บทที่ 4

ผลการทดลอง

4.1 ลักษณะทางกายภาพและองค์ประกอบทางเคมีของวัสดุทางการเกษตรที่นำมาใช้ในการทดลอง

วัสดุทางการเกษตรที่นำมาใช้ในการทดลองมี 3 ชนิด ได้แก่ ฟางข้าว ใยบวบและนมผักกระเฉด ผลการวิเคราะห์ลักษณะทางกายภาพและองค์ประกอบทางเคมีของวัสดุทางการเกษตรที่นำมาใช้ในการทดลองนี้ ได้มาจาก ฝ่ายวิเคราะห์ดินและน้ำ กองเกษตรเคมี กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ และภาควิชาปฐพีวิทยา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ บางเขน กรุงเทพฯ ดังแสดงในตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 ลักษณะทางกายภาพและองค์ประกอบทางเคมีของวัสดุทางการเกษตร

พารามิเตอร์	ผลการวิเคราะห์		
	ฟางข้าว	ใยบวบ	นมผักกระเฉด
ความจุสูงสุดของการอุ้มน้ำ(%)	607.92*	702.26*	1081.20*
ความเป็นกรดด่าง	6.2*	5.9*	5.7*
ปริมาณอินทรีย์คาร์บอน(%)	26.17**	16.32**	19.58**
ปริมาณไนโตรเจน(%)	0.39**	0.33**	1.88**
ปริมาณฟอสฟอรัส(%)	0.08**	0.02**	0.32**
ปริมาณโปแทสเซียม(%)	1.67**	0.03**	5.16**
อัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน	67.10 :1**	49.45 :1**	10.41 :1**

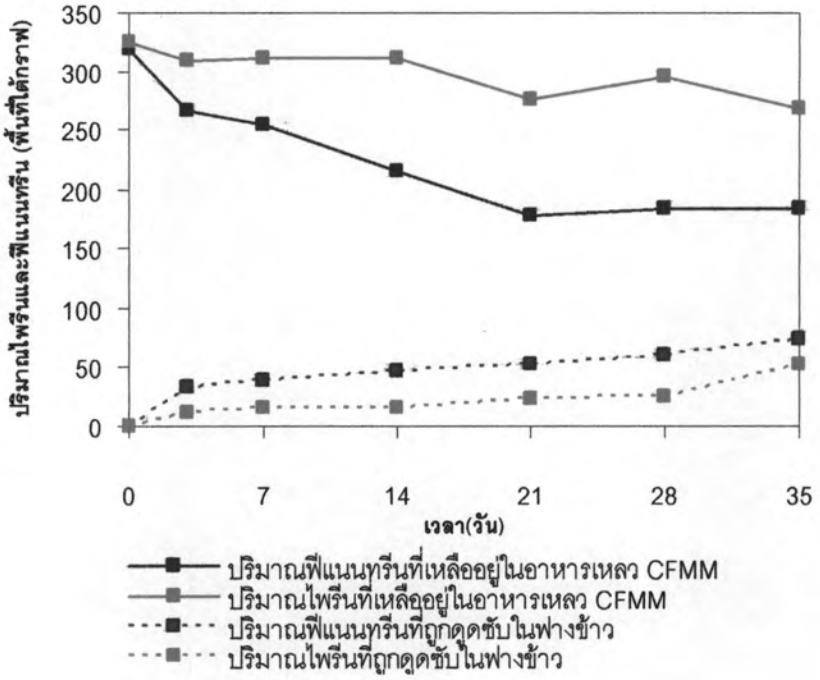
หมายเหตุ * วิเคราะห์โดยฝ่ายวิจัยดิน กองเกษตรเคมี กระทรวงเกษตรและสหกรณ์

** วิเคราะห์โดย ภาควิชาปฐพีวิทยา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

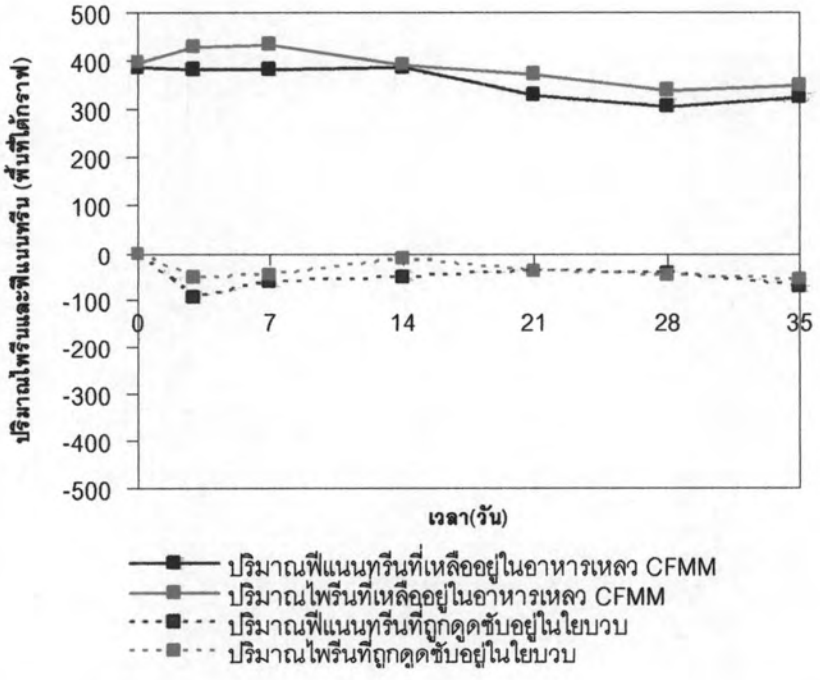
4.2 ความสามารถในการดูดซับไพรีนและฟีแนนทรีนของวัสดุทางการเกษตร

ศึกษาความสามารถในการดูดซับไพรีนและฟีแนนทรีนของวัสดุทางการเกษตรที่ปลอดเชื้อ ทำการทดลองโดยใช้วัสดุทางการเกษตร 0.1 กรัมที่ปลอดเชื้อ ใส่อาหารเหลว CFMM ปริมาตร 5 มล. ที่มีไพรีนและฟีแนนทรีนความเข้มข้นสุดท้ายชนิดละ 0.5 มก./มล. เขย่าและเก็บตัวอย่างวันที่ 0, 3, 7, 14, 21, 28 และ 35 ปั่นแยกด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 10,000 รอบต่อนาที นาน 30 นาที วิเคราะห์ปริมาณไพรีนและฟีแนนทรีนที่ถูกดูดซับในส่วนของวัสดุทางการเกษตรและในส่วนของอาหารเหลว CFMM โดยวิเคราะห์ทั้ง 2 ส่วนแยกกันตามวิธีข้อ 3.6.2

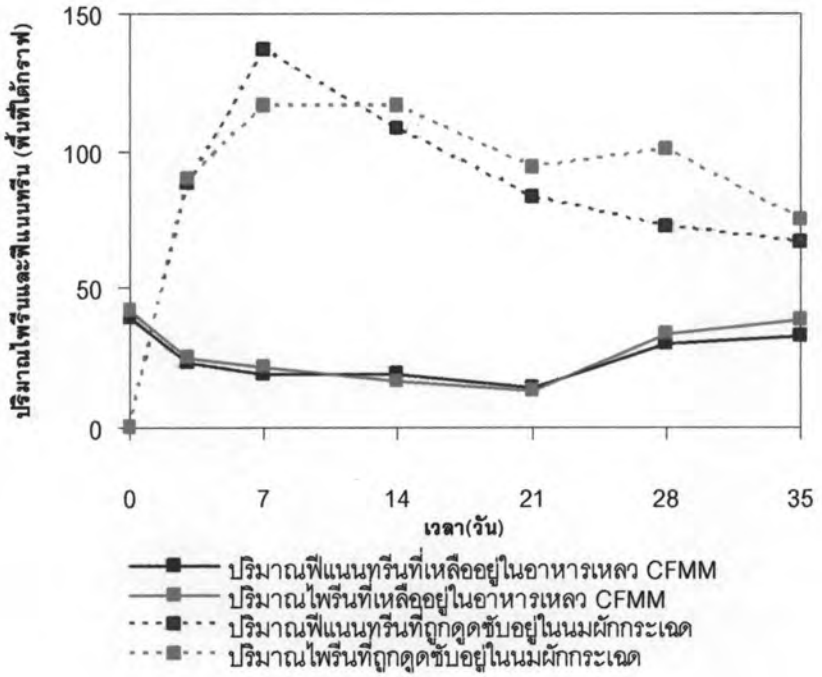
วาดกราฟโดยกำหนดให้ปริมาณไพรีนหรือฟีแนนทรีนในส่วนของวัสดุ (พื้นที่ใต้กราฟ) ในวันที่ 0 เป็น 0 และสำหรับพื้นที่ใต้กราฟในวันอื่นๆ จะหักออกจากพื้นที่ใต้กราฟในวันที่ 0 จากการทดลองพบว่าปริมาณไพรีนและฟีแนนทรีนในส่วนของฟางข้าวมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ ในขณะที่ส่วนของอาหารเหลว CFMM มีแนวโน้มลดลงเรื่อยๆ เช่นกัน แสดงให้เห็นว่าฟางข้าวสามารถดูดซับไพรีนและฟีแนนทรีนไว้ได้และจะดูดซับมากขึ้นเรื่อยๆ เมื่อเวลาผ่านไป ที่เป็นเช่นนี้เพราะผิวของฟางข้าวมีลักษณะเป็นไข (wax) ทำให้สามารถดูดซับสารประกอบ PAHs มาติดไว้ได้ สำหรับในชุดของใยบวบ พบว่าปริมาณไพรีนและฟีแนนทรีนทั้งในส่วนของใยบวบและอาหารเหลว CFMM มีแนวโน้มคงที่ แสดงให้เห็นว่าใยบวบไม่สามารถดูดซับไพรีนและฟีแนนทรีนไว้ได้ ทั้งนี้เป็นเพราะโครงสร้างของใยบวบที่เป็นรูกลวงขนาดใหญ่ และเส้นใยมีความหนาแน่นมาก สำหรับในชุดของนมผักกระเฉด พบว่าปริมาณไพรีนและฟีแนนทรีนในส่วนของนมผักกระเฉดมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วภายใน 7 วัน แต่หลังจากนั้นจะลดลงอย่างรวดเร็ว ในขณะที่ส่วนของอาหารเหลว CFMM มีแนวโน้มลดลงเรื่อยๆ และเพิ่มขึ้นในวันหลัง แสดงให้เห็นว่านมผักกระเฉดสามารถดูดซับไพรีนและฟีแนนทรีนไว้ได้ในปริมาณที่มากกว่าฟางข้าวในวันที่ 7 (รูปที่ 4.1-4.3)



รูปที่ 4.1 การดูดซับไพรีนและฟีแนนทรีนของฟางข้าวในอาหารเหลว CFMM



รูปที่ 4.2 การดูดซับไพรีนและฟีแนนทรีนของใยบวบในอาหารเหลว CFMM



รูปที่ 4.3 การดูดซับไพรีนและฟีแนนทรีนของนมผักกระเฉดในอาหารเหลว CFMM

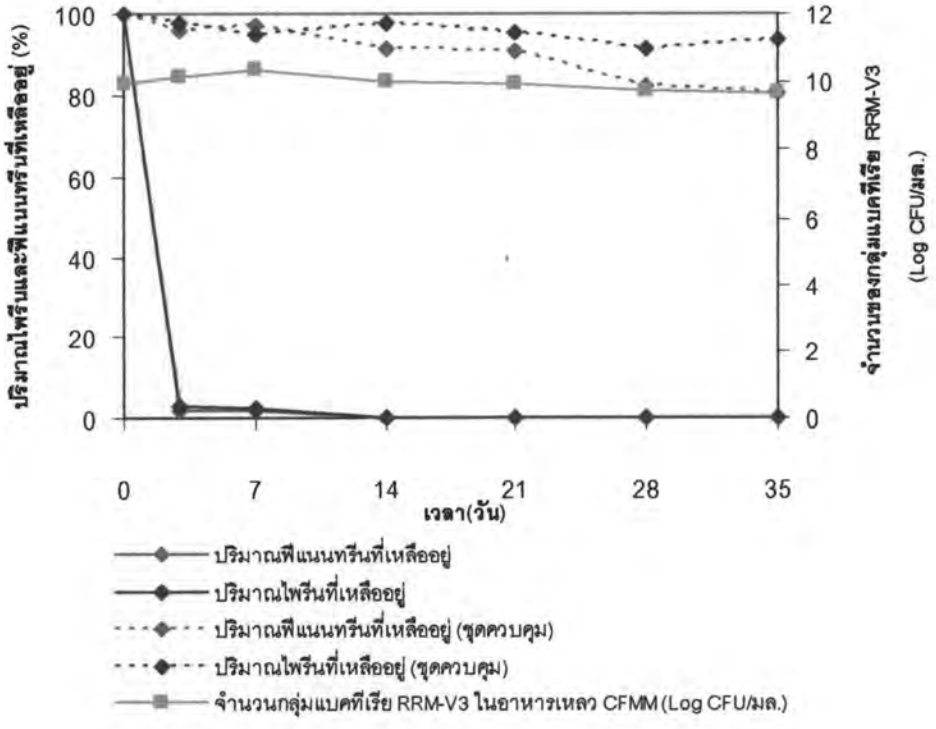
4.3 ความสามารถในการย่อยสลายไพรีนและฟีแนนทรีนของกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ในอาหารเหลว CFMM

ทดสอบความสามารถของกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ในการย่อยสลายไพรีนและฟีแนนทรีนโดยเติมกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 จำนวน 10^{10} CFU/มล. ปริมาตร 1 มล. ลงในอาหารเหลว CFMM ปริมาตร 5 มล. ที่มีไพรีนและฟีแนนทรีนความเข้มข้นสุดท้ายชนิดละ 0.05 มก./มล. ชุดควบคุมคือ อาหารเหลว CFMM ที่เติมไพรีนหรือฟีแนนทรีนแต่ไม่เติมกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 เขย่าและเก็บตัวอย่างวันที่ 0, 3, 7, 14, 21, 28 และ 35 นับจำนวนกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ตามวิธีในข้อ 3.5.2 และวิเคราะห์ปริมาณไพรีนและฟีแนนทรีนที่เหลืออยู่ในวัสดุทางการเกษตร ตามวิธีข้อ 3.6.2

ผลการทดลองแสดงว่า วันที่ 0 ของการทดลอง จำนวนแบคทีเรียทั้งหมดของกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 มีค่าเริ่มต้นเท่ากับ 9.9 log CFU ต่อมล. เก็บตัวอย่างเป็นเวลา 35 วัน พบว่ากลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 จะมีจำนวนเพิ่มขึ้นมากที่สุดในวันที่ 7 ของการทดลอง ซึ่งมีจำนวนแบคทีเรียทั้งหมดของกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 จะมีจำนวนเท่ากับ 10.3 log CFU ต่อมล. และจะมีจำนวนค่อนข้างคงที่จนสิ้นสุดการทดลอง

ผลวิเคราะห์ปริมาณไพรีนและฟีแนนทรีนที่เหลืออยู่โดยคิดเป็นเปอร์เซ็นต์ เปรียบเทียบกับวันที่ 0 ซึ่งคิดเป็นปริมาณเริ่มต้นที่ 100 เปอร์เซ็นต์ พบว่า ตั้งแต่วันที่ 0-3 ของการทดลอง ปริมาณไพรีนและฟีแนนทรีนลดลงอย่างรวดเร็วจาก 100 เปอร์เซ็นต์ จนเหลือ 2.1 และ 1.7 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และจะหมดในวันที่ 14 ของการทดลอง ในขณะที่ในชุดควบคุม ไพรีนจะเหลืออยู่ถึง 93.5 เปอร์เซ็นต์ และฟีแนนทรีนจะเหลือ 80.8 เปอร์เซ็นต์ ที่วันที่ 35 ของการทดลอง

จะเห็นได้ว่าผลของการเจริญและการย่อยสลายไพรีนและฟีแนนทรีนของกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 มีความสอดคล้องกันนั่นคือ ในช่วง วันที่ 0 ถึงวันที่ 7 กลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 มีจำนวนเพิ่มขึ้นทำให้ปริมาณไพรีนและฟีแนนทรีนลดลงอย่างรวดเร็วและหมดภายใน 14 วัน แสดงให้เห็นว่ากลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 สามารถย่อยสลายไพรีนและฟีแนนทรีนเพื่อเป็นแหล่งคาร์บอนในการเจริญ (รูปที่ 4.4)



รูปที่ 4.4 การย่อยสลายไพรีนและฟีแนนทรีนในอาหารเหลว CFMM โดยกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3

4.4 การรอดชีวิตของกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่ผสมกับวัสดุทางการเกษตร

การตรวจสอบการรอดชีวิตของกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่ผสมกับวัสดุทางการเกษตรทั้ง 3 ชนิดได้แก่ ฟางข้าว ใยบวบและนมผักกระเฉด โดยแบ่งชุดการทดลองดังต่อไปนี้

ชุดการทดลองที่ 1 กลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่เลี้ยงในฟางข้าวปลอดเชื้อ

ชุดการทดลองที่ 2 กลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่เลี้ยงในใยบวบปลอดเชื้อ

ชุดการทดลองที่ 3 กลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่เลี้ยงในนมผักกระเฉดปลอดเชื้อ

ชุดการทดลองที่ 4-6 ทำการทดลองเช่นเดียวกับชุดการทดลองที่ 1-3 แต่ใช้กลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่เลี้ยงในวัสดุทางการเกษตรไม่ปลอดเชื้อ

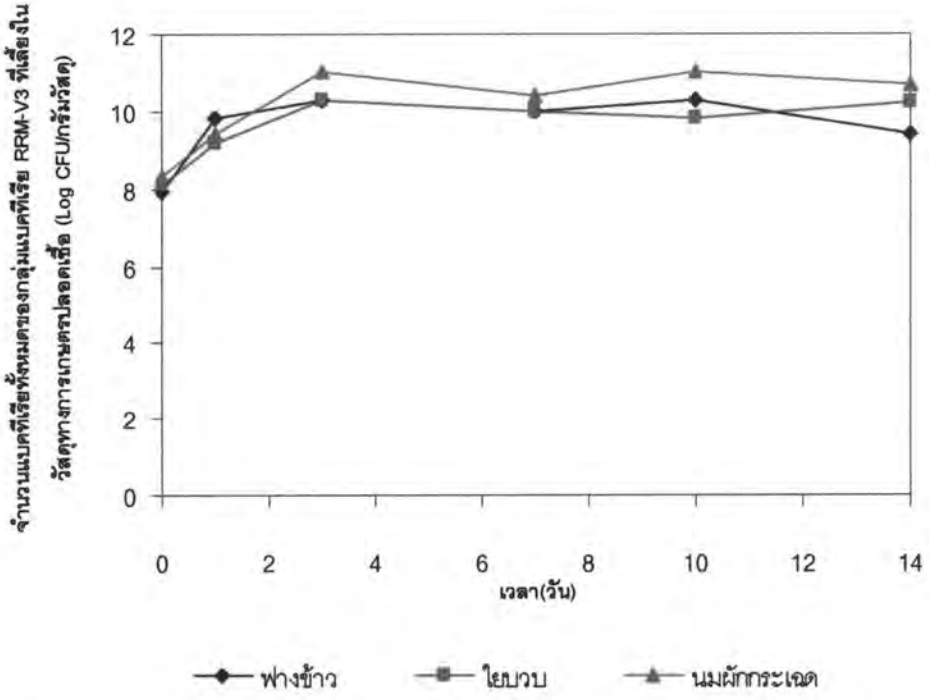
ชุดควบคุมที่ 1 วัสดุทางการเกษตรปลอดเชื้อทั้ง 3 ชนิด ที่ไม่เติมกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 เพื่อตรวจสอบความปลอดเชื้อในวัสดุทางการเกษตร

ชุดควบคุมที่ 2 วัสดุทางการเกษตรไม่ปลอดเชื้อทั้ง 3 ชนิด ที่ไม่เติมกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 เพื่อศึกษาการรอดชีวิตของแบคทีเรียในวัสดุทางการเกษตร

4.4.1 จำนวนกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่เลี้ยงในวัสดุทางการเกษตรปลอดเชื้อ

ชุดการทดลองที่ 1-3 ใช้วัสดุทางการเกษตรปลอดเชื้อผสมกับกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 เพื่อศึกษาการรอดชีวิตของกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่เลี้ยงในวัสดุทางการเกษตรที่ปลอดเชื้อ ทำการทดลองโดยนำวัสดุทางการเกษตรที่ปลอดเชื้อ 0.1 กรัม มาทำการปรับค่าความเป็นกรดด่างเป็น 6.5 - 7.0 และปรับความชื้นเป็น 70% ของความจุสูงสุดของการอุ้มน้ำ เติมกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 จำนวน 10^8 CFU ผสมให้เข้ากัน บ่มที่อุณหภูมิ 30°ซ เก็บตัวอย่างในวันที่ 0, 1, 3, 7, 10 และ 14 วัน จากนั้นนับจำนวนกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ตามวิธีในข้อ 3.5.2

จากการทดลอง พบว่า วันที่ 0 ของการทดลอง จำนวนแบคทีเรียทั้งหมดของกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่เลี้ยงในฟางข้าว (ชุดการทดลองที่ 1) ใยบวบ (ชุดการทดลองที่ 2) และนมผักกระเฉด (ชุดการทดลองที่ 3) ปลอดเชื้อ มีค่าเริ่มต้น เท่ากับ 7.9, 8.1 และ 8.3 log CFU ต่อกรัมวัสดุ ตามลำดับ หลังจากเก็บตัวอย่างที่เวลาต่างๆ พบว่าที่วันที่ 3 ของการทดลอง กลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่เลี้ยงในวัสดุทางการเกษตรทั้ง 3 ชนิดที่ปลอดเชื้อ จะมีจำนวนเพิ่มขึ้นมากที่สุด หลังจากนั้นกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 จะมีแนวโน้มของการเจริญที่คงที่ อาจเพิ่มขึ้นหรือลดลงเล็กน้อย โดยในวันที่ 3 ของการทดลอง จำนวนแบคทีเรียทั้งหมดของกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่เลี้ยงในฟางข้าว ใยบวบและนมผักกระเฉดปลอดเชื้อ จะมีจำนวนเท่ากับ 10.3, 10.3 และ 11.0 log CFU ต่อกรัมวัสดุ ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่ากลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่เลี้ยงในวัสดุทางการเกษตรปลอดเชื้อทั้ง 3 ชนิดมีการเจริญและการอยู่รอดได้ใกล้เคียงกันซึ่งนมผักกระเฉดจะให้การเจริญและการอยู่รอดกับกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ได้ดีที่สุด (รูปที่ 4.5)



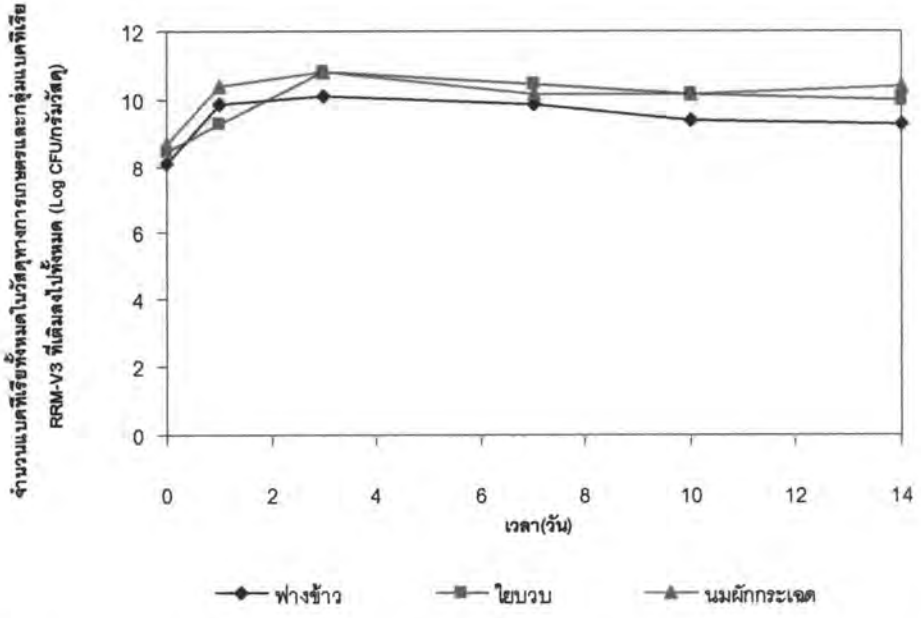
รูปที่ 4.5 จำนวนแบคทีเรียทั้งหมดของกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่เลี้ยงในวัสดุทางการเกษตรปลอดเชื้อ

4.4.2 จำนวนแบคทีเรียในวัสดุทางการเกษตรและกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่เติมลงไปในวัสดุทางการเกษตรไม่ปลอดเชื้อ

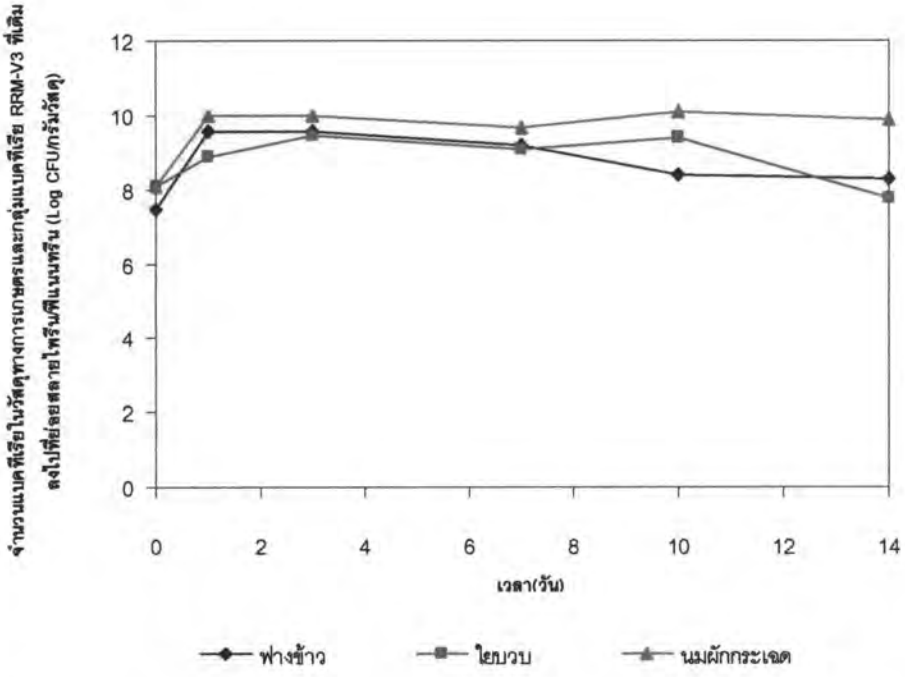
ชุดการทดลองที่ 4-6 ใช้วัสดุทางการเกษตรไม่ปลอดเชื้อผสมกับกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 เพื่อศึกษาการรอดชีวิตของกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่เลี้ยงในวัสดุทางการเกษตรไม่ปลอดเชื้อ และผลของแบคทีเรียในวัสดุทางการเกษตรต่อการรอดชีวิตของกลุ่มแบคทีเรียนี้ ทำการทดลองโดยนำวัสดุทางการเกษตรไม่ปลอดเชื้อ 0.1 กรัม มาทำการปรับค่าความเป็นกรดด่างเป็น 6.5 - 7.0 และปรับความชื้นเป็น 70% ของความจุสูงสุดของการอุ้มน้ำ เติมกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 จำนวน 10^8 CFU ผสมให้เข้ากัน บ่มที่อุณหภูมิ 30°ซ เก็บตัวอย่างในวันที่ 0, 1, 3, 7, 10 และ 14 วัน จากนั้นนับจำนวนแบคทีเรียในวัสดุทางการเกษตรและกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ตามวิธีในข้อ 3.5.2

จากการทดลอง พบว่า วันที่ 0 ของการทดลอง จำนวนแบคทีเรียทั้งหมดในวัสดุทางการเกษตรและกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่เติมลงไปทั้งหมดในฟางข้าว (ชุดการทดลองที่ 4) ใยบวบ (ชุดการทดลองที่ 5) และนมผักกระเฉด (ชุดการทดลองที่ 6) ไม่ปลอดเชื้อ มีค่าเริ่มต้นเท่ากับ 8.1, 8.5 และ 8.7 log CFU ต่อกรัมวัสดุ ตามลำดับ และจำนวนแบคทีเรียในวัสดุทางการเกษตรและกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่ย่อยสลายไพรีน/ฟีแนนทรีนของชุดการทดลองที่ 4, 5 และ 6 มีค่าเริ่มต้นเท่ากับ 7.5, 8.1 และ 8.1 log CFU ต่อกรัมวัสดุ ตามลำดับ หลังจากเก็บ

ตัวอย่างที่เวลาต่างๆ พบว่าที่วันที่ 3 ของการทดลอง จำนวนแบคทีเรียในวัสดุทางการเกษตรและกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่เติมลงในวัสดุทางการเกษตรไม่ปลอดเชื้อทั้ง 3 ชนิด จะมีจำนวนเพิ่มขึ้นมากที่สุด หลังจากนั้นจำนวนแบคทีเรียทั้งหมดและกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่เติมลงในฟางข้าวและใยบวบจะมีแนวโน้มของการเจริญที่ลดลงเล็กน้อย ส่วนในนมผักกระเฉดจะมีแนวโน้มการเจริญที่คงที่ อาจเพิ่มขึ้นหรือลดลงเล็กน้อย โดยในวันที่ 3 ของการทดลอง จำนวนแบคทีเรียทั้งหมดและกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ของชุดการทดลองที่ 4, 5 และ 6 จะมีจำนวนเท่ากับ 10.1, 10.8 และ 10.8 log CFU ต่อกรัมวัสดุ ตามลำดับ และจำนวนแบคทีเรียในวัสดุทางการเกษตรและกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่ย่อยสลายไพรีน/ฟีแนนทรีนของชุดการทดลองที่ 4, 5 และ 6 จะมีจำนวนเท่ากับ 9.6, 9.5 และ 10.0 log CFU ต่อกรัมวัสดุ ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่าจำนวนแบคทีเรียทั้งหมดและกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่เติมลงไปทั้งหมดในใยบวบและนมผักกระเฉดไม่ปลอดเชื้อ จะมีจำนวนมากกว่าในฟางข้าวไม่ปลอดเชื้อเล็กน้อย และจำนวนแบคทีเรียในนมผักกระเฉดและกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่ย่อยสลายไพรีน/ฟีแนนทรีน จะมีจำนวนมากกว่าในฟางข้าวและใยบวบไม่ปลอดเชื้อ ดังนั้นวัสดุทางการเกษตรทั้ง 3 ชนิดจะให้การเจริญและการอยู่รอดกับแบคทีเรียในวัสดุทางการเกษตรและกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่เติมลงไปใกล้เคียงกันแต่นมผักกระเฉดเป็นวัสดุทางการเกษตรที่สามารถให้การเจริญและการอยู่รอดกับแบคทีเรียในนมผักกระเฉดและกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่เติมลงไปมากที่สุด (รูปที่ 4.6 และ 4.7)



รูปที่ 4.6 จำนวนแบคทีเรียทั้งหมดในวัสดุทางการเกษตรและกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่เติมลงไปทั้งหมดในวัสดุทางการเกษตรไม่ปลอดเชื้อ



รูปที่ 4.7 จำนวนแบคทีเรียในวัสดุทางการเกษตรและกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่เติมลงในวัสดุทางการเกษตรไม่ปลอดเชื้อที่ย่อยสลายไพรีน/ฟีแนนทรีน

4.4.3 จำนวนแบคทีเรียทั้งหมดในวัสดุทางการเกษตรไม่ปลอดเชื้อ

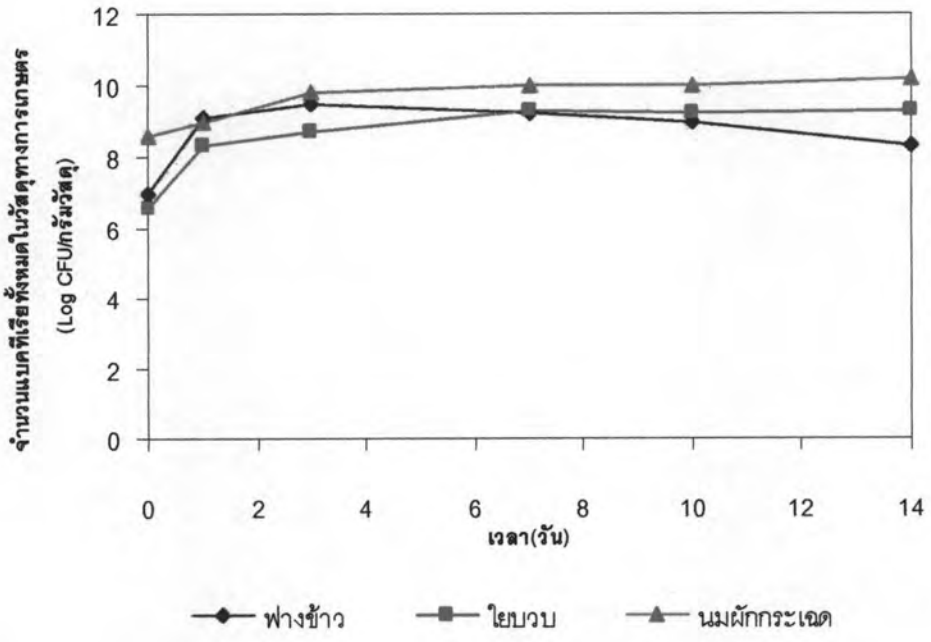
ชุดควบคุมที่ 2 ใช้วัสดุทางการเกษตรไม่ปลอดเชื้อ เพื่อศึกษาการรอดชีวิตของแบคทีเรียในวัสดุทางการเกษตร ทำการทดลองโดยนำวัสดุทางการเกษตรไม่ปลอดเชื้อ 0.1 กรัม มาทำการปรับค่าความเป็นกรดด่างเป็น 6.5 - 7.0 และปรับความชื้นเป็น 70% ของความจุสูงสุดของการอุ้มน้ำ ผสมให้เข้ากัน บ่มที่อุณหภูมิ 30°ซ เก็บตัวอย่างในวันที่ 0, 1, 3, 7, 10 และ 14 วัน จากนั้นนับจำนวนแบคทีเรียตามวิธีในข้อ 3.5.2

ผลของชุดควบคุมที่ 2 พบว่า วันที่ 0 ของการทดลอง จำนวนแบคทีเรียทั้งหมดในฟางข้าว ใยบวบและนมผักกระเฉดไม่ปลอดเชื้อ มีค่าเริ่มต้นเท่ากับ 7.0, 6.6 และ 8.6 log CFU ต่อกรัมวัสดุตามลำดับ และจำนวนแบคทีเรียในวัสดุทางการเกษตรที่ย่อยสลายไพรีน/ฟีแนนทรีน มีค่าเริ่มต้นเท่ากับ 6.5, 6.0 และ 6.9 log CFU ต่อกรัมวัสดุ ตามลำดับ หลังจากเก็บตัวอย่างที่เวลาต่างๆ พบว่าที่วันที่ 3 ของการทดลอง จำนวนแบคทีเรียทั้งหมดในฟางข้าวไม่ปลอดเชื้อจะมีจำนวนเพิ่มขึ้นมากที่สุด มีจำนวนเท่ากับ 9.5 log CFU ต่อกรัมวัสดุ และจำนวนแบคทีเรียในวัสดุทางการเกษตรที่ย่อยสลายไพรีน/ฟีแนนทรีน มีจำนวนเท่ากับ 8.9 log CFU ต่อกรัมวัสดุ หลังจากนั้นจำนวนแบคทีเรียทั้งหมดในฟางข้าวไม่ปลอดเชื้อมีแนวโน้มของการเจริญที่ลดลงเล็กน้อย ส่วนจำนวนแบคทีเรียทั้งหมดในใยบวบและนมผักกระเฉดไม่ปลอดเชื้อจะมีจำนวนเพิ่มขึ้นมากที่สุดใน

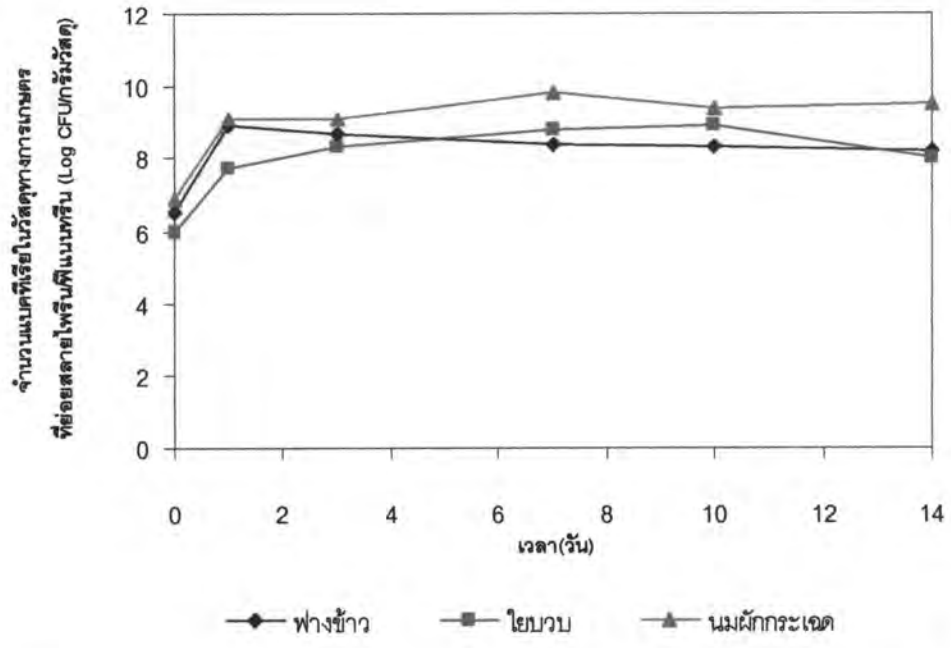
วันที่ 7 ของการทดลอง โดยจะมีจำนวนเท่ากับ 9.3 และ 10.0 log CFU ต่อกรัมวัสดุ ตามลำดับ และจำนวนแบคทีเรียในใยบวบและนมผักกระเฉดที่ย่อยสลายไพรีน/ฟีแนนทรีน มีจำนวนเท่ากับ 8.9 และ 9.8 log CFU ต่อกรัมวัสดุ ตามลำดับ หลังจากนั้น จำนวนแบคทีเรียทั้งหมดในใยบวบและนมผักกระเฉดไม่ปลอดเชื้อจะมีแนวโน้มการเจริญที่คงที่ แสดงให้เห็นว่าแบคทีเรียในนมผักกระเฉดมีการเจริญและการอยู่รอดได้ดีที่สุด (รูปที่ 4.8 และ 4.9)

ชุดควบคุมที่ 1 ใช้วัสดุทางการเกษตรปลอดเชื้อ เพื่อตรวจสอบความปลอดเชื้อในวัสดุทางการเกษตร ทำการทดลองโดยนำวัสดุทางการเกษตรปลอดเชื้อ 0.1 กรัม มาทำการปรับค่าความเป็นกรดด่างเป็น 6.5 - 7.0 และปรับความชื้นเป็น 70% ของความจุสูงสุดของการอุ้มน้ำ ผสมให้เข้ากัน บ่มที่อุณหภูมิ 30°ซ เก็บตัวอย่างในวันที่ 0, 1, 3, 7, 10 และ 14 วัน จากนั้นนับจำนวนกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ตามวิธีในข้อ 3.5.2

ผลของชุดควบคุมที่ 1 พบว่า ไม่มีการเจริญของกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 และแบคทีเรียชนิดใดๆตลอด 14 วันของการทดลอง (ไม่ได้แสดงผล)



รูปที่ 4.8 จำนวนแบคทีเรียทั้งหมดในวัสดุทางการเกษตรไม่ปลอดเชื้อ



รูปที่ 4.9 จำนวนแบคทีเรียในวัสดุทางการเกษตรไม่ปลอดเชื้อที่ย่อยสลายไพรีน/ฟีแนนทรีน

4.5 ความสามารถในการย่อยสลายไพรีนและฟีแนนทรีนของกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่เตรียมในวัสดุทางการเกษตร

4.5.1 การย่อยสลายไพรีนและฟีแนนทรีนของกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่เลี้ยงในวัสดุทางการเกษตรปลอดเชื้อในอาหารเหลว CFMM

ชุดการทดลองที่ 1 ใช้วัสดุทางการเกษตรปลอดเชื้อผสมกับกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ในอาหารเหลว CFMM เพื่อศึกษาผลของวัสดุทางการเกษตรต่อความสามารถของกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ในการย่อยสลายไพรีนและฟีแนนทรีน ทำการทดลองโดยนำกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 มาเลี้ยงในวัสดุทางการเกษตรปลอดเชื้อ 0.1 กรัม ปรับค่าความเป็นกรด-ด่างและความชื้น บ่มที่อุณหภูมิ 30°ซ เป็นเวลา 3 วัน ซึ่งเป็นวันที่กลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 มีจำนวนมากที่สุด และมีจำนวนประมาณ 10^{10} CFU จากนั้นใส่อาหารเหลว CFMM ปริมาตร 5 มล. ที่มีไพรีนและฟีแนนทรีนความเข้มข้นสุดท้ายชนิดละ 0.05 มก./มล. เขย่าและเก็บตัวอย่างวันที่ 0, 3, 7, 14, 21, 28 และ 35 นับจำนวนกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ตามวิธีในข้อ 3.5.2 และวิเคราะห์ปริมาณไพรีนและฟีแนนทรีนที่เหลืออยู่ในวัสดุทางการเกษตร ตามวิธีข้อ 3.6.2

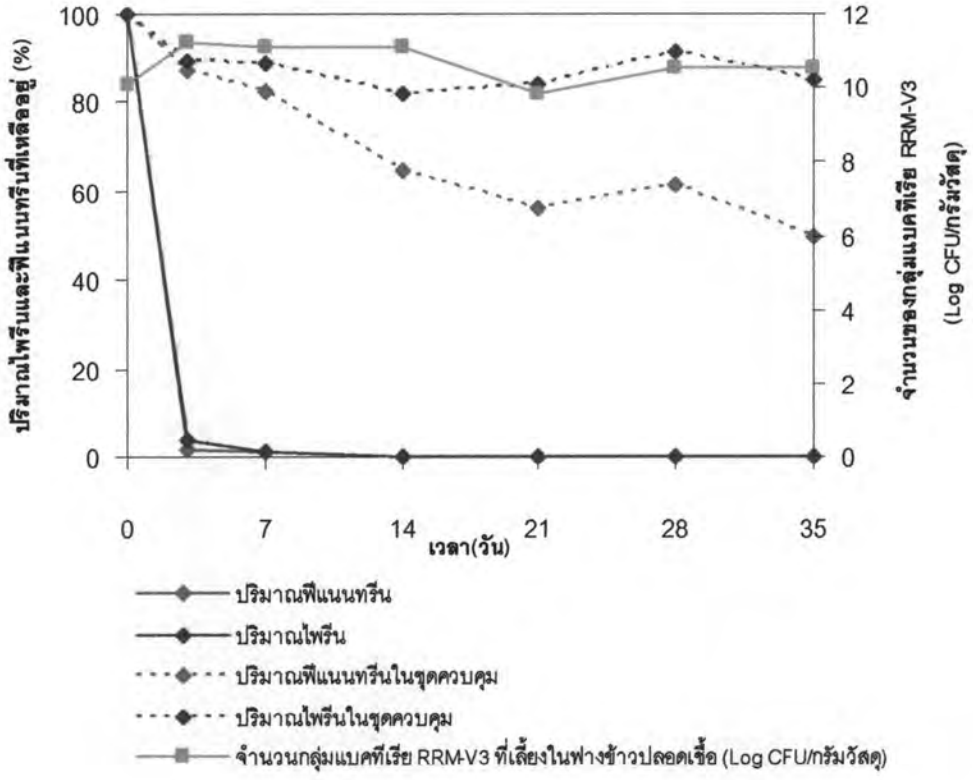
จากชุดการทดลองที่ 1 พบว่า วันที่ 0 ของการทดลอง จำนวนแบคทีเรียทั้งหมดของกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่เลี้ยงในฟางข้าวปลอดเชื้อ มีค่าเริ่มต้นเท่ากับ 10.1 log CFU ต่อกรัมวัสดุ

เก็บตัวอย่างเป็นเวลา 35 วัน พบว่าในช่วงวันที่ 3 ถึงวันที่ 14 ของการทดลอง กลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่เลี้ยงในฟางข้าวปลอดเชื้อจะมีจำนวนเพิ่มขึ้นมากที่สุดในวันที่ 3 ของการทดลอง โดยในวันที่ 3 ของการทดลอง จำนวนแบคทีเรียทั้งหมดของกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่เลี้ยงในฟางข้าวปลอดเชื้อ จะมีจำนวนเท่ากับ 11.2 log CFU ต่อกรัมวัสดุ หลังจากนั้นกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 จะมีแนวโน้มของการเจริญที่ลดลงเล็กน้อยและคงที่

ผลวิเคราะห์ปริมาณไพรีนและฟีแนนทรีนที่เหลืออยู่โดยคิดเป็นเปอร์เซ็นต์ เปรียบเทียบกับวันที่ 0 ซึ่งคิดเป็นปริมาณเริ่มต้นที่ 100 เปอร์เซ็นต์ พบว่า ตั้งแต่วันที่ 0-3 ของการทดลอง ปริมาณไพรีนและฟีแนนทรีนลดลงอย่างรวดเร็วจนเหลือ 3.8 และ 1.4 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และหมดในวันที่ 14 ของการทดลอง

เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม ซึ่งใช้วัสดุทางการเกษตรปลอดเชื้อในอาหารเหลว CFMM เพื่อตรวจสอบการสลายของสารประกอบ PAHs เมื่อปราศจากปัจจัยทางชีวภาพจากวัสดุทางการเกษตร ทำการทดลองโดยนำวัสดุทางการเกษตรปลอดเชื้อ 0.1 กรัม ใส่อาหารเหลว CFMM ปริมาตร 5 มล. ที่มีไพรีนและฟีแนนทรีนความเข้มข้นสุดท้ายชนิดละ 0.05 มก./มล. เขย่าและเก็บตัวอย่างวันที่ 0, 3, 7, 14, 21, 28 และ 35 นับจำนวนกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ตามวิธีในข้อ 3.5.2 และวิเคราะห์ปริมาณไพรีนและฟีแนนทรีนที่เหลืออยู่ในวัสดุทางการเกษตร ตามวิธีข้อ 3.6.2

จากชุดควบคุม พบว่า ไม่มีการเจริญของกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 และแบคทีเรียชนิดใดๆ ตลอด 35 วันของการทดลอง (ผลไม่ได้แสดง) และผลวิเคราะห์ปริมาณไพรีนและฟีแนนทรีนที่เหลืออยู่ พบว่าในฟางข้าวปลอดเชื้อ ปริมาณไพรีนและฟีแนนทรีนลดลงจนมีค่าเท่ากับ 84.8 และ 49.6 เปอร์เซ็นต์ ภายใน 35 วัน (รูปที่ 4.10)

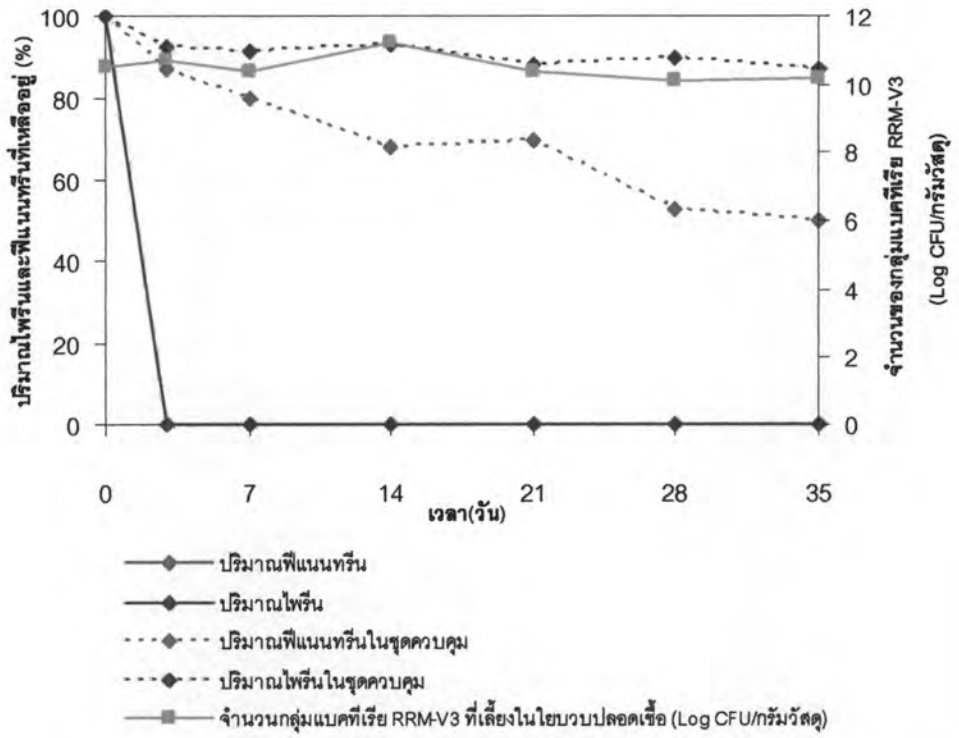


รูปที่ 4.10 การย่อยสลายไพรีนและฟีแนนทรีนในอาหารเหลว CFMM โดยกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่เตรียมในฟางข้าวปลอดเชื้อ

เมื่อเลี้ยงกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ในใยบวบปลอดเชื้อ พบว่า วันที่ 0 ของการทดลอง จำนวนแบคทีเรียทั้งหมดของกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่เลี้ยงในใยบวบปลอดเชื้อ มีค่าเริ่มต้นเท่ากับ 10.5 log CFU ต่อกรัมวัสดุ เก็บตัวอย่างเป็นเวลา 35 วัน พบว่าในช่วงวันที่ 3 ถึงวันที่ 14 ของการทดลอง กลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่เลี้ยงในใยบวบปลอดเชื้อจะมีจำนวนเพิ่มขึ้นมากที่สุดในวันที่ 3 ของการทดลอง โดยในวันที่ 3 ของการทดลอง จำนวนแบคทีเรียทั้งหมดของกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่เลี้ยงในใยบวบปลอดเชื้อ จะมีจำนวนเท่ากับ 11.3 log CFU ต่อกรัมวัสดุ หลังจากนั้นกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 จะมีแนวโน้มของการเจริญที่ลดลงเล็กน้อยและคงที่

ผลวิเคราะห์ปริมาณไพรีนและฟีแนนทรีนที่เหลืออยู่โดยคิดเป็นเปอร์เซ็นต์ เปรียบเทียบกับวันที่ 0 ซึ่งคิดเป็นปริมาณเริ่มต้นที่ 100 เปอร์เซ็นต์ พบว่า ตั้งแต่วันที่ 0-3 ของการทดลอง ปริมาณไพรีนและฟีแนนทรีนลดลงอย่างรวดเร็วและหมดภายใน 3 วัน

เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม พบว่า ไม่มีการเจริญของกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 และแบคทีเรียชนิดใดๆตลอด 35 วันของการทดลอง (ผลไม่ได้แสดง) และผลวิเคราะห์ปริมาณไพรีนและฟีแนนทรีนที่เหลืออยู่ พบว่าในใยบวบปลอดเชื้อ ปริมาณไพรีนและฟีแนนทรีนลดลงจนมีค่าเท่ากับ 86.9 และ 49.9 เปอร์เซ็นต์ ภายใน 35 วัน (รูปที่ 4.11)



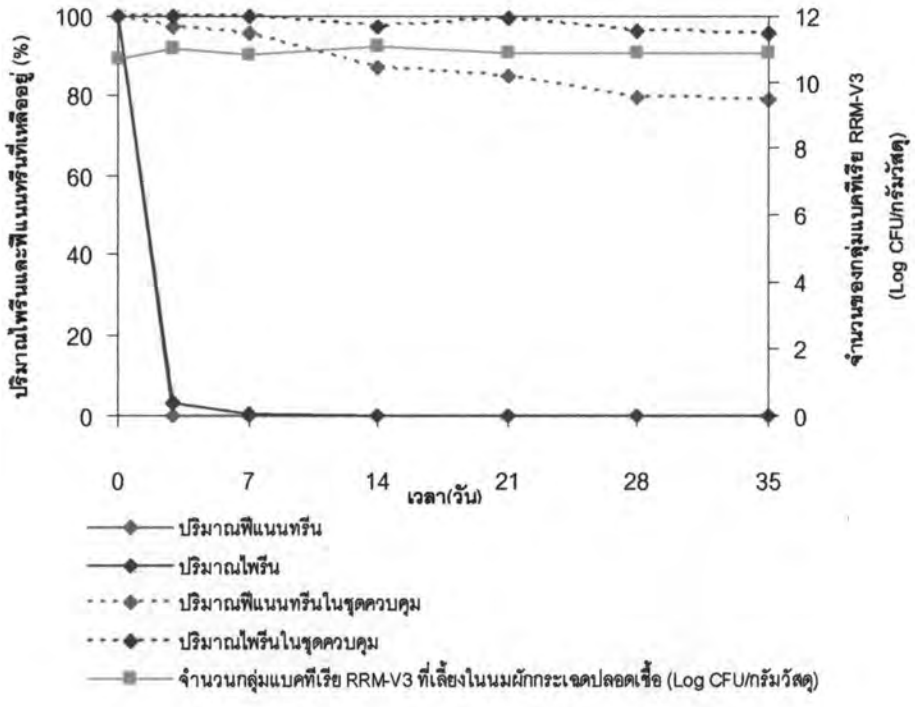
รูปที่ 4.11 การย่อยสลายไพรีนและฟีแนนทรีนในอาหารเหลว CFMM โดยกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่เตรียมในใยบวบปลอดเชื้อ

เมื่อเลี้ยงกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ในนมผักกระเฉดปลอดเชื้อ พบว่า วันที่ 0 ของการทดลอง จำนวนแบคทีเรียทั้งหมดของกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่เลี้ยงในนมผักกระเฉดปลอดเชื้อ มีค่าเริ่มต้นเท่ากับ 10.7 log CFU ต่อกรัมวัสดุ เก็บตัวอย่างเป็นเวลา 35 วัน พบว่าในช่วงวันที่ 3 ถึงวันที่ 14 ของการทดลอง กลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่เลี้ยงในนมผักกระเฉดปลอดเชื้อจะมีจำนวนเพิ่มขึ้นมากที่สุดในวันที่ 3 ของการทดลอง โดยในวันที่ 3 ของการทดลอง จำนวนแบคทีเรียทั้งหมดของกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่เลี้ยงในนมผักกระเฉดปลอดเชื้อ จะมีจำนวนเท่ากับ 11.1 log CFU ต่อกรัมวัสดุ หลังจากนั้นกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 จะมีแนวโน้มของการเจริญที่ลดลงเล็กน้อยและคงที่

ผลวิเคราะห์ปริมาณไพรีนและฟีแนนทรีนที่เหลืออยู่โดยคิดเป็นเปอร์เซ็นต์ เปรียบเทียบกับวันที่ 0 ซึ่งคิดเป็นปริมาณเริ่มต้นที่ 100 เปอร์เซ็นต์ พบว่า ตั้งแต่วันที่ 0-3 ของการทดลอง ปริมาณไพรีนและฟีแนนทรีนลดลงอย่างรวดเร็วจนเหลือ 3.2 และ 0 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และไพรีนจะหมดในวันที่ 14

เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม พบว่า ไม่มีการเจริญของกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 และแบคทีเรียชนิดใดๆตลอด 35 วันของการทดลอง (ผลไม่ได้แสดง) และผลวิเคราะห์ปริมาณไพรีน

และฟีแนนทรีนที่เหลืออยู่ พบว่าในนมผักกระเฉดปลอดเชื้อ ปริมาณไพรีนและฟีแนนทรีนลดลงจนมีค่าเท่ากับ 95.5 และ 79.0 เปอร์เซ็นต์ ภายใน 35 วัน (รูปที่ 4.12)



รูปที่ 4.12 การย่อยสลายไพรีนและฟีแนนทรีนในอาหารเหลว CFMM โดยกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่เตรียมในนมผักกระเฉดปลอดเชื้อ

จะเห็นได้ว่าผลของการเจริญและการย่อยสลายไพรีนและฟีแนนทรีนของกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่เลี้ยงในวัสดุทางการเกษตรปลอดเชื้อทั้ง 3 ชนิด มีความสอดคล้องกันนั่นคือ ในช่วงวันที่ 0 ถึงวันที่ 3 กลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 มีจำนวนเพิ่มขึ้นทำให้ปริมาณไพรีนและฟีแนนทรีนลดลงอย่างรวดเร็วและหมดภายใน 14 วัน แสดงให้เห็นว่ากลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่เลี้ยงในวัสดุทางการเกษตรปลอดเชื้อทั้ง 3 ชนิด มีการย่อยสลายไพรีนและฟีแนนทรีนเป็นแหล่งคาร์บอนและใช้สารอาหารในวัสดุทางการเกษตรนั้นๆเพื่อการเจริญและอยู่รอด

4.5.2 การย่อยสลายไพรีนและฟีแนนทรีนของกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่เลี้ยงในวัสดุทางการเกษตรไม่ปลอดเชื้อในอาหารเหลว CFMM

ชุดการทดลองที่ 2 ใช้วัสดุทางการเกษตรไม่ปลอดเชื้อผสมกับกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ในอาหารเหลว CFMM เพื่อศึกษาผลของวัสดุทางการเกษตรต่อความสามารถของกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ในการย่อยสลายไพรีนและฟีแนนทรีน และผลของแบคทีเรียในวัสดุทางการเกษตรต่อ

ความสามารถในการย่อยสลายของกลุ่มแบคทีเรียนี้ ทำการทดลองโดยนำกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 มาเลี้ยงในวัสดุทางการเกษตรไม่ปลอดเชื้อ 0.1 กรัม ปรับค่าความเป็นกรด-ด่างและความชื้น บ่มที่อุณหภูมิ 30°ซ เป็นเวลา 3 วัน ซึ่งเป็นวันที่กลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 มีจำนวนมากที่สุด และมีจำนวนประมาณ 10^{10} CFU จากนั้นใส่อาหารเหลว CFMM ปริมาตร 5 มล. ที่มีไพรีนและฟีแนนทรีนความเข้มข้นสุดท้ายชนิดละ 0.05 มก./มล. เขย่าและเก็บตัวอย่างวันที่ 0, 3, 7, 14, 21, 28 และ 35 นับจำนวนแบคทีเรียที่มีอยู่ในวัสดุทางการเกษตรและกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ตามวิธีในข้อ 3.5.2 และวิเคราะห์ปริมาณไพรีนและฟีแนนทรีนที่เหลืออยู่ในวัสดุทางการเกษตร ตามวิธีข้อ 3.6.2

จากชุดการทดลองที่ 2 พบว่า วันที่ 0 ของการทดลอง จำนวนแบคทีเรียทั้งหมดในฟางข้าวไม่ปลอดเชื้อและกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่เติมลงไปทั้งหมด มีค่าเริ่มต้นเท่ากับ 10.3 log CFU ต่อกรัมวัสดุ และจำนวนแบคทีเรียในฟางข้าวและกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่ย่อยสลายไพรีน/ฟีแนนทรีน มีค่าเริ่มต้นเท่ากับ 9.7 log CFU ต่อกรัมวัสดุ เก็บตัวอย่างเป็นเวลา 35 วัน พบว่าในวันที่ 0 ถึงวันที่ 3 ของการทดลอง จำนวนแบคทีเรียในฟางข้าวไม่ปลอดเชื้อและกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่เติมลงไปจะมีจำนวนเพิ่มขึ้นมากที่สุดในวันที่ 3 ของการทดลอง โดยในวันที่ 3 ของการทดลอง จำนวนแบคทีเรียทั้งหมดในฟางข้าวไม่ปลอดเชื้อและกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่เติมลงไปทั้งหมด จะมีจำนวนเท่ากับ 10.5 log CFU ต่อกรัมวัสดุ และจำนวนแบคทีเรียในฟางข้าวและกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่ย่อยสลายไพรีน/ฟีแนนทรีนจะมีจำนวนเท่ากับ 9.8 log CFU ต่อกรัมวัสดุ หลังจากนั้นจะมีแนวโน้มของการเจริญที่ลดลงเล็กน้อย

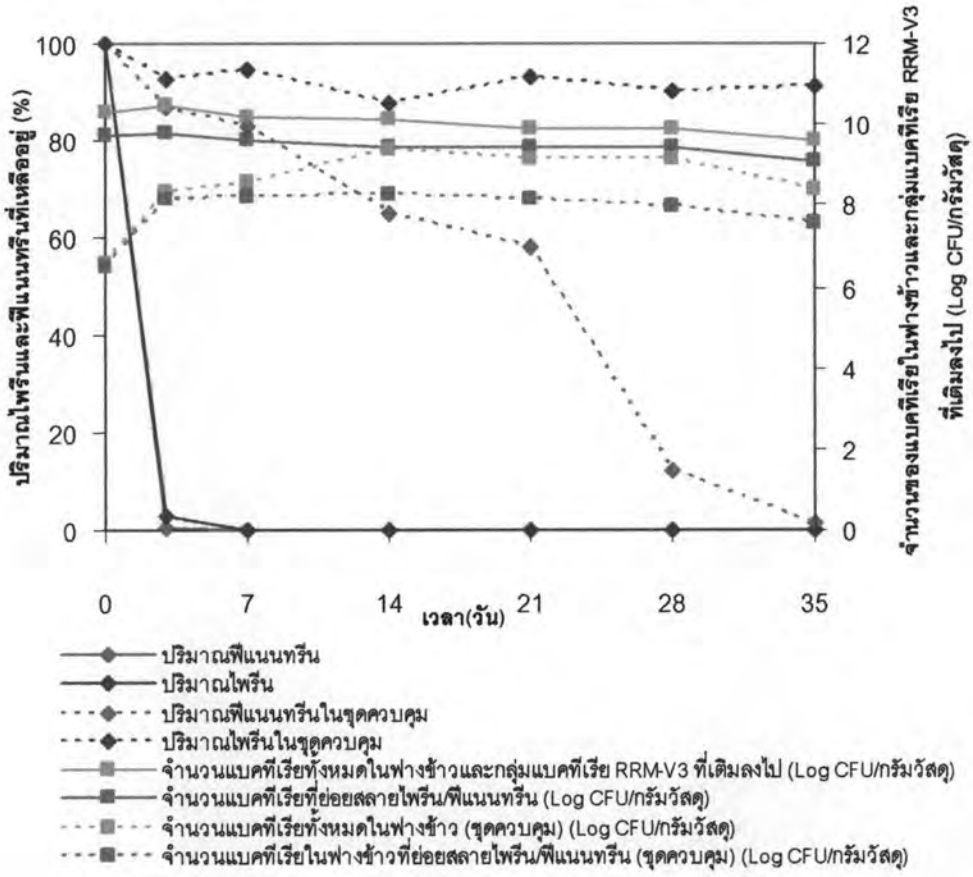
ผลวิเคราะห์ปริมาณไพรีนและฟีแนนทรีนที่เหลืออยู่โดยคิดเป็นเปอร์เซ็นต์ เปรียบเทียบกับวันที่ 0 ซึ่งคิดเป็นปริมาณเริ่มต้นที่ 100 เปอร์เซ็นต์ พบว่า ตั้งแต่วันที่ 0-3 ของการทดลอง ปริมาณไพรีนและฟีแนนทรีนในฟางข้าวลดลงอย่างรวดเร็วจนเหลือ 2.9 และ 0.7 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม ซึ่งใช้วัสดุทางการเกษตรไม่ปลอดเชื้อในอาหารเหลว CFMM เพื่อศึกษาผลของวัสดุทางการเกษตรต่อความสามารถของแบคทีเรียในวัสดุทางการเกษตรในการย่อยสลายไพรีนและฟีแนนทรีน ทำการทดลองโดยนำวัสดุทางการเกษตรไม่ปลอดเชื้อ 0.1 กรัม ใส่อาหารเหลว CFMM ปริมาตร 5 มล. ที่มีไพรีนและฟีแนนทรีนความเข้มข้นสุดท้ายชนิดละ 0.05 มก./มล. เขย่าและเก็บตัวอย่างวันที่ 0, 3, 7, 14, 21, 28 และ 35 นับจำนวนแบคทีเรียตามวิธีในข้อ 3.5.2 และวิเคราะห์ปริมาณไพรีนและฟีแนนทรีนที่เหลืออยู่ในวัสดุทางการเกษตรตามวิธีข้อ 3.6.2

จากชุดควบคุม พบว่า วันที่ 0 ของการทดลอง จำนวนแบคทีเรียทั้งหมดในฟางข้าวไม่ปลอดเชื้อ มีค่าเริ่มต้นเท่ากับ 6.5 log CFU ต่อกรัมวัสดุ และจำนวนแบคทีเรียในฟางข้าวที่ย่อย

สลายไพรีน/ฟีแนนทรีน มีค่าเริ่มต้นเท่ากับ 6.5 log CFU ต่อกรัมวัสดุ เก็บตัวอย่างเป็นเวลา 35 วัน พบว่าในช่วงวันที่ 0 ถึงวันที่ 14 ของการทดลอง แบคทีเรียในฟางข้าวจะมีจำนวนเพิ่มขึ้นมากที่สุดในวันที่ 14 ของการทดลอง และมีจำนวนเท่ากับ 9.4 log CFU ต่อกรัมวัสดุ และจำนวนแบคทีเรียในฟางข้าวที่ย่อยสลายไพรีน/ฟีแนนทรีนจะมีจำนวนเท่ากับ 8.2 log CFU ต่อกรัมวัสดุ หลังจากนั้นจะมีแนวโน้มของการเจริญที่ลดลงเล็กน้อย

ผลวิเคราะห์ปริมาณไพรีนและฟีแนนทรีนที่เหลืออยู่โดยคิดเป็นเปอร์เซ็นต์ เปรียบเทียบกับวันที่ 0 ซึ่งคิดเป็นปริมาณเริ่มต้นที่ 100 เปอร์เซ็นต์ พบว่า ปริมาณไพรีนในฟางข้าวลดลงเล็กน้อยและคงที่อยู่ที่ 91.4 เปอร์เซ็นต์ และปริมาณฟีแนนทรีนลดลงอย่างเรื่อยๆ โดยจะลดลงอย่างมากในช่วงวันที่ 21 ถึง 28 จนเหลือ 1.7 เปอร์เซ็นต์ในวันที่ 35 (รูปที่ 4.13)



รูปที่ 4.13 การย่อยสลายไพรีนและฟีแนนทรีนในอาหารเหลว CFMM โดยแบคทีเรียในฟางข้าวและกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่เติมลงในฟางข้าวไม่ปลอดเชื้อ

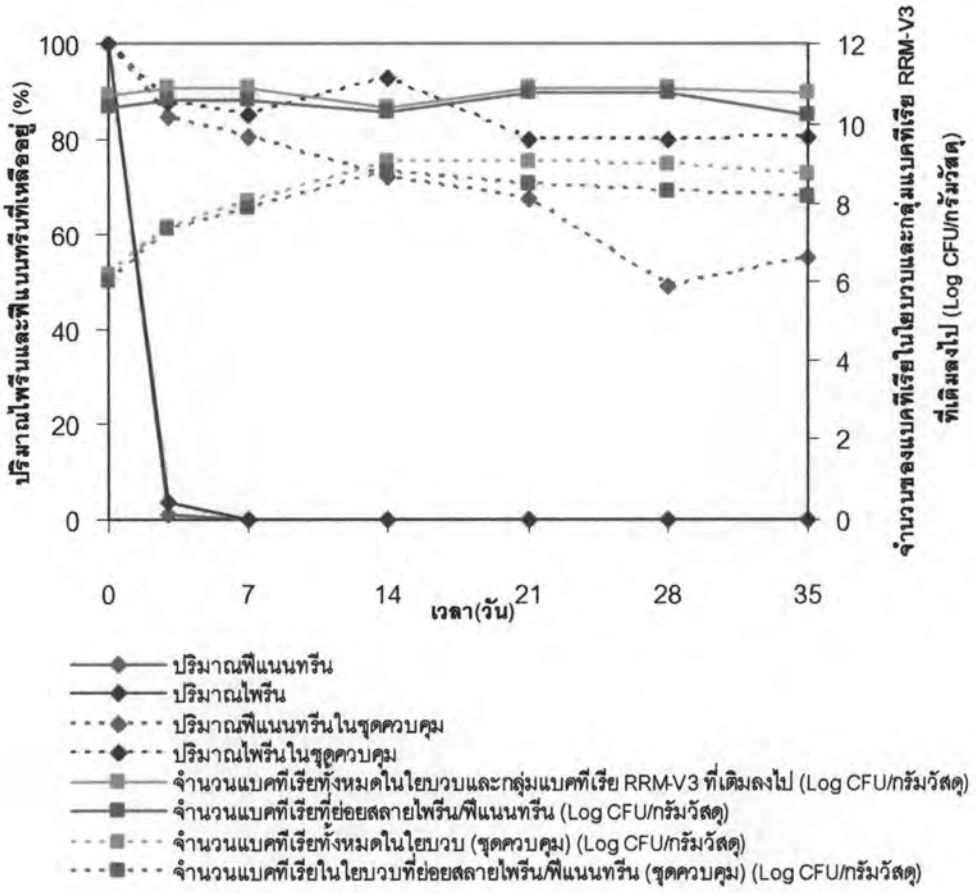
เมื่อเติมกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ลงไปในใยบวบไม่ปลอดเชื้อ พบว่า วันที่ 0 ของการทดลอง จำนวนแบคทีเรียทั้งหมดในใยบวบไม่ปลอดเชื้อและกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่เติมลงไปทั้งหมด มีค่าเริ่มต้นเท่ากับ 10.7 log CFU ต่อกรัมวัสดุ และจำนวนแบคทีเรียในใยบวบและกลุ่ม

แบคทีเรีย RRM-V3 ที่ย่อยสลายไพรีน/ฟีแนนทรีน มีค่าเริ่มต้นเท่ากับ 10.4 log CFU ต่อกรัมวัสดุ เก็บตัวอย่างเป็นเวลา 35 วัน พบว่าจำนวนแบคทีเรียในใยบวบไม่ปลอดเชื้อและกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่เติมลงไปจะมีจำนวนเพิ่มขึ้นมากที่สุดในวันที่ 7 ของการทดลอง มีจำนวนเท่ากับ 10.9 log CFU ต่อกรัมวัสดุ และจำนวนแบคทีเรียในใยบวบและกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่ย่อยสลายไพรีน/ฟีแนนทรีนจะมีจำนวนเท่ากับ 10.6 log CFU ต่อกรัมวัสดุ หลังจากนั้นจะมีแนวโน้มคงที่

ผลวิเคราะห์ปริมาณไพรีนและฟีแนนทรีนที่เหลืออยู่โดยคิดเป็นเปอร์เซ็นต์ เปรียบเทียบกับวันที่ 0 ซึ่งคิดเป็นปริมาณเริ่มต้นที่ 100 เปอร์เซ็นต์ พบว่า ตั้งแต่วันที่ 0-3 ของการทดลอง ปริมาณไพรีนและฟีแนนทรีนในใยบวบลดลงอย่างรวดเร็วจนเหลือ 3.7 และ 1.0 เปอร์เซ็นต์ และหมดในวันที่ 7 ของการทดลอง

เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม พบว่า วันที่ 0 ของการทดลอง จำนวนแบคทีเรียทั้งหมดในใยบวบไม่ปลอดเชื้อ มีค่าเริ่มต้นเท่ากับ 6.2 log CFU ต่อกรัมวัสดุ และจำนวนแบคทีเรียในใยบวบที่ย่อยสลายไพรีน/ฟีแนนทรีน มีค่าเริ่มต้นเท่ากับ 6.0 log CFU ต่อกรัมวัสดุ เก็บตัวอย่างเป็นเวลา 35 วัน พบว่าในช่วงวันที่ 0 ถึงวันที่ 14 ของการทดลอง แบคทีเรียในใยบวบจะมีจำนวนเพิ่มขึ้นมากที่สุดในวันที่ 14 ของการทดลอง และมีจำนวนเท่ากับ 9.1 log CFU ต่อกรัมวัสดุ และจำนวนแบคทีเรียในใยบวบที่ย่อยสลายไพรีน/ฟีแนนทรีนจะมีจำนวนเท่ากับ 8.8 log CFU ต่อกรัมวัสดุ หลังจากนั้นจะมีแนวโน้มของการเจริญที่ลดลงเล็กน้อย

ผลวิเคราะห์ปริมาณไพรีนและฟีแนนทรีนที่เหลืออยู่โดยคิดเป็นเปอร์เซ็นต์ เปรียบเทียบกับวันที่ 0 ซึ่งคิดเป็นปริมาณเริ่มต้นที่ 100 เปอร์เซ็นต์ พบว่า ปริมาณไพรีนในใยบวบลดลงเล็กน้อยและคงที่อยู่ที่ประมาณ 80 เปอร์เซ็นต์ และปริมาณฟีแนนทรีนลดลงอย่างเรื่อยๆ โดยจะลดลงอย่างมากในช่วงวันที่ 21 ถึง 28 จนเหลือ 55.0 เปอร์เซ็นต์ในวันที่ 35 (รูปที่ 4.14)



รูปที่ 4.14 การย่อยสลายไพรีนและฟีแนนทรีนในอาหารเหลว CFMM โดยแบคทีเรียในใยบวบและกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่เติมลงในใยบวบไม่ปลอดเชื้อ

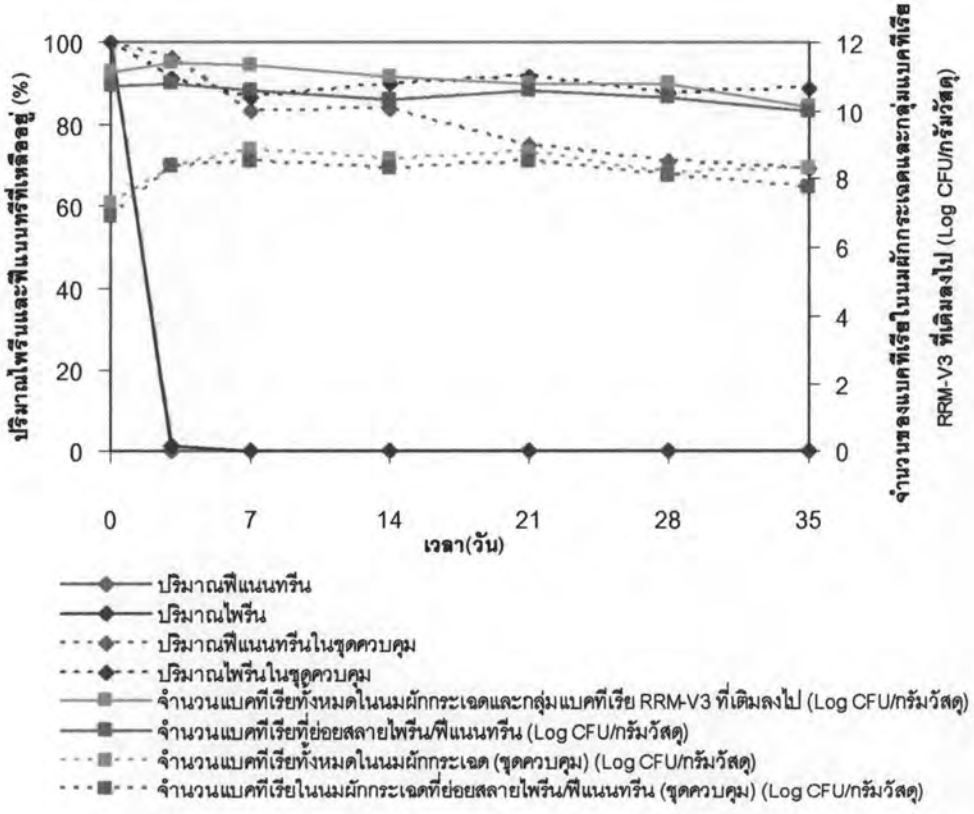
เมื่อเติมกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ลงไปในนมผักกระเฉดไม่ปลอดเชื้อ พบว่า วันที่ 0 ของการทดลอง จำนวนแบคทีเรียทั้งหมดในนมผักกระเฉดไม่ปลอดเชื้อและกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่เติมลงไปทั้งหมด มีค่าเริ่มต้นเท่ากับ 11.1 log CFU ต่อกรัมวัสดุ และจำนวนแบคทีเรียในนมผักกระเฉดและกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่ย่อยสลายไพรีน/ฟีแนนทรีน มีค่าเริ่มต้นเท่ากับ 10.7 log CFU ต่อกรัมวัสดุ เก็บตัวอย่างเป็นเวลา 35 วัน พบว่าในวันที่ 0 ถึงวันที่ 3 ของการทดลอง จำนวนแบคทีเรียในนมผักกระเฉดไม่ปลอดเชื้อและกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่เติมลงไปจะมีจำนวนเพิ่มขึ้นมากที่สุดในวันที่ 3 ของการทดลอง มีจำนวนเท่ากับ 11.4 log CFU ต่อกรัมวัสดุ และจำนวนแบคทีเรียในนมผักกระเฉดและกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่ย่อยสลายไพรีน/ฟีแนนทรีนจะมีจำนวนเท่ากับ 10.8 log CFU ต่อกรัมวัสดุ หลังจากนั้นจะมีแนวโน้มคงที่

ผลวิเคราะห์ปริมาณไพรีนและฟีแนนทรีนที่เหลืออยู่โดยคิดเป็นเปอร์เซ็นต์ เปรียบเทียบกับวันที่ 0 ซึ่งคิดเป็นปริมาณเริ่มต้นที่ 100 เปอร์เซ็นต์ พบว่า ตั้งแต่วันที่ 0-3 ของการทดลอง

ปริมาณไพรีนและฟีแนนทรีนในนมผักกระเฉดลดลงอย่างรวดเร็วจนมีค่าเท่ากับ 0.9 และ 0 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และไพรีนจะหมดในวันที่ 7

เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม พบว่า วันที่ 0 ของการทดลอง จำนวนแบคทีเรียทั้งหมดในนมผักกระเฉดไม่ปลอดเชื้อ มีค่าเริ่มต้นเท่ากับ 7.3 log CFU ต่อกรัมวัสดุ และจำนวนแบคทีเรียในนมผักกระเฉดที่ย่อยสลายไพรีน/ฟีแนนทรีน มีค่าเริ่มต้นเท่ากับ 6.9 log CFU ต่อกรัมวัสดุ เก็บตัวอย่างเป็นเวลา 35 วัน พบว่าในช่วงวันที่ 0 ถึงวันที่ 14 ของการทดลอง แบคทีเรียในนมผักกระเฉดจะมีจำนวนเพิ่มขึ้นมากที่สุดในวันที่ 7 ของการทดลอง จะมีจำนวนเท่ากับ 8.8 log CFU ต่อกรัมวัสดุ และจำนวนแบคทีเรียในนมผักกระเฉดที่ย่อยสลายไพรีน/ฟีแนนทรีนจะมีจำนวนเท่ากับ 8.5 log CFU ต่อกรัมวัสดุ หลังจากนั้นจะมีแนวโน้มของการเจริญที่ลดลงเล็กน้อย

ผลวิเคราะห์ปริมาณไพรีนและฟีแนนทรีนที่เหลืออยู่โดยคิดเป็นเปอร์เซ็นต์ เปรียบเทียบกับวันที่ 0 ซึ่งคิดเป็นปริมาณเริ่มต้นที่ 100 เปอร์เซ็นต์ พบว่า ปริมาณไพรีนในนมผักกระเฉดลดลงเล็กน้อยและคงที่อยู่ที่ 88.8 เปอร์เซ็นต์ และปริมาณฟีแนนทรีนลดลงอย่างช้าๆจนเหลือ 68.9 เปอร์เซ็นต์ในวันที่ 35 (รูปที่ 4.15)



รูปที่ 4.15 การย่อยสลายไพรีนและฟีแนนทรีนในอาหารเหลว CFMM โดยแบคทีเรียในนมผักกระเฉดและกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่เติมลงในนมผักกระเฉดไม่ปลอดเชื้อ

จะเห็นได้ว่าผลของการเจริญและการย่อยสลายไพรีนและฟีแนนทรีนของแบคทีเรียในวัสดุทางการเกษตรและกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่เติมลงในวัสดุทางการเกษตรไม่ปลอดเชื้อทั้ง 3 ชนิด มีความสอดคล้องกันนั่นคือ ในช่วง วันที่ 0 ถึงวันที่ 7 แบคทีเรียมีจำนวนเพิ่มขึ้นในขณะที่ปริมาณไพรีนและฟีแนนทรีนลดลงอย่างรวดเร็วจนหมดภายใน 7 วัน แสดงให้เห็นว่าแบคทีเรียในวัสดุทางการเกษตรและกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่เติมลงในวัสดุทางการเกษตรไม่ปลอดเชื้อทั้ง 3 ชนิด สามารถย่อยสลายไพรีนและฟีแนนทรีนเป็นแหล่งคาร์บอนและใช้สารอาหารในวัสดุทางการเกษตรนั้นๆเพื่อการเจริญและอยู่รอด ส่วนผลของการเจริญและการย่อยสลายไพรีนในชุดควบคุม ไม่มีความสอดคล้องกัน ดังจะเห็นได้จากปริมาณไพรีนที่ลดลงเล็กน้อยหรือแทบไม่ลดเลย เมื่อแบคทีเรียในวัสดุทางการเกษตรมีการเจริญเพิ่มขึ้น แต่จะมีความสอดคล้องกับปริมาณฟีแนนทรีนที่ลดลง และเมื่อเทียบปริมาณไพรีนและฟีแนนทรีนของวัสดุทางการเกษตรทั้ง 3 ชนิด พบว่า แบคทีเรียในฟางข้าวน่าจะมีการย่อยสลายฟีแนนทรีนเป็นแหล่งคาร์บอนได้ดีที่สุด

4.6 ความสามารถในการย่อยสลายไพรีนและฟีแนนทรีนที่ความเข้มข้นรวม 1.0 มก./มล. ของกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่เตรียมในวัสดุทางการเกษตร

เนื่องจากผลของการทดลองที่ผ่านมา กลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่เลี้ยงในวัสดุทางการเกษตรทั้ง 3 ชนิด สามารถย่อยสลายไพรีนและฟีแนนทรีนที่ความเข้มข้นสุดท้ายชนิดละ 0.05 มก./มล. ได้หมดอย่างรวดเร็วภายใน 3 วัน จึงได้ศึกษาโดยเพิ่มความเข้มข้นเป็น 10 เท่า กล่าวคือ ไพรีนและฟีแนนทรีนที่ความเข้มข้นรวม 1.0 มก./มล.

4.6.1 การย่อยสลายไพรีนและฟีแนนทรีนของกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่เลี้ยงในวัสดุทางการเกษตรปลอดเชื้อในอาหารเหลว CFMM

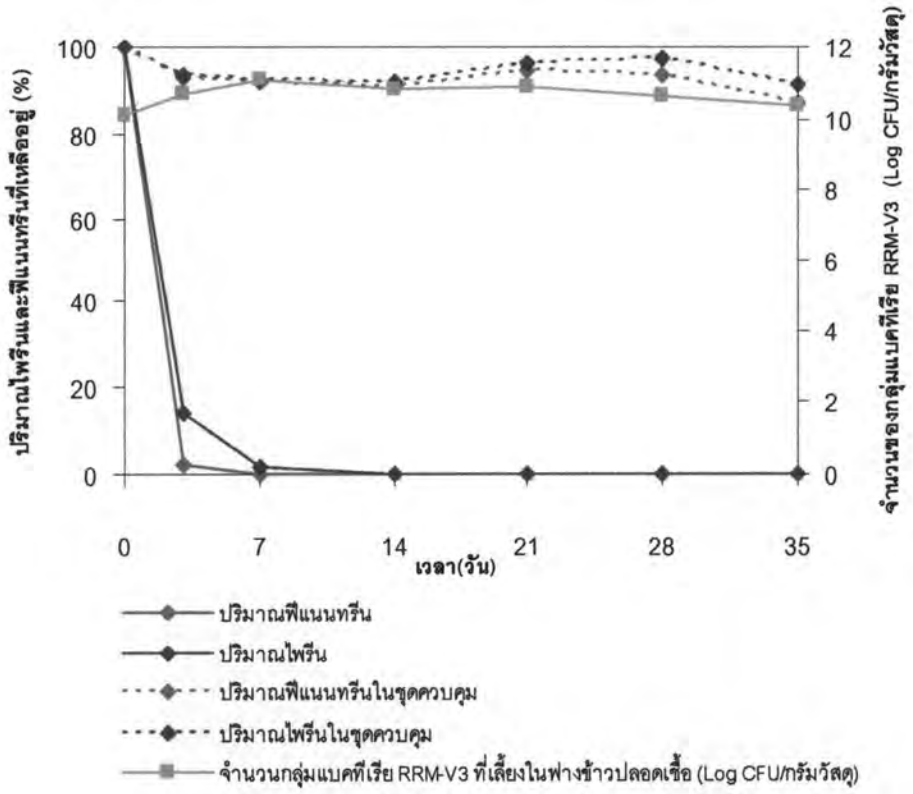
ชุดการทดลองที่ 1 ใช้วัสดุทางการเกษตรปลอดเชื้อผสมกับกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ในอาหารเหลว CFMM เพื่อศึกษาผลของวัสดุทางการเกษตรต่อความสามารถของกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ในการย่อยสลายไพรีนและฟีแนนทรีน ทำการทดลองโดยนำกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 มาเลี้ยงในวัสดุทางการเกษตรปลอดเชื้อ 0.1 กรัม ปรับค่าความเป็นกรด-ด่างและความชื้น บ่มที่อุณหภูมิ 30°ซ เป็นเวลา 3 วัน ซึ่งเป็นวันที่กลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 มีจำนวนมากที่สุด และมีจำนวนประมาณ 10^{10} CFU จากนั้นใส่อาหารเหลว CFMM ปริมาตร 5 มล. ที่มีไพรีนและฟีแนนทรีนความเข้มข้นสุดท้ายชนิดละ 0.5 มก./มล. เขย่าและเก็บตัวอย่างวันที่ 0, 3, 7, 14, 21, 28 และ 35 นับจำนวนกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ตามวิธีในข้อ 3.5.2 และวิเคราะห์ปริมาณไพรีนและฟีแนนทรีนที่เหลืออยู่ในวัสดุทางการเกษตร ตามวิธีข้อ 3.6.2

จากชุดการทดลองที่ 1 พบว่า วันที่ 0 ของการทดลอง จำนวนแบคทีเรียทั้งหมดของกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่เลี้ยงในฟางข้าวปลอดเชื้อ มีค่าเริ่มต้นเท่ากับ 10.1 log CFU ต่อกรัมวัสดุ เมื่อเก็บตัวอย่างเป็นเวลา 35 วัน พบว่าจำนวนแบคทีเรียทั้งหมดของกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่เลี้ยงในฟางข้าวปลอดเชื้อจะมีจำนวนเพิ่มขึ้นมากที่สุดในวันที่ 7 ของการทดลอง ซึ่งมีจำนวนเท่ากับ 11.1 log CFU ต่อกรัมวัสดุ หลังจากนั้นจะมีแนวโน้มของการเจริญที่ลดลงเล็กน้อย

ผลวิเคราะห์ปริมาณไพรีนและฟีแนนทรีนที่เหลืออยู่โดยคิดเป็นเปอร์เซ็นต์ เปรียบเทียบกับวันที่ 0 ซึ่งคิดเป็นปริมาณเริ่มต้นที่ 100 เปอร์เซ็นต์ พบว่าปริมาณไพรีนและฟีแนนทรีนลดลงอย่างรวดเร็วจนเหลือ 14.3 และ 2.1 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับภายในวันที่ 3 และลดลงเรื่อยๆจนไพรีนหมดในวันที่ 21 ส่วนฟีแนนทรีนหมดในวันที่ 14 ของการทดลอง

เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม ซึ่งใช้วัสดุทางการเกษตรปลอดเชื้อในอาหารเหลว CFMM เพื่อตรวจสอบการสลายของสารประกอบ PAHs เมื่อปราศจากปัจจัยทางชีวภาพจากวัสดุทางการเกษตร ทำการทดลองโดยนำวัสดุทางการเกษตรปลอดเชื้อ 0.1 กรัม ใส่อาหารเหลว CFMM ปริมาตร 5 มล. ที่มีไพรีนและฟีแนนทรีนความเข้มข้นสุดท้ายชนิดละ 0.5 มก./มล. เขย่าและเก็บตัวอย่างวันที่ 0, 3, 7, 14, 21, 28 และ 35 นับจำนวนกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ตามวิธีในข้อ 3.5.2 และวิเคราะห์ปริมาณไพรีนและฟีแนนทรีนที่เหลืออยู่ในวัสดุทางการเกษตร ตามวิธีข้อ 3.6.2

จากชุดควบคุม พบว่า ไม่มีการเจริญของกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 และแบคทีเรียชนิดใดๆ ตลอด 35 วันของการทดลอง (ผลไม่ได้แสดง) และผลวิเคราะห์ปริมาณไพรีนและฟีแนนทรีนที่เหลืออยู่ในฟางข้าวปลอดเชื้อ พบว่าปริมาณไพรีนและฟีแนนทรีนลดลงจนมีค่าเท่ากับ 91.3 และ 86.9 เปอร์เซ็นต์ ภายใน 35 วัน (รูปที่ 4.16)



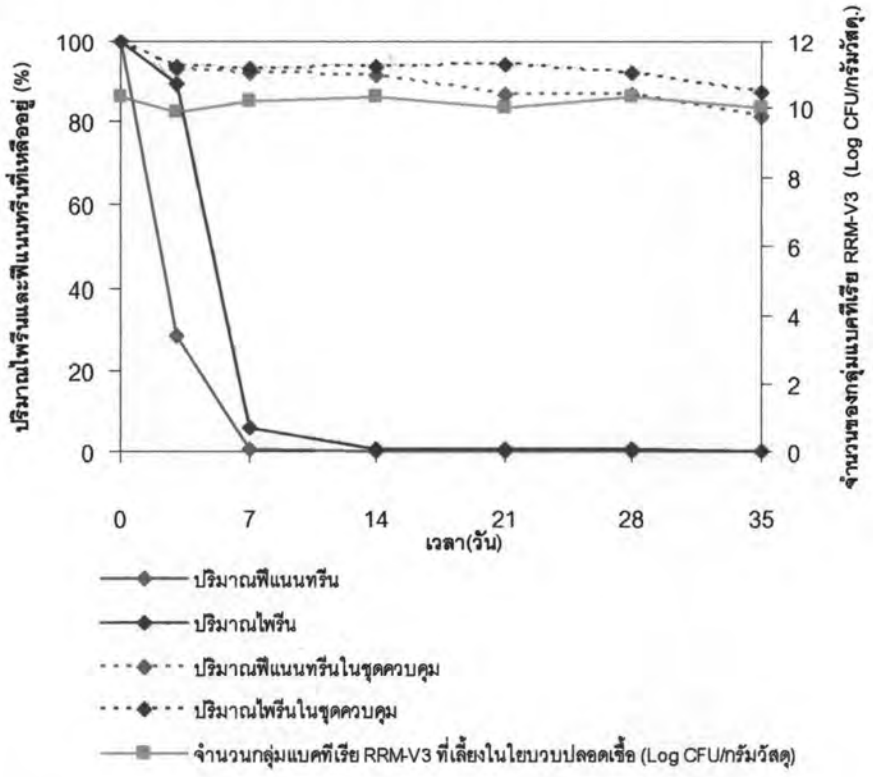
รูปที่ 4.16 การย่อยสลายไพรีนและฟีแนนทรีนในอาหารเหลว CFMM โดยกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่เลี้ยงในฟางข้าวปลอดเชื้อ

เมื่อเลี้ยงกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ในใยบวบปลอดเชื้อ พบว่า วันที่ 0 ของการทดลอง จำนวนแบคทีเรียทั้งหมดของกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่เลี้ยงในใยบวบปลอดเชื้อ มีค่าเริ่มต้นเท่ากับ 10.3 log CFU ต่อกรัมวัสดุ เมื่อเก็บตัวอย่างเป็นเวลา 35 วัน พบว่าในช่วงวันที่ 7 ถึงวันที่ 14 ของการทดลอง จำนวนแบคทีเรียทั้งหมดของกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่เลี้ยงในใยบวบปลอดเชื้อจะมีจำนวนเพิ่มขึ้นมากที่สุดในวันที่ 14 ของการทดลอง ซึ่งมีจำนวนเท่ากับ 10.3 log CFU ต่อกรัมวัสดุ หลังจากนั้นจะมีแนวโน้มของการเจริญที่คงที่

ผลวิเคราะห์ปริมาณไพรีนและฟีแนนทรีนที่เหลืออยู่โดยคิดเป็นเปอร์เซ็นต์ เปรียบเทียบกับวันที่ 0 ซึ่งคิดเป็นปริมาณเริ่มต้นที่ 100 เปอร์เซ็นต์ พบว่าปริมาณไพรีนลดลงอย่างรวดเร็ว โดยลดลงจาก 89.3 เปอร์เซ็นต์ในวันที่ 3 จนมีค่าเท่ากับ 0.4 เปอร์เซ็นต์ ในวันที่ 14 หลังจากนั้นปริมาณไพรีนจะลดลงช้ามากหรือคงที่จนเหลือ 0.1 เปอร์เซ็นต์ในวันที่ 35 ของการทดลอง ส่วนปริมาณฟีแนนทรีนลดลงอย่างรวดเร็วในวันที่ 0 ถึงวันที่ 3 ของการทดลองจนเหลือ 28.3 เปอร์เซ็นต์ และหมดในวันที่ 14 ของการทดลอง

เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม พบว่า ไม่มีการเจริญของกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 และแบคทีเรียชนิดใดๆตลอด 35 วันของการทดลอง (ผลไม่ได้แสดง) และผลวิเคราะห์ปริมาณไพรีน

และฟีแนนทรีนที่เหลืออยู่ในใยบวบปลอดเชื้อ พบว่าปริมาณไพรีนและฟีแนนทรีนลดลงจนมีค่าเท่ากับ 87.1 และ 81.0 เปอร์เซ็นต์ ภายใน 35 วัน (รูปที่ 4.17)

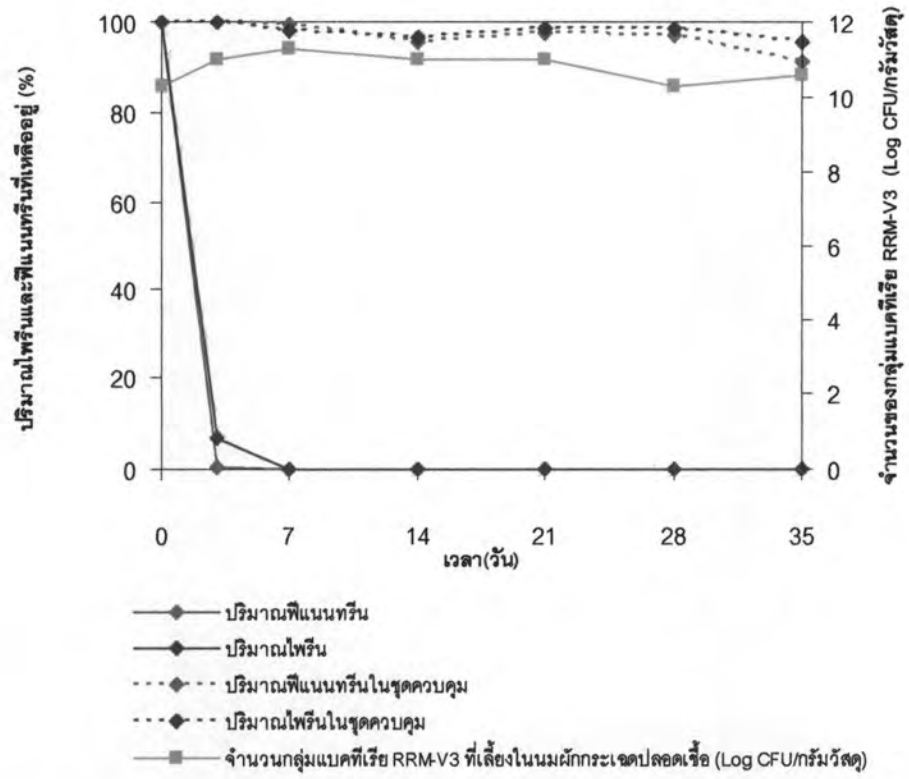


รูปที่ 4.17 การย่อยสลายไพรีนและฟีแนนทรีนในอาหารเหลว CFMM โดยกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่เลี้ยงในใยบวบปลอดเชื้อ

เมื่อเลี้ยงกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ในนมผักกระเฉดปลอดเชื้อ พบว่า วันที่ 0 ของการทดลอง จำนวนแบคทีเรียทั้งหมดของกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่เลี้ยงในนมผักกระเฉดปลอดเชื้อ มีค่าเริ่มต้นเท่ากับ 10.3 log CFU ต่อกรัมวัสดุ เมื่อเก็บตัวอย่างเป็นเวลา 35 วัน พบว่าจำนวนแบคทีเรียทั้งหมดของกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่เลี้ยงในนมผักกระเฉดปลอดเชื้อจะมีจำนวนเพิ่มขึ้นมากที่สุดในวันที่ 7 ของการทดลอง ซึ่งมีจำนวนเท่ากับ 11.3 log CFU ต่อกรัมวัสดุ หลังจากนั้นจะมีแนวโน้มของการเจริญที่ลดลงเล็กน้อย

ผลวิเคราะห์ปริมาณไพรีนและฟีแนนทรีนที่เหลืออยู่โดยคิดเป็นเปอร์เซ็นต์ เปรียบเทียบกับวันที่ 0 ซึ่งคิดเป็นปริมาณเริ่มต้นที่ 100 เปอร์เซ็นต์ พบว่าปริมาณไพรีนและฟีแนนทรีนลดลงอย่างรวดเร็วจนเหลือเพียง 6.9 และ 0.3 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และหมดในวันที่ 7 ของการทดลอง

เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม พบว่า ไม่มีการเจริญของกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 และแบคทีเรียชนิดใดๆตลอด 35 วันของการทดลอง (ผลไม่ได้แสดง) และผลวิเคราะห์ปริมาณไพรีนและฟีแนนทรีนที่เหลืออยู่ในนมผักกระเฉดปลอดเชื้อ พบว่าปริมาณไพรีนและฟีแนนทรีนลดลงจนมีค่าเท่ากับ 95.8 และ 91.3 เปอร์เซ็นต์ ภายใน 35 วัน (รูปที่ 4.18)



รูปที่ 4.18 การย่อยสลายไพรีนและฟีแนนทรีนในอาหารเหลว CFMM โดยกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่เลี้ยงในนมผักกระเฉดปลอดเชื้อ

จะเห็นได้ว่าผลของการเจริญและการย่อยสลายไพรีนและฟีแนนทรีนของกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่เลี้ยงในวัสดุทางการเกษตรปลอดเชื้อทั้ง 3 ชนิด มีความสอดคล้องกันนั่นคือ ในช่วงวันที่ 0 ถึงวันที่ 14 กลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 มีจำนวนเพิ่มขึ้นทำให้ปริมาณไพรีนและฟีแนนทรีนลดลงอย่างรวดเร็วจนเกือบหมดในวันที่ 7 แสดงให้เห็นว่ากลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่เลี้ยงในวัสดุทางการเกษตรปลอดเชื้อทั้ง 3 ชนิด มีการย่อยสลายไพรีนและฟีแนนทรีนเป็นแหล่งคาร์บอนและใช้สารอาหารในวัสดุทางการเกษตรนั้นๆเพื่อการเจริญและอยู่รอด

4.6.2 การย่อยสลายไพรีนและฟีแนนทรีนของกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่เลี้ยงในวัสดุทางการเกษตรไม่ปลอดเชื้อในอาหารเหลว CFMM

ชุดการทดลองที่ 2 ใช้วัสดุทางการเกษตรไม่ปลอดเชื้อผสมกับกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ในอาหารเหลว CFMM เพื่อศึกษาผลของวัสดุทางการเกษตรต่อความสามารถของกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ในการย่อยสลายไพรีนและฟีแนนทรีน และผลของแบคทีเรียในวัสดุทางการเกษตรต่อความสามารถในการย่อยสลายของกลุ่มแบคทีเรียนี้ ทำการทดลองโดยนำกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3

มาเลี้ยงในวัสดุทางการเกษตรไม่ปลอดเชื้อ 0.1 กรัม ปรับค่าความเป็นกรด-ด่างและความชื้น บ่มที่อุณหภูมิ 30°ซ เป็นเวลา 3 วัน ซึ่งเป็นวันที่กลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 มีจำนวนมากที่สุด และมีจำนวนประมาณ 10^{10} CFU จากนั้นใส่อาหารเหลว CFMM ปริมาตร 5 มล. ที่มีไพรีนและฟีแนนทรีนความเข้มข้นสุดท้ายชนิดละ 0.5 มก./มล. เขย่าและเก็บตัวอย่างวันที่ 0, 3, 7, 14, 21, 28 และ 35 นับจำนวนแบคทีเรียในวัสดุทางการเกษตรและกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ตามวิธีในข้อ 3.5.2 และวิเคราะห์ปริมาณไพรีนและฟีแนนทรีนที่เหลืออยู่ในวัสดุทางการเกษตร ตามวิธีข้อ 3.6.2

จากชุดการทดลองที่ 2 พบว่า วันที่ 0 ของการทดลอง จำนวนแบคทีเรียทั้งหมดในฟางข้าวไม่ปลอดเชื้อและกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่เติมลงไปทั้งหมด มีค่าเริ่มต้นเท่ากับ 10.2 log CFU ต่อกรัมวัสดุ และจำนวนแบคทีเรียในฟางข้าวและกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่ย่อยสลายไพรีน/ฟีแนนทรีน มีค่าเริ่มต้นเท่ากับ 8.8 log CFU ต่อกรัมวัสดุ เก็บตัวอย่างเป็นเวลา 35 วัน พบว่า จำนวนแบคทีเรียในฟางข้าวไม่ปลอดเชื้อและกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่เติมลงไปจะมีจำนวนเพิ่มขึ้นมากที่สุดในวันที่ 14 ของการทดลอง มีจำนวนเท่ากับ 10.7 log CFU ต่อกรัมวัสดุ และจำนวนแบคทีเรียในฟางข้าวและกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่ย่อยสลายไพรีน/ฟีแนนทรีนจะมีจำนวนเท่ากับ 10.1 log CFU ต่อกรัมวัสดุ หลังจากนั้นจะมีแนวโน้มของการเจริญที่ลดลงเล็กน้อย

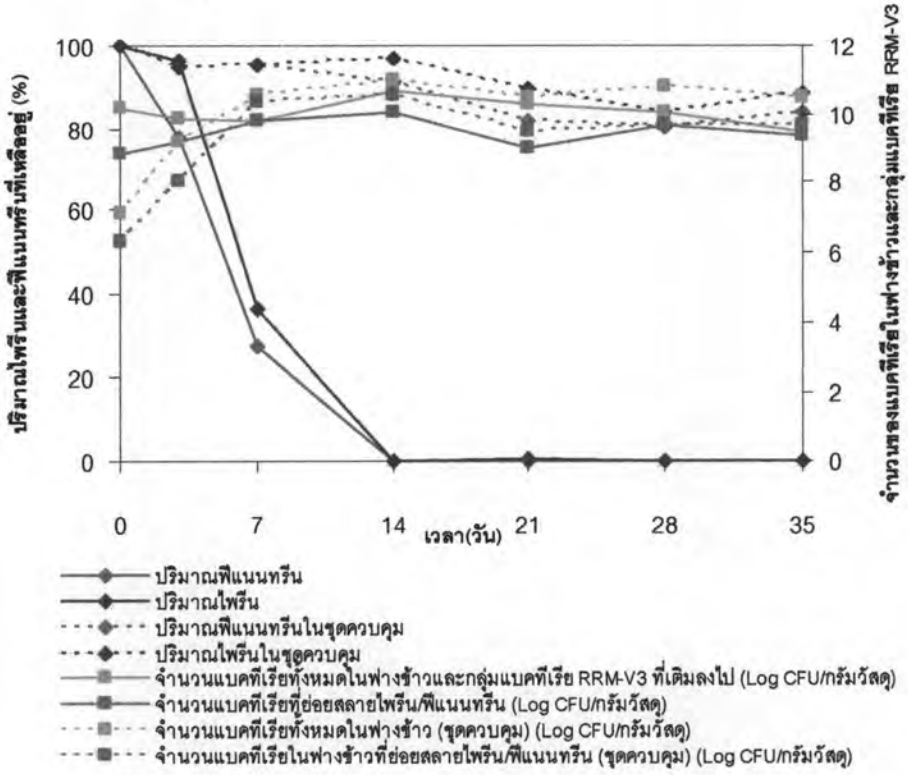
ผลวิเคราะห์ปริมาณไพรีนและฟีแนนทรีนที่เหลืออยู่โดยคิดเป็นเปอร์เซ็นต์ เปรียบเทียบกับวันที่ 0 ซึ่งคิดเป็นปริมาณเริ่มต้นที่ 100 เปอร์เซ็นต์ พบว่า ในช่วงวันที่ 3 ถึงวันที่ 7 และช่วงวันที่ 7 ถึง 14 ของการทดลอง ปริมาณไพรีนและฟีแนนทรีนลดลงอย่างรวดเร็วในฟางข้าวที่ไม่ปลอดเชื้อ หลังจากวันที่ 14 จะลดลงอย่างช้ามาก จนหมดในวันที่ 28 สำหรับปริมาณฟีแนนทรีนจะหมดในวันที่ 14 ของการทดลอง

เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม ซึ่งใช้วัสดุทางการเกษตรไม่ปลอดเชื้อในอาหารเหลว CFMM เพื่อศึกษาผลของวัสดุทางการเกษตรต่อความสามารถของแบคทีเรียในวัสดุทางการเกษตรในการย่อยสลายไพรีนและฟีแนนทรีน ทำการทดลองโดยนำวัสดุทางการเกษตรไม่ปลอดเชื้อ 0.1 กรัม ใส่อาหารเหลว CFMM ปริมาตร 5 มล. ที่มีไพรีนและฟีแนนทรีนความเข้มข้นสุดท้ายชนิดละ 0.5 มก./มล. เขย่าและเก็บตัวอย่างวันที่ 0, 3, 7, 14, 21, 28 และ 35 นับจำนวนแบคทีเรียตามวิธีในข้อ 3.5.2 และวิเคราะห์ปริมาณไพรีนและฟีแนนทรีนที่เหลืออยู่ในวัสดุทางการเกษตรตามวิธีข้อ 3.6.2

จากชุดควบคุม พบว่า วันที่ 0 ของการทดลอง จำนวนแบคทีเรียทั้งหมดในฟางข้าวไม่ปลอดเชื้อ มีค่าเริ่มต้นเท่ากับ 7.1 log CFU ต่อกรัมวัสดุ และจำนวนแบคทีเรียในฟางข้าวที่ย่อยสลายไพรีน/ฟีแนนทรีน มีค่าเริ่มต้นเท่ากับ 6.3 log CFU ต่อกรัมวัสดุ เก็บตัวอย่างเป็นเวลา 35 วัน พบว่าแบคทีเรียทั้งหมดในฟางข้าวจะมีจำนวนเพิ่มขึ้นมากที่สุดในวันที่ 14 ของการทดลอง มีจำนวนเท่ากับ 11.0 log CFU ต่อกรัมวัสดุ และจำนวนแบคทีเรียในฟางข้าวที่ย่อยสลายไพรีน/

ฟีแนนทรีนจะมีจำนวนเท่ากับ 10.6 log CFU ต่อกรัมวัสดุ หลังจากนั้นจะมีแนวโน้มของการเจริญที่ลดลงเล็กน้อย

ผลวิเคราะห์ปริมาณไพรีนและฟีแนนทรีนที่เหลืออยู่โดยคิดเป็นเปอร์เซ็นต์ เปรียบเทียบกับวันที่ 0 ซึ่งให้เป็นปริมาณเริ่มต้นที่ 100 เปอร์เซ็นต์ พบว่า ปริมาณไพรีนและฟีแนนทรีนในฟางข้าวลดลงเล็กน้อยจนมีค่าเท่ากับ 97.0 และ 91.3 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับในวันที่ 14 หลังจากนั้นปริมาณไพรีนและฟีแนนทรีนจะลดลงเล็กน้อยและคงที่ และเหลือ 88.5 และ 84.2 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับในวันที่ 35 (รูปที่ 4.19)



รูปที่ 4.19 การย่อยสลายไพรีนและฟีแนนทรีนในอาหารเหลว CFMM โดยแบคทีเรียในฟางข้าวและกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่เติมลงในฟางข้าวไม่ปลอดเชื้อ

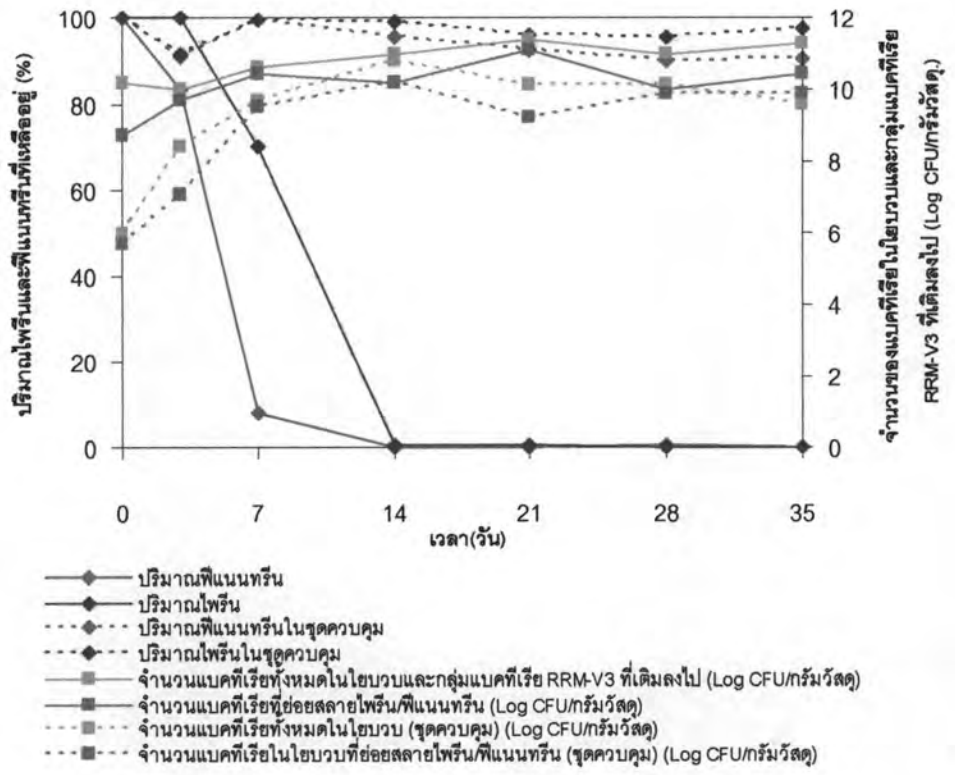
เมื่อเติมกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ลงไปในใยบวบไม่ปลอดเชื้อ พบว่า วันที่ 0 ของการทดลอง จำนวนแบคทีเรียทั้งหมดในใยบวบไม่ปลอดเชื้อและกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่เติมลงไปทั้งหมด มีค่าเริ่มต้นเท่ากับ 10.2 log CFU ต่อกรัมวัสดุ และจำนวนแบคทีเรียในใยบวบและกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่ย่อยสลายไพรีน/ฟีแนนทรีน มีค่าเริ่มต้นเท่ากับ 8.7 log CFU ต่อกรัมวัสดุ เก็บตัวอย่างเป็นเวลา 35 วัน พบว่า จำนวนแบคทีเรียในใยบวบไม่ปลอดเชื้อและกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่เติมลงไปจะมีจำนวนเพิ่มขึ้นมากที่สุดในวันที่ 21 ของการทดลอง มีจำนวนเท่ากับ 11.4 log CFU ต่อกรัมวัสดุ และจำนวนแบคทีเรียในใยบวบและกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่ย่อย

สลายไพรีน/ฟีแนนทรีน จะมีจำนวนเท่ากับ 11.1 log CFU ต่อกรัมวัสดุ หลังจากนั้นจะมีแนวโน้มลดลงและคงที่

ผลวิเคราะห์ปริมาณไพรีนและฟีแนนทรีนที่เหลืออยู่โดยคิดเป็นเปอร์เซ็นต์ เปรียบเทียบกับวันที่ 0 ซึ่งคิดเป็นปริมาณเริ่มต้นที่ 100 เปอร์เซ็นต์ พบว่าในช่วงวันที่ 3 ถึงวันที่ 14 ปริมาณไพรีนลดลงอย่างรวดเร็วในใยบวบไม่ปลอดเชื้อ จนเหลือ 70.4 เปอร์เซ็นต์ในวันที่ 7 และเหลือเพียง 0.5 เปอร์เซ็นต์ในวันที่ 14 จนหมดในวันที่ 28 ของการทดลอง สำหรับในช่วงวันที่ 3 ถึงวันที่ 7 ของการทดลอง ปริมาณฟีแนนทรีนลดลงอย่างรวดเร็วในใยบวบไม่ปลอดเชื้อ จาก 83.2 เปอร์เซ็นต์ในวันที่ 3 จนเหลือ 8.0 เปอร์เซ็นต์ในวันที่ 7 และหมดในวันที่ 14 ของการทดลอง

เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม พบว่า วันที่ 0 ของการทดลอง จำนวนแบคทีเรียทั้งหมดในใยบวบไม่ปลอดเชื้อ มีค่าเริ่มต้นเท่ากับ 6.0 log CFU ต่อกรัมวัสดุ และจำนวนแบคทีเรียในใยบวบที่ย่อยสลายไพรีน/ฟีแนนทรีน มีค่าเริ่มต้นเท่ากับ 5.7 log CFU ต่อกรัมวัสดุ เก็บตัวอย่างเป็นเวลา 35 วัน พบว่าแบคทีเรียทั้งหมดในใยบวบจะมีจำนวนเพิ่มขึ้นมากที่สุดในวันที่ 14 ของการทดลอง มีจำนวนเท่ากับ 10.8 log CFU ต่อกรัมวัสดุ และจำนวนแบคทีเรียในใยบวบที่ย่อยสลายไพรีน/ฟีแนนทรีนจะมีจำนวนเท่ากับ 10.2 log CFU ต่อกรัมวัสดุ หลังจากนั้นจะมีแนวโน้มของการเจริญที่ลดลงเล็กน้อย

ผลวิเคราะห์ปริมาณไพรีนและฟีแนนทรีนที่เหลืออยู่โดยคิดเป็นเปอร์เซ็นต์ เปรียบเทียบกับวันที่ 0 ซึ่งคิดเป็นปริมาณเริ่มต้นที่ 100 เปอร์เซ็นต์ พบว่า ปริมาณไพรีนและฟีแนนทรีนในใยบวบลดลงเล็กน้อยและคงที่จนมีค่าเท่ากับ 97.5 และ 90.4 เปอร์เซ็นต์ (รูปที่ 4.20)



รูปที่ 4.20 การย่อยสลายไพรีนและฟีแนนทรีนในอาหารเหลว CFMM โดยแบคทีเรียในใยบวบและกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่เติมลงในใยบวบไม่ปลอดเชื้อ

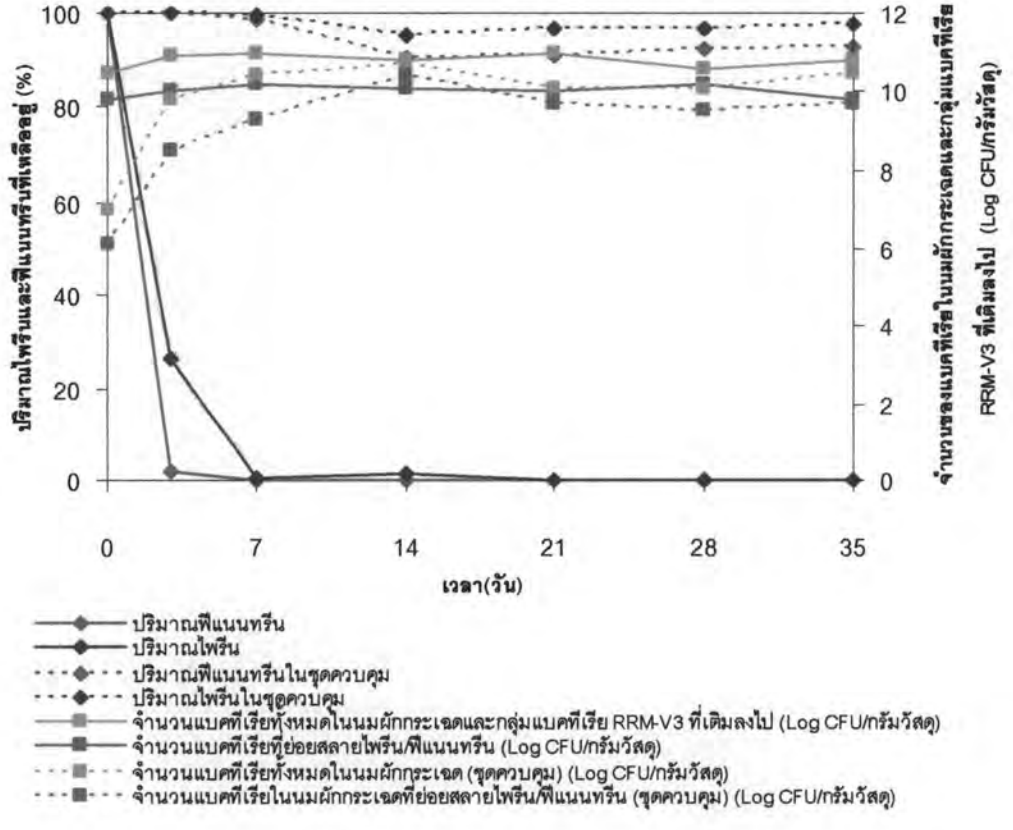
เมื่อเติมกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ลงไปในนมผักกระเฉดไม่ปลอดเชื้อ พบว่า วันที่ 0 ของการทดลอง จำนวนแบคทีเรียทั้งหมดในนมผักกระเฉดไม่ปลอดเชื้อและกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่เติมลงไปทั้งหมด มีค่าเริ่มต้นเท่ากับ 10.5 log CFU ต่อกรัมวัสดุ และจำนวนแบคทีเรียในนมผักกระเฉดและกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่ย่อยสลายไพรีน/ฟีแนนทรีน มีค่าเริ่มต้นเท่ากับ 9.8 log CFU ต่อกรัมวัสดุ เก็บตัวอย่างเป็นเวลา 35 วัน พบว่า จำนวนแบคทีเรียในนมผักกระเฉดไม่ปลอดเชื้อและกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่เติมลงไปจะมีจำนวนเพิ่มขึ้นมากที่สุดในวันที่ 7 ของการทดลอง มีจำนวนเท่ากับ 11.0 log CFU ต่อกรัมวัสดุ และจำนวนแบคทีเรียในนมผักกระเฉดและกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่ย่อยสลายไพรีน/ฟีแนนทรีนจะมีจำนวนเท่ากับ 10.2 log CFU ต่อกรัมวัสดุ หลังจากนั้นจะมีแนวโน้มคงที่

ผลวิเคราะห์ปริมาณไพรีนและฟีแนนทรีนที่เหลืออยู่โดยคิดเป็นเปอร์เซ็นต์ เปรียบเทียบกับวันที่ 0 ซึ่งคิดเป็นปริมาณเริ่มต้นที่ 100 เปอร์เซ็นต์ พบว่าปริมาณไพรีนและฟีแนนทรีนในนมผักกระเฉดไม่ปลอดเชื้อจะลดลงอย่างรวดเร็วภายใน 3 วัน จนเหลือ 26.5 และ 2.1 เปอร์เซ็นต์

ตามลำดับ หลังจากนั้นจะลดลงอย่างช้าๆ จนหมดในวันที่ 28 ของการทดลอง ส่วนปริมาณฟีแนนทรีนจะหมดในวันที่ 7 ของการทดลอง

เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม พบว่า วันที่ 0 ของการทดลอง จำนวนแบคทีเรียทั้งหมดในนมผักกระเฉดไม่ปลอดเชื้อ มีค่าเริ่มต้นเท่ากับ 7.0 log CFU ต่อกรัมวัสดุ และจำนวนแบคทีเรียในนมผักกระเฉดที่ย่อยสลายไพรีน/ฟีแนนทรีน มีค่าเริ่มต้นเท่ากับ 6.1 log CFU ต่อกรัมวัสดุ เก็บตัวอย่างเป็นเวลา 35 วัน พบว่าแบคทีเรียทั้งหมดในนมผักกระเฉดจะมีจำนวนเพิ่มขึ้นมากที่สุดในวันที่ 14 ของการทดลอง มีจำนวนเท่ากับ 10.7 log CFU ต่อกรัมวัสดุ และจำนวนแบคทีเรียในนมผักกระเฉดที่ย่อยสลายไพรีน/ฟีแนนทรีนจะมีจำนวนเท่ากับ 10.4 log CFU ต่อกรัมวัสดุ หลังจากนั้นจะมีแนวโน้มของการเจริญที่คงที่

ผลวิเคราะห์ปริมาณไพรีนและฟีแนนทรีนที่เหลืออยู่โดยคิดเป็นเปอร์เซ็นต์ เปรียบเทียบกับวันที่ 0 ซึ่งคิดเป็นปริมาณเริ่มต้นที่ 100 เปอร์เซ็นต์ พบว่า ปริมาณไพรีนและฟีแนนทรีนในนมผักกระเฉดลดลงเล็กน้อยและคงที่จนมีค่าเท่ากับ 97.9 และ 93.1 เปอร์เซ็นต์ในวันที่ 35 (รูปที่ 4.21)



รูปที่ 4.21 การย่อยสลายไพรีนและฟีแนนทรีนในอาหารเหลว CFMM โดยแบคทีเรียในนมผักกระเฉดและกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่เติมลงในนมผักกระเฉดไม่ปลอดเชื้อ

จะเห็นได้ว่าผลของการเจริญและการย่อยสลายไพรีนและฟีแนนทรีนของแบคทีเรียในวัสดุทางการเกษตรและกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่เติมลงในวัสดุทางการเกษตรไม่ปลอดเชื้อทั้ง 3 ชนิดมีความสอดคล้องกันนั่นคือ เมื่อแบคทีเรียในวัสดุทางการเกษตรและกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่เติมลงไปมีจำนวนเพิ่มขึ้น ปริมาณไพรีนและฟีแนนทรีนจะลดลงอย่างรวดเร็ว แสดงให้เห็นว่าแบคทีเรียทั้งหมดในวัสดุทางการเกษตรและกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่เติมลงในวัสดุทางการเกษตรไม่ปลอดเชื้อทั้ง 3 ชนิด มีการย่อยสลายไพรีนและฟีแนนทรีนเป็นแหล่งคาร์บอนและใช้สารอาหารในวัสดุทางการเกษตรนั้นๆเพื่อการเจริญและอยู่รอด ส่วนผลของการเจริญและการย่อยสลายไพรีนและฟีแนนทรีนในชุดควบคุม ไม่มีความสอดคล้องกัน ดังจะเห็นได้จากปริมาณไพรีนและฟีแนนทรีนที่ลดลงเล็กน้อยหรือแทบไม่ลดเลยเมื่อแบคทีเรียทั้งหมดในวัสดุทางการเกษตรทั้ง 3 ชนิดมีจำนวนเพิ่มขึ้น

4.6.3 การย่อยสลายไพรีนและฟีแนนทรีนที่ความเข้มข้นสุดท้ายรวม 1.0 มก./มล. ของกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ในอาหารเหลว CFMM

ชุดควบคุมที่ 2 มีการเติมกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ลงไปในอาหารเหลว CFMM เพื่อศึกษาความสามารถในการย่อยสลายไพรีนและฟีแนนทรีนโดยกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ทำการทดลองโดยเติมกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 จำนวน 10^{10} CFU/มล. ปริมาตร 1 มล. ลงในอาหารเหลว CFMM ปริมาตร 5 มล. ที่มีไพรีนและฟีแนนทรีนความเข้มข้นสุดท้ายชนิดละ 0.5 มก./มล. เขย่าและเก็บตัวอย่างวันที่ 0, 3, 7, 14, 21, 28 และ 35 นับจำนวนกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ตามวิธีในข้อ 3.5.2 และวิเคราะห์ปริมาณไพรีนและฟีแนนทรีนที่เหลืออยู่ในวัสดุทางการเกษตร ตามวิธีข้อ 3.6.2

จากชุดควบคุมที่ 2 พบว่า วันที่ 0 ของการทดลอง จำนวนแบคทีเรียทั้งหมดของกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 มีค่าเริ่มต้นเท่ากับ 10.1 log CFU ต่อมล. เก็บตัวอย่างเป็นเวลา 35 วัน พบว่ากลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 จะมีจำนวนเพิ่มขึ้นมากที่สุดในวันที่ 7 ของการทดลอง โดยในวันที่ 7 ของการทดลอง จำนวนแบคทีเรียทั้งหมดของกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 จะมีจำนวนเท่ากับ 10.5 log CFU ต่อมล. หลังจากนั้นจะมีจำนวนที่ลดลงเล็กน้อยและคงที่

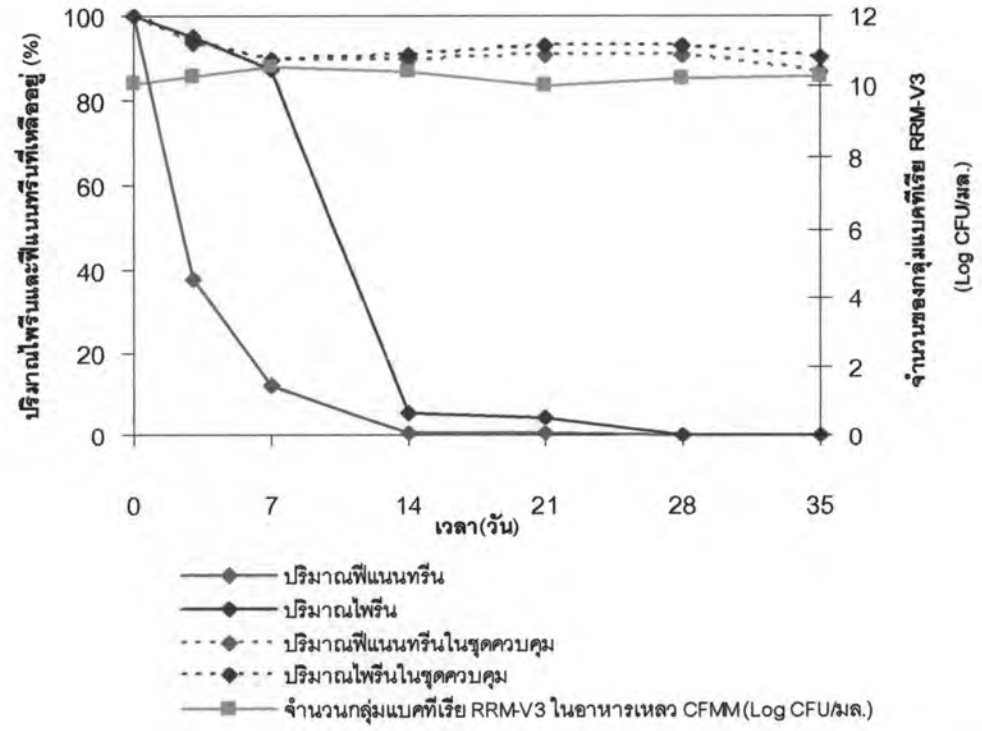
ผลวิเคราะห์ปริมาณไพรีนและฟีแนนทรีนที่เหลืออยู่โดยคิดเป็นเปอร์เซ็นต์ เปรียบเทียบกับวันที่ 0 ซึ่งคิดเป็นปริมาณเริ่มต้นที่ 100 เปอร์เซ็นต์ พบว่าในช่วงวันที่ 7 ถึงวันที่ 14 ของการทดลอง ปริมาณไพรีนลดลงอย่างรวดเร็วจนมีค่าเท่ากับ 87.5 เปอร์เซ็นต์ในวันที่ 7 และลดลงจนเหลือเพียง 5.6 เปอร์เซ็นต์ในวันที่ 14 หลังจากนั้นจะลดลงอย่างช้าๆจนมีค่าเท่ากับ 0.1 เปอร์เซ็นต์ในวันที่ 35 ของการทดลอง สำหรับปริมาณฟีแนนทรีนจะลดลงอย่างรวดเร็วในช่วงวันที่ 0 ถึงวันที่

7 ของการทดลอง โดยลดลงจนมีค่าเท่ากับ 12.2 เปอร์เซ็นต์ในวันที่ 7 หลังจากวันที่ 7 จะลดลงอย่างช้าๆและหมดในวันที่ 28 ของการทดลอง

เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม ซึ่งใส่เฉพาะอาหารเหลว CFMM เพื่อตรวจสอบการสลายของสารประกอบ PAHs เมื่อปราศจากปัจจัยทางชีวภาพ ทำการทดลองโดย ใช้อาหารเหลว CFMM ปริมาตร 5 มล. ที่มีไพรีนและฟีแนนทรีนความเข้มข้นสุดท้ายชนิดละ 0.5 มก./มล. เขย่าและเก็บตัวอย่างวันที่ 0, 3, 7, 14, 21, 28 และ 35 นับจำนวนกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ตามวิธีในข้อ 3.5.2 และวิเคราะห์ปริมาณไพรีนและฟีแนนทรีนที่เหลืออยู่ในวัสดุทางการเกษตร ตามวิธีข้อ 3.6.2

จากชุดควบคุม พบว่า ไม่มีการเจริญของกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 และแบคทีเรียชนิดใดๆ ตลอด 35 วันของการทดลอง (ผลไม่ได้แสดง)

ผลวิเคราะห์ปริมาณไพรีนและฟีแนนทรีนที่เหลืออยู่ พบว่าปริมาณไพรีนและฟีแนนทรีนมีแนวโน้มลดลงเล็กน้อยจนเหลือ 90.3 และ 86.9 เปอร์เซ็นต์ในวันที่ 35 (รูปที่ 4.22)



รูปที่ 4.22 การย่อยสลายไพรีนและฟีแนนทรีนในอาหารเหลว CFMM โดยกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3

จะเห็นได้ว่าผลของการเจริญและการย่อยสลายไพรีนและฟีแนนทรีนของกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 มีความสอดคล้องกันนั่นคือ ในช่วง วันที่ 0 ถึงวันที่ 7 กลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 มีจำนวนเพิ่มขึ้นทำให้ปริมาณไพรีนและฟีแนนทรีนลดลงอย่างรวดเร็วภายใน 7 วัน และหมดในวันที่ 28 ของการทดลองสำหรับฟีแนนทรีน ส่วนไพรีนเหลือน้อยมาก ในวันที่ 28 และ 35 ของการทดลอง แสดงให้เห็นว่ากลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 มีการย่อยสลายไพรีนและฟีแนนทรีนเป็นแหล่งคาร์บอนเพื่อการเจริญและอยู่รอด

ตารางที่ 4.2 เปรียบเทียบประสิทธิภาพการย่อยสลายไพรีนที่ความเข้มข้นสุดท้าย 0.5 มก./มล. ของกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่เลี้ยงในวัสดุทางการเกษตรปลอดเชื้อและไม่ปลอดเชื้อ

วัน	ปริมาณไพรีนที่เหลืออยู่ (%)					
	RRM-V3 ที่เลี้ยงในวัสดุทางการเกษตรปลอดเชื้อ			RRM-V3 ที่เลี้ยงในวัสดุทางการเกษตรไม่ปลอดเชื้อ		
	ฟาง	ใยบวบ	นมผักกระเฉด	ฟาง	ใยบวบ	นมผักกระเฉด
0	100	100	100	100	100	100
3	14.3	89.3	6.9	96.5	100	26.5
7	1.8	5.8	0.1	36.1	70.4	0.6
14	0.2	0.4	0	0.1	0.5	1.3
21	0	0.6	0	0.4	0.3	0.1
28	0	0.5	0	0	0	0.2
35	0	0.1	0	0	0	0

ตารางที่ 4.3 เปรียบเทียบประสิทธิภาพการย่อยสลายฟีแนนทรีนที่ความเข้มข้นสุดท้าย 0.5 มก./มล. ของกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่เลี้ยงในวัสดุทางการเกษตรปลอดเชื้อและไม่ปลอดเชื้อ

วัน	ปริมาณฟีแนนทรีนที่เหลืออยู่ (%)					
	RRM-V3 ที่เลี้ยงในวัสดุทางการเกษตรปลอดเชื้อ			RRM-V3 ที่เลี้ยงในวัสดุทางการเกษตรไม่ปลอดเชื้อ		
	ฟาง	ใยบวบ	นมผักกระเฉด	ฟาง	ใยบวบ	นมผักกระเฉด
0	100	100	100	100	100	100
3	2.1	28.3	0.3	77.8	83.2	2.1
7	0.2	0.4	0	27.6	8.0	0
14	0	0	0	0	0	0.1
21	0	0	0	0	0	0
28	0	0.2	0.1	0	0.3	0
35	0	0.1	0	0	0.1	0

4.7 ผลการติดตามพลวัตรประชากรแบคทีเรียโดย Denaturing Gradient Gel Electrophoresis (DGGE)

การติดตามพลวัตรประชากรกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ในช่วงเวลาของการบำบัด ทำการศึกษาใน 3 ชุดการทดลองดังนี้

1. วัสดุทางการเกษตรไม่ปลอดเชื้อผสมกับกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ในอาหารเหลว CFMM ที่มีไพรีนและฟีแนนทรีนความเข้มข้นสุดท้ายชนิดละ 0.5 มก./มล. เพื่อติดตามพลวัตรประชากรของแบคทีเรียในวัสดุทางการเกษตรและกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่เติมลงไป (ชุดการทดลองที่ 2)

2. วัสดุทางการเกษตรไม่ปลอดเชื้อในอาหารเหลว CFMM ที่มีไพรีนและฟีแนนทรีนความเข้มข้นสุดท้ายชนิดละ 0.5 มก./มล. เพื่อติดตามพลวัตรประชากรของแบคทีเรียในวัสดุทางการเกษตร (ชุดควบคุมที่ 4)

3. กลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว CFMM เป็นเวลา 3 วัน เพื่อใช้เป็นชุดควบคุมเปรียบเทียบตำแหน่งของกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 บนพอลิอะคริลาไมด์เจล

4.7.1 พลวัตรประชากรกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ในวัสดุทางการเกษตรไม่ปลอดเชื้อและพลวัตรประชากรแบคทีเรียในวัสดุทางการเกษตรไม่ปลอดเชื้อเมื่อเลี้ยงในอาหารเหลว CFMM

ชุดการทดลองที่ 2 ทำการทดลองโดยนำกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 มาเลี้ยงในวัสดุทางการเกษตรไม่ปลอดเชื้อ 0.1 กรัม ปรับค่าความเป็นกรด-ด่างและความชื้น บ่มที่อุณหภูมิ 30°ซ เป็นเวลา 3 วัน ซึ่งเป็นวันที่กลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 มีจำนวนมากที่สุด และมีจำนวนประมาณ 10^{10} CFU จากนั้นใส่อาหารเหลว CFMM ปริมาตร 5 มล. เขย่าและเก็บตัวอย่างวันที่ 0, 3, 7, 14, 21, 28 และ 35 จากนั้นแบ่งวัสดุทางการเกษตรมา 0.1 กรัม เพื่อสกัดดีเอ็นเอตามวิธีข้อ 3.7.1 ทำดีเอ็นเอที่สกัดได้ให้บริสุทธิ์ วัดความเข้มข้นของดีเอ็นเอและเพิ่มชิ้นส่วนดีเอ็นเอด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรส แล้วนำไปวิเคราะห์ DGGE ตามวิธีข้อ 3.7.3–3.7.6

ชุดควบคุมที่ 4 ทำการทดลองโดยนำวัสดุทางการเกษตรไม่ปลอดเชื้อ 0.1 กรัม ปรับค่าความเป็นกรด-ด่างและความชื้น จากนั้นใส่อาหารเหลว CFMM ปริมาตร 5 มล. เขย่าและเก็บตัวอย่างวันที่ 0, 3, 7, 14, 21, 28 และ 35 จากนั้นแบ่งวัสดุทางการเกษตรมา 0.1 กรัม เพื่อทำการสกัดดีเอ็นเอตามวิธีข้อ 3.7.1 ทำดีเอ็นเอที่สกัดได้ให้บริสุทธิ์ วัดความเข้มข้นของดีเอ็นเอและเพิ่มชิ้นส่วนดีเอ็นเอด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรส แล้วนำไปวิเคราะห์ DGGE ตามวิธีข้อ 3.7.3–3.7.6 ซึ่งได้ผลการทดลองดังนี้

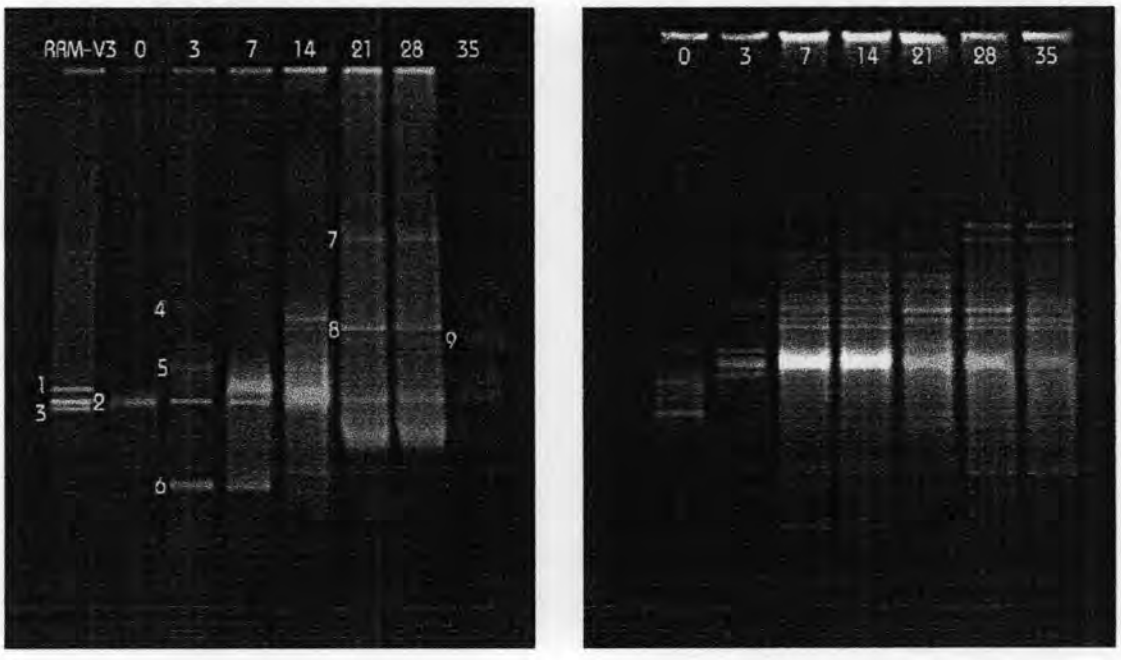
เมื่อเพิ่มชิ้นส่วนดีเอ็นเอโดย PCR แล้วตรวจสอบผลิตภัณฑ์ PCR โดยอะกาโรสเจลอีเลคโทรโฟรีซิส พบว่ามีความเข้มที่ใกล้เคียงกันในทุกตัวอย่าง จากนั้นนำผลิตภัณฑ์ PCR ไปวิเคราะห์โดยเทคนิค DGGE ในพอลิอะคริลาไมด์เจลที่มีเกรเดียนท์ของสารละลาย denaturant 40 – 70%

ผลแสดงให้เห็นว่าประชากรกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่เลี้ยงในอาหารเหลว CFMM มีแถบดีเอ็นเอ 3 แถบติดกัน ดังแสดงด้วยหมายเลข 1, 2 และ 3 ในช่องวิ่งที่ 1 ในรูปที่ 4.23-4.25 (รูปซ้าย)

เมื่อติดตามการเปลี่ยนแปลงประชากรแบคทีเรียในฟางข้าวและกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่เติมลงไป พบว่าในวันที่ 0 มีแถบดีเอ็นเอเพียงแถบเดียวที่อยู่ตำแหน่งเดียวกับแถบที่ 2 ของกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 คาดว่าแถบดีเอ็นเอนี้น่าจะเป็นแบคทีเรียชนิดหนึ่งในกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่ได้เติมลงไป สาเหตุที่ไม่พบแถบดีเอ็นเอทั้ง 3 แถบของกลุ่มแบคทีเรียนี้น่าจะเป็นเพราะในขั้นตอนการสกัดดีเอ็นเอ มีการใช้ตัวอย่างวัสดุทางการเกษตรเพียง 0.1 กรัม ซึ่งไม่ได้สกัดดีเอ็นเอจากตัวอย่างที่มีทั้งหมด อีกทั้งในตัวอย่างที่ทำการสกัดดีเอ็นเอมีอาหารเหลว CFMM อยู่ด้วย ทำให้จำนวนแบคทีเรียถูกเจือจางลงจากเดิม ในวันที่ 3 พบแถบดีเอ็นเอที่ 2 ซึ่งหนาสุดในวันที่ 14 และยังคงพบแถบดีเอ็นเอที่ 2 จนสิ้นสุดการทดลอง จึงเป็นไปได้ว่าแถบดีเอ็นเอที่ 2 นี้ เป็นประชากร

หลักของกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่เกี่ยวข้องกับการย่อยสลายไพรีน/ฟีแนนทรีน เนื่องจากสอดคล้องกับปริมาณไพรีน/ฟีแนนทรีนที่ลดลงอย่างรวดเร็ว เริ่มพบแถบดีเอ็นเอที่อยู่ตำแหน่งเดียวกับแถบที่ 1 ของกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 บางๆ และหนามากในวันที่ 7 นอกจากนี้ยังมีดีเอ็นเออื่นๆเกิดขึ้นและหายไปในวันต่างๆ (แถบดีเอ็นเอ 4, 5, 6, 7, 8 และ 9) คาดว่าแถบ ดีเอ็นเอเหล่านี้อาจเป็นประชากรของกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่เจริญขึ้นในภายหลังโดยใช้สารมัธยันตร์จากการย่อยสลายไพรีน/ฟีแนนทรีน หรืออาจเป็นประชากรแบคทีเรียในฟางข้าวที่สามารถใช้สารมัธยันตร์จากการย่อยสลายไพรีน/ฟีแนนทรีน แถบดีเอ็นเอที่เกิดขึ้นในโปรไฟล์ชุดทดลองจะแตกต่างกันไปเมื่อเวลาผ่านไป เป็นเพราะไพรีน/ฟีแนนทรีนที่ถูกย่อยสลายโดยกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 จึงเกิดสารมัธยันตร์ขึ้นหลายชนิด ซึ่งแบคทีเรียแต่ละชนิดในฟางข้าวอาจใช้สารมัธยันตร์ที่แตกต่างกันในการเจริญ

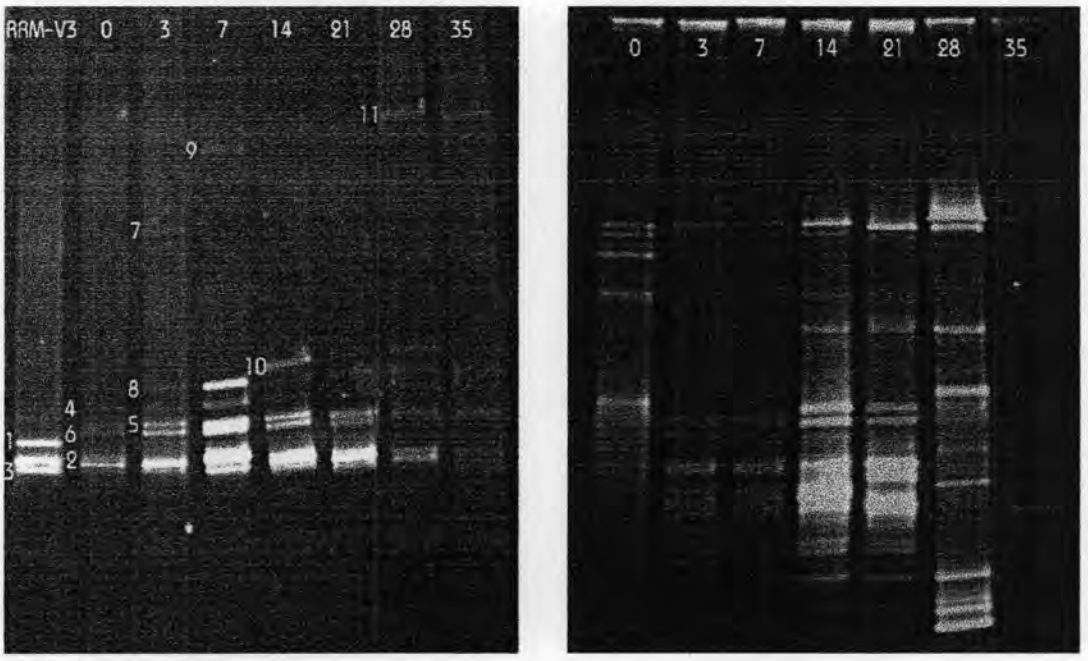
เมื่อเทียบโปรไฟล์ชุดการทดลองฟางข้าวไม่ปลอดเชื้อที่เติมกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 กับชุดควบคุมที่มีเฉพาะฟางข้าวไม่ปลอดเชื้อ พบว่าโปรไฟล์จะมีลักษณะที่แตกต่างกันอย่างมาก ทั้งนี้อาจเป็นเพราะว่าในชุดควบคุมเพียงอย่างเดียว กลุ่มแบคทีเรียในฟางข้าวอาจใช้อินทรียวัตถุเป็นแหล่งคาร์บอนเพื่อการเจริญเป็นหลักเพียงอย่างเดียว จึงอาจมีลักษณะโปรไฟล์ที่แตกต่างจากชุดการทดลองได้ ดังแสดงในรูปที่ 4.23



รูปที่ 4.23 พลวัตรประชากรแบคทีเรียในฟางข้าวไม่ปลอดเชื้อและกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่เติมลงไป (ซ้าย) และพลวัตรประชากรแบคทีเรียในฟางข้าวไม่ปลอดเชื้อ (ขวา) ในอาหารเหลว CFMM

เมื่อติดตามการเปลี่ยนแปลงประชากรแบคทีเรียในใยบวบและกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่เติมลงไป พบว่า ในวันที่ 0 พบแถบดีเอ็นเอเพียงแถบเดียวที่อยู่ตำแหน่งเดียวกับแถบที่ 2 ของกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 และมีความหนาในวันที่ 7 ถึงวันที่ 21 และยังคงพบแถบดีเอ็นเอที่ 2 จนสิ้นสุดการทดลอง จึงเป็นไปได้ว่าแถบดีเอ็นเอที่ 2 นี้ เป็นประชากรหลักของกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่เกี่ยวข้องกับการย่อยสลายไพรีน/ฟีแนนทรีน เนื่องจากสอดคล้องกับปริมาณไพรีน/ฟีแนนทรีนที่ลดลงอย่างรวดเร็ว เริ่มพบแถบดีเอ็นเอที่อยู่ตำแหน่งเดียวกับแถบที่ 3 ของกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ในวันที่ 7 และคงอยู่จนถึงวันที่ 21 นอกจากนี้ยังมีดีเอ็นเออื่นๆเกิดขึ้นและหายไปในวันต่างๆ (แถบดีเอ็นเอ 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 และ 11) คาดว่าแถบดีเอ็นเอเหล่านี้อาจเป็นประชากรของกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่เจริญขึ้นในภายหลังโดยใช้สารมัธยันตร์จากการย่อยสลายไพรีน/ฟีแนนทรีน หรืออาจเป็นประชากรแบคทีเรียในใยบวบที่สามารถใช้สารมัธยันตร์จากการย่อยสลายไพรีน/ฟีแนนทรีน แถบดีเอ็นเอที่เกิดขึ้นในโปรไฟล์ชุดทดลองจะแตกต่างกันไปเมื่อเวลาผ่านไป เป็นเพราะไพรีน/ฟีแนนทรีนที่ถูกย่อยสลายโดยกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 จึงเกิดสารมัธยันตร์ขึ้นหลายชนิด ซึ่งแบคทีเรียแต่ละชนิดในใยบวบอาจใช้สารมัธยันตร์ที่แตกต่างกันในการเจริญ

เมื่อเทียบโปรไฟล์ชุดการทดลองใยบวบไม่ปลอดเชื้อที่เติมกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 กับชุดควบคุมที่มีเฉพาะใยบวบไม่ปลอดเชื้อ พบว่าโปรไฟล์จะมีลักษณะที่แตกต่างกันอย่างมาก ทั้งนี้อาจเป็นเพราะว่าในชุดควบคุมเพียงอย่างเดียว กลุ่มแบคทีเรียในใยบวบอาจใช้อินทรียวัตถุเป็นแหล่งคาร์บอนเพื่อการเจริญเป็นหลักเพียงอย่างเดียว จึงอาจมีลักษณะโปรไฟล์ที่แตกต่างจากชุดการทดลองได้ ดังแสดงในรูปที่ 4.24

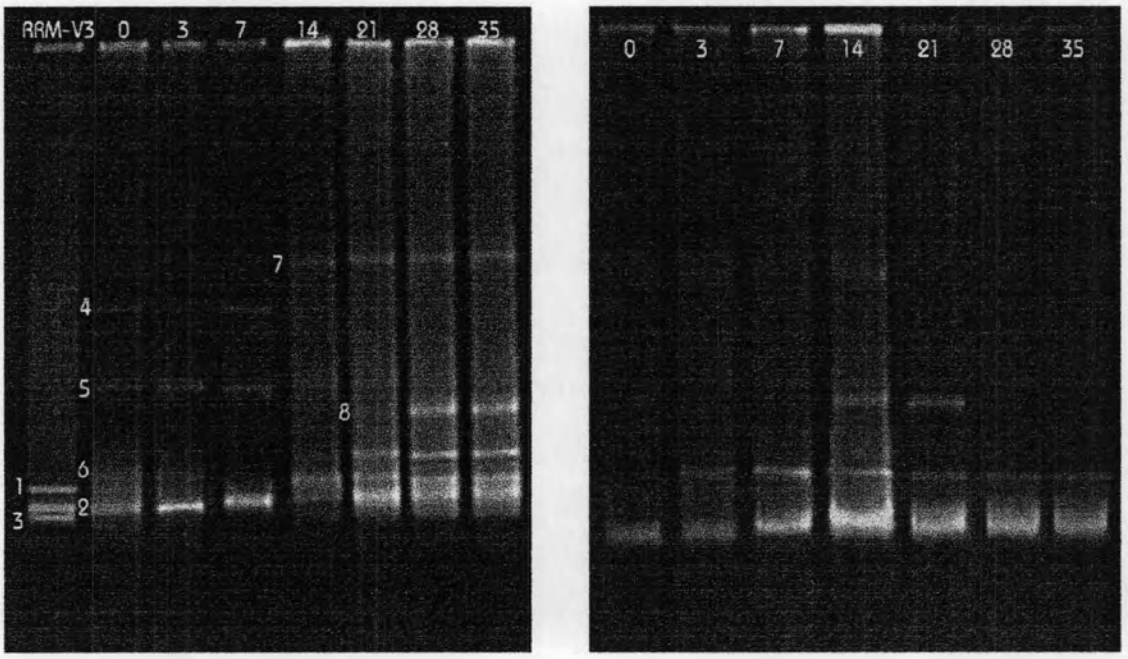


รูปที่ 4.24 พลวัตรประชากรแบคทีเรียในใยบวบไม่ปลอดเชื้อและกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่เติมลงไป (ซ้าย) และพลวัตรประชากรแบคทีเรียในใยบวบไม่ปลอดเชื้อ (ขวา) ในอาหารเหลว CFMM

เมื่อติดตามการเปลี่ยนแปลงประชากรแบคทีเรียในนมผักกระเฉดและกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่เติมลงไป พบว่า ในวันที่ 0 พบแถบดีเอ็นเอเพียงแถบเดียวที่อยู่ตำแหน่งเดียวกับแถบที่ 2 ของกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 หนามากที่สุดในวันที่ 7 และยังคงพบแถบดีเอ็นเอที่ 2 จนสิ้นสุดการทดลอง จึงเป็นไปได้ว่าแถบดีเอ็นเอที่ 2 นี้ เป็นประชากรหลักของกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่เกี่ยวข้องกับการย่อยสลายไพรีน/ฟีแนนทรีน เนื่องจากสอดคล้องกับปริมาณไพรีน/ฟีแนนทรีนที่ลดลงอย่างรวดเร็ว เริ่มพบแถบดีเอ็นเอที่อยู่ตำแหน่งเดียวกับแถบที่ 1 ของกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 บางๆในวันที่ 7 และคงอยู่จนสิ้นสุดการทดลอง นอกจากนี้ยังมีดีเอ็นเออื่นๆเกิดขึ้นและหายไปในวันต่างๆ (แถบดีเอ็นเอ 4, 5, 6, 7 และ 8) คาดว่าแถบดีเอ็นเอเหล่านี้อาจเป็นประชากรของกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่เจริญขึ้นในภายหลังโดยใช้สารมัธยันตร์จากการย่อยสลายไพรีน/ฟีแนนทรีน หรืออาจเป็นประชากรแบคทีเรียในนมผักกระเฉดที่สามารถใช้สารมัธยันตร์จากการย่อยสลายไพรีน/ฟีแนนทรีน แถบดีเอ็นเอที่เกิดขึ้นในโปรไฟล์ชุดทดลองจะแตกต่างกันไปเมื่อเวลาผ่านไป เป็นเพราะไพรีน/ฟีแนนทรีนที่ถูกย่อยสลายโดยกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 จึงเกิดสารมัธยันตร์ขึ้นหลายชนิด ซึ่งแบคทีเรียแต่ละชนิดในนมผักกระเฉดอาจใช้สารมัธยันตร์ที่แตกต่างกันในการเจริญ

เมื่อเทียบโปรไฟล์ชุดการทดลองนมผักกระเฉดไม่ปลอดเชื้อที่เติมกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 กับชุดควบคุมที่มีเฉพาะนมผักกระเฉดไม่ปลอดเชื้อ พบว่าโปรไฟล์จะมีลักษณะที่แตกต่างกันอย่างมาก ทั้งนี้อาจเป็นเพราะว่าในชุดควบคุมเพียงอย่างเดียว กลุ่มแบคทีเรียในนมผัก

กระเฉดอาจใช้อินทรียวัตถุเป็นแหล่งคาร์บอนเพื่อการเจริญเป็นหลักเพียงอย่างเดียว จึงอาจมีลักษณะโปรไฟล์ที่แตกต่างจากชุดการทดลองได้ ดังแสดงในรูปที่ 4.25



รูปที่ 4.25 พลวัตรประชากรแบคทีเรียในนมผักกระเฉดไม่ปลอดเชื้อและกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่เติมลงไป (ซ้าย) และพลวัตรประชากรแบคทีเรียในนมผักกระเฉดไม่ปลอดเชื้อ (ขวา) ในอาหารเหลว CFMM