า แบคทีเรีย STK ที่เลี้ยงในเปลือกถั่วเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วและสามารถย่อยสลายไพรีนโดยตรวจไม่พบไพรีนภายใน 10 วัน และในวันเดียวกันที่ความเข้มข้น 1000 พีพีเอ็ม STK เพิ่มขึ้นอย่างช้าๆและสามารถย่อยสลายไพรีนได้ 72 % ของปริมาณไพรีนเริ่มต้น

ภาควิชา จุลชีววิทยา ลายมือชื่อนิสิต วิธัญญา ชวเจริญพันธ์
สาขาวิชา จุลชีววิทยาทางอุตสาหกรรม ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา
ปีการศึกษา 2549

4772473823 : MAJOR INDUSTRIAL MICROBIOLOGY

KEYWORD: bacteria consortium/ biodegradation/ pyrene/ carrier materials / soil

VITHANYA CHVAJARERNPUN : ESTABLISHMENT OF INOCULUM IN CARRIER MATERIALS FOR ENHANCING SURVIVAL OF BACTERIAL CONSORTIUM STK IN PYRENE CONTAMINATED SOIL. THESIS ADVISOR: ASSOC. PROF. KANCHANA JUNTONGJIN, Ph.D, 96 pp.

A bacterial consortium STK consisting of *Zoogloea* sp., *Stenotrophomonas* sp. and *Mesorhizobium* sp., possesses high hydrophobic property and capability of degrading and utilizing pyrene as a carbon and energy source. The research aimed to establish a bacterial inoculum in the sterile carrier material including peanut shell , mixed leaves , tamarind leaves and compost starter material (Por Dor 1). The STK consortium was inoculated into the carrier materials containing 100 ppm pyrene adjusted 70 % of water holding capacity and incubated at 30°C in the dark. Samples from experimental set and control (without STK consortium) were collected and observed cell numbers of the STK and pyrene degradative activity by HPLC analysis. The carrier that facilitated a good growth and pyrene degradative ability was selected for further treatment of pyrene contaminated soil. Both materials from peanut shell and mixed leaves were found to be good supporting for growth and enable STK to degrade 50 % pyrene in 14 days. While the other materials, tamarind leaves and compost starter material provided lower results. The STK consortium was inoculated into peanut shell or mixed leaves for construction of the inoculums by using the same conditions as above. The first part of the experiment , the constructed inoculums were incubated and observed the cell numbers of each member of the STK every 20 days for six months. It was found that cell number of the STK consortium was increased and stable until 60 days of incubation subsequently gradually decreased. Cell number of *Stenotrophomonas* sp. was found to increase more than those of *Zoogloea* sp. and *Mesorhizobium* sp. The second part was utilization of the constructed inoculum in biodegradation of pyrene spiked in the soil at concentrations of 100 and 1000 ppm under solid state and slurry conditions at 30°C in the dark. The result was found that under solid state condition with 100 or 1000 ppm pyrene , cell numbers of the STK from the peanut shell were increased and able to degrade 78% and 54 % pyrene within 60 days, respectively. Under slurry condition with 100 ppm pyrene, cell number of the STK from the peanut shell inoculum was rapidly increased and pyrene was degraded to an undetectable level within 10 days, likewise at the same day in 1000 ppm pyrene, the growth of STK was found to be slower and pyrene degradation was lower to be 72%.

Department Microbiology Student's Signature Vithanya Chavajarernpun

Field of Study Industrial Microbiology Advisor's Signature Kanchana Juntongjin

Academic Year 2006

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จเสร็จสิ้นอย่างสมบูรณ์ด้วยดี โดยความช่วยเหลืออย่างดียิ่งของรองศาสตราจารย์ ดร.กาญจณา จันทองจีน อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ที่ได้กรุณาถ่ายทอดความรู้ คำแนะนำและข้อคิดเห็นต่างๆ ตลอดจนตรวจแก้ไขต้นฉบับวิทยานิพนธ์ให้ถูกต้องครบถ้วนสมบูรณ์ ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณอย่างสูงไว้ ณ ที่นี้

ขอกราบขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุเทพ ธนียวัน ที่ให้เกียรติรับเป็นประธานกรรมการในการสอบป้องกันวิทยานิพนธ์ ตลอดจนให้ความรู้ คำแนะนำต่างๆ และตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์ให้มีความสมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอกราบขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ ดร. ไพเราะ ปิ่นพานิชการ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. กอบชัย ภัทรกุลวณิชย์ และอาจารย์ ดร. เอกวัล ลือพร้อมชัย เป็นอย่างสูงที่กรุณารับเป็นกรรมการในการสอบ ตลอดจนให้ความรู้ คำแนะนำต่างๆ และช่วยกรุณาตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์ให้มีความสมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอกราบขอบพระคุณคณาจารย์ทุกท่านในภาควิชาจุลชีววิทยาฯ กรุณาให้ความรู้ และคำแนะนำต่างๆ แก่ผู้วิจัยในการดำเนินการวิจัย จนสำเร็จลุล่วงด้วยดี

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ในภาควิชาจุลชีววิทยาทุกท่าน ที่มีส่วนช่วยเหลือและให้กำลังใจตลอดมา

ขอขอบคุณ นางสาวณฤดี อัศวเสรีเลิศ , นางสาวกานต์รวี แก้วขาว , นางสาวปิโยบล คอนรัตน์ และนายพรรษ พุ่มประเสริฐ ตลอดจนพี่ๆ เพื่อนๆ ห้อง 462(OE) , 448 , 449 ทุกคน

สุดท้ายขอกราบขอบพระคุณบิดา มารดา และพี่ชายทั้ง 2 คน ที่ให้การสนับสนุนและความช่วยเหลือตลอดจนกำลังใจแก่ผู้วิจัยเสมอมา

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	จ
กิตติกรรมประกาศ	ฉ
สารบัญ	ช
สารบัญตาราง	ฎ
สารบัญภาพ	ฎ
บทที่ 1 บทนำ	1
บทที่ 2 ปริทัศน์วรรณกรรม	4
บทที่ 3 อุปกรณ์ เคมีภัณฑ์ และวิธีดำเนินการวิจัย	26
3.1 เตรียมวัสดุพาหะ (carrier materials) และดิน	29
3.1.1 การเก็บตัวอย่าง	29
3.1.1.1 วัสดุพาหะที่ใช้ในการทดลอง ได้แก่ เปลือกถั่ว ใบมะขาม เศษใบไม้ชนิด ต่างๆ และสารเร่ง พด.1	29
3.1.1.2 ดินที่ใช้ในการทดลอง	29
3.1.2 การเตรียมตัวอย่างเพื่อวิเคราะห์และใช้ในการทดลอง	29
3.1.3 การวิเคราะห์ตัวอย่าง	31
3.2 เตรียมกลุ่มแบคทีเรีย STK เพื่อเพาะเลี้ยงในวัสดุพาหะ	31
3.2.1 การเลี้ยงกลุ่มแบคทีเรีย STKใน Carbon Free Mineral Medium(CFMM)	31
3.3 คัดเลือกวัสดุพาหะที่ให้การเจริญและการอยู่รอดของกลุ่มแบคทีเรียSTK	32
3.3.1 การเลี้ยงกลุ่มแบคทีเรียในวัสดุพาหะ 4 ชนิด ประกอบด้วย เปลือกถั่ว เศษใบไม้ชนิดต่างๆ ใบมะขามและสารเร่ง พด.1	32
3.3.2 วัดการเจริญของแบคทีเรียด้วยวิธี viable plate count	34
3.3.3 หาปริมาณสาร PAHsที่เหลืออยู่ในดินหรือวัสดุพาหะ โดยวิธีสกัดดัดแปลงมาจากวิธีของ Juhaszและคณะ (1997)	34
3.3.4 การวิเคราะห์ปริมาณไพรีนที่เหลืออยู่ในวัสดุพาหะหรือดิน โดยวิธี HPLC	34
3.4 สร้างกล้าเชื้อแบคทีเรีย STK ในวัสดุพาหะที่คัดเลือกได้	35
3.5 บำบัดดินปนเปื้อนไพรีนด้วยกล้าเชื้อที่สร้างขึ้น	36

บทที่ หน้า

3.5.1 การย่อยสลายไพรีนในดินสภาวะ solid..... 36
3.5.2 การย่อยสลายไพรีนในดินสภาวะ slurry อัตราส่วนดิน 1 กรัมต่อ น้ำ 8.... 37
มิลลิลิตร (รุจา สารคุณ, 2548).....
บทที่ 4 ผลการทดลอง..... 39
4.1 ผลการวิเคราะห์ลักษณะทางกายภาพและองค์ประกอบทางเคมีของดินและวัสดุ 39
พาหะที่นำมาใช้ในการทดลอง.....
4.2 ผลการคัดเลือกวัสดุพาหะที่ให้การเจริญและการอยู่รอดของกลุ่มแบคทีเรีย STK 41
4.2.1 จำนวนกลุ่มแบคทีเรีย STK ในวัสดุพาหะ 4 ชนิด(เปลือกถั่ว เศษใบไม้ 41
ชนิดต่างๆ ใบมะขามและสารเร่ง พด.1).....
4.2.2 การย่อยสลายไพรีนในวัสดุพาหะ 4 ชนิด (เปลือกถั่ว เศษใบไม้ชนิดต่างๆ 42
ใบมะขาม และสารเร่ง พด.1) ของกลุ่มแบคทีเรีย STK.....
4.3 ผลของการสร้างกล้าเชื้อ STK ในวัสดุพาหะที่คัดเลือกได้..... 45
4.3.1 จำนวนแบคทีเรียทั้งหมดในเปลือกถั่วและเศษใบไม้ชนิดต่างๆ..... 45
4.3.2 การย่อยสลายไพรีนในเปลือกถั่วและเศษใบไม้ชนิดต่างๆของกลุ่ม..... 48
แบคทีเรีย STK.....
4.4 ผลของการบำบัดดินปนเปื้อนไพรีนด้วยกล้าเชื้อที่สร้างขึ้น..... 49
4.4.1 การศึกษาประสิทธิภาพการเจริญและการอยู่รอดร่วมกับการย่อยสลาย.... 49
ไพรีนในดินสภาวะ solid ของกล้าเชื้อแบคทีเรียในเปลือกถั่วและเศษใบไม้
ชนิดต่างๆ.....
4.4.1.1 จำนวนแบคทีเรียทั้งหมดในชุดการทดลองที่1(เติมกล้าเชื้อ..... 50
แบคทีเรียในเปลือกถั่วลงดินไม่ปลอดเชื้อที่ปนเปื้อนไพรีนที่มีความ
เข้มข้น 100 มก.ต่อ กก.ของดิน) และชุดควบคุม.....
4.4.1.2 การย่อยสลายไพรีนในดินที่มีความเข้มข้น 100 มก.ต่อ กก.ของดิน 52
โดยกล้าเชื้อที่เลี้ยงในเปลือกถั่ว.....
4.4.1.3 จำนวนแบคทีเรียทั้งหมดในชุดการทดลองที่2(เติมกล้าเชื้อแบคทีเรีย 53
ในเศษใบไม้ชนิดต่างๆลงดินไม่ปลอดเชื้อที่ปนเปื้อนไพรีนที่มีความ
เข้มข้น 100 มก.ต่อ กก.ของดิน) และชุดควบคุม.....
4.4.1.4 การย่อยสลายไพรีนในดินที่มีความเข้มข้น 100 มก.ต่อ กก.ของดิน 55
โดยกล้าเชื้อแบคทีเรียในเศษใบไม้ชนิดต่างๆ.....

บทที่ **หน้า**

4.4.1.5 จำนวนแบคทีเรียทั้งหมดในชุดการทดลองที่ 3 (เติมกล้าเชื้อ..... 56
แบคทีเรียในเปลือกถั่วลงดินไม่ปลอดเชื้อที่ปนเปื้อนไพรีนที่มีความ
เข้มข้น 1000 มก.ต่อ กก.ของดิน) และชุดควบคุม.....
4.4.1.6 การย่อยสลายไพรีนในดินที่มีความเข้มข้น 1000 มก.ต่อกก.ของดิน 58
โดยกล้าเชื้อแบคทีเรียในเปลือกถั่ว.....
4.4.2 การศึกษาประสิทธิภาพการเจริญและการอยู่รอดร่วมกับการย่อยสลาย... 59
ไพรีนในดินสภาวะ slurry อัตราส่วนดิน 1 กรัมต่อน้ำ 8 มิลลิลิตร ของ.....
กล้าเชื้อแบคทีเรียในเปลือกถั่วและเศษใบไม้ชนิดต่างๆ.....
4.4.2.1 จำนวนแบคทีเรียทั้งหมดในชุดการทดลองที่ 1 (เติมกล้าเชื้อ..... 60
แบคทีเรียในเปลือกถั่วลงดินไม่ปลอดเชื้อที่ปนเปื้อนไพรีนที่มีความ
เข้มข้น 100 มก.ต่อ กก.ของดิน)และชุดควบคุม.....
4.4.2.2 การย่อยสลายไพรีนในดินที่มีความเข้มข้น 100 มก.ต่อ กก.ของดิน 61
โดยกล้าเชื้อแบคทีเรียในเปลือกถั่ว.....
4.4.2.3 จำนวนแบคทีเรียทั้งหมดในชุดการทดลองที่2(เติมกล้าเชื้อ..... 62
แบคทีเรีย ในเปลือกถั่วลงดินไม่ปลอดเชื้อที่ปนเปื้อนไพรีนที่มีความ
เข้มข้น 1000 มก.ต่อกก.ของดิน)และชุดควบคุม.....
4.4.2.4 การย่อยสลายไพรีนที่มีความเข้มข้น 1000 มก.ต่อกก.ของดินในดิน 64
โดยกล้าเชื้อที่เลี้ยงในเปลือกถั่ว.....
บทที่ 5 สรุปและอภิปรายผลการทดลอง..... 66
บทที่ 6 ข้อเสนอแนะในงานวิจัย..... 75
รายการอ้างอิง..... 76
ภาคผนวก..... 84
ภาคผนวก ก 85
ภาคผนวก ก1 อาหารเลี้ยงเชื้อ Carbon Free Mineral Salt Medium (CFMM) 85
ภาคผนวก ก2 อาหารเลี้ยงเชื้อ CFMM (CFMM agar)..... 85
ภาคผนวก ก3 อาหารเลี้ยงเชื้อเหลว Luria-Bertani (LB broth)..... 86
ภาคผนวก ก4 อาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง Luria-Bertani (LB agar)..... 86
ภาคผนวก ข 87
ภาคผนวก ข1 สารละลายไพรีนในไดเมทธิลซัลฟอกไซด์..... 87

หน้า

ภาคผนวก ข2 สารละลายไพรีนในอะซีโตน..... 87
ภาคผนวก ข3 สารละลายมาตรฐานของ PAHs และอนุพันธ์ชนิดต่างๆใน..... 87
เมธานอล.....
ภาคผนวก ข4 สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 1 นอร์มัล..... 87
ภาคผนวก ข5 สารละลายโซเดียมคลอไรด์ 0.85%..... 88
ภาคผนวก ข6 สารละลายเมธานอลเข้มข้น 80% ในน้ำ (ปริมาตรต่อปริมาตร) 88
ภาคผนวก ค..... 89
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์ 96

สารบัญตาราง

ตาราง	หน้า
2.1 แบคทีเรียที่สามารถย่อยสลายไพรีนเพื่อใช้เป็นแหล่งคาร์บอนและพลังงาน.....	11
2.2 ปัจจัยทางชีวภาพและกายภาพที่มีผลต่อการอยู่รอดของแบคทีเรียในดิน.....	16
2.3 แบคทีเรียที่มีบทบาทต่อกระบวนการหมักในอาหารแข็ง(solid state fermentation)	21
2.4 ปัจจัยที่มีผลต่อกระบวนการหมักแบบอาหารแข็ง (solid state fermentation..... process).....	22
4.1 ลักษณะทางกายภาพและองค์ประกอบทางเคมีของดินที่นำมาใช้ในการทดลอง.....	39
4.2 ลักษณะทางกายภาพและองค์ประกอบทางเคมีของวัสดุพาหะได้แก่ เปลือกถั่ว เศษใบไม้ชนิดต่างๆ ใบมะขาม.....	40
4.3 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของกลุ่มแบคทีเรีย STK.....	46

สารบัญภาพ

ภาพประกอบ	หน้า
2.1 โครงสร้างโมเลกุลของไพรีน (Schirmer และคณะ ,1998).....	5
2.2 วิถีการย่อยสลายไพรีนโดยแบคทีเรียที่ใช้ออกซิเจน (ที่มา ; ดัดแปลงจาก Habe และ Omori, 2003).....	12
2.3 วิถีการย่อยสลายไพรีนโดยกลุ่มแบคทีเรีย (bacteria consortium) ที่ใช้ออกซิเจน(Luanและ.... คณะ, 2006).....	14
3.1 วัสดุพาหะที่ใช้ในการทดลอง ได้แก่ เปลือกถั่ว เศษใบไม้ชนิดต่างๆ ใบมะขาม และสารเร่ง..... พด.1 ที่บดและผ่านการคัดกรองแล้ว.....	30
3.2 ดินที่ใช้ในการทดลองที่บดและผ่านการคัดกรองแล้ว.....	30
3.3 ลักษณะอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวCFMMที่มีไพรีนเข้มข้น 100 มก.ต่อลิตร เมื่อเลี้ยงกลุ่มแบคทีเรีย.. STK เป็นเวลา 8 วัน เปรียบเทียบกับที่เวลา 0 วัน.....	32
3.4 ชุดการทดลอง กลุ่มแบคทีเรีย STK ที่เลี้ยงในวัสดุพาหะต่างๆ ได้แก่ เปลือกถั่ว(A) เศษใบไม้... ชนิดต่างๆ(B) ใบมะขาม(C) และสารเร่ง พด.1(D).....	33
3.5 เครื่อง HPLC ที่ใช้วิเคราะห์ปริมาณไพรีนที่เหลืออยู่ในการทดลอง.....	35
4.1 จำนวนกลุ่มแบคทีเรีย STK ที่เลี้ยงในวัสดุพาหะ 4 ชนิด (เปลือกถั่ว เศษใบไม้ชนิดต่างๆ..... ใบมะขาม และสารเร่ง พด.1).....	42
4.2 การย่อยสลายไพรีนในวัสดุพาหะ 4 ชนิด (เปลือกถั่ว , เศษใบไม้ชนิดต่างๆ, ใบมะขามและ.... สารเร่ง พด.1) ของกลุ่มแบคทีเรีย STK.....	43
4.3 การเจริญและการย่อยสลายไพรีนในเศษใบไม้ชนิดต่างๆของกลุ่มแบคทีเรีย STK.....	44
4.4 การเจริญและการย่อยสลายไพรีนในเปลือกถั่วของกลุ่มแบคทีเรีย STK.....	44
4.5 ลักษณะโคโลนีบนอาหารแข็ง LB ของกลุ่มแบคทีเรีย STK ซึ่งประกอบด้วย *Zoogloea*..... sp.(STK1) *Stenotrophomonas* sp.(STK2)และ *Mesorhizobium* sp.(STK3).....	45
4.6 จำนวนกลุ่มแบคทีเรีย STK ที่เลี้ยงในเปลือกถั่ว เป็นเวลา 6 เดือน.....	47
4.7 จำนวนกลุ่มแบคทีเรีย STK ที่เลี้ยงในเศษใบไม้ชนิดต่างๆ เป็นเวลา 6 เดือน.....	47
4.8 การย่อยสลายไพรีนในเปลือกถั่วโดยกลุ่มแบคทีเรีย STK เป็นเวลา 6 เดือน.....	48
4.9 การย่อยสลายไพรีนในเศษใบไม้ชนิดต่างๆของกลุ่มแบคทีเรีย STK เป็นเวลา 6 เดือน.....	49
4.10 จำนวนแบคทีเรียทั้งหมดในชุดการทดลองที่ 1 (เติมกล้าเชื้อแบคทีเรียในเปลือกถั่วลงดินไม่.... ปลอดเชื้อที่ปนเปื้อนไพรีนที่มีความเข้มข้น 100 มก.ต่อ กก.ของดิน) และชุดควบคุม.....	51

ภาพประกอบ **หน้า**

4.11 จำนวนแบคทีเรียทั้งหมดในชุดการทดลองที่ 1(เติมกล้าเชื้อแบคทีเรียในเปลือกถั่วลงดินไม่..... 52
ปลอดเชื้อที่ปนเปื้อนไพรีนที่มีความเข้มข้น 100 มก.ต่อ กก.ของดิน).....
4.12 การย่อยสลายไพรีนในดินที่มีความเข้มข้น 100 มก.ต่อ กก.ของดิน โดยกล้าเชื้อแบคทีเรียใน 53
เปลือกถั่ว.....
4.13 จำนวนแบคทีเรียในชุดทดลองที่2(เติมกล้าเชื้อแบคทีเรียในเศษใบไม้ชนิดต่างๆลงดินไม่..... 54
ปลอดเชื้อที่ปนเปื้อนไพรีนที่มีความเข้มข้น 100 มก.ต่อ กก.ของดิน) และชุดควบคุม.....
4.14 จำนวนแบคทีเรียทั้งหมดในชุดการทดลองที่ 2 (เติมกล้าเชื้อแบคทีเรียในเศษใบไม้ชนิดต่างๆ 55
ลงดินไม่ปลอดเชื้อที่ปนเปื้อนไพรีนที่มีความเข้มข้น 100 มก.ต่อ กก.ของดิน).....
4.15 การย่อยสลายไพรีนในดินที่มีความเข้มข้น 100 มก.ต่อ กก.ของดิน โดยกล้าเชื้อแบคทีเรียใน 56
เศษใบไม้ชนิดต่างๆ.....
4.16 จำนวนแบคทีเรียในชุดทดลองที่ 3 (เติมกล้าเชื้อแบคทีเรียในเปลือกถั่วลงดินไม่ปลอดเชื้อที่ 57
ปนเปื้อนไพรีนที่มีความเข้มข้น 1000 มก.ต่อ กก.ของดิน) และชุดควบคุม.....
4.17 จำนวนแบคทีเรียทั้งหมดในชุดการทดลองที่ 3 (เติมกล้าเชื้อแบคทีเรียในเปลือกถั่วลงดินไม่ 58
ปลอดเชื้อที่ปนเปื้อนไพรีนที่มีความเข้มข้น 1000 มก.ต่อ กก.ของดิน).....
4.18 การย่อยสลายไพรีนที่มีความเข้มข้น 1000 มก.ต่อ กก.ของดิน โดยกล้าเชื้อแบคทีเรียใน 59
เปลือกถั่ว.....
4.19 จำนวนแบคทีเรียในชุดทดลองที่ 1 (เติมกล้าเชื้อแบคทีเรียในเปลือกถั่วลงดินไม่ปลอดเชื้อที่ 60
ปนเปื้อนไพรีนที่มีความเข้มข้น 100 มก.ต่อ กก.ของดิน)และชุดควบคุม.....
4.20 จำนวนแบคทีเรียทั้งหมดในชุดการทดลองที่ 1 (เติมกล้าเชื้อแบคทีเรียในเปลือกถั่วลงดินไม่... 61
ปลอดเชื้อที่ปนเปื้อนไพรีนที่มีความเข้มข้น 100 มก.ต่อ กก.ของดิน).....
4.21 แผนภูมิแท่งแสดงการย่อยสลายไพรีนที่ความเข้มข้น 100 มก.ต่อ กก.ของดินในดินสภาวะ... 62
slurry (อัตราส่วนดิน 1 กรัมต่อน้ำ 8 มิลลิลิตร) โดยกล้าเชื้อแบคทีเรียที่เลี้ยงในเปลือกถั่ว.....
4.22 จำนวนแบคทีเรียในชุดทดลองที่ 2 (เติมกล้าเชื้อแบคทีเรียในเปลือกถั่วลงดินไม่ปลอดเชื้อที่.. 63
ปนเปื้อนไพรีนที่มีความเข้มข้น 1000 มก.ต่อกก.ของดิน)และชุดควบคุม.....
4.23 จำนวนแบคทีเรียทั้งหมดในชุดการทดลองที่ 2 (เติมกล้าเชื้อแบคทีเรียในเปลือกถั่วลงดินไม่... 64
ปลอดเชื้อที่ปนเปื้อนไพรีนที่มีความเข้มข้น 1000 มก.ต่อ กก.ของดิน).....
4.24 แผนภูมิแท่งแสดงการย่อยสลายไพรีนที่ความเข้มข้น 1000 มก.ต่อ กก.ของดินในดินสภาวะ.. 65
slurry (อัตราส่วนดิน 1 กรัมต่อน้ำ 8 มิลลิลิตร) โดยกล้าเชื้อแบคทีเรียที่เลี้ยงในเปลือกถั่ว.....

ภาพประกอบ **หน้า**

5.1 ลักษณะการเจริญและการย่อยสลายไพรีนในดินระบบ slurry อัตราส่วนดินต่อน้ำ 1:8 (กรัม... 71
ต่อมล.) ที่มีไพรีนความเข้มข้น 100 มก.ต่อลิตร ของกลุ่มแบคทีเรีย STK ที่เลี้ยงในอาหาร.....
เหลว CFMM (ปิยะวรรณ เพชราภา, 2549).....

5.2 ลักษณะการเจริญและการย่อยสลายไพรีนในดินระบบ slurry อัตราส่วนดินต่อน้ำ 1:8 (กรัม... 72
ต่อมล.) ที่มีไพรีนความเข้มข้น 100 มก.ต่อลิตร ของกลุ่มแบคทีเรีย STK ที่เลี้ยงในเปลือกถั่ว..

ค.1 กราฟมาตรฐานระหว่างปริมาณไพรีน(0-100 มก.ต่อ 1 กก.ของดิน)ในดินและพื้นที่ใต้พีคที่ได้.. 89
จากการวิเคราะห์ด้วยวิธี HPLC.....

ค.2 กราฟมาตรฐานระหว่างปริมาณไพรีน(0-1000 มก.ต่อ กก.ของดิน)ในดินและพื้นที่ใต้พีคที่..... 90
ได้จากการวิเคราะห์ด้วยวิธี HPLC.....

ค.3 กราฟมาตรฐานระหว่างปริมาณไพรีน(0-100 มก.ต่อกก.ของดิน)ในดินผสมกล้าเชื้อที่เลี้ยง..... 91
ในเปลือกถั่วและพื้นที่ใต้พีคที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยวิธี HPLC.....

ค.4 กราฟมาตรฐานระหว่างปริมาณไพรีน(0-1000 มก.ต่อ กก. ของดิน)ในดินผสมกล้าเชื้อที่..... 92
เลี้ยงในเปลือกถั่วและพื้นที่ใต้พีคที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยวิธี HPLC.....

ค.5 กราฟมาตรฐานระหว่างปริมาณไพรีน(0-100 มก.ต่อ กก.ของดิน)ในดินที่ผสมกล้าเชื้อที่เลี้ยง... 93
ในเศษใบไม้ชนิดต่างๆและพื้นที่ใต้พีคที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยวิธี HPLC.....

ค.6 กราฟมาตรฐานระหว่างปริมาณไพรีน(0-100 มก.ต่อลิตร)ในน้ำและพื้นที่ใต้พีคที่ได้จากการ... 94
วิเคราะห์ด้วยวิธี HPLC.....

ค.7 กราฟมาตรฐานระหว่างปริมาณไพรีน(0-1000 มก.ต่อลิตร)ในน้ำและพื้นที่ใต้พีคที่ได้จากการ... 95
วิเคราะห์ด้วยวิธี HPLC.....