บทที่ 4

ผลการศึกษาและวิจารณ์ผลการศึกษา

4.1 การทดสอบคุณสมบัติของแบคทีเรีย

ทำการทดสอบคุณสมบัติของแบคทีเรีย *Pseudomonas putida* จำนวน 12 สายพันธุ์ (strains) ได้แก่ เลขที่สายพันธุ์ DMS (Department of Medical Sciences), National Institute of Health, Thailand 716, 905, 1362, 2135, 2377, 2425, 2486, 2704, 2707, 2708, 2709 และ 2714 โดยมีรายละเอียดดังตารางที่ ข. 1 และคุณสมบัติของแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* จำนวน 8 สายพันธุ์ (strains) ได้แก่ เลขที่สายพันธุ์ DMS 890, 226, 2264, 2398, 2737, 2738, 2748 และ 2749 โดยมีรายละเอียดดังตารางที่ ข.2 ซึ่งได้รับความอนุเคราะห์จากกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข ก่อนที่จะคัดเลือกแบคทีเรียชนิดละ 1 สายพันธุ์ เพื่อจะไปใช้ในการศึกษาวิจัยต่อไป

ผลจากการทดสอบ พบว่า ทั้งแบคทีเรีย *Pseudomonas putida* และ *Bacillus subtilis* แต่ละสายพันธุ์มีคุณสมบัติที่ไม่แตกต่างกันจึงสามารถเลือกสายพันธุ์มาทำการวิจัยทดลองได้ ในครั้งนี้จึงได้เลือก *Pseudomonas putida* DMS 2714 และ *Bacillus subtilis* DMS 2398 ซึ่งมีคุณสมบัติที่ตรงตาม Key of Bergey's Manual มากที่สุด มาใช้ในการศึกษาการสลายทางชีวภาพของน้ำมันหล่อลื่นสังเคราะห์ 2 ชนิด คือ น้ำมันหล่อลื่นฯ Esso ultron และ Castrol GTX

4.2 การเจริญเติบโตของ *Pseudomonas putida* และ *Bacillus subtilis* ในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเหลวที่มีสารอาหารสมบูรณ์ (TSB) และที่มีสารอาหารพื้นฐาน (MBM) ที่อุณหภูมิห้อง

การศึกษาการเจริญเติบโตของแบคทีเรียในรูปค่าเฉลี่ยจำนวนเซลล์ และระยะเวลาที่ใช้ในการแบ่งตัวต่อรุ่นของแบคทีเรียในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเหลวที่มีสารอาหารสมบูรณ์ (tryptic soy broth) และที่มีสารอาหารพื้นฐาน (mineral base medium) พบว่า ทั้ง *P. putida* และ *B. subtilis* ต่างก็เจริญเติบโตในอาหารชนิดเหลว TSB ได้ดีกว่าในอาหารชนิดเหลว MBM และ *B. subtilis* มีค่าเฉลี่ยจำนวนเซลล์แบคทีเรียต่อมิลลิลิตร ในเวลา 60 วัน (1,440 ชั่วโมง) มากกว่า (ดังตารางที่ ค.2 และรูปที่ 4.2 และ 4.3) และใช้ระยะเวลาแบ่งตัวต่อรุ่นน้อยกว่า *P. putida* (ดังตารางที่ ค.1 ก และ รูปที่ 4.1 ก) คือ *B. subtilis* มีค่าเฉลี่ยจำนวนเซลล์ 3.40 $x10^{10}$ เซลล์ และมีระยะเวลาแบ่งตัวต่อรุ่นที่คำนวณจากค่าเฉลี่ยจำนวนเซลล์ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 (เริ่มต้น) ถึงชั่วโมงที่ 12 (ดังภาคผนวก ช) 1.604 ชั่วโมง และ *P. putida* มีค่าเฉลี่ย

จำนวนเซลล์ 3.30×10^{10} เซลล์ และระยะเวลาแบ่งตัวต่อรุ่น 1.608 ชั่วโมง แสดงว่า *B. subtiis* มีการเจริญเติบโตในอาหารชนิดเหลว TSB ได้ดีกว่า *P. putida* สำหรับในอาหารชนิดเหลว MBM แบคทีเรีย *B. subtilis* มีค่าเฉลี่ยจำนวนเซลล์มากกว่า (ดังตารางที่ ค.2) และใช้ระยะเวลาแบ่งตัวต่อรุ่นน้อยกว่า *P. putida* (ดังตารางที่ ค.2 และรูปที่ 4.1 ก) คือ *B. subtilis* มีค่าเฉลี่ยจำนวนเซลล์ 5.70×10^{7} เซลล์ และมีระยะเวลาในการแบ่งตัวต่อรุ่น 3 814 ชั่วโมง *P. putida* มีค่าเฉลี่ยจำนวนเซลล์ 3.20×10^{7} เซลล์ และมีระยะเวลาแบ่งตัวต่อรุ่น 4.290 ชั่วโมง แสดงว่า *B. subtilis* มีการเจริญเติบโตในอาหารชนิดเหลว MBM ได้ดีกว่า *P. putida* เนื่องจากในอาหารชนิดเหลว TSB มีน้ำตาล dextrose เป็นแหล่งคาร์บอน (carbon source) ที่สำคัญต่อการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย แต่ในอาหารชนิดเหลว MBM จะมีเฉพาะเกลือแร่พื้นฐาน แต่ไม่มีน้ำตาลเป็นแหล่งคาร์บอนเลย จึงทำให้แบคทีเรียพอที่จะเจริญเติบโตอยู่ได้ แต่ไม่มากนัก คือ ในอาหารชนิดเหลว TSB แบคทีเรียสามารถเจริญเติบโตเพิ่มจำนวนได้สูงสุดจาก 10^{7} เซลล์ต่อมิลลิลิตร เริ่มต้น เป็น 10^{11} เซลล์ เป็นเวลาถึง 5 วัน (120 ชั่วโมง) ในขณะที่ในอาหารชนิดเหลว MBM แบคทีเรียสามารถเจริญเติบโต เพิ่มจำนวนได้สูงสุดจาก 10^{7} เซลล์ เป็น 10^{8} เซลล์ เป็นเวลาเพียง 24 ชั่วโมง ก็เริ่มลดจำนวนลง เข้าสู่ระยะคงที่ (stationary phase) จะเห็นได้ว่า ในอาหารชนิดเหลว TSB มีสารอาหารที่สมบูรณ์ จึงทำให้แบคทีเรียเจริญเติบโต เพิ่มจำนวนเซลล์ได้อย่างรวดเร็ว และอยู่ได้เป็นเวลานานกว่าในอาหารชนิดเหลว MBM จากนั้นจึงนำข้อมูลค่าเฉลี่ยจำนวนเซลล์แบคทีเรียจากตารางที่ ค.2 มาทำการทดสอบทางสถิติโดยใช้ T - Test เพื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยจำนวนเซลล์ ดังนี้

1. จำนวนเซลล์แบคทีเรีย *P. putida* ระหว่างในอาหารชนิดเหลว TSB และ MBM ได้ค่าทดสอบดังตารางที่ 4.1 ก. คือ มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

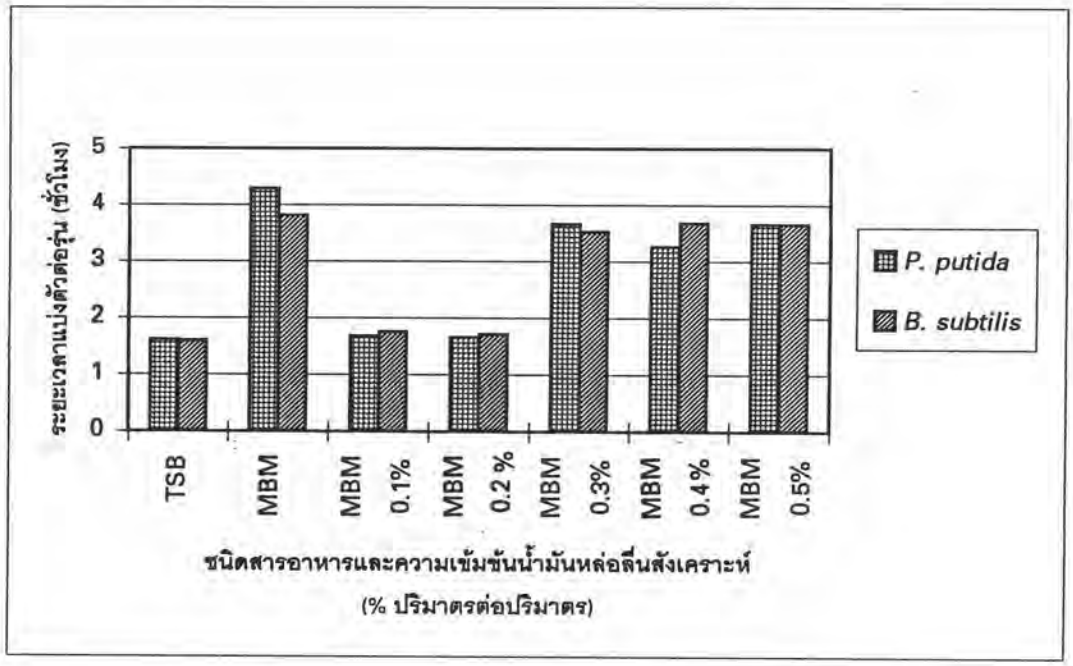
2. จำนวนเซลล์แบคทีเรีย *B. subtilis* ระหว่างในอาหารชนิดเหลว TSB และ MBM ได้ค่าทดสอบดังตารางที่ 4.1 ข. คือ มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

3. จำนวนเซลล์แบคทีเรีย *P. putida* และ *B. subtilis* ในอาหารชนิดเหลว TSB ได้ค่าทดสอบดังตารางที่ 4.2 คือ มีความไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

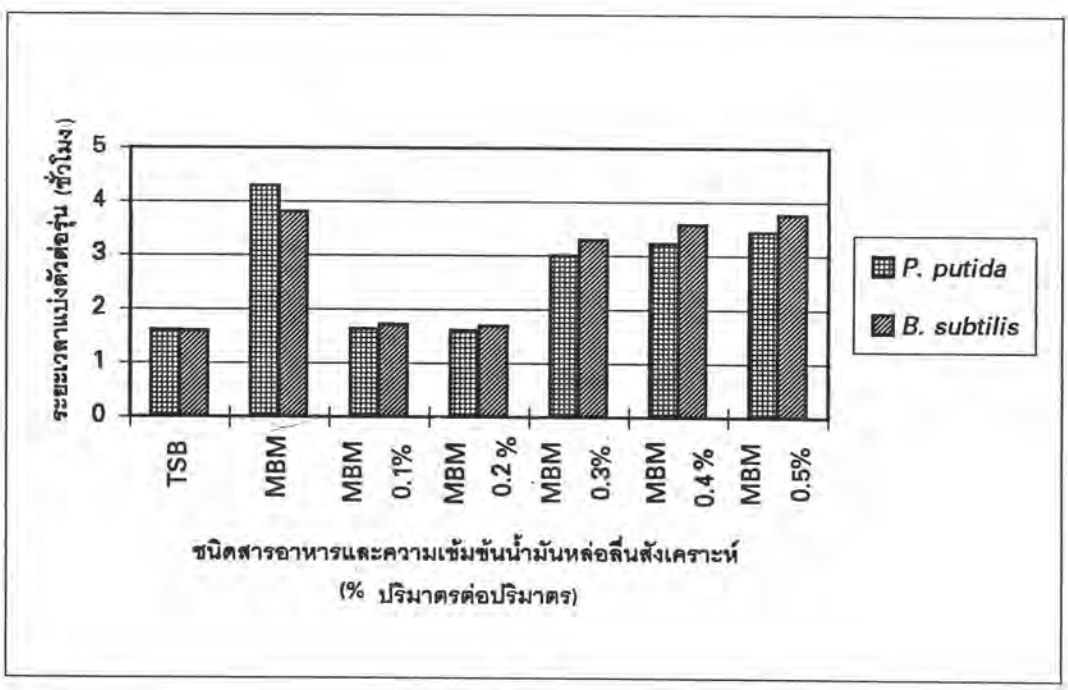
4. จำนวนเซลล์แบคทีเรีย *P. putida* และ *B. subtilis* ในอาหารชนิดเหลว MBM ได้ค่าทดสอบดังตารางที่ 4.3 คือ ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

4.3 การเจริญเติบโตของ *Pseudomonas putida* และ *Bacillus subtilis* ในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเหลว MBM ที่เติมน้ำมันหล่อลื่นสังเคราะห์ Esso ultron ในระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ที่อุณหภูมิห้อง

การศึกษาการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย ในรูปค่าเฉลี่ยจำนวนเซลล์ และระยะเวลาแบ่งตัวต่อรุ่น ในอาหารชนิดเหลว MBM ที่เติมน้ำมันหล่อลื่นสังเคราะห์ Esso ultron ในระดับความเข้มข้นต่าง ๆ กัน

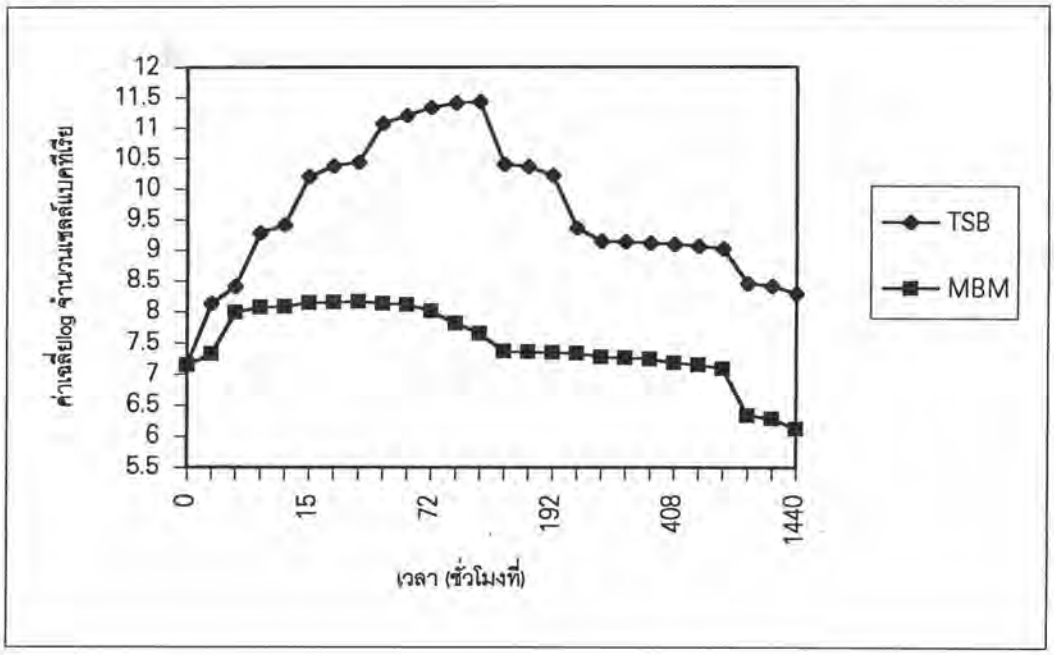


ก

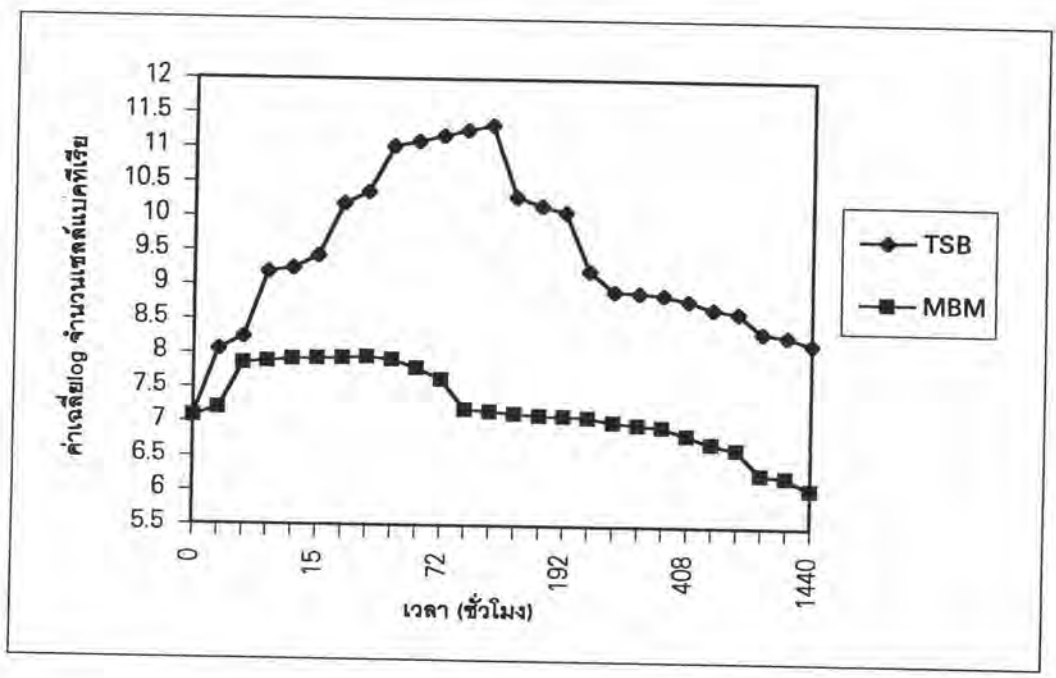


ข

รูปที่ 4.1 ระยะเวลาแบ่งตัวต่อรุ่นของการเจริญเติบโตของ *Pseudomonas putida* และ *Bacillus subtilis* ในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเหลว TSB และ MBM ที่เติมน้ำมันหล่อลื่นสังเคราะห์ในระดับความเข้มข้นต่างๆ ก. Esso ultron ข. Castrol GTX



รูปที่ 4.2 ค่าเฉลี่ยการเจริญเติบโตของ *Pseudomonas putida* ในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเหลว TSB และ MBM ที่อุณหภูมิห้อง



รูปที่ 4.3 ค่าเฉลี่ยการเจริญเติบโตของ *Bacillus subtilis* ในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเหลว TSB และ MBM ที่อุณหภูมิห้อง

ตารางที่ 4.1 ก การทดสอบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยการเจริญเติบโตในรูปจำนวนเซลล์แบคทีเรีย *Pseudomonas putida* ในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเหลว TSB และ MBM

ตำรับทดลอง	จำนวนข้อมูล	ค่าเฉลี่ย *	ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน	t- คำนวณ	p - value
TSB	26	$3.30x10^{10\ a}$	$6.40x10^{10}$	2.6900	0.0100
MBM	26	$3.20x10^{7\ b}$	$3.30\ x10^{7}$	2.6900	0.0100

ตารางที่ 4.1 ข การทดสอบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยการเจริญเติบโตในรูปจำนวนเซลล์แบคทีเรีย *Bacillus subtilis* ในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเหลว TSB และ MBM

ตำรับทดลอง	จำนวนข้อมูล	ค่าเฉลี่ย *	ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน	t- คำนวณ	p - value
TSB	26	$3.40x10^{10\ a}$	$7.30x10^{10}$	2.4000	0.0200
MBM	26	$5.70x10^{7\ b}$	$5.40x10^{7}$	2.4000	0.0200

ตารางที่ 4.2 การทดสอบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยการเจริญเติบโตในรูปจำนวนเซลล์แบคทีเรีย *Pseudomonas putida* และ *Bacillus subtilis* ในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเหลว TSB

ตำรับทดลอง	จำนวนข้อมูล	ค่าเฉลี่ย *	ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน	t- คำนวณ	p-value
Pseudomonas putida	26	$3.30x10^{10\ a}$	$6.40x10^{10}$	- 0.9500	0.3470
Bacillus subtilis	26	$3.40x10^{10\ a}$	$7.30x10^{10}$	- 0.9500	0.3470

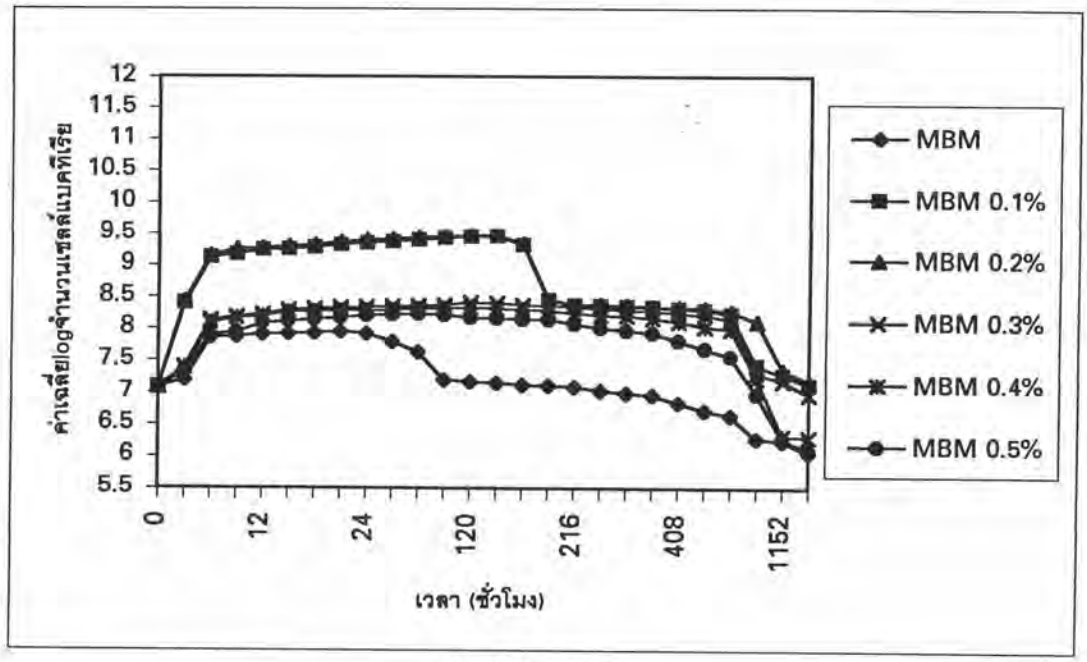
ตารางที่ 4.3 การทดสอบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยการเจริญเติบโตในรูปจำนวนเซลล์แบคทีเรีย *Pseudomonas putida* และ *Bacillus subtilis* ในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเหลว MBM

ตำรับทดลอง	จำนวนข้อมูล	ค่าเฉลี่ย *	ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน	t- คำนวณ	p - value
Pseudomonas putida	26	$3.20x10^{7\ b}$	$3.30\ x10^{7}$	- 0.0100	0.9900
Bacillus subtilis	26	$5.70x10^{7\ b}$	$5.40x10^{7}$	- 0.0100	0.9900

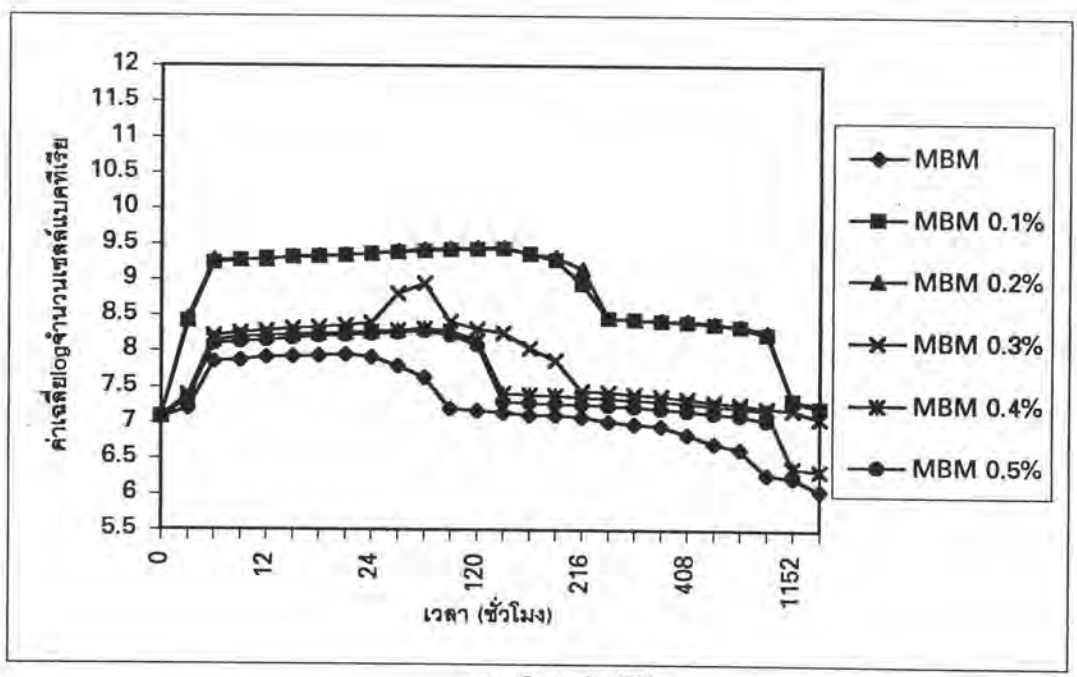
พบว่า แบคทีเรียทั้งสองชนิด ต่างก็เจริญเติบโตในอาหารชนิดเหลว MBM ที่เติมน้ำมันหล่อลื่นฯ เมื่อระดับความเข้มข้นเพิ่มขึ้นเป็น 0.1 และ 0.2 เปอร์เซนต์ (1 และ2 มิลลิลิตรต่อลิตร)(ปริมาตรต่อปริมาตร) และเมื่อความเข้มข้นเพิ่มขึ้นเป็น 0.3, 0.4 และ 0.5 เปอร์เซนต์ (3, 4 และ5 มิลลิลิตรต่อลิตร) พบว่า แบคทีเรียทั้งสองชนิด มีการเจริญเติบโตลดลง และ *P. putida* มีการเจริญเติบโตได้ดีกว่า *B. subtilis* ในระดับความเข้มข้น 0.1 ถึง 0.4 เปอร์เซนต์ แต่ที่ความเข้มข้น 0.5 เปอร์เซนต์ *B. subtilis* เจริญเติบโตได้ดีกว่า *P. putida* กล่าวคือ *P. putida* มีค่าเฉลี่ยจำนวนเซลล์เพิ่มขึ้น (ดังตารางที่ ค.2 และรูปที่ 4.4 ก) และระยะเวลาแบ่งตัวต่อรุ่นน้อยลง (ดังตารางที่ ค.1 ก และรูปที่ 4.1 ก) ในอาหารชนิดเหลว MBM ที่เติมน้ำมันหล่อลื่นฯ 0.1 และ 0.2 เปอร์เซนต์ คือ ที่ 0.1 เปอร์เซนต์ มีค่าเฉลี่ยจำนวนเซลล์ 1.15×10^9 เซลล์, ระยะเวลาแบ่งตัวฯ 1.675 ชั่วโมง และ 0.2 เปอร์เซนต์ มีค่าเฉลี่ยจำนวนเซลล์ 1.25×10^9 เซลล์, ระยะเวลาแบ่งตัวฯ 1.652 ชั่วโมง แต่เมื่อเพิ่มความเข้มข้นเป็น 0.3, 0.4 และ 0.5 เปอร์เซนต์ ค่าเฉลี่ยจำนวนเซลล์จะลดลง และระยะเวลาแบ่งตัวฯมากขึ้น คือ ที่ 0.3 เปอร์เซนต์ มีค่าเฉลี่ยจำนวนเซลล์ 1.66×10^9, ระยะเวลาแบ่งตัวฯ 3.152 ชั่วโมง, ที่ 0.4 เปอร์เซนต์ มีค่าเฉลี่ยจำนวนเซลล์ 1.39×10^8 เซลล์, ระยะเวลาแบ่งตัวฯ 3.254 ชั่วโมง และ 0.5 เปอร์เซนต์ มีค่าเฉลี่ยจำนวนเซลล์ 9.70×10^7 เซลล์, ระยะเวลาแบ่งตัวฯ 3.652 ชั่วโมง สำหรับใน *B. subtilis* ก็เป็นไปในทำนองเดียวกัน แต่เจริญเติบโตได้น้อยกว่า *P. putida* เว้นแต่ที่ความเข้มข้น 0.5 เปอร์เซนต์ จะมีค่าเฉลี่ยจำนวนเซลล์ (ดังตารางที่ ค.2 และ ค.4 และรูปที่ 4.5 ก) มากกว่า *P. putida* แต่มีระยะเวลาแบ่งตัวฯ (ดังตารางที่ 4.3 ก) เท่ากันที่ 3.652 ชั่วโมง คือ ที่ 0.1 เปอร์เซนต์ มีค่าเฉลี่ยจำนวนเซลล์ 9.30×10^8 เซลล์, ระยะเวลาแบ่งตัวฯ 1.755 ชั่วโมง, ที่ 0.2 เปอร์เซนต์ 9.40×10^8 เซลล์, 1.715 ชั่วโมง, ที่ 0.3 เปอร์เซนต์ 1.45×10^8 เซลล์, 3.527 ชั่วโมง, ที่ 0.4 เปอร์เซนต์ 1.19×10^8 เซลล์, 3.678 ชั่วโมง และที่ 0.5 เปอร์เซนต์ 1.03×10^8 เซลล์, 3.652 ชั่วโมง สำหรับชุดควบคุม คือ ในอาหารชนิดเหลว MBM แบคทีเรียทั้งสองชนิดมีการเจริญเติบโตน้อยกว่า ในอาหารชนิดเหลว MBM ที่เติมน้ำมันหล่อลื่นฯ ในระดับความเข้มข้นต่าง ๆ คือ *P. putida* มีค่าเฉลี่ยจำนวนเซลล์ 3.20×10^7 เซลล์, ระยะเวลาแบ่งตัวฯ 4.290 ชั่วโมง และ *B. subtilis* มีค่าเฉลี่ยจำนวนเซลล์ 5.70×10^7 เซลล์, ระยะเวลาแบ่งตัวฯ 1.604 ชั่วโมง โดยเฉพาะเมื่อระดับความเข้มข้นน้ำมันต่าง ๆ คือ 0.1 และ 0.2 เปอร์เซนต์ จะเจริญเติบโตเพิ่มขึ้น เมื่อความเข้มข้นเพิ่มขึ้นเป็น 0.3, 0.4 และ 0.5 เปอร์เซนต์ การเจริญเติบโตจะลดลง

4.4 การเจริญเติบโตของ *Pseudomonas putida* และ *Bacillus subtilis* ในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเหลว MBM ที่เติมน้ำมันหล่อลื่นสังเคราะห์ Castrol GTX ในระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ที่อุณหภูมิห้อง

การศึกษาการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย ในรูปค่าเฉลี่ยจำนวนเซลล์ และระยะเวลาแบ่งตัวต่อรุ่น

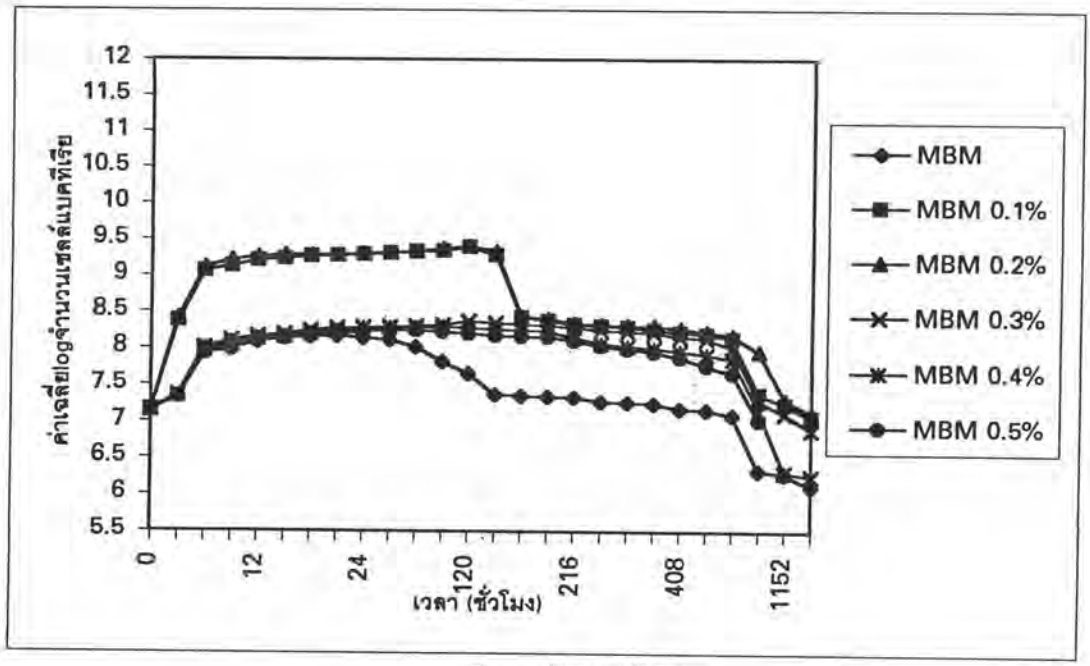


ก. Esso ultron

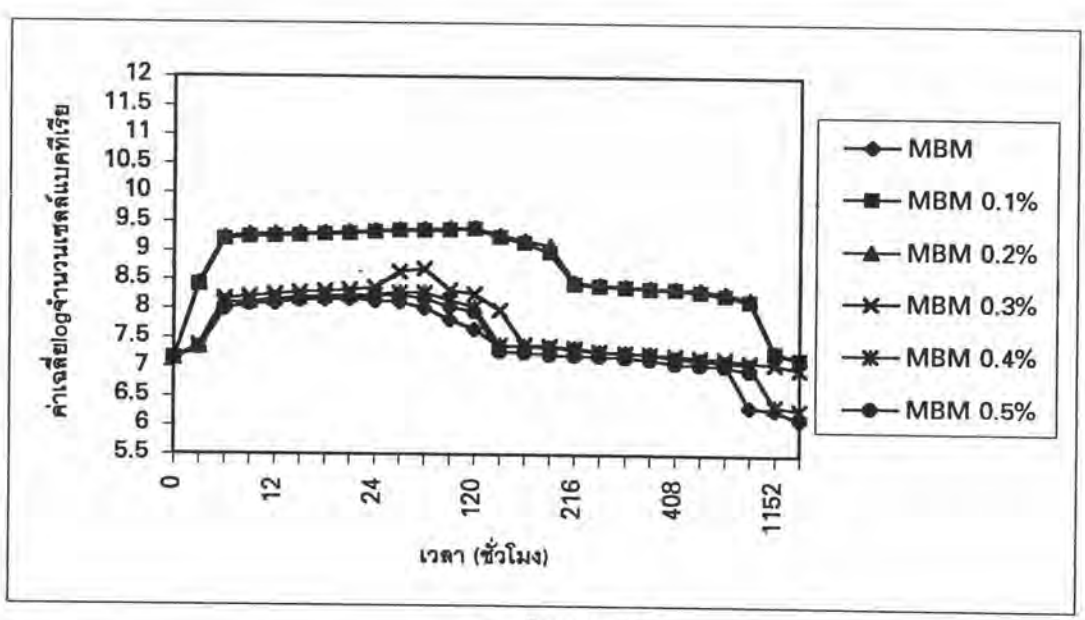


ข. Castrol GTX

รูปที่ 4.4 ค่าเฉลี่ยการเจริญเติบโตของ *Pseudomonas putida* ในอาหารเลี้ยงเชื้อซนิดเหลวที่เติมน้ำมันหล่อลื่นสังเคราะห์ในระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ที่อุณหภูมิห้อง



ก. Esso ultron



ข. Castrol GTX

รูปที่ 4.5 ค่าเฉลี่ยการเจริญเติบโตของ *Bacillus subtilis* ในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเหลวที่เติมน้ำมันหล่อลื่นสังเคราะห์ในระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ที่อุณหภูมิห้อง

ในอาหารชนิดเหลว MBM ที่เติมน้ำมันหล่อลื่นสังเคราะห์ Castrol GTX ในระดับความเข้มข้นต่าง ๆ กัน พบว่า แบคทีเรียทั้งสองชนิดต่างก็เจริญเติบโตได้ดีขึ้น ในอาหารชนิดเหลว MBM ที่เติมน้ำมันหล่อลื่นฯ เมื่อความเข้มข้นเพิ่มขึ้น จาก 0.1 และ 0.2 เปอร์เซนต์ แต่เมื่อความเข้มข้นเพิ่มขึ้นเป็น 0.3, 0.4 และ 0.5 เปอร์เซนต์ พบว่า แบคทีเรียทั้งสองชนิดมีการเจริญเติบโตลดลง และ *P. putida* มีการเจริญเติบโตได้ดีกว่า *B. subtilis* ในทุกระดับความเข้มข้น (0.1 ถึง 0.5 เปอร์เซนต์) กล่าวคือ *P. putida* มีค่าเฉลี่ยจำนวนเซลล์ เพิ่มขึ้น (ดังตารางที่ ค.3 และ ค.5 และรูปที่ 4.4 ข) และระยะเวลาแบ่งตัวฯ น้อยลง (ดังตารางที่ ค.1 ข) ในอาหารชนิดเหลว MBM ที่เติมน้ำมันหล่อลื่นฯ 0.1 และ 0.2 เปอร์เซนต์ คือ ที่ 0.1 เปอร์เซนต์ มีค่าเฉลี่ยจำนวนเซลล์ 1.31×10^{9} เซลล์, ระยะเวลาแบ่งตัวฯ 1.631 ชั่วโมง และ 0.2 เปอร์เซนต์ 1.41×10^{9} เซลล์, 1.616 ชั่วโมง แต่เมื่อเพิ่มความเข้มข้นเป็น 0.3, 0.4 และ 0.5 เปอร์เซนต์ ค่าเฉลี่ยจำนวนเซลล์จะลดลง และระยะเวลาแบ่งตัวฯ มากขึ้น คือ ที่ 0.3 เปอร์เซนต์ มีค่าเฉลี่ยจำนวนเซลล์ 1.55×10^{8} เซลล์, ระยะเวลาแบ่งตัวฯ 3.000 ชั่วโมง, ที่ 0.4 เปอร์เซนต์ 1.39×10^{8} เซลล์, 3.222 ชั่วโมง และ 0.5 เปอร์เซนต์ 7.40×10^{7} เซลล์, 3.431 ชั่วโมง สำหรับใน *B. subtilis* ก็เป็นไปในทำนองเดียวกัน แต่เจริญเติบโตได้น้อยกว่า *P. putida* คือ ที่ 0.1 เปอร์เซนต์ มีค่าเฉลี่ยจำนวนเซลล์ 1.07×10^{9} เซลล์, ระยะเวลาแบ่งตัวฯ 1.717 ชั่วโมง ที่ 0.2 เปอร์เซนต์ 1.16×10^{9} เซลล์, 1.689 ชั่วโมง, ที่ 0.3 เปอร์เซนต์ 1.14×10^{8} เซลล์, 3.290 ชั่วโมง ที่ 0.4 เปอร์เซนต์ 7.40×10^{7} เซลล์, 3.580 ชั่วโมง และที่ 0.5 เปอร์เซนต์ 6.40×10^{7} เซลล์, 3.767 ชั่วโมง สำหรับชุดควบคุม ก็เช่นเดียวกันกับข้อ 4.3 แสดงว่า แบคทีเรียทั้ง 2 ชนิด มีการสลายน้ำมันหล่อลื่นฯ ซึ่งเป็นแหล่งคาร์บอนควบคู่ไปกับการใช้เกลือแร่จากอาหารชนิดเหลว MBM นั้นด้วย แต่โดยเฉพาะเมื่อระดับความเข้มข้นต่าง ๆ คือ 0.1 และ 0.2 เปอร์เซนต์ จะเจริญเติบโตเพิ่มขึ้น แต่เมื่อความเข้มข้นเพิ่มขึ้น เป็น 0.3, 0.4 และ 0.5 เปอร์เซนต์ การเจริญเติบโตจะลดลง เมื่อเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของแบคทีเรียในรูปค่าเฉลี่ยจำนวนเซลล์ ที่เติมน้ำมันหล่อลื่นสังเคราะห์ Esso ultron และ Castrol GTX พบว่า ที่ความเข้มข้น 0.1 และ 0.2 เปอร์เซนต์ แบคทีเรียทั้ง 2 ชนิด มีการเจริญเติบโตในอาหารชนิดเหลว MBM ที่เติมน้ำมันหล่อลื่นฯ Castrol GTX ได้ดีกว่าใน Esso ultron แต่เมื่อความเข้มข้นเพิ่มขึ้น เป็น 0.3, 0.4 และ 0.5 เปอร์เซนต์ แบคทีเรียทั้ง 2 ชนิด มีการเจริญเติบโตใน Esso ultron ได้ดีกว่าใน Castrol GTX แต่เมื่อพิจารณาจากระยะเวลาแบ่งตัวต่อรุ่น กลับพบว่า แบคทีเรียทั้ง 2 ชนิดในอาหารชนิดเหลว MBM ที่เติมน้ำมันหล่อลื่นฯ Castrol GTX ทุกระดับความเข้มข้น มีการใช้ระยะเวลาแบ่งตัวต่อรุ่นน้อยกว่าใน Esso ultron เว้นแต่ที่ความเข้มข้น 0.5 เปอร์เซนต์ *B. subtilis* ในอาหารชนิดเหลว MBM ที่เติมน้ำมันหล่อลื่นฯ Castrol GTX มีการใช้ระยะเวลาแบ่งตัวฯ มากกว่าใน Esso ultron ที่ระดับความเข้มข้นเดียวกัน

จากการวัดการเจริญเติบโตในรูปจำนวนเซลล์แบคทีเรีย ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 (เริ่มต้น) ถึงชั่วโมงที่ 1,440 (60 วัน) พบว่า ทั้ง *P. putida* และ *B. subtilis* ต่างเจริญเติบโตได้ดีที่สุดในอาหารชนิดเหลว MBM ที่เติมน้ำมันหล่อลื่นฯ Esso ultron (ดังตารางที่ ค.2 และ ค.4) และ Castrol GTX (ดังตารางที่ ค.3 และค.5)

2 มิลลิลิตรต่อลิตร และใช้ระยะเวลาแบ่งตัวต่อรุ่นน้อยที่สุด (ดังตารางที่ ค.1 ก และ ข) และเมื่อเพิ่มความเข้มข้นเป็น 3, 4 และ 5 มิลลิลิตรต่อลิตร พบว่า แบคทีเรียมีการเจริญเติบโตลดลง และใช้ระยะเวลาในการแบ่งตัวต่อรุ่นมากขึ้น อาจเนื่องจากเริ่มมีสภาวะที่ไม่เหมาะสม จากความเป็นพิษของสารไฮโดรคาร์บอนในน้ำมันหล่อลื่นฯที่เพิ่มขึ้น ศิริพร เหลืองนฤทัย (2536) ศึกษาการย่อยสลายของปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนในน้ำทะเล โดย *Flavobacterium meningosepticum* และ *Pseudomonas fluorescens* มีการแบ่งตัวต่อรุ่นได้ดีที่สุดที่ระดับความเข้มข้นน้ำมันดิบ 3 กรัมต่อลิตร (ระยะเวลาแบ่งตัวต่อรุ่น 3.870 ชั่วโมง และ 5.890 ชั่วโมง ตามลำดับ) ที่ระดับความเข้มข้นน้ำมันดิบ ต่ำกว่า 3 กรัมต่อลิตร *F. meningosepticum* เจริญเติบโตได้ดีกว่า *P. fluorescens* แต่เมื่อระดับความเข้มข้นของน้ำมันดิบสูงขึ้น (5 กรัมต่อลิตร) *F. meningosepticum* เจริญเติบโตได้น้อยกว่า *P. fluorescens* และ ยุวเรศน์ เอมแย้ม (2537) ศึกษาการย่อยสลายของสารนอร์มัลอัลเคนในน้ำจืด โดย *Pseudomonas fluorescens* และ *Alicaligenes facalis* ในห้องปฏิบัติการ พบว่า *P. fluorescens* มีการแบ่งตัวต่อรุ่นได้ดีที่สุด ที่ระดับความเข้มข้นของน้ำมัน 3 มิลลิลิตรต่อลิตร (ปริมาตรต่อปริมาตร) คือ 2.680 ชั่วโมง *A. facalis* มีการแบ่งตัวต่อรุ่นได้ดีที่สุด ที่ระดับความเข้มข้นของน้ำมัน 2 มิลลิลิตรต่อลิตร คือ 4.010 ชั่วโมง และจากการทดลองครั้งนี้ พบว่า *P. putida* มีการเจริญเติบโตได้ดีกว่า *B. subtilis* ทั้งในน้ำมันหล่อลื่นฯ Esso ultron และ Castrol GTX โดยที่ใน Esso ultron แบคทีเรีย *P. putida* มีการเจริญเติบโตได้ดีกว่า *B. subtilis* ในทุกระดับความเข้มข้น (1 ,2, 3 และ 4 มิลลิลิตรต่อลิตร) เว้นแต่ที่ความเข้มข้น 5 มิลลิลิตรต่อลิตร *B. subtilis* มีการเจริญเติบโตในรูปจำนวนเซลล์ได้ดีกว่า *P. putida* แต่ใช้ระยะเวลาแบ่งตัวต่อรุ่นเท่ากัน คือ 3.652 ชั่วโมง ส่วนในน้ำมันหล่อลื่นฯ Castrol GTX แบคทีเรีย *P. putida* มีการเจริญเติบโตได้ดีกว่า *B. subtilis* ในทุกระดับความเข้มข้น (1 ,2, 3, 4 และ 5 มิลลิลิตรต่อลิตร) และได้ระยะเวลาแบ่งตัวต่อรุ่นน้อยกว่า *B. subtilis* สำหรับชุดควบคุม คือ MBM ที่ไม่เติมน้ำมันฯ แต่เติมเฉพาะแบคทีเรีย พบว่าแบคทีเรียทั้ง 2 ชนิด มีการเจริญเติบโตได้น้อยกว่าในอาหารชนิดเหลว MBM ที่เติมน้ำมันหล่อลื่นฯ เนื่องจากใน MBM ไม่มีแหล่งคาร์บอนเป็นแหล่งอาหารให้แก่แบคทีเรีย เพื่อใช้ในการเจริญเติบโตได้เต็มที่ แต่ในน้ำมันหล่อลื่นฯ Esso ultron จะมีแหล่งคาร์บอนจากสารประกอบเอสเทอร์สังเคราะห์ ซึ่งเป็นน้ำมันหล่อลื่นพื้นฐานที่แบคทีเรียสามารถสลายเอาไปใช้ประโยชน์ในการเจริญเติบโต ควบคู่ไปกับการใช้เกลือแร่ในสารอาหารพื้นฐาน MBM ส่วนในน้ำมันหล่อลื่นฯ Castrol GTX จะมีแหล่งคาร์บอนจากสารประกอบไฮโดรคาร์บอนอิ่มตัว และอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอน ซึ่งเป็นไฮโดรคาร์บอนสังเคราะห์มาจากปิโตรเลียมที่แบคทีเรียสามารถสลายไฮโดรคาร์บอนอิ่มตัวได้ เช่นเดียวกัน สำหรับการเจริญเติบโตของแบคทีเรียแต่ละชนิด ระหว่างในชุดทดลอง MBM ที่เติมน้ำมันหล่อลื่นฯ Esso ultron และ Castrol GTX พบว่า ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ ๆ คือ ที่ 1 และ 2 มิลลิลิตรต่อลิตร แบคทีเรียในชุดทดลอง MBM ที่เติมน้ำมันหล่อลื่นฯ Castrol GTX มีการเจริญเติบโตในรูปจำนวนเซลล์มากกว่า และใช้ระยะเวลาแบ่งตัวต่อรุ่นน้อยกว่าแบคทีเรียในชุดทดลอง MBM ที่เติมน้ำมันหล่อลื่นฯ Esso ultron แต่เมื่อเพิ่มความเข้มข้นน้ำมันฯ เป็น

3, 4 และ 5 มิลลิลิตรต่อลิตร จะพบว่า แบคทีเรียในชุดทดลอง MBM ที่เติมน้ำมันหล่อลื่นฯ Esso ultron มีค่าเฉลี่ยจำนวนเซลล์มากกว่า ถึงแม้ว่าจะใช้ระยะเวลาแบ่งตัวต่อรุ่นมากกว่าก็ตาม เนื่องจากการคำนวณระยะเวลาแบ่งตัวฯ คำนวณจากค่าเฉลี่ยจำนวนเซลล์ ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 (เริ่มต้น) ถึง ชั่วโมงที่ 12 ซึ่งเป็นระยะการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย (logarithmic phase) แต่การคิดค่าเฉลี่ยจำนวนเซลล์ของการทดลองนี้คิดจากค่าเฉลี่ยจำนวนเซลล์ ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 (เริ่มต้น) ถึงชั่วโมงสุดท้ายของการทดลอง คือ ชั่วโมงที่ 1,440 (60 วัน) แสดงว่า แบคทีเรียทั้งสองชนิดนี้สามารถเจริญเติบโตได้เต็มที่ในชุดทดลองที่เติมน้ำมันหล่อลื่นฯ Castrol GTX ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ (1 และ 2 มิลลิลิตรต่อลิตร) แต่ที่ความเข้มข้นน้ำมันฯ สูงขึ้น คือ ที่ความเข้มข้นน้ำมัน 3, 4 และ 5 มิลลิลิตรต่อลิตร แบคทีเรียจะเจริญเติบโตเพิ่มจำนวนได้ดีในช่วงแรก ๆ และเริ่มลดจำนวนเซลล์ลง ที่ชั่วโมงที่ 96 และ120 โดยที่แบคทีเรียในชุดทดลอง MBM ที่เติมน้ำมันหล่อลื่นฯ Castrol GTX จะมีการลดลงของจำนวนเซลล์มากกว่า ในชุดทดลอง MBM ที่เติมน้ำมันหล่อลื่นฯ Esso ultron จึงทำให้ค่าเฉลี่ยจำนวนเซลล์ของการทดลอง ที่ความเข้มข้นน้ำมันฯ 3, 4 และ 5 มิลลิลิตร ชุดทดลองที่เติมน้ำมันหล่อลื่นฯ Castrol GTX มีค่าเฉลี่ยจำนวนเซลล์น้อยกว่า ถึงแม้ว่าจะใช้ระยะเวลาแบ่งตัวฯ น้อยกว่าก็ตาม เนื่องจากคำนวณจากช่วงเวลาที่ต่างกันนั่นเอง ย่อมแสดงให้เห็นว่า ถ้าพิจารณาจาก ค่าเฉลี่ยจำนวนเซลล์แบคทีเรีย ในชุดทดลอง MBM ที่เติมน้ำมันหล่อลื่นฯ Castrol GTX จะสามารถสลายและใช้น้ำมันหล่อลื่นฯ ได้ดีที่สุด ที่ความเข้มข้นต่ำ ๆ แบคทีเรียในชุดทดลอง MBM ที่เติมน้ำมันหล่อลื่น ฯ Esso ultron จะคงทนในสภาพที่มีความเข้มข้นน้ำมันฯ สูง ๆ (3, 4 และ 5 มิลลิลิตรต่อลิตร) ได้นานกว่าชุดทดลอง MBM ที่เติมน้ำมันหล่อลื่นฯ Castrol GTX เพราะว่าในน้ำมันหล่อลื่นฯ Esso ultron เป็นน้ำมันหล่อลื่นสังเคราะห์ที่มีน้ำมันหล่อลื่นพื้นฐานจำพวกสารประกอบเอสเทอร์สังเคราะห์ ที่สามารถสังเคราะห์ขึ้น โดยการทำปฏิกิริยากัน ระหว่างอัลกอฮอล์ และกรดอินทรีย์ จึงทำให้แบคทีเรียสามารถสลายเอสเทอร์ของกรดอินทรีย์ได้โดยง่าย ในขณะที่น้ำมันหล่อลื่นฯ Castrol GTXเป็นน้ำมันหล่อลื่นสังเคราะห์ที่มีน้ำมันหล่อลื่นพื้นฐานจำพวกสารประกอบไฮโดรคาร์บอนสังเคราะห์ประเภทสารไฮโดรคาร์บอนอิ่มตัว ซึ่งละลายน้ำได้ไม่มากนัก (ดังตารางที่ 2.2) จึงทำให้แบคทีเรียทำการสลายได้ดีในระดับความเข้มข้นน้ำมันฯต่ำ ๆ และเมื่อนำข้อมูลค่าเฉลี่ยจำนวนเซลล์แบคทีเรียจากตารางที่ ค.2 - ค.5 มาทำการทดสอบทางสถิติ โดยใช้ T - Test เพื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยจำนวนเซลล์ ได้ผลดังนี้

1. จำนวนเซลล์แบคทีเรีย *P. putida* และ *B. subtilis* ในอาหารชนิดเหลว MBM ที่เติมน้ำมันหล่อลื่นฯ Esso ultron 1, 2, 3, 4 และ 5 มิลลิลิตรต่อลิตร ได้ค่าทดสอบดังตารางที่ 4.4 ก, 4.5 ก, 4.7 ก และ 4.8 ก คือ ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

2. จำนวนเซลล์แบคทีเรีย *P. putida* และ *B. subtilis* ในอาหารชนิดเหลว MBM ที่เติมน้ำมันหล่อลื่นฯ Castrol GTX 1, 2, 3, 4 และ 5 มิลลิลิตรต่อลิตร ได้ค่าทดสอบดังตารางที่ 4.4 ข, 4.5 ข, 4.6 ข, 4.7 ข และ 4.8 ข คือ ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

ตารางที่ 4.4 ก การทดสอบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยการเจริญเติบโตในรูปจำนวนเซลล์แบคทีเรีย *Pseudomonas putida* และ *Bacillus subtilis* ในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเหลว MBM ที่เติมน้ำมันหล่อลื่นสังเคราะห์ Esso ultron ความเข้มข้น 1 มิลลิลิตรต่อลิตร

ตำรับทดลอง	จำนวนข้อมูล	ค่าเฉลี่ย*	ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน	t- คำนวณ	p -value
Pseudomonas putida	26	$1.15x10^{9a}$	$1.07x10^{9}$	0.7900	0.4360
Bacillus subtilis	26	$9.30x10^{8a}$	$9.00x10^{8}$	0.7900	0.4360

ตารางที่ 4.4 ข การทดสอบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยการเจริญเติบโตในรูปจำนวนเซลล์แบคทีเรีย *Pseudomonas putida* และ *Bacillus subtilis* ในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเหลว MBM ที่เติมน้ำมันหล่อลื่นสังเคราะห์ Castrol GTX ความเข้มข้น 1 มิลลิลิตรต่อลิตร

ตำรับทดลอง	จำนวนข้อมูล	ค่าเฉลี่ย*	ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน	t- คำนวณ	p -value
Pseudomonas putida	26	$1.31x10^{9a}$	$1.05x10^{9}$	0.8700	0.3860
Bacillus subtilis	26	$1.07x10^{9a}$	$9.00x10^{8}$	0.8700	0.3860

ตารางที่ 4.5 ก การทดสอบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยการเจริญเติบโตในรูปจำนวนเซลล์แบคทีเรีย *Pseudomonas putida* และ *Bacillus subtilis* ในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเหลว MBM ที่เติมน้ำมันหล่อลื่นสังเคราะห์ Esso ultron ความเข้มข้น 2 มิลลิลิตรต่อลิตร

ตำรับทดลอง	จำนวนข้อมูล	ค่าเฉลี่ย*	ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน	t- คำนวณ	p -value
Pseudomonas putida	26	$1.25x10^{9a}$	$1.14x10^{9}$	0.8300	0.4120
Bacillus subtilis	26	$9.40x10^{8a}$	$9.50x10^{8}$	0.8300	0.4120

ตารางที่ 4.5 ข การทดสอบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยการเจริญเติบโตในรูปจำนวนเซลล์แบคทีเรีย *Pseudomonas putida* และ *Bacillus subtilis* ในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเหลว MBM ที่เติมน้ำมันหล่อลื่นสังเคราะห์ Castrol GTX ความเข้มข้น 2 มิลลิลิตรต่อลิตร

ตำรับทดลอง	จำนวนข้อมูล	ค่าเฉลี่ย*	ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน	t- คำนวณ	p- value
Pseudomonas putida	26	$1.41x10^{9a}$	$1.11x10^{9}$	0.8600	0.3940
Bacillus subtilis	26	$1.16x10^{9a}$	$9.70x10^{8}$	0.8600	0.3940

ตารางที่ 4.6 ก การทดสอบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยการเจริญเติบโตในรูปจำนวนเซลล์แบคทีเรีย *Pseudomonas putida* และ *Bacillus subtilis* ในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเหลว MBM ที่เติมน้ำมันหล่อลื่นสังเคราะห์ Esso ultron ความเข้มข้น 3 มิลลิลิตรต่อลิตร

ตำรับทดลอง	จำนวนข้อมูล	ค่าเฉลี่ย*	ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน	t- คำนวณ	p - value
Pseudomonas putida	26	1.66×10^{8} a	8.10×10^{7}	- 0.6700	0.5040
Bacillus subtilis	26	1.45×10^{8} a	7.20×10^{7}	- 0.6700	0.5040

ตารางที่ 4.6 ข การทดสอบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยการเจริญเติบโตในรูปจำนวนเซลล์แบคทีเรีย *Pseudomonas putida* และ *Bacillus subtilis* ในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเหลว MBM ที่เติมน้ำมันหล่อลื่นสังเคราะห์ Castrol GTX ความเข้มข้น 3 มิลลิลิตรต่อลิตร

ตำรับทดลอง	จำนวนข้อมูล	ค่าเฉลี่ย*	ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน	t- คำนวณ	p - value
Pseudomonas putida	26	1.55×10^{8} a	2.04×10^{8}	0.8700	0.3870
Bacillus subtilis	26	1.14×10^{8} a	1.31×10^{8}	0.8700	0.3870

ตารางที่ 4.7 ก การทดสอบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยการเจริญเติบโตในรูปจำนวนเซลล์แบคทีเรีย *Pseudomonas putida* และ *Bacillus subtilis* ในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเหลว MBM ที่เติมน้ำมันหล่อลื่นสังเคราะห์ Esso ultron ความเข้มข้น 4 มิลลิลิตรต่อลิตร

ตำรับทดลอง	จำนวนข้อมูล	ค่าเฉลี่ย*	ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน	t- คำนวณ	p - value
Pseudomonas putida	26	1.39×10^{8} a	7.10×10^{7}	1.1000	0.2270
Bacillus subtilis	26	1.19×10^{8} a	6.50×10^{7}	1.1000	0.2270

ตารางที่ 4.7 ข การทดสอบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยการเจริญเติบโตในรูปจำนวนเซลล์แบคทีเรีย *Pseudomonas putida* และ *Bacillus subtilis* ในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเหลว MBM ที่เติมน้ำมันหล่อลื่นสังเคราะห์ Castrol GTX ความเข้มข้น 4 มิลลิลิตรต่อลิตร

ตำรับทดลอง	จำนวนข้อมูล	ค่าเฉลี่ย*	ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน	t- คำนวณ	p - value
Pseudomonas putida	26	8.30×10^{7} a	7.90×10^{7}	0.4300	0.6680
Bacillus subtilis	26	7.40×10^{7} a	7.10×10^{7}	0.4300	0.6680

ตารางที่ 4.8 ก การทดสอบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยการเจริญเติบโตในรูปจำนวนเซลล์แบคทีเรีย *Pseudomonas putida* และ *Bacillus subtilis* ในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเหลว MBM ที่เติมน้ำมันหล่อลื่นสังเคราะห์ Esso ultron ความเข้มข้น 5 มิลลิลิตรต่อลิตร

ตำรับทดลอง	จำนวนข้อมูล	ค่าเฉลี่ย*	ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน	t- คำนวณ	p - value
Pseudomonas putida	26	9.70×10^{7} a	5.70×10^{7}	- 0.3800	0.7020
Bacillus subtilis	26	1.03×10^{8} a	5.90×10^{7}	- 0.3800	0.7020

ตารางที่ 4.8 ข การทดสอบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยการเจริญเติบโตในรูปจำนวนเซลล์แบคทีเรีย *Pseudomonas putida* และ *Bacillus subtilis* ในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเหลว MBM ที่เติมน้ำมันหล่อลื่นสังเคราะห์ Castrol GTX ความเข้มข้น 5 มิลลิลิตรต่อลิตร

ตำรับทดลอง	จำนวนข้อมูล	ค่าเฉลี่ย*	ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน	t- คำนวณ	p - value
Pseudomonas putida	26	7.40×10^{7} a	7.20×10^{7}	0.5000	0.6170
Bacillus subtilis	26	6.40×10^{7} a	6.30×10^{7}	0.5000	0.6170

ค่า t - ตาราง = 1.7080

* ตัวอักษรที่เหมือนกัน แสดงถึง ความไม่แตกต่างกันหรือแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ
ตัวอักษรที่ต่างกัน แสดงถึง ความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

3. จำนวนเซลล์แบคทีเรีย *P. putida* ในอาหารชนิดเหลว MBM ที่เติมน้ำมันหล่อลื่นฯ Esso ultron และ Castrol GTX 1, 2 และ 3 มิลลิลิตรต่อลิตร ได้ค่าทดสอบดังตารางที่ 4.9 ก, 4.10 ก และ 4.11 ก คือ ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

4. จำนวนเซลล์แบคทีเรีย *B. subtilis* ในอาหารชนิดเหลว MBM ที่เติมน้ำมันหล่อลื่นฯ Esso ultron และ Castrol GTX 1,2 และ 3 มิลลิลิตรต่อลิตร ได้ค่าทดสอบดังตารางที่ 4.9 ข, 410 ข และ 4.11 ข คือ ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

5. จำนวนเซลล์แบคทีเรีย *P. putida* ในอาหารชนิดเหลว MBM ที่เติมน้ำมันหล่อลื่น ฯ Esso ultron และ Castrol GTX 4 และ 5 มิลลิลิตรต่อลิตร ได้ค่าทดสอบดังตารางที่ 4.12 ก และ 4.13 ก คือ มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

6. จำนวนเซลล์แบคทีเรีย *B. subtilis* ในอาหารชนิดเหลว MBM ที่เติมน้ำมันหล่อลื่นฯ Esso ultron และ Castrol GTX 4 และ 5 มิลลิลิตรต่อลิตร ได้ค่าทดสอบดังตารางที่ 4.12 ข และ 4.13 ข คือ มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับตวามนัยสำคัญ 95 เปอร์เซนต์

จากนั้น นำข้อมูลค่าเฉลี่ยจำนวนเซลล์แบคทีเรียแต่ละชนิด ในอาหารชนิดเหลว MBM ที่เติมน้ำมันหล่อลื่นฯ แต่ละชนิด ในระดับความเข้มข้น 0 (ตัวควบคุม) - 5 มิลลิลิตรต่อลิตร โดยใช้การวิเคราะห์ความแปรปรวนจำแนกทางเดียว (one - way analysis of variance) ดังนี้

1. การเจริญเติบโตของ *P. putida* ในอาหารชนิดเหลว MBM ที่เติมน้ำมันหล่อลื่นฯ ในระดับความเข้มข้นต่าง ๆ

1.1 น้ำมันหล่อลื่นฯ Esso ultron (ค่า F = 7.0801)

1.2 น้ำมันหล่อลื่นฯ Castrol GTX (ค่า F = 7.0689)

ได้ค่าทดสอบดังตารางที่ 4.14 โดยมีค่า F ตาราง = 2.9100 ซึ่งค่า F คำนวณ มากกว่าค่า F ตาราง แสดงว่าปฏิเสธสมมติฐาน ที่ว่า การเจริญเติบโตของ *P. putida* ในอาหารชนิดเหลว MBM ที่เติมน้ำมันหล่อลื่นฯ Esso ultron และที่เติมน้ำมันหล่อลื่นฯ Castrol GTX ในระดับความเข้มข้นต่าง ๆ คือ ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

2. การเจริญเติบโตของ *B. subtilis* ในอาหารชนิดเหลว MBM ที่เติมน้ำมันหล่อลื่นฯ ในระดับความเข้มข้นต่าง ๆ

2.1 น้ำมันหล่อลื่นฯ Esso ultron (ค่า F = 5.6511)

2.2 น้ำมันหล่อลื่นฯ Castrol GTX (ค่า F = 6.9701)

ได้ค่าทดสอบดังตารางที่ 4.14 โดยมีค่า F ตาราง = 2.9100 ซึ่งค่า F คำนวณมากกว่าค่า F ตาราง แสดงว่า ปฏิเสธสมมติฐาน ที่ว่า การเจริญเติบโตของ *B. subtilis* ในอาหารชนิดเหลว MBM ที่เติมน้ำมันหล่อลื่นฯ Esso ultron และที่เติมน้ำมันหล่อลื่นฯ Castrol GTX ในระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

ตารางที่ 4.9 ก การทดสอบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยการเจริญเติบโตในรูปจำนวนเซลล์แบคทีเรีย *Pseudomonas putida* ในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเหลว MBM ที่เติมน้ำมันหล่อลื่นสังเคราะห์ Esso ultron และ Castrol GTX ความเข้มข้น 1 มิลลิลิตรต่อลิตร

ตำรับทดลอง	จำนวนข้อมูล	ค่าเฉลี่ย	ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน	t - คำนวณ	p - value
Esso ultron	26	$1.15x10^{9}$ a	$1.07x10^{9}$	- 0.5400	0.5880
Castrol GTX	26	$1.31x10^{9}$ a	$1.05x10^{9}$	- 0.5400	0.5880

ตารางที่ 4.9 ข การทดสอบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยการเจริญเติบโตในรูปจำนวนเซลล์แบคทีเรีย *Bacillus subtilis* ในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเหลว MBM ที่เติมน้ำมันหล่อลื่นสังเคราะห์ Esso ultron และ Castrol GTX ความเข้มข้น 1 มิลลิลิตรต่อลิตร

ตำรับทดลอง	จำนวนข้อมูล	ค่าเฉลี่ย	ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน	t - คำนวณ	p - value
Esso ultron	26	$9.30x10^{8}$ a	$9.00x10^{8}$	- 0.5500	0.5820
Castrol GTX	26	$1.07x10^{9}$ a	$9.00x10^{8}$	- 0.5500	0.5820

ตารางที่ 4.10 ก การทดสอบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยการเจริญเติบโตในรูปจำนวนเซลล์แบคทีเรีย *Pseudomonas putida* ในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเหลว MBM ที่เติมน้ำมันหล่อลื่นสังเคราะห์ Esso ultron และ Castrol GTX ความเข้มข้น 2 มิลลิลิตรต่อลิตร

ตำรับทดลอง	จำนวนข้อมูล	ค่าเฉลี่ย	ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน	t - คำนวณ	p - value
Esso ultron	26	$1.25x10^{9}$ a	$1.14x10^{9}$	- 0.5200	0.6030
Castrol GTX	26	$1.41x10^{9}$ a	$1.11x10^{9}$	- 0.5200	0.6030

ตารางที่ 4.10 ข การทดสอบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยการเจริญเติบโตในรูปจำนวนเซลล์แบคทีเรีย *Bacillus subtilis* ในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเหลว MBM ที่เติมน้ำมันหล่อลื่นสังเคราะห์ Esso ultron และ Castrol GTX ความเข้มข้น 2 มิลลิลิตรต่อลิตร

ตำรับทดลอง	จำนวนข้อมูล	ค่าเฉลี่ย	ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน	t - คำนวณ	p - value
Esso ultron	26	$9.40x10^{8}$ a	$9.50x10^{8}$	- 0.8400	0.4030
Castrol GTX	26	$1.16x10^{9}$ a	$9.70x10^{8}$	- 0.8400	0.4030

ตารางที่ 4.11 ก การทดสอบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยการเจริญเติบโตในรูปจำนวนเซลล์แบคทีเรีย *Pseudomonas putida* ในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเหลว MBM ที่เติมน้ำมันหล่อลื่นสังเคราะห์ Esso ultron และ Castrol GTX ความเข้มข้น 3 มิลลิลิตรต่อลิตร

ตำรับทดลอง	จำนวนข้อมูล	ค่าเฉลี่ย *	ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน	t - คำนวณ	p - value
Esso ultron	26	$1.66x10^{8}$ a	$8.10x10^{7}$	0.2600	0.7970
Castrol GTX	26	$1.55x10^{8}$ a	$2.04x10^{8}$	0.2600	0.7970

ตารางที่ 4.11 ข การทดสอบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยการเจริญเติบโตในรูปจำนวนเซลล์แบคทีเรีย *Bacillus subtilis* ในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเหลว MBM ที่เติมน้ำมันหล่อลื่นสังเคราะห์ Esso ultron และ Castrol GTX ความเข้มข้น 3 มิลลิลิตรต่อลิตร

ตำรับทดลอง	จำนวนข้อมูล	ค่าเฉลี่ย *	ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน	t - คำนวณ	p - value
Esso ultron	26	$1.45x10^{8}$ a	$7.30x10^{7}$	1.0600	0.2930
Castrol GTX	26	$1.14x10^{8}$ a	$1.31x10^{8}$	1.0600	0.2930

ตารางที่ 4.12 ก การทดสอบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยการเจริญเติบโตในรูปจำนวนเซลล์แบคทีเรีย *Pseudomonas putida* ในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเหลว MBM ที่เติมน้ำมันหล่อลื่นสังเคราะห์ Esso ultron และ Castrol GTX ความเข้มข้น 4 มิลลิลิตรต่อลิตร

ตำรับทดลอง	จำนวนข้อมูล	ค่าเฉลี่ย *	ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน	t - คำนวณ	p - value
Esso ultron	26	$1.39x10^{8}$ a	$7.10x10^{7}$	2.7100	0.0090
Castrol GTX	26	$8.30x10^{7}$ b	$7.90x10^{7}$	2.7100	0.0090

ตารางที่ 4.12 ข การทดสอบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยการเจริญเติบโตในรูปจำนวนเซลล์แบคทีเรีย *Bacillus subtilis* ในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเหลว MBM ที่เติมน้ำมันหล่อลื่นสังเคราะห์ Esso ultron และ Castrol GTX ความเข้มข้น 4 มิลลิลิตรต่อลิตร

ตำรับทดลอง	จำนวนข้อมูล	ค่าเฉลี่ย *	ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน	t - คำนวณ	p - value
Esso ultron	26	$1.19x10^{8}$ a	$6.50x10^{7}$	2.3400	0.0230
Castrol GTX	26	$7.40x10^{7}$ b	$7.10x10^{7}$	2.3400	0.0230

ตารางที่ 4.13 ก การทดสอบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยการเจริญเติบโตในรูปจำนวนเซลล์แบคทีเรีย *Pseudomonas putida* ในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเหลว MBM ที่เติมน้ำมันหล่อลื่นสังเคราะห์ Esso ultron และ Castrol GTX ความเข้มข้น 5 มิลลิลิตรต่อลิตร

ตำรับทดลอง	จำนวนข้อมูล	ค่าเฉลี่ย *	ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน	t - คำนวณ	p - value
Esso ultron	26	$9.70x10^{7}$ a	$5.70x10^{7}$	1.8700	0.0680
Castrol GTX	26	$7.40x10^{7}$ a	$7.20x10^{7}$	1.8700	0.0680

ตารางที่ 4.13 ข การทดสอบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยการเจริญเติบโตในรูปจำนวนเซลล์แบคทีเรีย *Bacillus subtilis* ในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเหลว MBM ที่เติมน้ำมันหล่อลื่นสังเคราะห์ Esso ultron และ Castrol GTX ความเข้มข้น 5 มิลลิลิตรต่อลิตร

ตำรับทดลอง	จำนวนข้อมูล	ค่าเฉลี่ย *	ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน	t - คำนวณ	p - value
Esso ultron	26	$1.03x10^{8}$ a	$5.90x10^{7}$	2.2900	0.0260
Castrol GTX	26	$6.40x10^{7}$ a	$6.30x10^{7}$	2.2900	0.0260

ค่า t - ตาราง = 1.7080

*ตัวอักษรที่เหมือนกัน แสดงถึง ความไม่แตกต่างหรือแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ

ตัวอักษรที่ต่างกัน แสดงถึง ความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

ตารางที่ 4.14 การทดสอบทางสถิติ เพื่อเปรียบเทียบระหว่างค่าเฉลี่ยของการเจริญเติบโตในรูปจำนวนเซลล์แบคทีเรียแต่ละชนิดในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเหลว TSB และ MBM ที่เติมน้ำมันหล่อลื่นสังเคราะห์ ในระดับความเข้มข้นต่าง ๆ

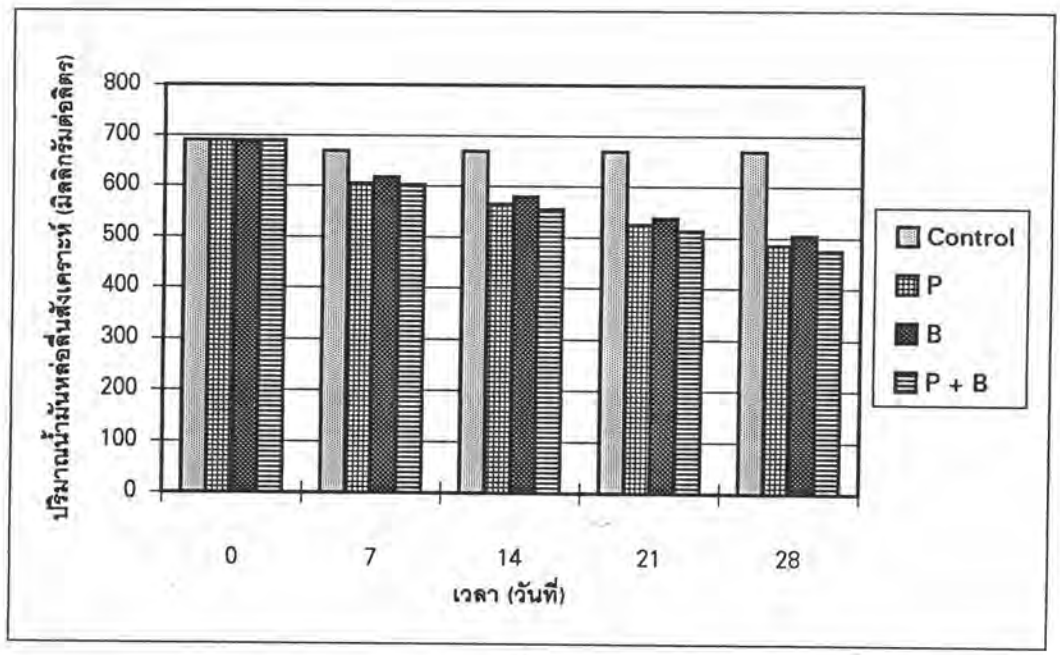
ค่าสถิติ	ชนิดแบคทีเรีย	ชนิดน้ำมันหล่อลื่น	ตำรับทดลอง						
			TSB	MBM	MBM0.1%	MBM0.2%	MBM0.3%	MBM0.4%	MBM0.5%
ค่าเฉลี่ย	*Pseudomonas putida*	ไม่มี	$3.30x10^{10}$	$3.20x10^{7}$	-	-	-	-	-
		Esso	-	-	$1.15x10^{9}$	$1.25x10^{9}$	$1.66x10^{8}$	$1.39x10^{8}$	$9.70x10^{7}$
		Castrol	-	-	$1.31x10^{9}$	$1.41x10^{9}$	$1.55x10^{8}$	$8.30x10^{7}$	$7.40x10^{7}$
	Bacillus subtilis	ไม่มี	$3.40x10^{10}$	$5.70x10^{7}$	-	-	-	-	-
		Esso	-	-	$9.30x10^{8}$	$9.40x10^{8}$	$1.45x10^{8}$	$1.19x10^{8}$	$1.03x10^{8}$
		Castrol	-	-	$1.07x10^{9}$	$1.16x10^{9}$	$1.14x10^{8}$	$7.40x10^{7}$	$6.40x10^{7}$
ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน	*Pseudomonas putida*	ไม่มี	$6.40x10^{10}$	$3.30x10^{7}$	-	-	-	-	-
		Esso	-	-	$1.07x10^{9}$	$1.14x10^{9}$	$8.10x10^{7}$	$7.10x10^{7}$	$5.70x10^{7}$
		Castrol			$1.05x10^{9}$	$1.11x10^{9}$	$2.04x10^{8}$	$7.90x10^{7}$	$7.20x10^{7}$
	Bacillus subtilis	ไม่มี	$7.30x10^{10}$	$5.40x10^{7}$	-	-	-	-	-
		Esso	-	-	$9.00x10^{8}$	$9.50x10^{8}$	$7.20x10^{7}$	$6.50x10^{7}$	$5.90x10^{7}$
		Castrol	-	-	$9.00x10^{8}$	$9.70x10^{8}$	$1.31x10^{8}$	$7.10x10^{7}$	$6.30x10^{7}$
F-คำนวณ	*Pseudomonas putida*	ไม่มี	-	-	-	-	-	-	-
		Esso	-	-	7.0801	7.0801	7.0801	7.0801	7.0801
		Castrol	-	-	7.0689	7.0689	7.0689	7.0689	7.0689
	Bacillus subtilis	ไม่มี	-	-	-	-	-	-	-
		Esso	-	-	5.6511	5.6511	5.6511	5.6511	5.6511
		Castrol	-	-	6.9701	6.9701	6.9701	6.9701	6.9701
F-ตาราง	2.9100								

และนำข้อมูลค่าเฉลี่ยจำนวนเซลล์แบคทีเรีย แต่ละชนิดในอาหารชนิดเหลว TSB และ MBM ที่เติมน้ำมันหล่อลื่นฯ แต่ละชนิด ในระดับความเข้มข้น 0 (ตัวควบคุม) - 5 มิลลิลิตรต่อลิตร โดยใช้การวิเคราะห์ความแปรปรวนจำแนกแบบ 2 ทาง (analysis of variance) (ANOVA) แบบ Duncan new's multiple range test พบว่า การเจริญเติบโตของแบคทีเรียต่างชนิดกัน และในอาหารชนิดเหลวที่ต่างชนิดกัน และต่างความเข้มข้นน้ำมันกัน มีปฏิสัมพันธ์กัน โดยมีค่า F คำนวณ = 0.4430 ซึ่งมีค่าน้อยกว่า (F ตาราง = 3.8400) โดยมีการเจริญเติบโตของแบคทีเรียทั้ง *P. putida* และ *B. subtilis* ในอาหารชนิดเหลว TSB มีความแตกต่างกับการเจริญเติบโตในอาหารชนิดเหลว MBM ที่เติมน้ำมันหล่อลื่นฯ Esso ultron และ Castrol GTX ในระดับความเข้มข้น 0 (ตัวควบคุม) - 5 มิลลิลิตร

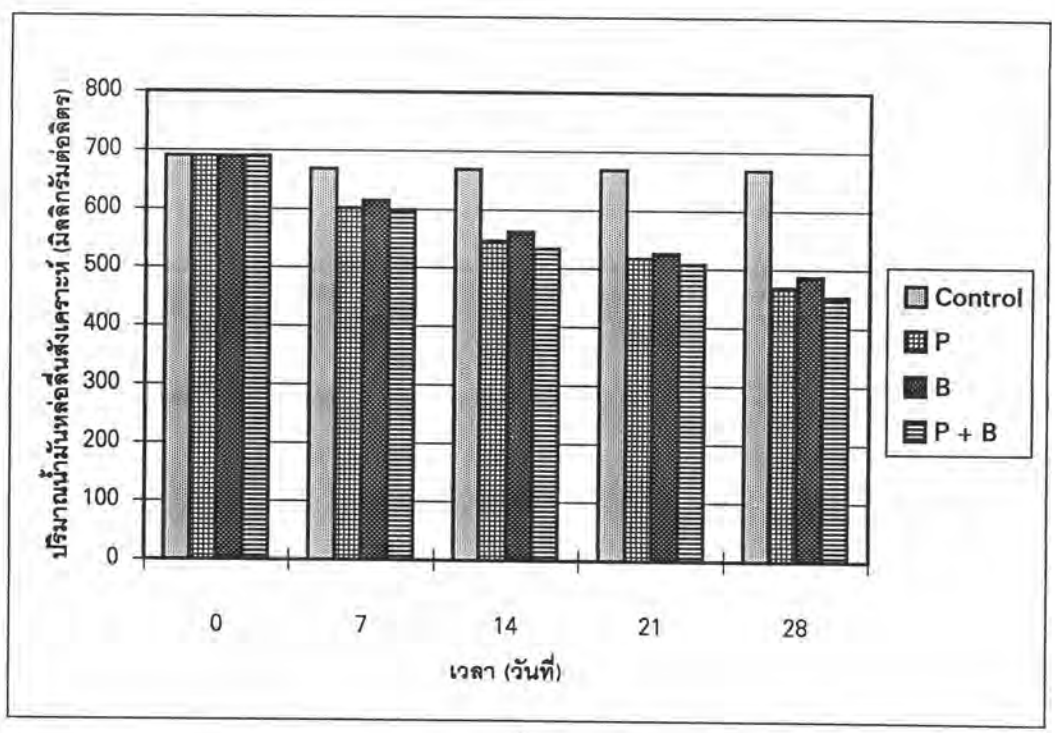
สรุปผลการทดสอบทางสถิติ T - Test, one - way analysis และ ANOVA จะได้ว่า ปฏิเสธสมมติฐาน ที่ว่า การเจริญเติบโตในรูปค่าเฉลี่ยจำนวนเซลล์ *P. putida* และ *B. subtilis* ในอาหารชนิดเหลว MBM ที่เติมน้ำมันหล่อลื่นฯ Esso ultron และที่เติมน้ำมันหล่อลื่นฯ Castrol GTX ในระดับความเข้มข้นเดียวกัน มีลักษณะแตกต่างกัน คือ แบคทีเรียทั้งสองชนิด มีการเจริญเติบโต ในอาหารชนิดเหลวที่เติมน้ำมันหล่อลื่นฯดังกล่าว ที่ไม่แตกต่างกัน เปรียบเทียบกับ ศิริพร เหลืองนฤทัย (2536) ศึกษาการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย *Flavobacterium maningosepticum* และ *Pseudomonas fluorescens* ในน้ำทะเลที่มีการเติมน้ำมันดิบ พบว่า การเจริญเติบโตของแบคทีเรีย ในรูปจำนวนเซลล์ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ที่ระดับความเข้มข้นน้ำมันดิบเดียวกัน มีการเจริญเติบโตที่แตกต่างกัน และยุวเรศน์ เอมแย้ม (2537) ศึกษาการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย *Pscudomonas fluorescens* และ *Alcaligenes facalis* ในน้ำจืด (น้ำเสีย) ที่มีการปนเปื้อนน้ำมันปิโตรเลียม (ในรูปนอร์มัลอัลเคน) พบว่า การเจริญเติบโตของแบคทีเรีย ในรูปจำนวนเซลล์ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ที่ระดับความเข้มข้นน้ำมันปิโตรเลียมเดียวกัน มีการเจริญเติบโตที่แตกต่างกัน สำหรับการเจริญเติบโตของแบคทีเรียจากการทดลองนี้ แต่ละชนิด (*P. putida* และ *B. subtilis*) ระหว่างในอาหารชนิดเหลว MBM ที่เติมน้ำมันหล่อลื่นฯ Esso ultron และ Castrol GTX พบว่า ถ้าพิจารณาจากการทดสอบ T - Test ที่ความเข้มข้นน้ำมันฯ 1, 2 และ 3 มิลลิลิตรต่อลิตร การเจริญเติบโตของแบคทีเรีย *P. putida* และ *B. subtilis* ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์ แต่ที่ความเข้มข้นน้ำมันฯ 4 และ 5 มิลลิลิตรต่อลิตร ในน้ำมันต่างชนิดกัน การเจริญเติบโตของแบคทีเรียแต่ละชนิดดังกล่าว มีลักษณะแตกต่างกัน แต่จากการทดสอบทางสถิติ โดยใช้ one - way analysis และ ANOVA พบว่า การเจริญเติบโตของแบคทีเรียแต่ละชนิด ระหว่างในอาหารชนิดเหลว MBM ที่เติมน้ำมันหล่อลื่นฯ Esso ultron และ Castrol GTX ทุกระดับความเข้มข้นไม่มีลักษณะแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

4.5 การเจริญเติบโตของ *Pseudomonas putida* และ *Bacillus subtilis* กับการลดลงของน้ำมันหล่อลื่นสังเคราะห์ และเปอร์เซนต์การลดลง ในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเหลว MBM ที่เติมน้ำมันหล่อลื่นฯ ในระดับความเข้มข้นต่าง ๆ

จากการวัดปริมาณน้ำมันหล่อลื่นสังเคราะห์ Esso ultron และ Castrol GTX โดยการชั่งน้ำหนักในอาหารชนิดเหลว MBM ที่มีการเติมน้ำมันฯ ความเข้มข้น 0 (ตัวควบคุม), 1 และ 2 มิลลิตรต่อลิตร (ปริมาตรต่อปริมาตร) พร้อมทั้งหาค่าเฉลี่ยการเจริญเติบโต ในรูปจำนวนเซลล์แบคทีเรียต่อมิลลิลิตร ในวันที่ 0 (เริ่มต้น), 7, 14, 21 และ 28 ตามลำดับ พบว่า ในตัวอย่างที่มีการเติมน้ำมันฯ 1 และ 2 มิลลิลิตรต่อลิตร มีปริมาณน้ำมันฯ ตั้งต้น 690 และ 1,400 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ และมีเปอร์เซนต์การกลับคืน 97 เปอร์เซนต์ จึงได้ค่าปริมาณน้ำมันหล่อลื่นฯ 1 และ 2 มิลลิลิตรต่อลิตร ตั้งต้น เป็น 669 และ 1,358 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ เมื่อเวลาผ่านไป 28 วัน ในชุดทดลองที่มี MBM + *P. putida* + น้ำมันหล่อลื่นฯ Esso ultron และ Castrol GTX 1 มิลลิลิตรต่อลิตร มีปริมาณน้ำมันฯ 485 และ 469 มิลลิกรัมต่อลิตร คิดเป็นเปอร์เซนต์การลดลง 27.50 และ 29.90 เปอร์เซนต์ ตามลำดับ และมีค่าเฉลี่ยการเจริญเติบโต ในรูปจำนวนเซลล์ต่อมิลลิลิตร $1.24x10^9$ เซลล์ และ $1.42x10^9$ เซลล์ ตามลำดับ จากจำนวนเซลล์ต่อมิลลิลิตร เริ่มต้น $1.20x10^7$ เซลล์, ที่ 2 มิลลิลิตรต่อลิตร มีปริมาณน้ำมันฯ 969 และ 948 มิลลิกรัมต่อลิตร คิดเป็น 28.64 และ 30.19 เปอร์เซนต์ ตามลำดับ และมีจำนวนเซลล์แบคทีเรียต่อมิลลิลิตร $1.22x10^7$ เซลล์ สำหรับในชุดทดลอง MBM + *B. subtilis* + น้ำมันหล่อลื่นฯ Esso ultron และ Castrol GTX 1 มิลลิลิตรต่อลิตร มีปริมาณน้ำมันฯ 504 และ 487 มิลลิกรัมต่อลิตร คิดเป็น 24.66 และ 26.88 เปอร์เซนต์ ตามลำดับ และมีจำนวนเซลล์แบคทีเรียต่อมิลลิลิตร $1.10x10^9$ เซลล์และ$1.16x10^9$ เซลล์ ตามลำดับ จากจำนวนเซลล์ เริ่มต้น $1.40x10^7$ เซลล์, ที่ 2 มิลลิลิตรต่อลิตร มีปริมาณน้ำมันฯ 993 และ 987 มิลลิกรัมต่อลิตร คิดเป็น 26.88 และ 27.32 เปอร์เซนต์ ตามลำดับ และมีจำนวนเซลล์แบคทีเรียต่อมิลลิลิตร $1.41x10^7$ เซลล์ และในชุดทดลองที่มี MBM + แบคทีเรียทั้ง 2 ชนิด + น้ำมันหล่อลื่นฯ Esso ultron และ Castrol GTX 1 มิลลิลิตรต่อลิตร มีปริมาณน้ำมันฯ 474 และ 453 มิลลิกรัมต่อลิตร คิดเป็น 29.15 และ 32.29 เปอร์เซนต์ ตามลำดับ และมีจำนวนเซลล์แบคทีเรียต่อมิลลิลิตร $1.17x10^9$ เซลล์ และ $1.29x10^9$ เซลล์ ตามลำดับ จากจำนวนเซลล์ เริ่มต้น $1.30x10^7$ เซลล์ และ ที่ 2 มิลลิลิตรต่อลิตร มีปริมาณน้ำมันฯ 950 และ 929 มิลลิกรัมต่อลิตร คิดเป็น 30.04 และ 31.59 เปอร์เซนต์ ตามลำดับ และมีจำนวนเซลล์แบคทีเรียต่อมิลลิลิตร $1.27x10^9$ เซลล์ และ$1.40x10^9$ เซลล์ ตามลำดับ จากจำนวนเซลล์ เริ่มต้น $1.32x10^7$ เซลล์ จะเห็นได้ว่า ในชุดทดลองเดียวกัน ที่มีการเติมแบคทีเรียทั้ง 2 ชนิด จะมีการสลายน้ำมันหล่อลื่นฯ และทำให้ปริมาณน้ำมันหล่อลื่นฯ ลดลงได้มากกว่า ที่เติม *P. putida* และ *B. subtilis* ตามลำดับ และชุดทดลองที่มีการเติมน้ำมันหล่อลื่นฯ Castrol GTX จะมีการสลายน้ำมันหล่อลื่น และทำให้น้ำมันฯลดลงได้มากกว่า ชุดทดลองที่เติมน้ำมันหล่อลื่นฯ Esso ultron ในเปอร์เซนต์

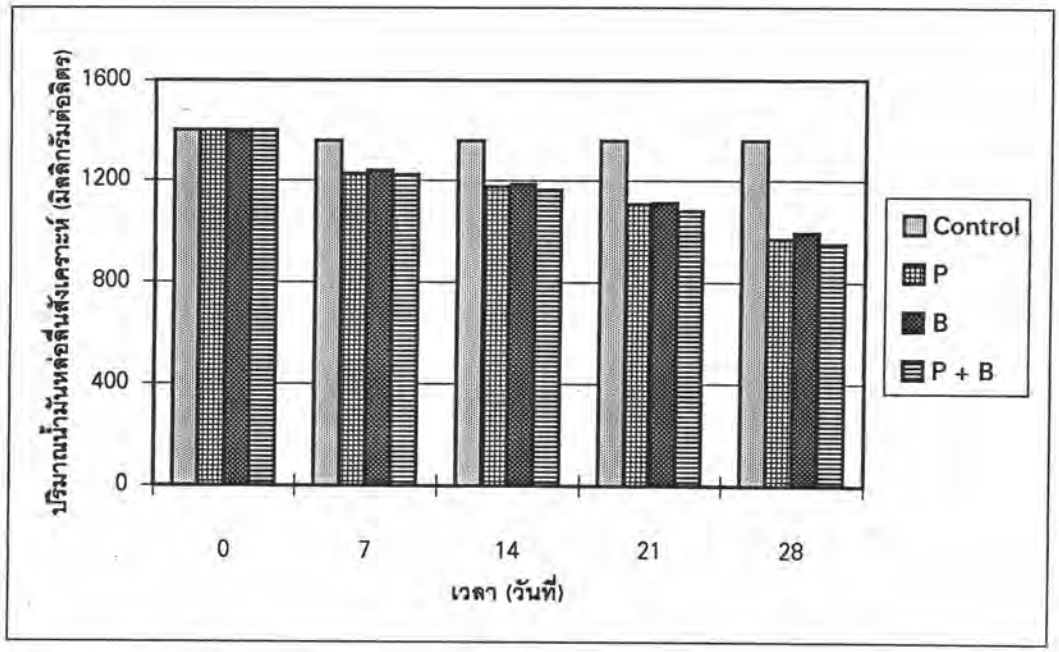


ก

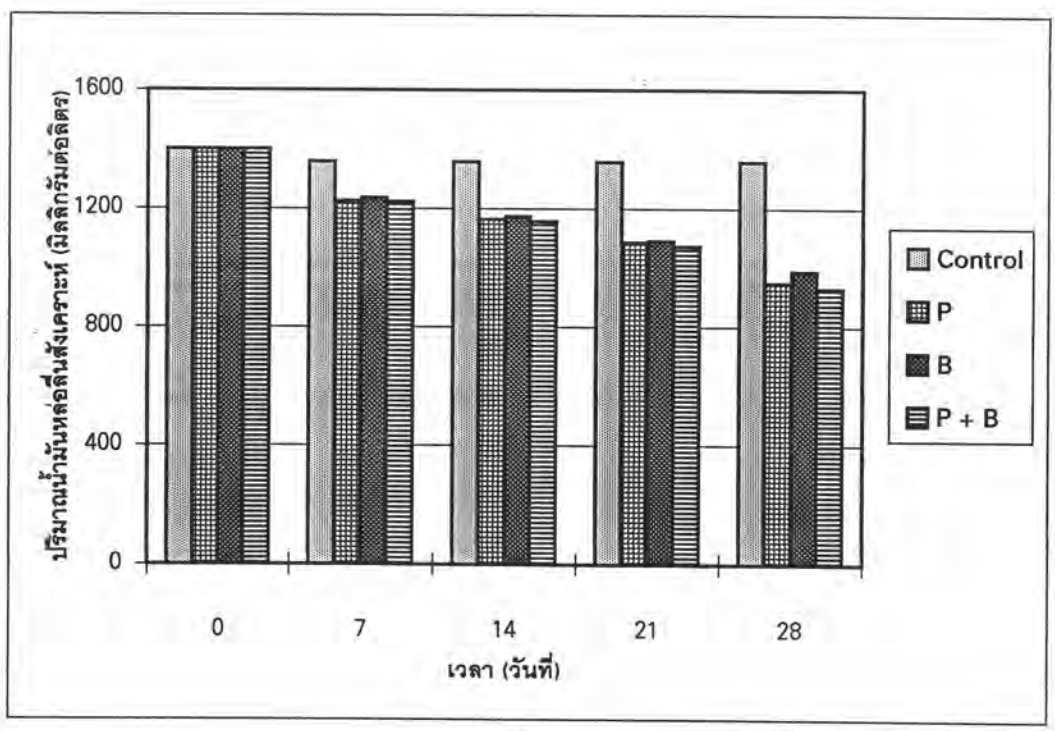


ข

รูปที่ 4.6 การเปลี่ยนแปลงปริมาณน้ำมันหล่อลื่นสังเคราะห์ในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเหลว ที่เติมน้ำมันหล่อลื่นฯ 1 มิลลิลิตรต่อลิตร ก. Esso ultron ข. Castrol GTX

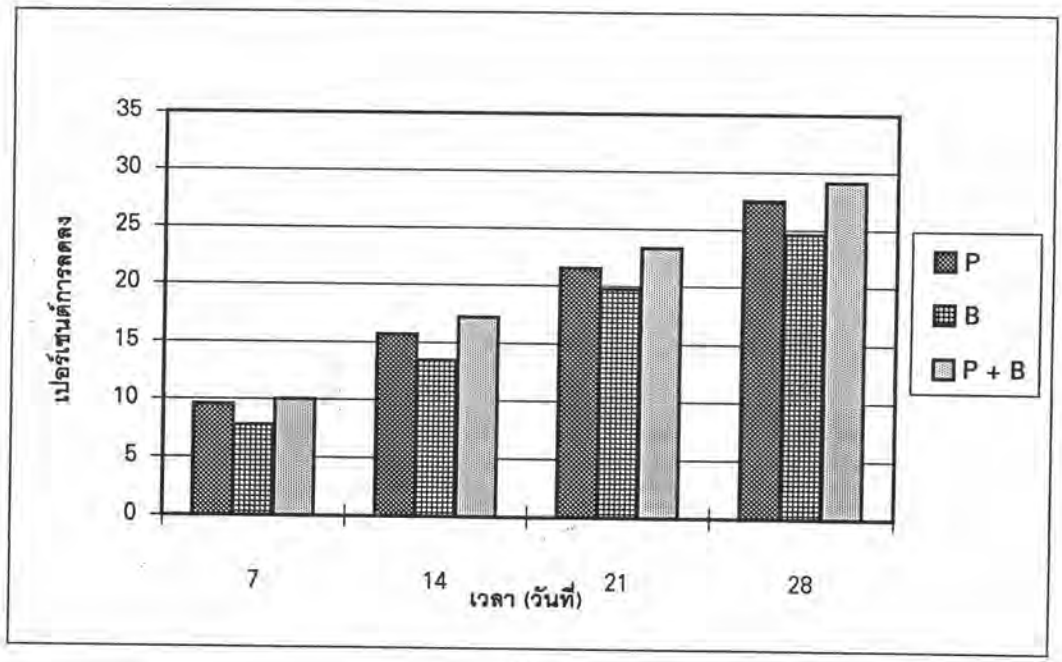


ก

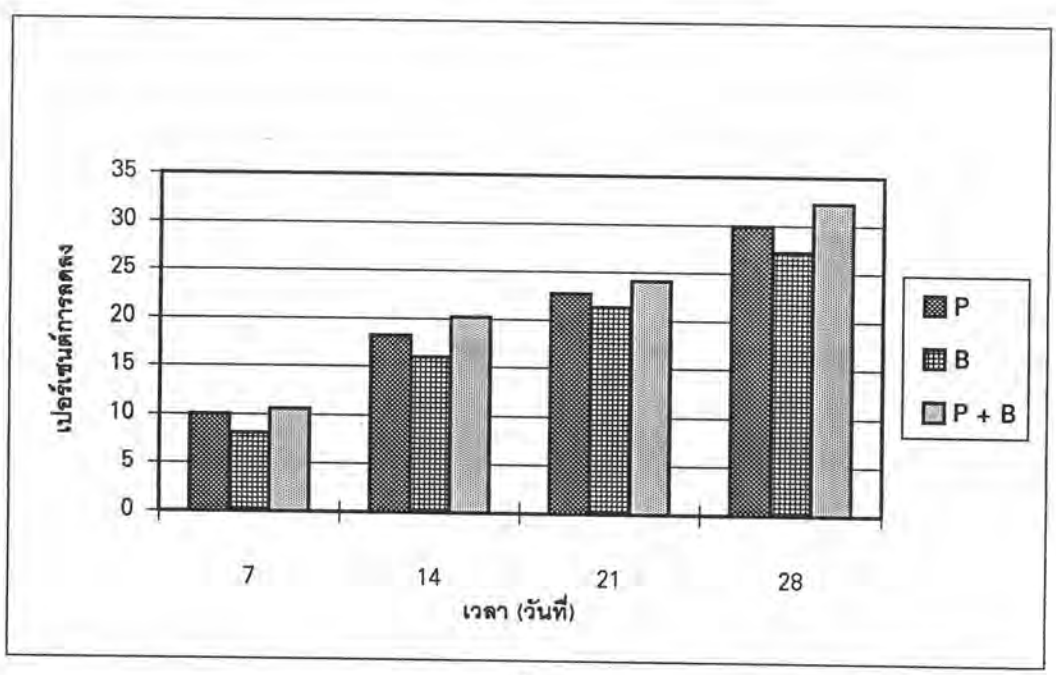


ข

รูปที่ 4.7 การเปลี่ยนแปลงปริมาณน้ำมันหล่อลื่นสังเคราะห์ในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเหลว ที่เติมน้ำมันหล่อลื่นฯ 2 มิลลิลิตรต่อลิตร ก. Esso ultron ข. Castrol GTX

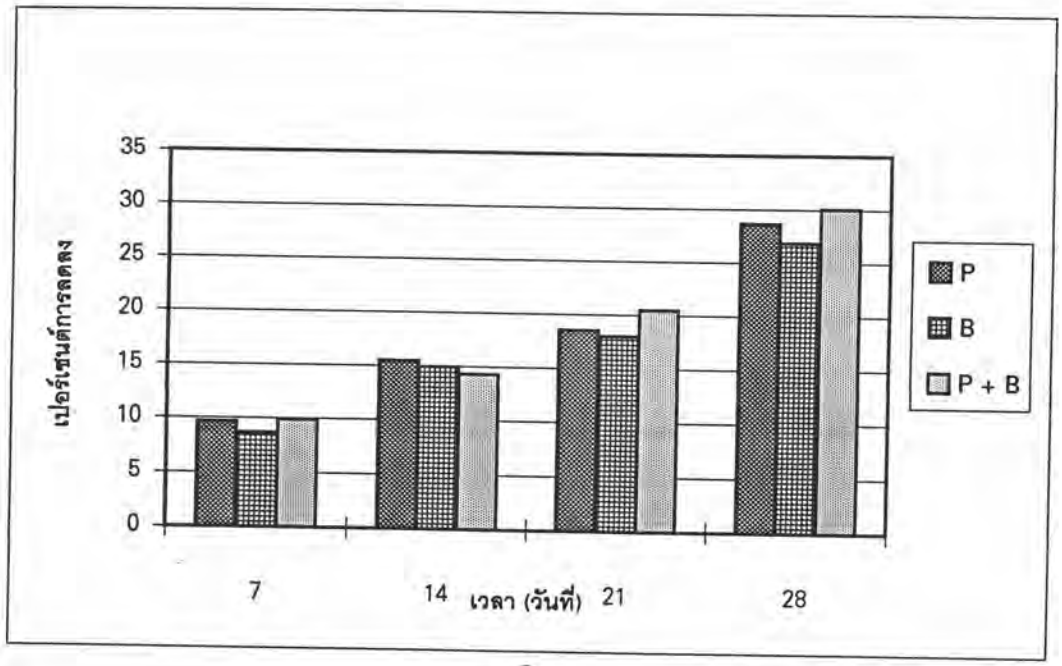


ก

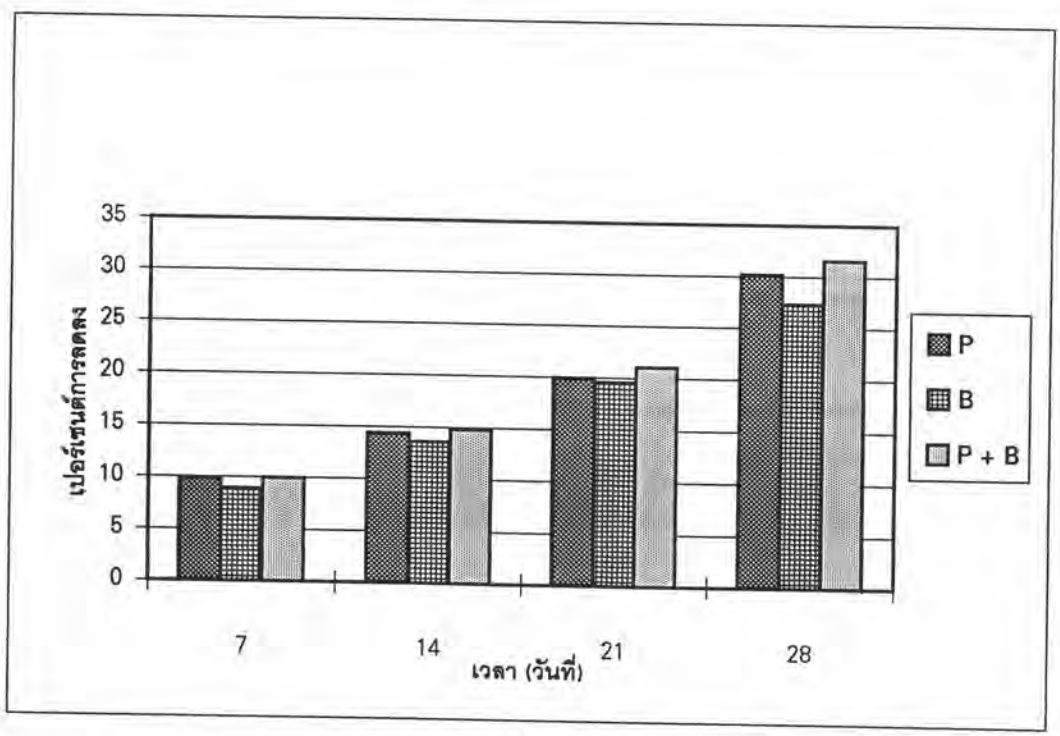


ข

รูปที่ 4.8 เปอร์เซนต์การลดลงของปริมาณน้ำมันหล่อลื่นสังเคราะห์ในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเหลวที่เติมน้ำมันหล่อลื่นฯ 1 มิลลิลิตรต่อลิตร ก. Esso ultron ข. Castrol GTX



ก



ข

รูปที่ 4.9 เปอร์เซนต์การลดลงของปริมาณน้ำมันหล่อลื่นสังเคราะห์ในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเหลวที่เติมน้ำมันหล่อลื่นฯ 2 มิลลิลิตรต่อลิตร ก. Esso ultron ข. Castrol GTX

ไม่ต่างกันมากนัก (ดังรายละเอียด ในตารางที่ ง.1 และ ง.2 และ รูปที่ 4.6 - 4.9)

จากการศึกษา พบว่า การที่แบคทีเรีย *P. putida, B. subtilis* และแบคทีเรียทั้ง 2 ชนิด มีการเจริญเติบโตที่อยู่ใน ระยะเจริญเติบโต (logarithmic phase) จะมีความสัมพันธ์แบบแปรผันตรงกับ การลดลงของปริมาณน้ำมันฯ แต่ละชนิด โดยในชุดทดลองเดียวกันที่มีการเติมแบคทีเรียทั้ง 2 ชนิด จะมีการลดลงของน้ำมันหล่อลื่นฯ แต่ละชนิดได้มากกว่า ชุดทดลองที่เติมแบคทีเรียแต่ละชนิด และชุดทดลองที่มีการเติมน้ำมันหล่อลื่นฯ Castrol GTX มีการลดลงของปริมาณน้ำมันฯได้มากกว่า ชุดทดลองที่เติมน้ำมันหล่อลื่นฯ Esso ultron ในปริมาณที่ไม่แตกต่างกันมากนัก และนำข้อมูลของค่าเฉลี่ยการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย *P. putida, B. subtilis* และแบคทีเรียทั้ง 2 ชนิด (จากตารางที่ ค.2 และค.3 กับปริมาณน้ำมันฯ ที่ลดลงจากตารางที่ ง.1 และ ง.2) มาทำการทดสอบทางสถิติ โดยใช้วิธีการหาความสัมพันธ์ ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (correlation cofficient) ได้ค่าทดสอบดังตารางที่ 4.15 มีค่าอยู่ในระหว่าง - 0.5608 ถึง - 0.6919 แสดงว่า การเจริญเติบโตของแบคทีเรียแต่ละชนิด และแบคทีเรียทั้ง 2 ชนิด มีความสัมพันธ์แบบปานกลาง เพราะว่ามีค่า r อยู่ในระหว่าง (- 0.5 ถึง - 0.6) และเป็นความสัมพันธ์ในทิศทางตรงกันข้าม คือ เมื่อมีการเจริญเติบโตของแบคทีเรียเพิ่มขึ้น ปริมาณน้ำมันก็จะลดลง เปรียบเทียบกับ Walker และ Colwell (1975) ประเมินการสลายตัวของน้ำมันดิบ South - Louisiana โดยจุลินทรีย์ที่แยกได้จากบริเวณปากแม่น้ำ พบว่า แอสฟัลทีนส์ และเรซิน มีการลดลงในช่วงแรก และเพิ่มขึ้นประมาณ 28 เปอร์เซนต์ ในเวลาต่อมา พวกสารไฮโดรคาร์บอนอิ่มตัว และสารอะโรมาติก มีการลดลง 83.4 และ 70.5 เปอร์เซนต์ ตามลำดับ และเมื่อนำมาวิเคราะห์ทางสถิติ โดยใช้ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (correlation coefficient) พบว่า ปริมาณน้ำมันทั้งหมดลดลง จะแปรผันตรงกับ ระยะที่ปริมาณสารไฮโดรคาร์บอนลดลงมากที่สุด ที่อยู่ในช่วงที่มีการเจริญเติบโต (logarithmic phase) ของจุลินทรีย์ ซึ่งตรงข้ามกับแอสฟัลทีนส์ และเรซินที่ในช่วง logarithmic กลับมีปริมาณสารไฮโดรคาร์บอนเพิ่มขึ้น ส่วนพวกสารไฮโดรคาร์บอนอิ่มตัว มีการลดลงอย่างต่อเนื่องตลอดเวลา Walker, Petrakis และ Colwell (1976) ศึกษาเปรียบเทียบความสามารถ ในการสลายตัวของน้ำมันดิบ และน้ำมันเชื้อเพลิงโดยจุลินทรีย์ ที่แยกได้จากบริเวณปากแม่น้ำ น้ำมันที่ใช้เป็นน้ำมันดิบ 2 ชนิด และน้ำมันเชื้อเพลิง 2 ชนิด สรุปว่า น้ำมันแต่ละชนิดจะเหมาะสมกับแบคทีเรียและยีสต์แตกต่างกันไป น้ำมันดิบจาก South - Louisiana ซึ่งมีกำมะถันต่ำ ความอิ่มตัวสูง จะถูกสลายได้มาก ในทางกลับกัน น้ำมันเชื้อเพลิง Bunker C ซึงมีกำมะถันสูง และมีพวกอะโรมาติกมาก ก็จะถูกสลายโดยจุลินทรีย์ได้ช้ากว่า, ศิริพร เหลืองนฤทัย (2536) ศึกษาการย่อยสลายปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนในน้ำทะเล โดย *Flavobacterium meningosepticum* และ *Pseudomonas fluorescens* พบว่า สามารถลดปริมาณปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนที่ละลายในน้ำทะเลตัวอย่าง ที่ระดับความเข้มข้นน้ำมันดิบปนเปื้อนต่าง ๆกันได้ใกล้เคียงกัน โดยสามารถลดปริมาณปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอน ภายใน 30 วัน ได้ 5 - 11เปอร์เซนต์ โดยน้ำหนักต่อน้ำหนัก หรือ 0.11 - 0.40 มิลลิกรัมต่อลิตร และยุวเรศน์ เอมแย้ม (2537) ศึกษาการย่อยสลายนอร์มัล - อัลเคนในน้ำจืด โดย *Psendomonas*

ตารางที่ 4.15 การทดสอบทางสถิติ เพื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างค่าเฉลี่ยการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย และปริมาณน้ำมันหล่อลื่นสังเคราะห์ที่ละลายในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเหลว MBM ที่เติมน้ำมันหล่อลื่นสังเคราะห์ ในระดับความเข้มข้นต่าง ๆ

ชนิดแบคทีเรีย	น้ำมันหล่อลื่นสังเคราะห์	ความเข้มข้น (มิลลิลิตรต่อลิตร)	ค่าสถิติ	
			สัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์	p - value
Pseudomonas putida	Esso ultron	1	-0.5931	0.2920
	Esso ultron	2	-0.6174	0.2670
	Castrol GTX	1	-0.6412	0.2440
	Castrol GTX	2	-0.6145	0.2700
Bacillus subtilis	Esso ultron	1	-0.5608	0.3250
	Esso ultron	2	-0.6919	0.2680
	Castrol GTX	1	-0.5851	0.3000
	Castrol GTX	2	-0.6441	0.2410
เชื้อทั้งสองชนิด	Esso ultron	1	-0.5837	0.3010
	Esso ultron	2	-0.6070	0.2780
	Castrol GTX	1	-0.6217	0.2630
	Castrol GTX	2	-0.6384	0.2460

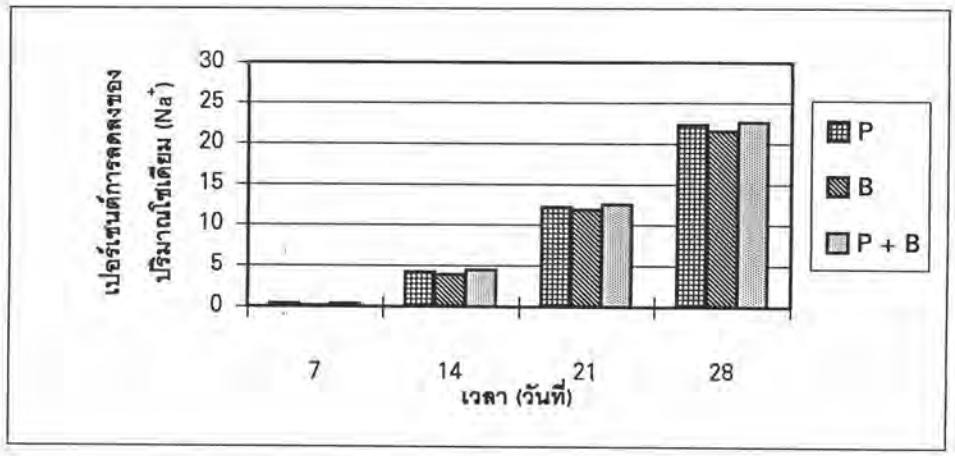
fluorescens และ *Alcaligenes facalis* พบว่า สามารถย่อยสลายนอร์มัล - อัลเคนในน้ำตัวอย่างที่ฆ่าเชื้อสามารถลดได้ ปริมาณ 37 - 54 เปอร์เซนต์ ส่วนการย่อยสลายนอร์มัล - อัลเคนในน้ำตัวอย่างที่ไม่ได้ฆ่าเชื้อสามารถลดได้ประมาณ 45 -75 เปอร์เซนต์ สำหรับการทดลองครั้งนี้ ได้ศึกษาการสลายทางชีวภาพของน้ำมันหล่อลื่นสังเคราะห์โดย *Pseudomonas putida* และ *Bacillus subtilis* และทำการศึกษาในน้ำมันหล่อลื่นฯ 2 ชนิด คือ น้ำมันหล่อลื่นฯ Esso ultron และ Castrol GTX พบว่า สามารถลดปริมาณน้ำมันหล่อลื่นฯ Esso ultron อยู่ในช่วง 24.66 - 30.04 เปอร์เซนต์ (ดังตารางที่ ง.1) และลดปริมาณน้ำมันฯ Castrol GTX อยู่ในช่วง 27.20 - 32.29 เปอร์เซนต์ (ดังตารางที่ ง.2) ซึ่งการลดลงของน้ำมันหล่อลื่นฯ 2 ชนิด มีความแตกต่างกันไม่มากนัก และมีความสัมพันธ์กับการเจริญเติบโตแบบปานกลาง ในทิศทางตรงกันข้าม และการที่แบคทีเรียแต่ละชนิด และทั้ง 2 ชนิดสามารถลดปริมาณน้ำมันฯ Esso ultron ได้น้อยกว่าน้ำมันหล่อลื่นฯ Castrol GTX ทั้ง ๆ ที่น้ำมันหล่อลื่นฯ Esso ultron เป็นน้ำมันหล่อลื่นสังเคราะห์ที่มีน้ำมันหล่อลื่นพื้นฐานจำพวกสารประกอบเอสเทอร์สังเคราะห์ ซึ่งเตรียมได้จากปฏิกิริยาเคมี ระหว่างกรดอินทรีย์กับอัลกอฮอล์ จึงน่าจะถูกสลายได้มากกว่าน้ำมันหล่อลื่นฯ Castrol GTX ที่เป็นน้ำมันหล่อลื่นสังเคราะห์ที่มีน้ำมันหล่อลื่นพื้นฐานจำพวกสารประกอบไฮโดรคาร์บอนสังเคราะห์ ที่ประกอบด้วยสารไฮโดรคาร์บอนอิ่มตัว และมีกำมะถันไม่สูงนัก แต่ว่า แบคทีเรียแต่ละชนิด และทั้ง 2 ชนิดร่วมกันสามารถสลายน้ำมันหล่อลื่นฯ Castrol GTX ได้มากกว่า ในปริมาณที่ไม่แตกต่างกับน้ำมันหล่อลื่นฯ Esso ultron มากนัก เนื่องจากแบคทีเรียมีความสามารถที่จะสลายสารไฮโดรคาร์บอนอิ่มตัว และมีการเจริญเติบโต เพิ่มจำนวนเซลล์ได้ดีอยู่แล้ว ที่ระดับความเข้มข้นน้ำมันหล่อลื่นฯ Castrol GTX ต่ำ ๆ (1 และ 2 มิลลิลิตรต่อลิตร) ซึ่งการศึกษา การสลายน้ำมันหล่อลื่นฯ Esso ultron และ Castrol GTX ได้ศึกษาที่ความเข้มข้นน้ำมันฯต่ำ ๆ เท่านั้น ไม่ได้ศึกษา ที่ความเข้มข้นน้ำมันฯสูง ๆ เพราะว่าที่ความเข้มข้นน้ำมันฯสูงๆ แบคทีเรียมีการเจริญเติบโต เพิ่มจำนวนเซลล์ได้ไม่มากนัก เมื่อเทียบกับ ชุดควบคุมที่มีเฉพาะอาหารชนิดเหลว MBM และแบคทีเรียเท่านั้น และในชุดทดลองที่เติมน้ำมันหล่อลื่นฯ Esso ultron สูง ๆ (3, 4 และ 5 มิลลิลิตร) กลับพบว่า มีการเจริญเติบโตของแบคทีเรียได้ดีกว่า ในชุดทดลองที่เติมน้ำมันหล่อลื่นฯ Castrol GTX อาจเป็นเพราะว่า แบคทีเรียสามารถสลายสารประกอบเอสเทอร์สังเคราะห์ในน้ำมันหล่อลื่นฯ Esso ultron และมีความทนต่อความเข้มข้นน้ำมันหล่อลื่นฯ Esso ultron สูง ๆ ได้ดี ในขณะที่ชุดทดลองที่เติมน้ำมันหล่อลื่นฯ Castrol GTX แบคทีเรียสามารถสลายสารประกอบไฮโดรคาร์บอนสังเคราะห์ และการเจริญเติบโตในชุดทดลองดังกล่าวได้ดี เฉพาะที่ความเข้มข้นน้ำมันฯต่ำ ๆ (1 และ 2 มิลลิลิตรต่อลิตร) และมีความทนเฉพาะที่ความเข้มข้นน้ำมันฯ ต่ำ ๆ เท่านั้น แต่ที่ความเข้มข้นน้ำมันฯสูง ๆ (3, 4 และ 5 มิลลิลิตรต่อลิตร) แบคทีเรียจะมีความทนได้น้อยลง อาจเป็นเพราะว่า มีการสะสมพิษของสารไฮโดรคาร์บอนในชุดทดลองที่เติมน้ำมันหล่อลื่นฯ Castrol GTX โดยสังเกตได้จาก ลักษณะโคโลนีของแบคทีเรีย ทั้ง *P. putida* และ *B. subtilis* มีการเปลี่ยนแปลง คือ มีขนาดเล็กลง เมื่อความเข้มข้นน้ำมันหล่อลื่นฯ Castrol GTX สูงขึ้น แต่ในน้ำมันหล่อลื่นฯ Esso ultron ลักษณะโคโลนี ไม่มีการ

เปลี่ยนแปลงขนาดแต่อย่างใด และจากรายงานของ Shailubhai (1986) พบว่า แบคทีเรียยีสต์ และแอคทีโนมัยซีท และเชื้อรา 31 กลุ่ม กว่า 100 ชนิด สามารถใช้น้ำมันปิโตรเลียมในการเจริญเติบโตได้ และให้ผลิตภัณฑ์ คือ อัลกอฮอล์, ฟีนอล, เอสเทอร์, อัลดีไฮด์, คีโตน และกรดอะมิโน เมื่อหาการออกซิไดซ์ขั้นสุดท้าย จะได้แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์, น้ำ และเซลล์ใหม่ โดยจุลินทรีย์มักกระจายอยู่บริเวณส่วนบนของดิน เมื่อปล่อยน้ำเสียลงบนดิน ประมาณ 1 สัปดาห์ ปริมาณน้ำมันบนดินก็จะลดลง

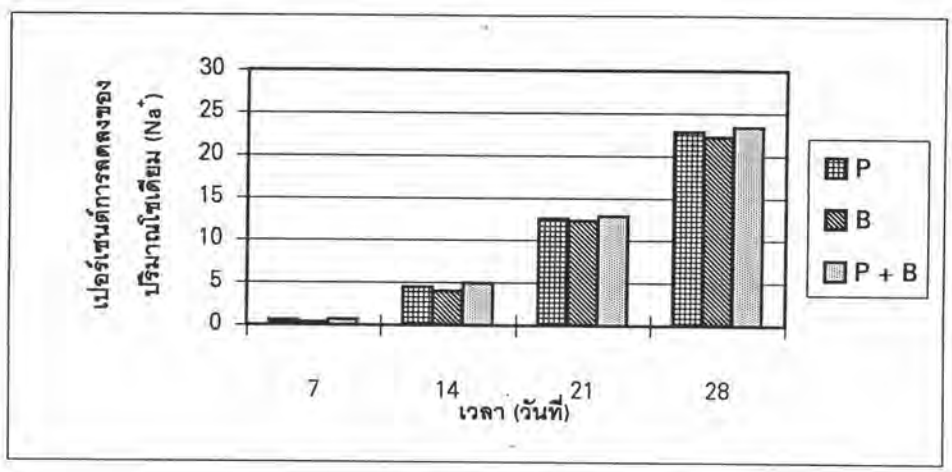
4.6 การเจริญเติบโตของ *Pseudomonas putida* และ *Bacillus subtilis* กับการเปลี่ยนแปลงปริมาณสารอาหารพื้นฐานในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเหลว MBM ที่เติมน้ำมันหล่อลื่นสังเคราะห์ในระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ที่อุณหภูมิห้อง

1. ปริมาณโซเดียม (Na^+) และเปอร์เซนต์การลดลง

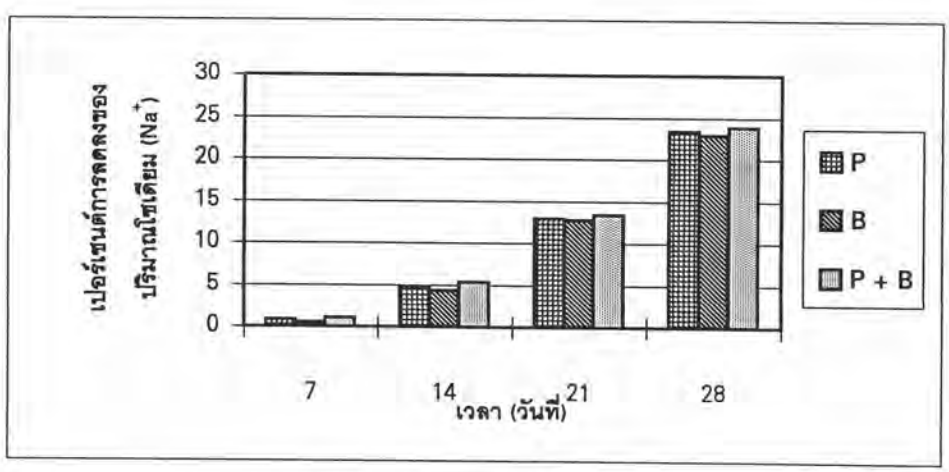
จากการวิเคราะห์ปริมาณสารอาหารพื้นฐานโซเดียม (Na^+) ในวันที่ 0 (เริ่มต้น) 7, 14, 21 และ 28 ตามลำดับ พบว่า ปริมาณโซเดียม ตั้งต้น 2,894.72 มิลลิกรัมต่อลิตร ในชุดทดลองที่มีการเติม *P. putida* และเติมน้ำมันหล่อลื่นฯ Esso ultron และ Castrol GTX 1 มิลลิลิตรต่อลิตร (ปริมาตรต่อปริมาตร) ตามลำดับ เมื่อเวลาผ่านไป 28 วัน จะคงเหลือปริมาณโซเดียม 2,234.65 และ 2,120.65 มิลลิกรัมต่อลิตร คิดเป็น เปอร์เซนต์การลดลง 22.80 และ 26.74 เปอร์เซนต์ ตามลำดับ ที่เติมน้ำมันฯ 2 มิลลิลิตรต่อลิตร ปริมาณโซเดียมเหลือ 2,218.54 และ 2,103.81 มิลลิกรัมต่อลิตร คิดเป็น 23.36 และ 27.32 เปอร์เซนต์ ตามลำดับ ในขณะที่ชุดควบคุมที่เติมเฉพาะ *P. putida* แต่ไม่เติมน้ำมันฯ ปริมาณโซเดียมเหลือ 2,250.54 มิลลิกรัมต่อลิตร คิดเป็น 22.25 เปอร์เซนต์ สำหรับในชุดทดลองที่เติม *B.subtilis* และเติมน้ำมัน 1 มิลลิลิตรต่อลิตร ปริมาณโซเดียมเหลือ 2,250.71 และ 2,137.53 มิลลิกรัมต่อลิตร คิดเป็น 22.25 และ 26.16 เปอร์เซนต์ ตามลำดับ ที่เติมน้ำมันฯ 2 มิลลิลิตรต่อลิตร ปริมาณโซเดียม 2,231.50 และ 2,2120.52 มิลลิกรัมต่อลิตร คิดเป็น 22.91 และ 26.75 เปอร์เซนต์ ตามลำดับ ในขณะที่ชุดควบคุมที่เติมเฉพาะ *B. subtilis* แต่ไม่เติมน้ำมันหล่อลื่นฯ ปริมาณโซเดียมเหลือ 2,372.63 มิลลิกรัมต่อลิตร คิดเป็น 21.49 เปอร์เซนต์ และในชุดทดลองที่เติมแบคทีเรียทั้ง 2 ชนิด และเติมน้ำมันฯ 1 มิลลิลิตรต่อลิตร ปริมาณโซเดียม 2,219.50 , 2095.49 มิลลิกรัมต่อลิตร คิดเป็น 23.33 และ 27.61 เปอร์เซนต์ ตามลำดับ ที่เติมน้ำมัน 2 มิลลิลิตรต่อลิตร มีปริมาณโซเดียมเหลือ 2,205.40 และ 2,088.39 มิลลิกรัมต่อลิตร คิดเป็น 23.81 และ 27.86 เปอร์เซนต์ ตามลำดับ ในขณะที่ชุดควบคุม ที่เติมเฉพาะแบคทีเรียทั้ง 2 ชนิด แต่ไม่เติมน้ำมันฯ มีปริมาณโซเดียม 2,241.55 มิลลิกรัมต่อลิตร คิดเป็น 22.56 เปอร์เซนต์ จะเห็นได้ว่า ในชุดทดลองเดียวกัน เมื่อเติมแบคทีเรียทั้ง 2 ชนิด มีการใช้โซเดียมไปมากกว่าที่เติม *P. putida* และ *B. subtilis* ตามลำดับ และชุดทดลองที่เติมน้ำมันฯ 2 มิลลิลิตรต่อลิตร มีการใช้โซเดียมไปมากกว่าที่เติมน้ำมัน 1 มิลลิลิตรต่อลิตร และไม่เติมน้ำมันฯ ตามลำดับ และในชุดทดลองที่



4.10



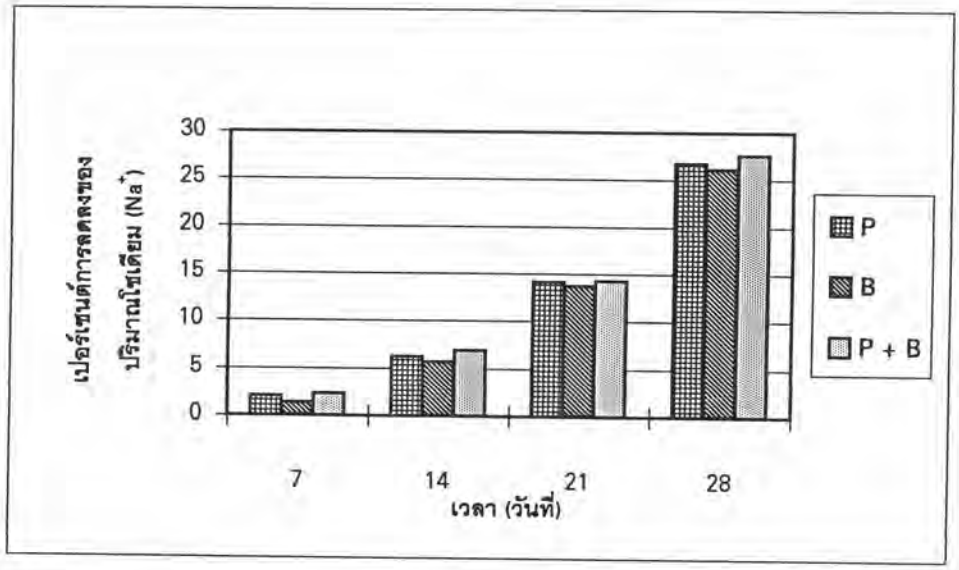
4.11 ก



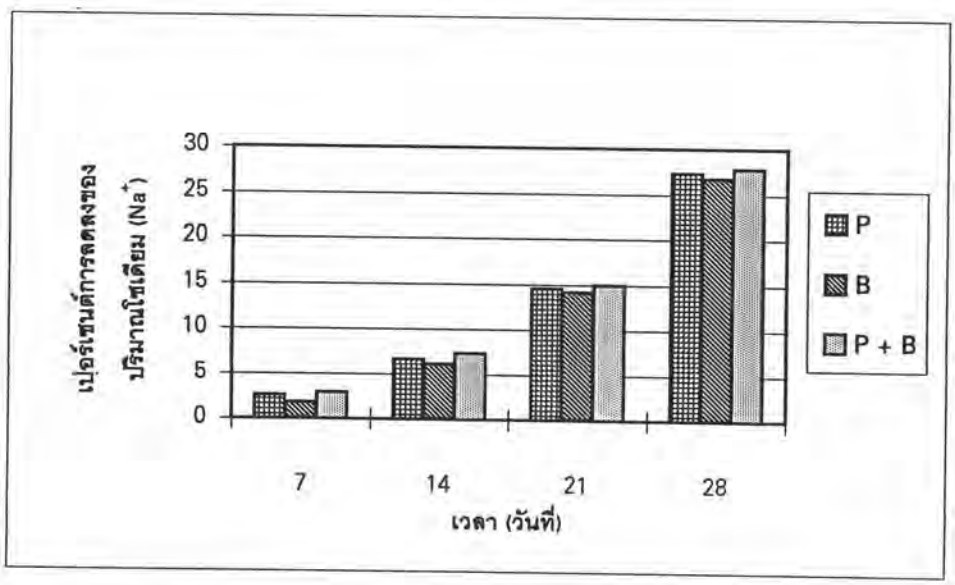
4.11 ข

รูปที่ 4.10 เปอร์เซนต์การลดลงของปริมาณโซเดียม (Na^+) ในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเหลว

รูปที่ 4.11 เปอร์เซนต์การลดลงของปริมาณโซเดียม (Na^+) ในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเหลว
ที่เติมน้ำมันหล่อลื่นสังเคราะห์ Esso ultron ก. 1 มิลลิลิตรต่อลิตร ข. 2 มิลลิลิตรต่อลิตร



4.12 ก



4.12 ข

รูปที่ 4.12 เปอร์เซนต์การลดลงของปริมาณโซเดียม (Na^+) ในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเหลว ที่เติมน้ำมันหล่อลื่นสังเคราะห์ Castrol GTX ก. 1 มิลลิลิตรต่อลิตร ข. 2 มิลลิลิตรต่อลิตร

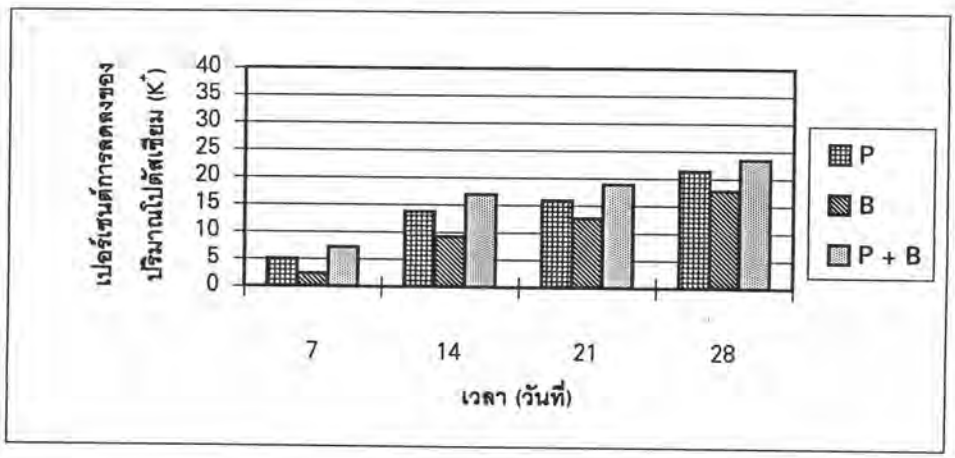
เติมน้ำมันหล่อลื่นฯ Castrol GTX มีการใช้โซเดียมไปมากกว่า ชุดทดลองที่เติมน้ำมันฯ Esso ultron (ดังรายละเอียดในตารางที่ ฉ.1 และ ฉ.2 และ รูปที่ 4.10 - 4.12)

2. ปริมาณโปตัสเซียม (K^+) และเปอร์เซนต์ลดลง

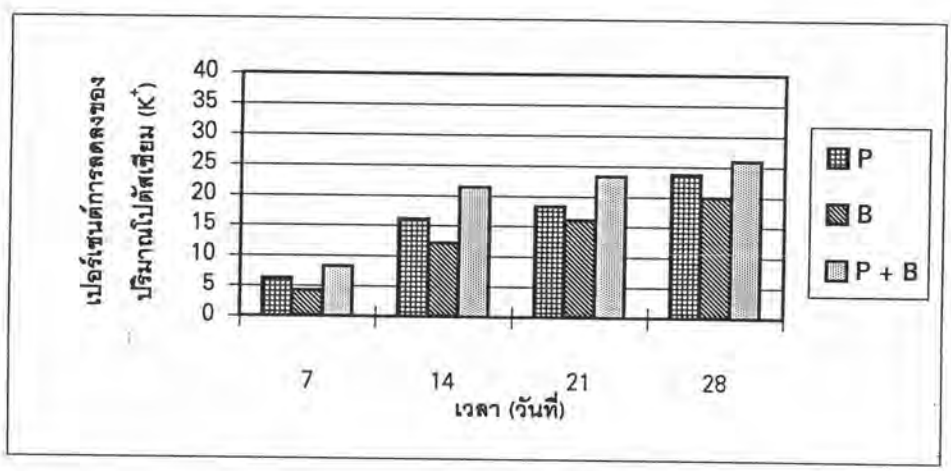
จากการวิเคราะห์ พบว่า ปริมาณโปตัสเซียม (K^+) ตั้งต้น 560.63 มิลลิกรัมต่อลิตร ในชุดทดลองที่มีการเติม *p. putida* และเติมน้ำมันหล่อลื่นฯ Esso ultron และ Castrol GTX 1 มิลลิลิตรต่อลิตร (ปริมาตรต่อปริมาตร) ตามลำดับ เมื่อเวลาผ่านไป 28 วัน จะคงเหลือปริมาณโปตัสเซียม 427.55 และ 418.77 มิลลิกรัมต่อลิตร คิดเป็น เปอร์เซนต์การลดลง 23.74 และ 25.30 เปอร์เซนต์ ตามลำดับ, ที่เติมน้ำมันฯ 2 มิลลิลิตรต่อลิตร ปริมาณโปตัสเซียม 414.27 และ 405.65 มิลลิกรัมต่อลิตร คิดเป็น 26.11 และ 27.64 เปอร์เซนต์ ตามลำดับ ในขณะที่ชุดควบคุมที่เติมเฉพาะ *P. putida* แต่ไม่เติมน้ำมันฯ ปริมาณโปตัสเซียม 440.72 มิลลิกรัมต่อลิตร คิดเป็น 21.39 เปอร์เซนต์ สำหรับในชุดทดลองที่เติม *B. subtilis* และเติมน้ำมันฯ 1 มิลลิลิตรต่อลิตร ปริมาณโปตัสเซียม 448.56 และ 431.29 มิลลิกรัมต่อลิตร คิดเป็น 19.99 และ 23.07 เปอร์เซนต์ ตามลำดับ ที่เติมน้ำมันฯ 2 มิลลิลิตรต่อลิตร ปริมาณโปตัสเซียม 430.47 และ 417.30 มิลลิกรัมต่อลิตร คิดเป็น 23.22 และ 25.57 เปอร์เซนต์ ตามลำดับ ในขณะที่ชุดควบคุมที่เติมเฉพาะ *B. subtilis* แต่ไม่เติมน้ำมันฯ ปริมาณโปตัสเซียม 460.50 มิลลิกรัมต่อลิตร คิดเป็น 17.86 เปอร์เซนต์ และในชุดทดลองที่เติมแบคทีเรียทั้ง 2 ชนิด และเติมน้ำมันฯ 1 มิลลิลิตรต่อลิตร ปริมาณโปตัสเซียม 415.56 และ 391.75 มิลลิกรัมต่อลิตร คิดเป็น 20.88 และ 30.12 เปอร์เซนต์ ตามลำดับ, ที่เติมน้ำมันฯ 2 มิลลิลิตรต่อลิตร ปริมาณโปตัสเซียม 408.74 และ 380.92 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาณโปตัสเซียม 408.74 และ 380.92 มิลลิกรัมต่อลิตร คิดเป็น 27.09 และ 32.06 เปอร์เซนต์ ตามลำดับ ในขณะที่ชุดควบคุมที่เติมเฉพาะแบคทีเรีย 2 ชนิด ปริมาณโปตัสเซียม 429.35 มิลลิกรัมต่อลิตร คิดเป็น 23.42 เปอร์เซนต์ จะเห็นได้ว่า ในชุดทดลองเดียวกัน เมื่อเติมแบคทีเรียทั้ง 2 ชนิด มีการใช้โปตัสเซียมไปมากกว่าที่เติม *P. putida* และ *B. subtilis* ตามลำดับ และชุดทดลองที่เติมน้ำมัน 2 มิลลิลิตรต่อลิตร มีการใช้โปตัสเซียมไปมากกว่า ที่เติมน้ำมัน 1 มิลลิลิตรต่อลิตร และไม่เติมน้ำมันฯ ตามลำดับ และในชุดทดลองที่เติมน้ำมันหล่อลื่นฯ Castrol GTX มีการใช้โปตัสเซียมไปมากกว่า ชุดทดลองที่เติมน้ำมันหล่อลื่นฯ Esso ultron (ดังรายละเอียดในตารางที่ ฉ.3 และ ฉ.4 และรูปที่ 4.13 - 4.15)

3. ปริมาณแอมโมเนีย (NH_4^+) และเปอร์เซนต์การลดลง

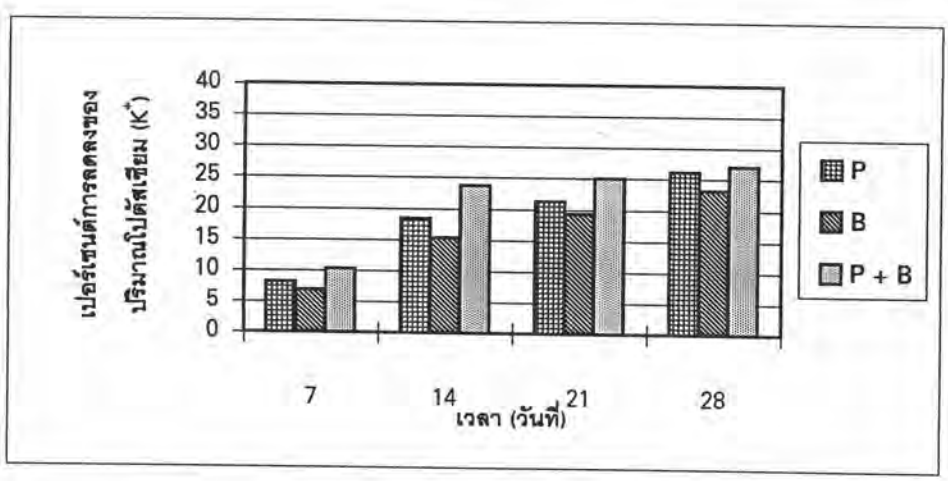
จากการวิเคราะห์ พบว่า ปริมาณแอมโมเนียม (NH_4^+) ตั้งต้น 197.26 มิลลิลิตรต่อลิตร ในชุดทดลองที่มีการเติม *p. putida* และเติมน้ำมันหล่อลื่นฯ Esso ultron และ Castrol GTX 1 มิลลิลิตรต่อลิตร (ปริมาตรต่อปริมาตร) ตามลำดับ เมื่อเวลาผ่านไป 28 วัน จะคงเหลือปริมาณแอมโมเนียม 134.24 และ 136.47 มิลลิกรัมต่อลิตร คิดเป็น เปอร์เซนต์การลดลง 31.95 และ 30.82 เปอร์เซนต์ ตามลำดับ, ที่เติมน้ำมันฯ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาณแอมโมเนียม 133.34 และ 135.25 มิลลิกรัมต่อลิตร คิดเป็น



4.13



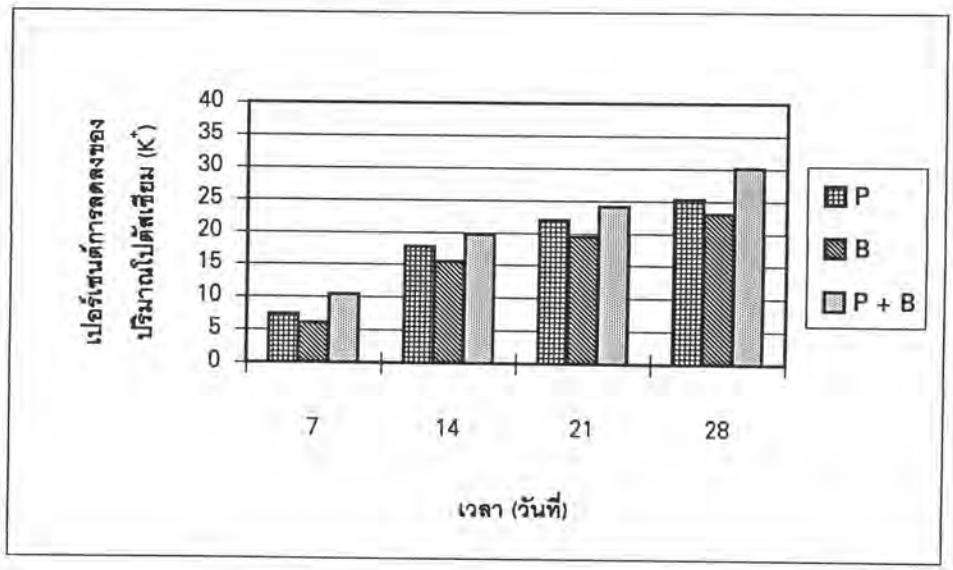
4.14 ก



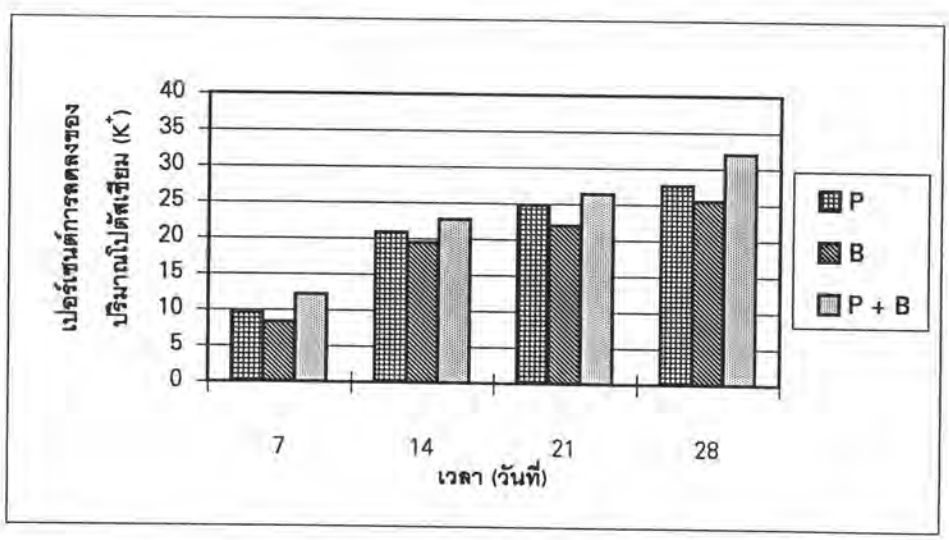
4.14 ข

รูปที่ 4.13 เปอร์เซนต์การลดลงของปริมาณโปตัสเซียม (K^+) ในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเหลว

รูปที่ 4.14 เปอร์เซนต์การลดลงของปริมาณโปตัสเซียม (K^+) ในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเหลว ที่เติมน้ำมันหล่อลื่นสังเคราะห์ Esso ultron ก. 1 มิลลิลิตรต่อลิตร ข. 2 มิลลิลิตรต่อลิตร



4.15 ก



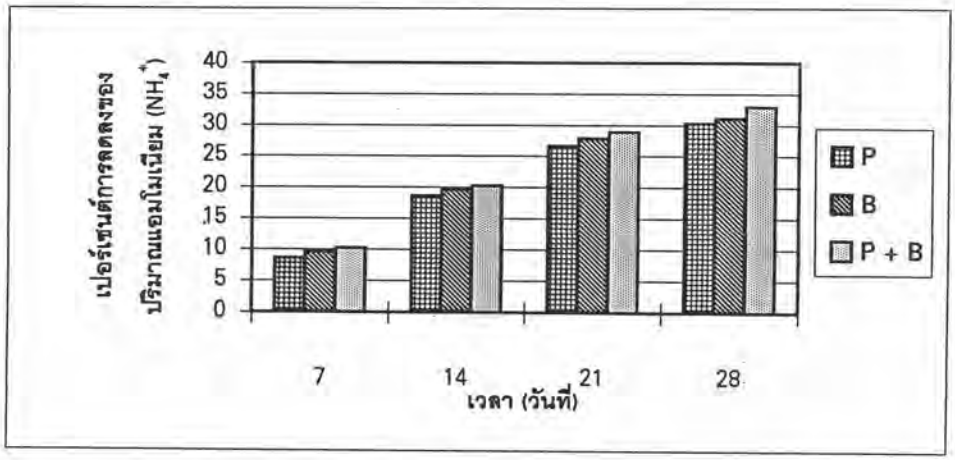
4.15 ข

รูปที่ 4.15 เปอร์เซนต์การลดลงของปริมาณโปตัสเซียม (K^+) ในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเหลว ที่เติมน้ำมันหล่อลื่นสังเคราะห์ Castrol GTX ก. 1 มิลลิลิตรต่อลิตร ข. 2 มิลลิลิตรต่อลิตร

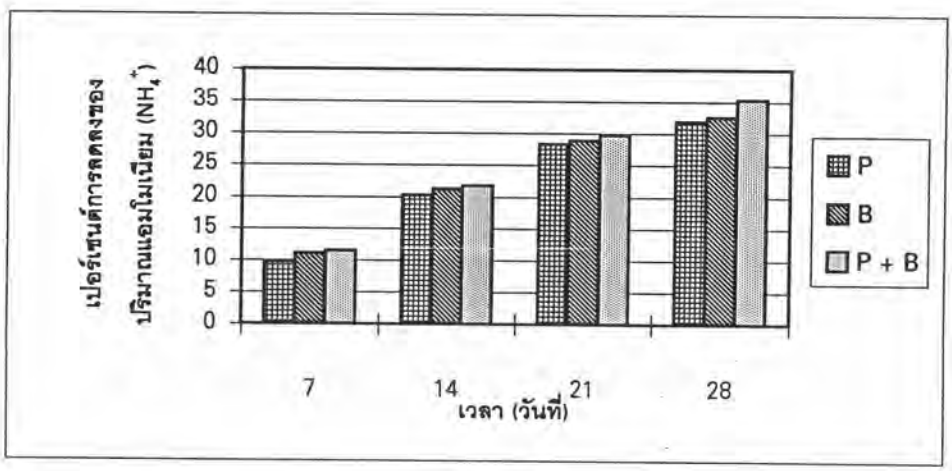
32.40 และ 31.44 เปอร์เซนต์ ตามลำดับ ในขณะที่ชุดควบคุมที่เติมเฉพาะ *P. putida* แต่ไม่เติมน้ำมันฯ ปริมาณแอมโมเนียม 137.50 มิลลิกรัมต่อลิตร คิดเป็น 30.27 เปอร์เซนต์ สำหรับในชุดทดลองที่เติม *B. subtilis* และเติมน้ำมันฯ 1 มิลลิลิตรต่อลิตร ปริมาณแอมโมเนียม 132.85 และ 133.14 คิดเป็น 32.65 และ 32.51 เปอร์เซนต์ ตามลำดับ, ที่เติมน้ำมันฯ 2 มิลลิลิตรต่อลิตร คิดเป็น 33.73 และ 33.03 เปอร์เซนต์ ตามลำดับ ในขณะที่ชุดควบคุมที่เติมเฉพาะ *B. subtilis* แต่ไม่เติมน้ำมันฯ ปริมาณแอมโมเนียม 135.93 มิลลิกรัมต่อลิตร คิดเป็น 31.09 เปอร์เซนต์ และในชุดทดลองที่เติมแบคทีเรียทั้ง 2 ชนิดและเติมน้ำมันฯ 1 มิลลิลิตรต่อลิตร ปริมาณแอมโมเนียม 129.35 มิลลิกรัมต่อลิตร คิดเป็น 35.34 และ 34.43 เปอร์เซนต์ ตามลำดับ ที่เติมน้ำมันฯ 2 มิลลิลิตรต่อลิตร ปริมาณแอมโมเนียม 125.94 และ 127.15 มิลลิกรัมต่อลิตร คิดเป็น 36.16 และ 35.54 เปอร์เซนต์ ตามลำดับ ในขณะที่ชุดควบคุมเติมเฉพาะแบคทีเรีย 2 ชนิด ปริมาณแอมโมเนียม 132.45 มิลลิกรัมต่อลิตร คิดเป็น 32.86 เปอร์เซนต์ จะเห็นได้ว่า ในชุดทดลองเดียวกัน เมื่อเติมแบคทีเรียทั้ง 2 ชนิด มีการใช้แอมโมเนียมไปมากกว่าที่เติมที่เติม *B. subtilis* และ *P. putida* ตามลำดับ และชุดทดลองที่เติมน้ำมันฯ 2 มิลลิลิตรต่อลิตร มีการใช้แอมโมเนียมไปมากกว่าที่เติมน้ำมัน 1 มิลลิลิตรต่อลิตร และไม่เติมน้ำมันฯ ตามลำดับ และในชุดทดลองที่เติมน้ำมันหล่อลื่นฯ Esso ultron มีการใช้แอมโมเนียมไปมากกว่า ชุดทดลองที่เติมน้ำมันหล่อลื่นฯ Castrol GTX (ดังรายละเอียดในตารางที่ ฉ.5 และ ฉ.6 และ รูปที่ 4.16 - 4.18)

4. ปริมาณมักนีเซียม (Mg^{2+}) และเปอร์เซนต์การลดลง

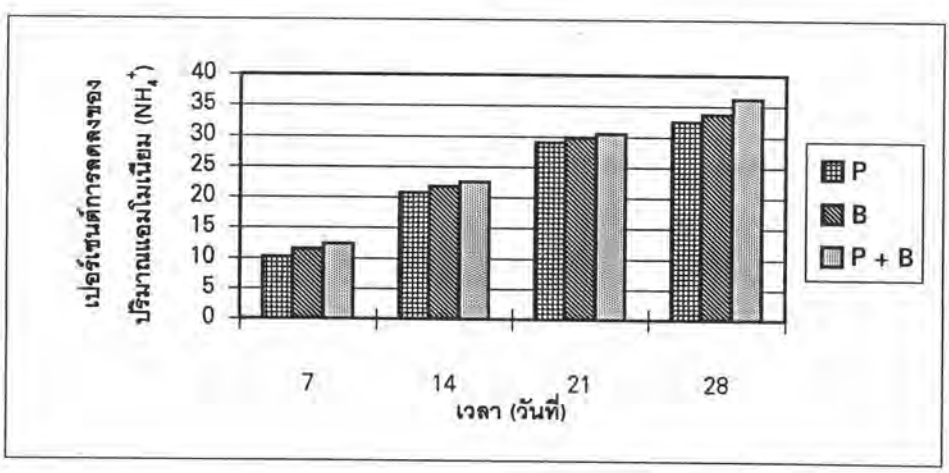
จากการวิเคราะห์ พบว่า ปริมาณมักนีเซียม(Mg^{2+}) ตั้งต้น 15.70 มิลลิกรัมต่อลิตร ในชุดทดลองที่มีการเติม *P. putida* และเติมน้ำมันหล่อลื่นฯ Esso ultron และ Castrol GTX 1 มิลลิลิตรต่อลิตร (ปริมาตรต่อปริมาตร) ตามลำดับ เมื่อเวลาผ่านไป 28 วัน จะคงเหลือปริมาณมักนีเซียม 13.15 และ 13.31 มิลลิกรัมต่อลิตร คิดเป็น เปอร์เซนต์การลดลง 16.24 และ 15.22 เปอร์เซนต์ ตามลำดับ , ที่เติมน้ำมันฯ 2 มิลลิลิตรต่อลิตร ปริมาณมักนีเซียม 13.04 และ 13.24 มิลลิกรัมต่อลิตร คิดเป็น 16.94 และ 15.66 เปอร์เซนต์ ตามลำดับ ในขณะที่ชุดควบคุมที่เติมเฉพาะ *P. putida* แต่ไม่เติมน้ำมันฯ ปริมาณมักนีเซียม 13.45 มิลลิกรัมต่อลิตร คิดเป็น 14.33 เปอร์เซนต์ สำหรับในชุดทดลองที่เติม *B: subtilis* และเติมน้ำมันฯ 1 มิลลิลิตรต่อลิตร ปริมาณมักนีเซียม 13.30 และ 13.51 มิลลิกรัมต่อลิตร คิดเป็น 15.29 และ 13.95 เปอร์เซนต์ ตามลำดับ, ที่เติมน้ำมัน 2 มิลลิลิตรต่อลิตร ปริมาณมักนีเซียม 13.07 และ 13.31 มิลลิกรัมต่อลิตร คิดเป็น 16.75 และ 15.22 เปอร์เซนต์ ตามลำดับ ในขณะที่ชุดควบคุม ที่เติมเฉพาะ *B. subtilis* แต่ไม่เติมน้ำมันฯ ปริมาณมักนีเซียม 13.63 มิลลิกรัมต่อลิตร คิดเป็น 13.18 เปอร์เซนต์ ตามลำดับ และในชุดทดลองที่เติมแบคทีเรียทั้ง 2 ชนิด และเติมน้ำมันฯ 1 มิลลิลิตรต่อลิตร ปริมาณมักนีเซียม 12.57 และ 12.96 มิลลิกรัมต่อลิตร คิดเป็น 23.95 และ 18.60 เปอร์เซนต์ ตามลำดับ ในขณะที่ ชุดควบคุมที่เติมเฉพาะแบคทีเรียทั้ง 2 ชนิด แต่ไม่เติมน้ำมันฯ ปริมาณมักนีเซียม 13.17 มิลลิกรัมต่อลิตร คิดเป็น 16.11 เปอร์เซนต์ จะเห็นได้ว่า ในชุดทดลองเดียวกัน เมื่อเติมแบคทีเรียทั้ง 2 ชนิด



4.16



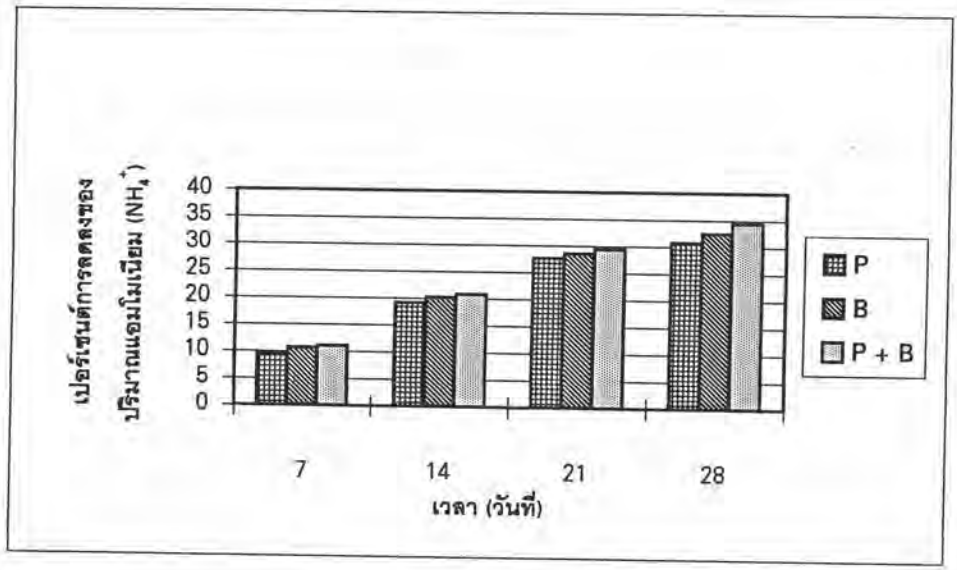
4.17 ก



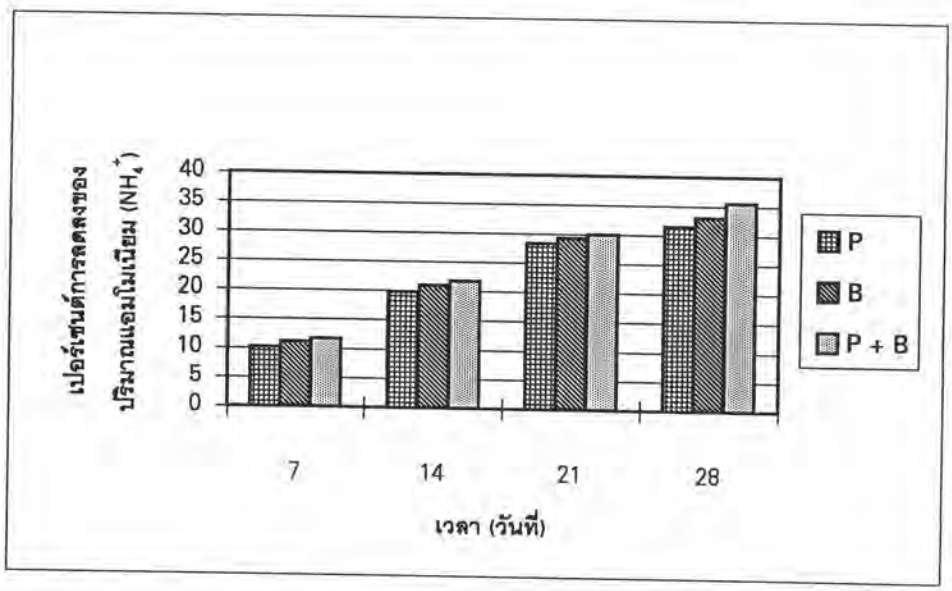
4.17 ข

รูปที่ 4.16 เปอร์เซนต์การลดลงของปริมาณแอมโมเนียม (NH_4^+) ในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเหลว

รูปที่ 4.17 เปอร์เซนต์การลดลงของปริมาณแอมโมเนียม (NH_4^+) ในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเหลว ที่เติมน้ำมันหล่อลื่นสังเคราะห์ Esso ultron ก. 1 มิลลิลิตรต่อลิตร ข 2 มิลลิลิตรต่อลิตร

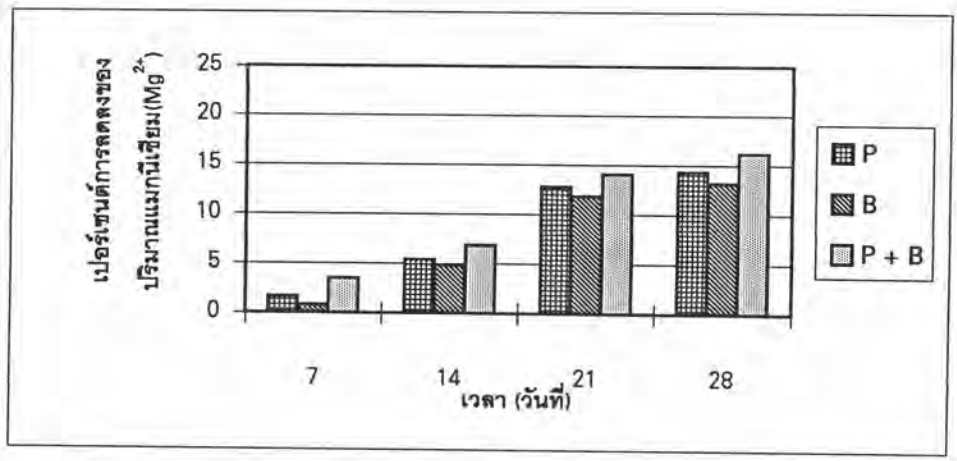


4.18 ก

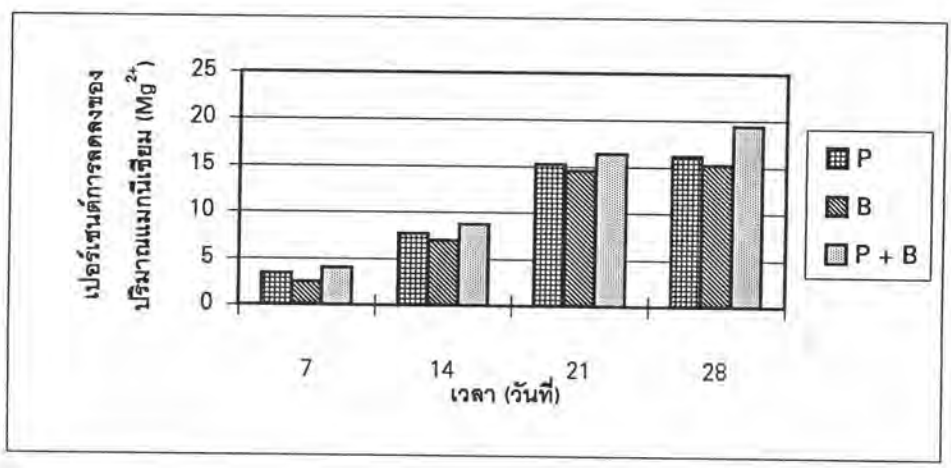


4.18 ข

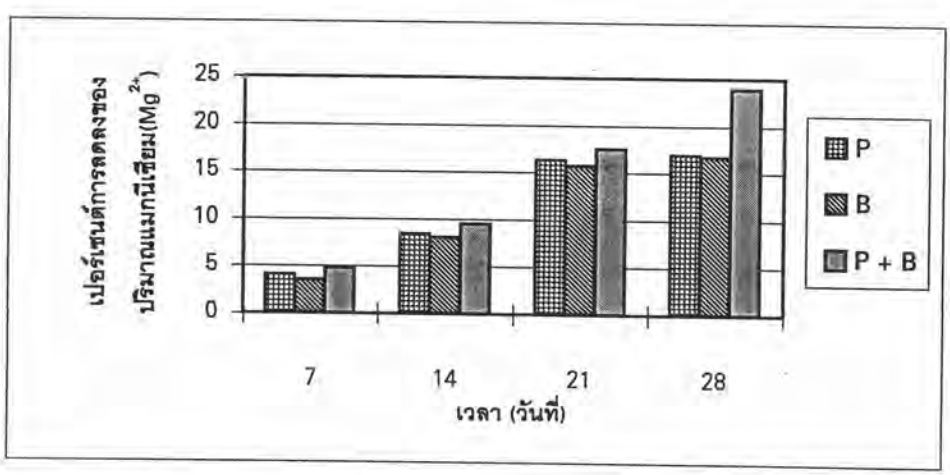
รูปที่ 4.18 เปอร์เซนต์การลดลงของปริมาณแอมโมเนียม (NH_4^+)ในอาหารเลี้ยงเชื้อซนิดเหลว ที่เติมน้ำมันหล่อลื่นสังเคราะห์ Castrol GTX ก. 1 มิลลิลิตรต่อลิตร ข. 2 มิลลิลิตรต่อลิตร



4.19



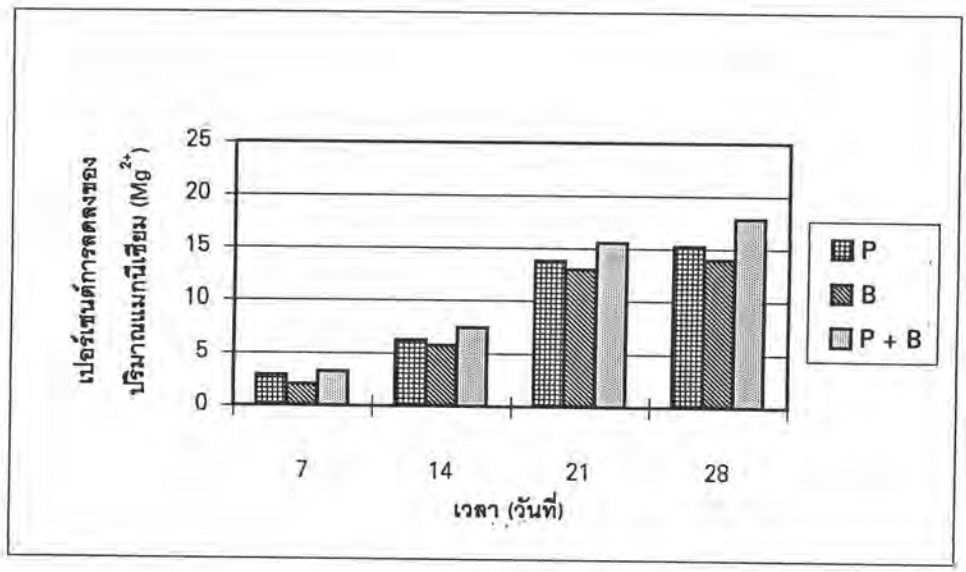
4.20 ก



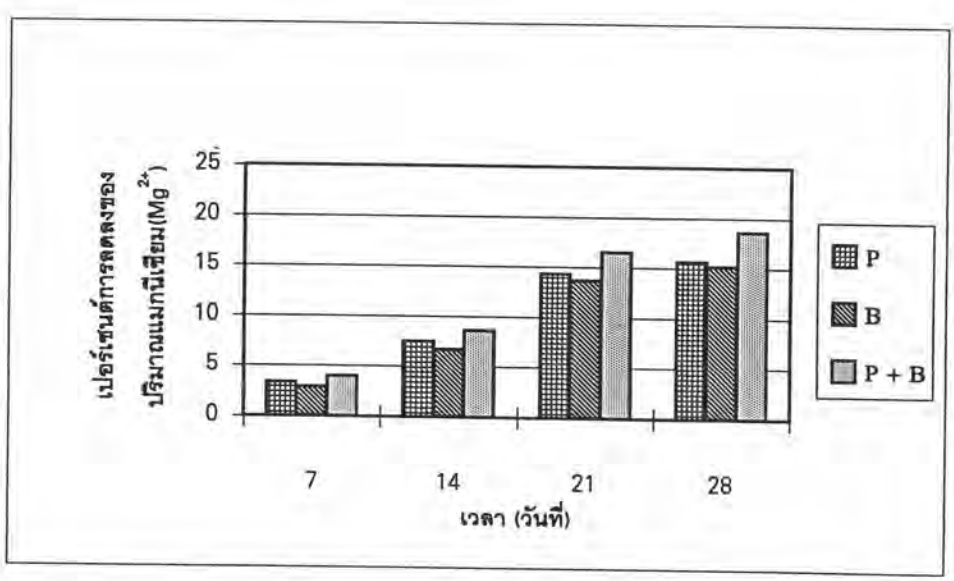
4.20 ข

รูปที่ 4.19 เปอร์เซนต์การลดลงของปริมาณมักนีเซียม (Mg^{2+}) ในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเหลว

รูปที่ 4.20 เปอร์เซนต์การลดลงของปริมาณมักนีเซียม (Mg^{2+}) ในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเหลว ที่เติมน้ำมันหล่อลื่นสังเคราะห์ Esso ultron ก. 1 มิลลิลิตรต่อลิตร ข. 2 มิลลิลิตรต่อลิตร



4.21 ก



4.21 ข

รูปที่ 4.21 เปอร์เซนต์การลดลงของปริมาณมักนีเซียม (Mg^{2+}) ในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเหลว ที่เติมน้ำมันหล่อลื่นสังเคราะห์ Castrol GTX ก. 1 มิลลิลิตรต่อลิตร ข. 2 มิลลิลิตรต่อลิตร

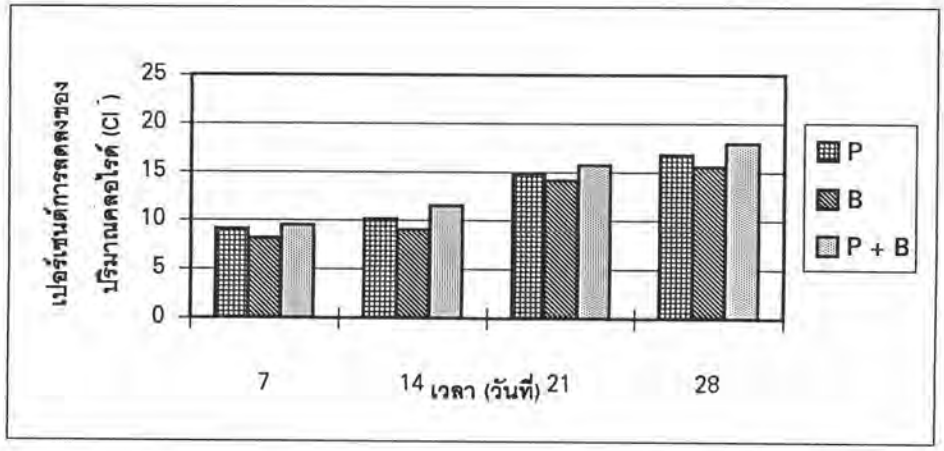
มีการใช้มักนีเซียมไปมากกว่า ที่เติม *P. putida* และ *B. subtilis* ตามลำดับ และชุดทดลองที่เติมน้ำมันฯ 2 มิลลิลิตรต่อลิตร มีการใช้มักนีเซียมไปมากกว่า ที่เติมน้ำมัน 1 มิลลิลิตรต่อลิตร และไม่เติมน้ำมันฯ ตามลำดับ และในชุดทดลองที่เติมน้ำมันหล่อลื่นฯ Esso ultron มีการใช้มักนีเซียมไปมากกว่าชุดทดลองที่เติมน้ำมันหล่อลื่นฯ Castrol GTX (ดังรายละเอียดในตารางที่ ฉ.7 และ ฉ.8 และ รูปที่ 4.19 - 4.21)

5. ปริมาณคลอไรด์ (Cl^-) และเปอร์เซนต์การลดลง

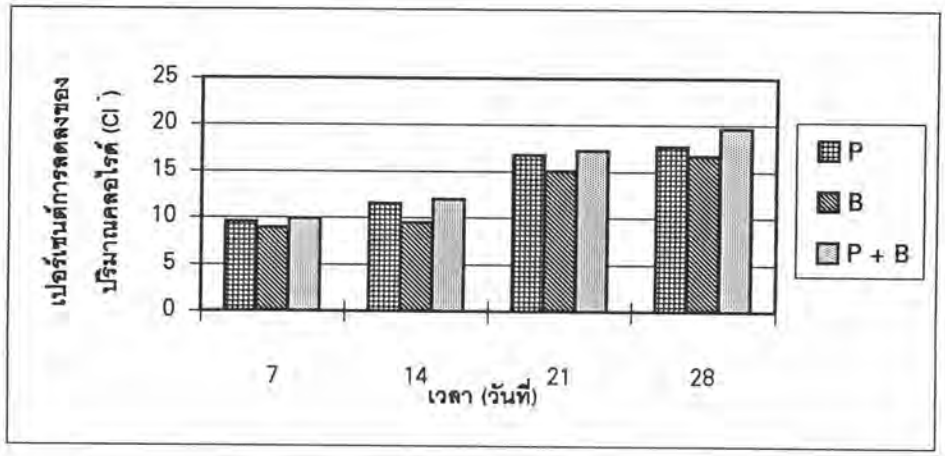
จากการวิเคราะห์พบว่า ปริมาณคลอไรด์ (Cl^-) ตั้งต้น 2,102.55 มิลลิกรัมต่อลิตร ในชุดทดลองที่มีการเติม *P. putida* และเติมน้ำมันหล่อลื่นฯ Esso ultron และ Castrol GTX 1 มิลลิลิตรต่อลิตร (ปริมาตรต่อปริมาตร) ตามลำดับ เมื่อเวลาผ่านไป 28 วัน จะคงเหลือปริมาณคลอไรด์ 1,730.26 และ 1,715.36 มิลลิกรัมต่อลิตร คิดเป็น เปอร์เซนต์การลดลง 17.71 และ 18.42 เปอร์เซนต์ ตามลำดับ ที่เติมน้ำมัน 2 มิลลิลิตรต่อลิตร ปริมาณคลอไรด์ 1,712.50 และ 1,701.43 มิลลิกรัมต่อลิตร คิดเป็น 18.55 และ 19.08 เปอร์เซนต์ ตามลำดับ ในขณะที่ชุดควบคุมที่เติมเฉพาะ *P. putida* แต่ไม่เติมน้ำมันฯ ปริมาณคลอไรด์ 1,750.47 มิลลิกรัมต่อลิตร คิดเป็น 16.75 เปอร์เซนต์ สำหรับในชุดทดลองที่เติม *B. subtilis* และเติมน้ำมันฯ 1 มิลลิลิตรต่อลิตร ปริมาณคลอไรด์ 1,751.44 และ 1,732.43 มิลลิกรัมต่อลิตร คิดเป็น 16.70 และ 17.60 เปอร์เซนต์ ตามลำดับ ที่เติมน้ำมันฯ 2 มิลลิลิตรต่อลิตร ปริมาณคลอไรด์ 1,730.35 และ 1,719.35 มิลลิกรัมต่อลิตร คิดเป็น 17.70 และ 18.23 เปอร์เซนต์ ตามลำดับ ในขณะที่ชุดควบคุม ที่เติมเฉพาะ *B. subtilis* แต่ไม่เติมน้ำมันฯ ปริมาณคลอไรด์ 1,775.26 มิลลิกรัมต่อลิตร คิดเป็น 15.57 เปอร์เซนต์ ตามลำดับ และในชุดทดลองที่เติมแบคทีเรียทั้ง 2 ชนิด และเติมน้ำมันฯ 1 มิลลิลิตรต่อลิตร ปริมาณคลอไรด์ 1,690.25 และ 1,685.40 มิลลิกรัมต่อลิตร คิดเป็น 19.61 และ 19.84 เปอร์เซนต์ ตามลำดับ ที่เติมน้ำมันฯ 2 มิลลิลิตรต่อลิตร ปริมาณคลอไรด์ 1,642.76 และ 1,627.47 มิลลิกรัมต่อลิตร คิดเป็น 21.87 และ 22.60 เปอร์เซนต์ ตามลำดับ ในขณะที่ชุดควบคุม ที่เติมเฉพาะแบคทีเรียทั้ง 2 ชนิด แต่ไม่เติมนำมันฯ ปริมาณคลอไรด์ 1,725.39 มิลลิกรัมต่อลิตร คิดเป็น 17.94 เปอร์เซนต์ จะเห็นได้ว่าในชุดทดลองเดียวกัน เมื่อเติมแบคทีเรียทั้ง 2 ชนิด มีการใช้คลอไรด์ไปมากกว่าที่เติม *P. putida* และ *B. subtilis* ตามลำดับ และชุดทดลองที่เติมน้ำมันฯ 2 มิลลิลิตรต่อลิตร มีการใช้คลอไรด์ไปมากกว่าที่เติมน้ำมันฯ 1 มิลลิลิตรต่อลิตร และไม่เติมน้ำมันฯ ตามลำดับ และในชุดทดลองที่เติมน้ำมันหล่อลื่นฯ Castrol GTX มีการใช้คลอไรด์ไปมากกว่า ชุดทดลองที่เติมน้ำมันหล่อลื่นฯ Esso ultron (ดังรายละเอียดในตารางที่ ฉ.7 และ ฉ.8 และ ในรูปที่ 4.22 - 4.24)

6. ปริมาณซัลเฟต (SO^2_4) และเปอร์เซนต์การลดลง

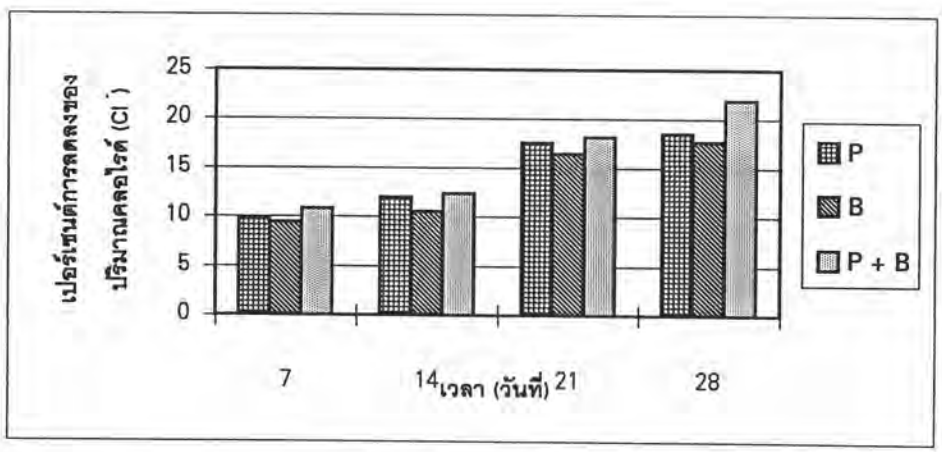
จากการวิเคราะห์ พบว่า ปริมาณซัลเฟต (SO^2_4) ตั้งต้น 79.60 มิลลิกรัมต่อลิตร ในชุดทดลองที่มีการเติม *P. putida* และเติมน้ำมันหล่อลื่นฯ Esso ultron และ Castrol GTX 1 มิลลิลิตรต่อลิตร (ปริมาตรต่อปริมาตร) ตามลำดับ เมื่อเวลาผ่านไป 28 วัน จะคงเหลือปริมาณซัลเฟต 68.34 และ 67.65



4.22



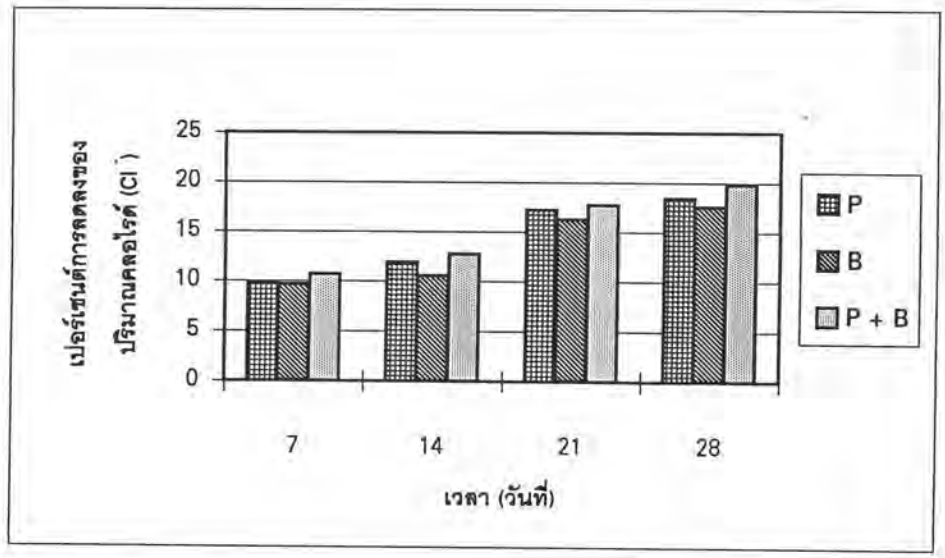
4.23 ก



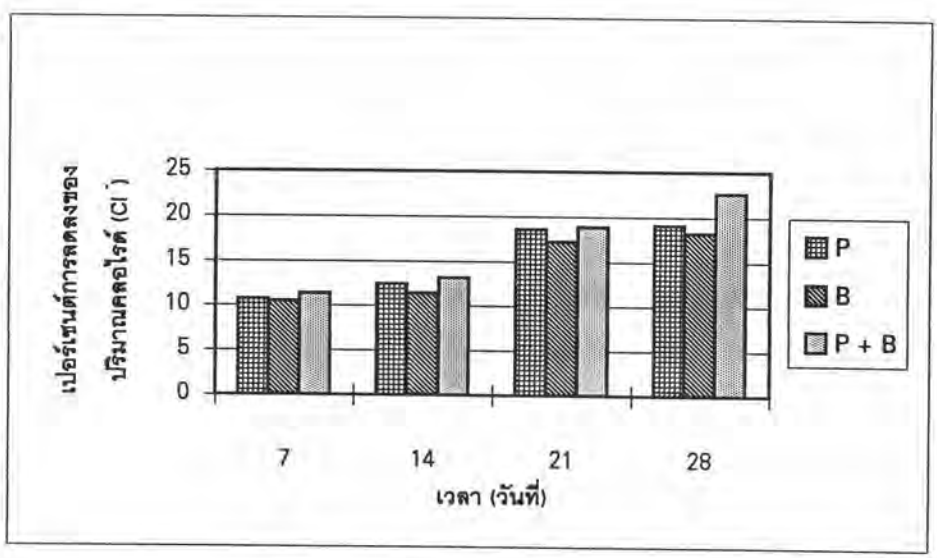
4.23 ข

รูปที่ 4.22 เปอร์เซนต์การลดลงของปริมาณคลอไรด์ (Cl ¯) ในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเหลว

รูปที่ 4.23 เปอร์เซนต์การลดลงของปริมาณคลอไรด์ (Cl ¯) ในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเหลว
ที่เติมน้ำมันหล่อลื่นสังเคราะห์ Esso ultron ก .1 มิลลิลิตรต่อลิตร ข. 2 มิลลิลิตรต่อลิตร



4.24 ก



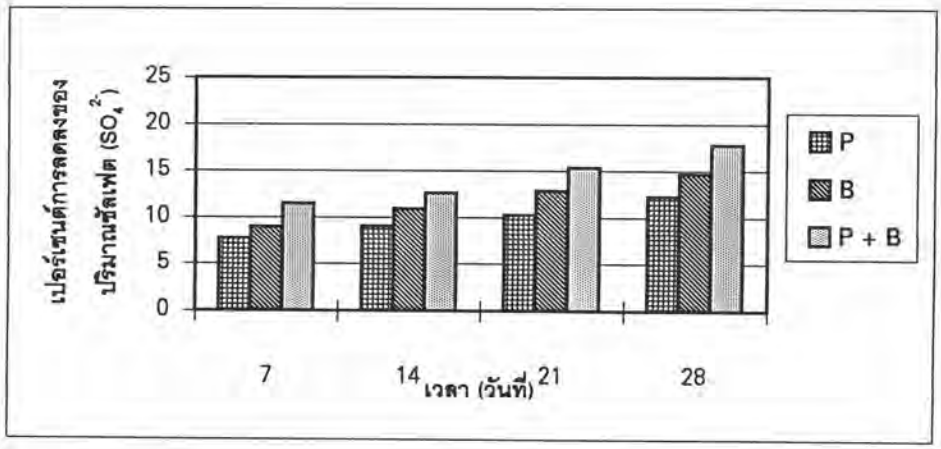
4.24 ข

รูปที่ 4.24 เปอร์เซนต์การลดลงของปริมาณคลอไรด์ (Cl^-) ในอาหารเลี้ยงเชื้อซนิดเหลว ที่เติมน้ำมันหล่อลื่นสังเคราะห์ Castrol GTX ก .1 มิลลิลิตรต่อลิตร ข. 2 มิลลิลิตรต่อลิตร

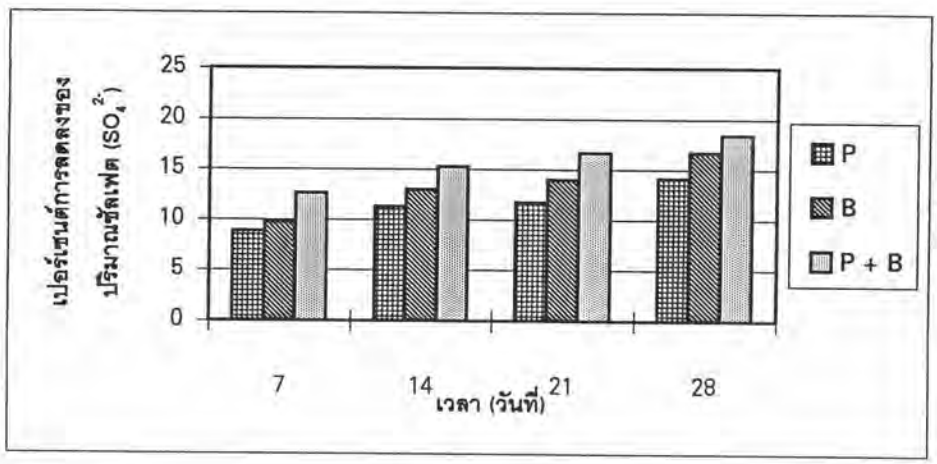
มิลลิกรัมต่อลิตร คิดเป็น เปอร์เซนต์การลดลง 14.15 และ 15.01 เปอร์เซนต์ ตามลำดับ ที่เติมน้ำมัน 2 มิลลิลิตรต่อลิตร ปริมาณซัลเฟต 67.26 และ 66.45 มิลลิกรัมต่อลิตร คิดเป็น 15.50 และ 16.52 เปอร์เซนต์ ตามลำดับ ในขณะที่ชุดควบคุม ที่เติมเฉพาะ *P. putida* แต่ไม่เติมน้ำมันฯ ปริมาณซัลเฟต 69.84 มิลลิกรัมต่อลิตร คิดเป็น 12.26 เปอร์เซนต์ สำหรับในชุด ทดลองที่เติม *B. subtilis* และเติมน้ำมัน 1 มิลลิลิตรต่อลิตร ปริมาณซัลเฟต 66.30 และ 65.74 มิลลิกรัมต่อลิตร คิดเป็น 16.71 และ 17.41 เปอร์เซนต์ ตามลำดับ ที่เติมน้ำมันฯ 2 มิลลิลิตรต่อลิตร ปริมาณซัลเฟต 69.94 และ 64.30 มิลลิกรัมต่อลิตร คิดเป็น 17.16 และ 19.22 เปอร์เซนต์ ตามลำดับ ในขณะที่ชุดควบคุมที่เติมเฉพาะ *B. subtilis* แต่ไม่เติมน้ำมันฯ ปริมาณซัลเฟต 67.93 มิลลิกรัมต่อลิตร คิดเป็น 14.66 เปอร์เซนต์ ตามลำดับ และในชุดทดลองที่เติมแบคทีเรียทั้ง 2 ชนิด และเติมน้ำมันฯ 1 มิลลิลิตรต่อลิตร ปริมาณซัลเฟต 64.93 และ 62.43 มิลลิกรัมต่อลิตร คิดเป็น 18.43 และ 21.57 เปอร์เซนต์ ตามลำดับ ที่เติมน้ำมัน 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาณซัลเฟต 63.84 และ 61.55 มิลลิกรัมต่อลิตร คิดเป็น 19.80 และ 22.68 เปอร์เซนต์ตามลำดับ ในขณะที่ชุดควบคุม ที่เติมเฉพาะแบคทีเรียทั้ง 2 ชนิด แต่ไม่เติมน้ำมันฯ ปริมาณซัลเฟต 65.45 มิลลิกรัมต่อลิตร คิดเป็น 17.78 เปอร์เซนต์ จะเห็นได้ว่า ในชุดทดลองเดียวกัน เมื่อเติมแบคทีเรียทั้ง 2 ชนิด มีการใช้ซัลเฟตไปมากกว่า ที่เติม *B .subtilis* และ *P. putida* ตามลำดับ และชุดทดลองที่เติมน้ำมันฯ 2 มิลลิลิตรต่อลิตร มีการใช้ซัลเฟตไปมากกว่า ที่เติมน้ำมันฯ 1 มิลลิลิตรต่อลิตร และไม่เติมน้ำมันฯ ตามลำดับ และในชุดทดลองที่เติมน้ำมันหล่อลื่นฯ Castrol GTX มีการใช้ซัลเฟตไปมากกว่า ชุดทดลองที่เติมน้ำมันหล่อลื่นฯ Esso ultron (ดังรายละเอียดในตารางที่ ฉ.11 และ ฉ.12 และในรูปที่ 4.25 - 4.27)

7. ปริมาณฟอสเฟต (PO_4^{3-}) และเปอร์เซนต์การลดลง

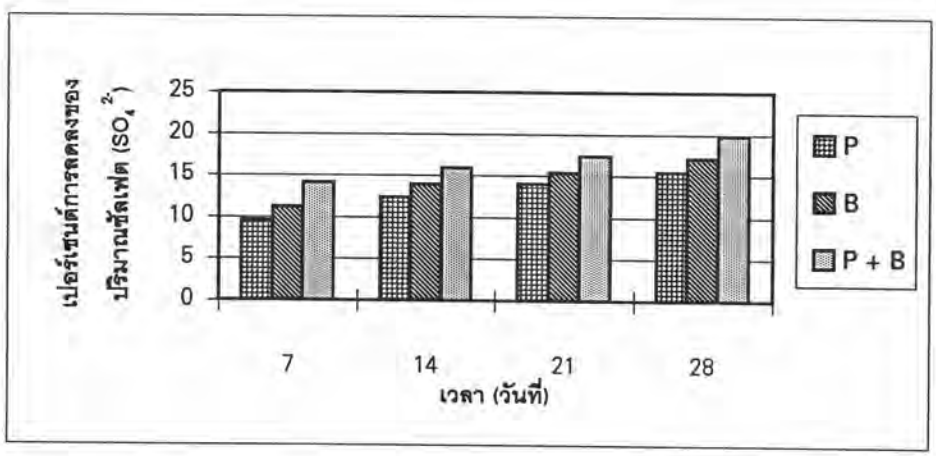
จากการวิเคราะห์ พบว่า ปริมาณฟอสเฟต (PO_4^{3-}) ตั้งต้น 1,187.55 มิลลิกรัมต่อลิตร ในชุดทดลองที่มีการเติม *P. putida* และเติมน้ำมันหล่อลื่นฯ Esso ultron และ Castrol GTX 1 มิลลิลิตรต่อลิตร (ปริมาตรต่อปริมาตร) ตามลำดับ เมื่อเวลาผ่านไป 28 วัน จะคงเหลือปริมาณฟอสเฟต 938.99 และ 940.73 มิลลิกรัมต่อลิตร คิดเป็น เปอร์เซนต์การลดลง 20.97 และ 20.78 ตามลำดับ ที่เติมน้ำมันฯ 2 มิลลิลิตรต่อลิตร ปริมาณฟอสเฟต 937.13 และ 939.84 มิลลิกรัมต่อลิตร คิดเป็น 21.09 และ 20.86 เปอร์เซนต์ ตามลำดับ ในขณะที่ชุดควบคุมที่เติมเฉพาะ *P. putida* แต่ไม่เติมน้ำมันฯ ปริมาณฟอสเฟต 942.44 มิลลิกรัมต่อลิตร คิดเป็น 20.66 เปอร์เซนต์ สำหรับในชุดควบคุมที่เติม *B. subtilis* และเติมน้ำมันฯ 1 มิลลิลิตรต่อลิตร ปริมาณฟอสเฟต 936.16 และ 937.25 มิลลกรัมต่อลิตร คิดเป็น 21.17 และ 21.08 เปอร์เซนต์ ตามลำดับ ที่เติมน้ำมันฯ 2 มิลลิลิตรต่อลิตร ปริมาณฟอสเฟต 934.92 และ 935.34 มิลลิกรัมต่อลิตร คิดเป็น 21.27 และ 21.24 เปอร์เซนต์ ตามลำดับ ในขณะที่ชุดควบคุม ที่เติมเฉพาะ *B. subtilis* แต่ไม่เติมน้ำมันฯ ปริมาณฟอสเฟต 938.55 มิลลิกรัมต่อลิตร คิดเป็น 20.97 เปอร์เซนต์ ตามลำดับ และในชุดทดลองที่เติมแบคทีเรียทั้ง 2 ชนิด และเติมน้ำมันฯ 1 มิลลิลิตรต่อลิตร



4.25



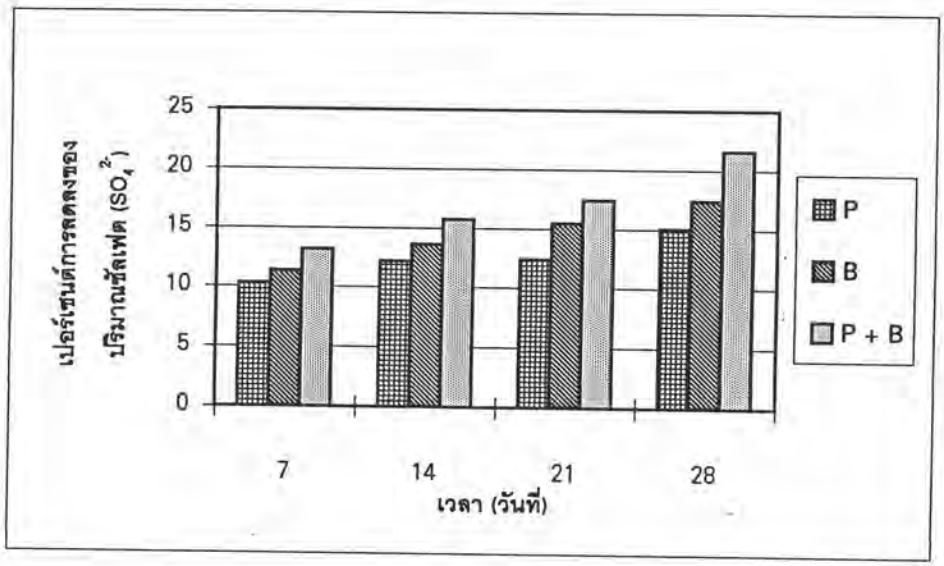
4.26 ก



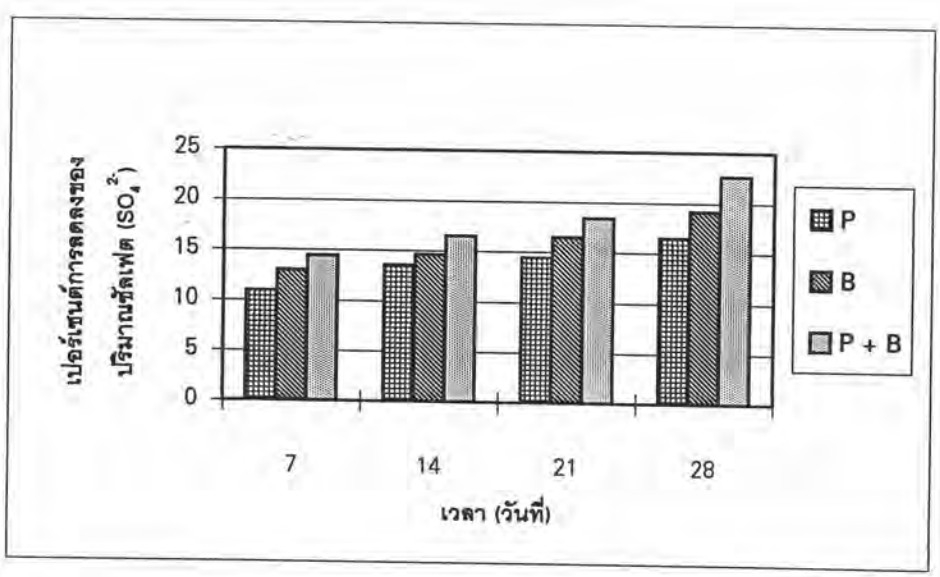
4.26 ข

รูปที่ 4.25 เปอร์เซนต์การลดลงของปริมาณซัลเฟต (SO_4^{2-}) ในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเหลว

รูปที่ 4.26 เปอร์เซนต์การลดลงของปริมาณซัลเฟต (SO_4^{2-}) ในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเหลว
ที่เติมน้ำมันหล่อลื่นสังเคราะห์ Esso ultron ก .1 มิลลิลิตรต่อลิตร ข. 2 มิลลิลิตรต่อลิตร

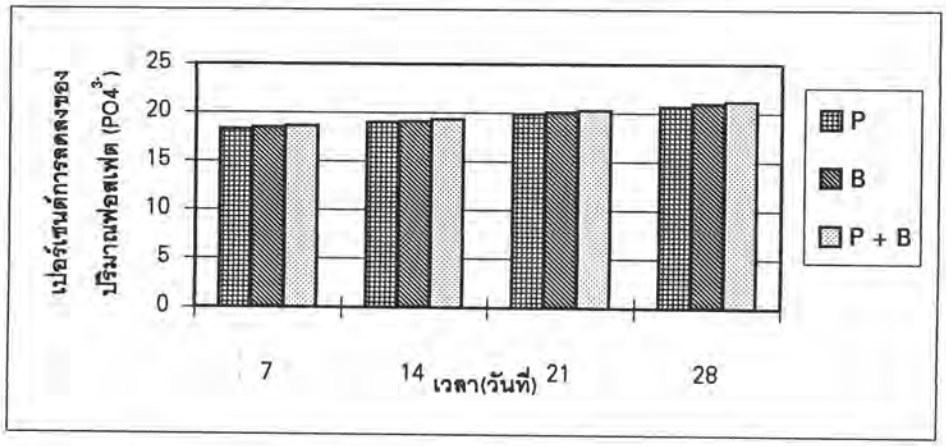


4.27 ก

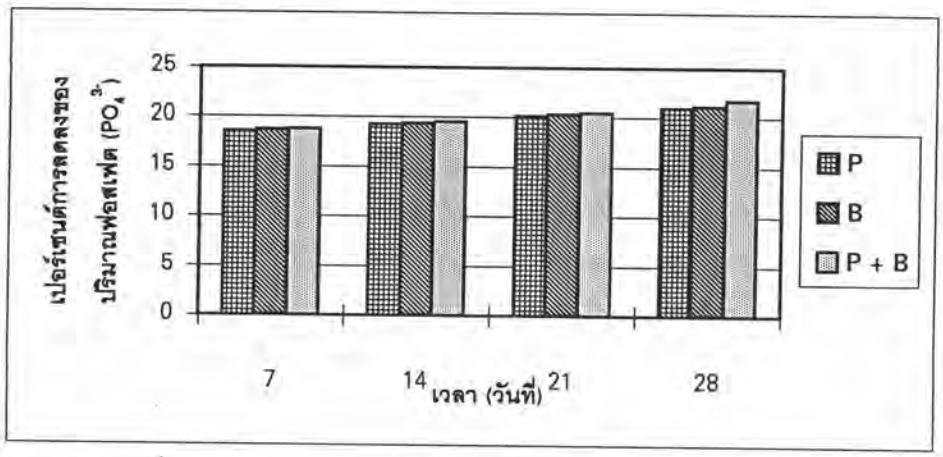


4.27 ข

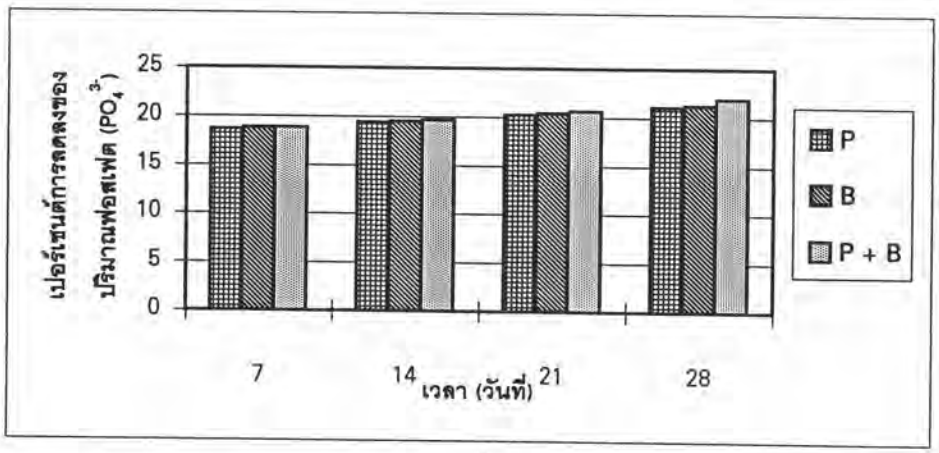
รูปที่ 4.27 เปอร์เซนต์การลดลงของปริมาณซัลเฟต (SO_4^{2-}) ในอาหารเลี้ยงเชื้อซนิดเหลว ที่เติมน้ำมันหล่อลื่นสังเคราะห์ Castrol GTX ก 1 มิลลิลิตรต่อลิตร ข. 2 มิลลิลิตรต่อลิตร



4.28



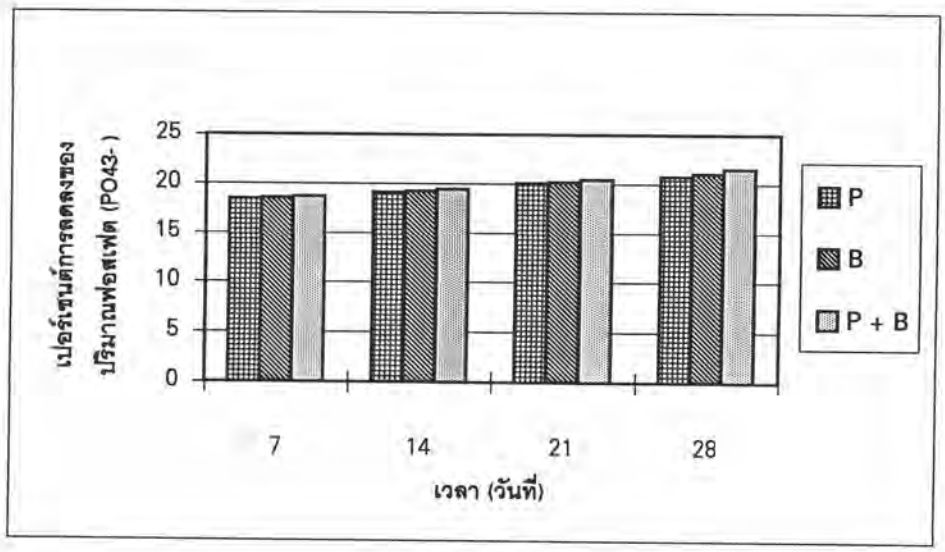
4.29 ก



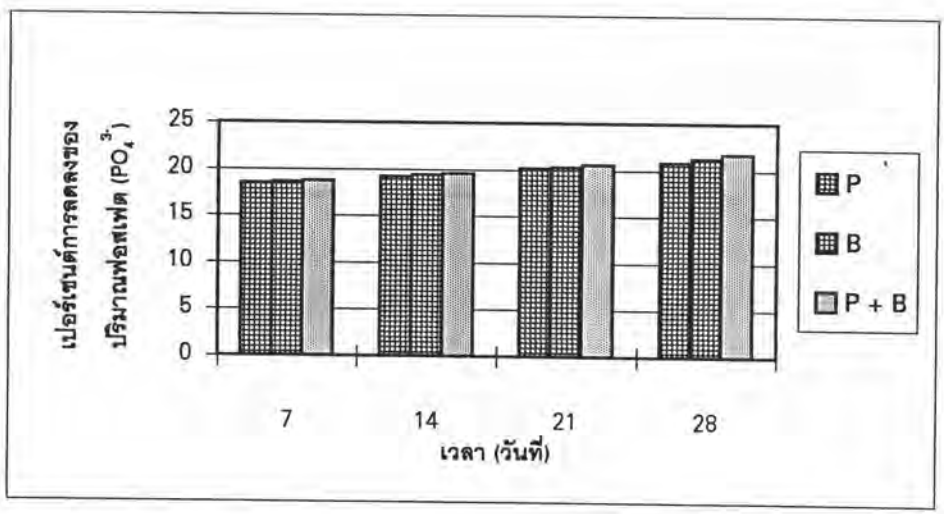
4.29 ข

รูปที่ 4.28 เปอร์เซนต์การลดลงของปริมาณฟอสเฟต (PO_4^{3-}) ในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเหลว

รูปที่ 4.29 เปอร์เซนต์การลดลงของปริมาณฟอสเฟต (PO_4^{3-}) ในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเหลว ที่เติมน้ำมันหล่อลื่นสังเคราะห์ Esso ultron ก .1 มิลลิลิตรต่อลิตร ข. 2 มิลลิลิตรต่อลิตร



4.30 ก



4.30 ข

รูปที่ 4.30 เปอร์เซนต์การลดลงของปริมาณฟอสเฟต (PO_4^{3-}) ในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเหลว ที่เติมน้ำมันหล่อลื่นสังเคราะห์ Castrol GTX ก .1 มิลลิลิตรต่อลิตร ข. 2 มิลลิลิตรต่อลิตร

ปริมาณฟอสเฟต 929.44 และ 932.34 มิลลิกรัมต่อลิตร คิดเป็น 21.73 และ 21.50 เปอร์เซนต์ ตามลำดับ ที่เติมน้ำมันฯ 2 มิลลิลิตรต่อลิตร ปริมาณฟอสเฟต 927.12 และ 929.56 มิลลิกรัมต่อลิตร คิดเป็น 21.93 และ 21.72 เปอร์เซนต์ ตามลำดับ ในขณะที่ชุดควบคุมที่เติมเฉพาะแบคทีเรียทั้ง 2 ชนิด แต่ไม่เติมน้ำมันฯ ปริมาณฟอสเฟต 936.44 มิลลิกรัมต่อลิตร คิดเป็น 21.15 เปอร์เซนต์ จะเห็นได้ว่า ในชุดทดลองเดียวกัน เมื่อเติมแบคทีเรียทั้ง 2 ชนิด มีการใช้ฟอสเฟตไปมากกว่าที่เติม *B. subtilis* และ *P. putida* ตามลำดับ และชุดทดลองที่เติมน้ำมันฯ 2 มิลลิลิตรต่อลิตร มีการใช้ฟอสเฟตไปมากกว่า ที่เติมน้ำมันฯ 1 มิลลิลิตรต่อลิตร และไม่เติมน้ำมันฯ ตามลำดับ และในชุดทดลองที่เติมน้ำมันหล่อลื่นฯ Esso ultron มีการใช้ฟอสเฟตไปมากกว่า ชุดทดลองที่เติมน้ำมันหล่อลื่นฯ Castrol GTX (ดังรายละเอียดในตารางที่ ฉ.13 และ ฉ.14 และ ในรูปที่ 4.28 - 4.30)

จากผลการวิเคราะห์ปริมาณสารอาหารพื้นฐานในอาหารชนิดเหลว MBM ที่เติมน้ำมันหล่อลื่นฯ Esso ultron และน้ำมันหล่อลื่นฯ Castrol GTX ในระดับความเข้มข้นต่าง ๆ (0 - 2 มิลลิลิตรต่อลิตร) พบว่า แบคทีเรียในชุดทดลองที่เติมน้ำมันฯ 2 มิลลิลิตรต่อลิตร มีการลดลงของสารอาหารพื้นฐาน ซึ่งประกอบด้วยไอออนบวก และไอออนลบรวม 7 ชนิด คือ ไอออนบวก ได้แก่ โซเดียม (Na^+), โปตัสเซียม (K^+), แอมโมเนียม ($NH4^+$) และมักนีเซียม (Mg^{2+}) และไอออนลบ ได้แก่ คลอไรด์ (Cl^-), ซัลเฟต (SO_4^{2-}) และฟอสเฟต (PO_4^{3-}) ได้มากกว่าชุดทดลองที่เติมน้ำมันหล่อลื่นฯ 1 มิลลิลิตรต่อลิตร และชุดควบคุมที่ไม่เติมน้ำมันหล่อลื่นฯ แต่เติมเฉพาะแบคทีเรียเท่านั้น โดยที่แบคทีเรียแต่ละชนิด และทั้ง 2 ชนิดร่วมกัน มีการใช้สารอาหารพื้นฐาน คือ เกลือแร่อนินทรีย์ที่อยู่ในอาหารชนิดเหลว MBM ซึ่งประกอบด้วย NaCl, K_2HPO_4, $(NH_4)_3PO_4$ และ $MgSO_4$ ควบคู่ไปกับ การใช้ไฮโดรคาร์บอนของสารประกอบเอสเทอร์สังเคราะห์ในน้ำมันหล่อลื่นฯ Esso ultron และสารประกอบไฮโดรคาร์บอนในน้ำมันหล่อลื่นฯ Castrol GTX โดยเปรียบเทียบระหว่าง ชุดทดลอง MBM ที่เติมน้ำมันหล่อลื่นฯ Esso ultron และ Castrol GTX เฉพาะในชุดทดลองที่มีเปอร์เซนต์การลดลงของสารอาหารพื้นฐาน (ไอออนบวก และไอออนลบรวม 7 ชนิด) มากที่สุด โดยชุดทดลอง MBM ที่เติมน้ำมันหล่อลื่นฯ 2 มิลลิลิตรต่อลิตร แบคทีเรียจะมีการใช้แอมโมเนียมไปมากที่สุด คือ 36.16 เปอร์เซนต์ รองลงมา ได้แก่ โปตัสเซียม 32.06 เปอร์เซนต์ และมีการใช้มักนีเซียมไปน้อยที่สุดคือ 18.06 เปอร์เซนต์ ,ชุดทดลอง MBM ที่เติมน้ำมันหล่อลื่นฯ 1 มิลลิลิตรต่อลิตร แบคทีเรียจะมีการใช้แอมโมเนียมไปมากที่สุด คือ 35.34 เปอร์เซนต์ รองลงมา ได้แก่ โปตัสเซียม 30.12 เปอร์เซนต์ และมีการใช้มักนีเซียมไปน้อยที่สุดคือ 17.83 เปอร์เซนต์ และชุดทดลอง MBM ที่เติมเฉพาะแบคทีเรีย (ทั้ง 2 ชนิดร่วมกัน) ซึ่งเป็นชุดควบคุม จะมีการลดลงของสารอาหารพื้นฐานน้อยที่สุด เมื่อเทียบกับชุดทดลอง MBM ที่เติมน้ำมันหล่อลื่นฯ 1 และ 2 มิลลิลิตรต่อลิตร ตามลำดับ โดยในชุดควบคุมมีการใช้แอมโมเนียมไปมากที่สุด คือ 32.86 เปอร์เซนต์ รองลงมา ได้แก่ โปตัสเซียม 23.42 เปอร์เซนต์ และมีการใช้มักนีเซียมน้อยที่สุด 16.11 เปอร์เซนต์ ส่วนเกลืออนินทรีย์ตัวอื่น ๆก็มีการใช้ไปในปริมาณที่ไม่แตกต่างกันนัก คือ มีการใช้สารอาหารพื้นฐานไปประมาณ

12 - 36 เปอร์เซนต์ โดยชุดทดลอง MBM ที่เติมน้ำมันหล่อลื่นฯ Esso ultron จะมีการใช้สารอาหารพื้นฐาน แอมโมเนียม (NH_4^+), มักนีเซียม (Mg^{2+}) และ ฟอสเฟต (PO_4^{3-}) มากกว่าชุดทดลอง MBM ที่เติมน้ำมันหล่อลื่นฯ Castrol GTX และชุดทดลอง MBM ที่เติมน้ำมันหล่อลื่นฯ Castrol GTX จะมีการใช้สารอาหารพื้นฐาน โซเดียม (Na^+), โปตัสเซียม (K^+) , ซัลเฟต (SO_4^{2-}) และ คลอไรด์ (Cl^-) มากกว่าชุดทดลอง MBM ที่เติมน้ำมันหล่อลื่นฯ Esso ultron แสดงว่า แบคทีเรียมีการใช้แอมโมเนียม ซึ่งมีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบไปมากที่สุด เนื่องจากไนโตรเจนเป็นเกลือแร่พื้นฐานที่สำคัญต่อการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย ซึ่งสารอาหารหลักที่สำคัญต่อการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย ได้แก่ ไนโตรเจน, โปตัสเซียม และฟอสฟอรัส ส่วนเกลือแร่ตัวอื่น ๆ คือ โซเดียม, คลอไรด์, มักนีเซียม และซัลเฟต เป็นธาตุอาหารรอง แต่ก็จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย เช่นเดียวกัน โดยมีรายงานของ Atlas และ Bartha (1972) พบว่า ปริมาณของไนโตรเจน และฟอสฟอรัสที่เหมาะสม ในการสลายจะมีความแตกต่างกัน โดยพบว่า ไนโตรเจนที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร และฟอสฟอรัสที่ความเข้มข้น 0.07 มิลลิกรัมต่อลิตรมีความเหมาะสมที่สุด สำหรับจุลินทรีย์ที่สลายน้ำมันดิบ Sweden ที่ความเข้มข้น 8 กรัมต่อลิตร ในน้ำทะเลของชายฝั่งนิวเจอร์ซี ประเทศสหรัฐอเมริกา, Reisfield, Resenberg และ Gutnick (1972) รายงานค่าความเข้มข้นที่เหมาะสมของไนโตรเจน และฟอสฟอรัส เท่ากับ 11 และ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร สำหรับการสลายน้ำมันดิบ Iranian 1 กรัมต่อลิตรในน้ำทะเลเมดิเตอร์เรเนียน และ Walker และคณะ(1977) ศึกษาการลดลงของสารไฮโดรคาร์บอน โดยแบคทีเรีย พบว่า แบคทีเรียมีการใช้สารอาหารอนินทรีย์ฟอสเฟตไนเตรท ไนเตรท และแอมโมเนียมในการเจริญเติบโตด้วย สำหรับการทดลองครั้งนี้ ได้มีการเติมสารอาหารเพียงครั้งเดียว แต่เติมในปริมาณที่เพียงพอต่อการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย โดยพิจารณาจากปริมาณ และเปอร์เซนต์การลดลงของสารอาหาร ซึ่งแบคทีเรียมีการใช้สารอาหารอนินทรีย์ ไปประมาณ ไม่เกินกว่า 30 เปอร์เซนต์

4.7 การเจริญเติบโตของ *Pseudomonas putida* และ *Bacillus subtilis* กับการเปลี่ยนแปลงค่า พี . เอช และอุณหภูมิของสารอาหารพื้นฐาน MBM ที่เติมน้ำมันหล่อลื่นสังเคราะห์ในระดับความเข้มข้นต่าง ๆ

จากการวัดค่าพี - เอช (pH) และอุณหภูมิของสารอาหารพื้นฐาน ที่เติมน้ำมันหล่อลื่นสังเคราะห์ Esso ultron และ Castrol GTX ความเข้มข้น 0 (ตัวควบคุม), 1 และ 2 มิลลิลิตรต่อลิตร ในวันที่ 0 (เริ่มต้น) 7, 14, 21 และ 28 ตามลำดับ พบว่า เมื่อเวลาผ่านไป 28 วัน ค่าพี - เอชของชุดควบคุม MBM มีค่าคงเดิม คือ pH 7 แต่ MBM + น้ำมันฯ 1 และ 2 มิลลิลิตรต่อลิตร มีค่าลดลงเล็กน้อย คือ จาก pH 7 เป็น pH 6.96 ในชุดทดลอง MBM + *P. putida*, MBM + *B. subtilis* และ MBM + เชื้อแบคทีเรีย ทั้ง 2 ชนิดมีค่า pH 6.84, 6.83 และ 6.84 ตามลำดับ สำหรับในชุดทดลอง MBM + *P. putida* + น้ำมัน

หล่อลื่นฯ Esso ultron และ Castrol 1 มิลลิลิตรต่อลิตร pH 5.90 และ 5.88 ตามลำดับ, ที่ 2 มิลลิตรต่อลิตร pH 5.85 และ 5.88 ตามลำดับ, ส่วนในชุดทดลอง MBM + *B. subtilis* + น้ำมันหล่อลื่นฯ Esso ultron และ Castrol GTX 1 มิลลิตรต่อลิตร pH 5.86 และ 5.84 ตามลำดับ, ที่ 2 มิลลิตรต่อลิตร pH 5.84 และ 5.81 ตามลำดับ และในชุดทดลอง MBM + เชื้อแบคทีเรียทั้งสองชนิด + น้ำมันฯ Esso ultron และ Castrol GTX 1 มิลลิตรต่อลิตร pH 5.90 และ 5.8 ตามลำดับ และที่ 2 มิลลิตรต่อลิตร pH 5.84 และ 5.82 ส่วนอุณหภูมิของสารอาหารพื้นฐาน มีค่าอยู่ในช่วงของอุณหภูมิห้อง คือ 28.20 - 29.50 องศาเซลเซียส จะเห็นได้ว่า ค่า พี - เอช (pH) ของชุดทดลอง ทั้งที่เติมน้ำมันหล่อลื่นฯ Esso ultron และที่เติมน้ำมันหล่อลื่นฯ Castrol GTX มีค่า pH แทบจะไม่แตกต่างกันเลย โดยค่า pH จะลดลงมากที่สุด เมื่อเวลาผ่านไป 28 วัน คือ pH 7.0 ไปเป็น 5.81 - 5.90 แสดงให้เห็นว่า แบคทีเรียได้มีการสลาย และใช้น้ำมันหล่อลื่นสังเคราะห์ควบคู่ไปกับการใช้สารอาหารเกลือแร่พื้นฐาน ซึ่งเป็นสารประกอบเกลืออนินทรีย์ไปเพื่อการเจริญเติบโต จึงอาจได้ผลิตภัณฑ์ต่าง ๆเกิดขึ้นระหว่างการสลายทางชีวภาพของน้ำมันหล่อลื่นสังเคราะห์ดังกล่าว เป็นผลทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลง ค่า พี - เอช (pH) ของสารอาหารพื้นฐานค่อนไปทางกรด (ดังรายละเอียดในตารางที่ ฉ.15 และ ฉ.16)