การย่อยสลายทางชีวภาพของพอลิไซคลิกอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอน โดยแบคทีเรียที่ออกซิไดส์อะซีแนพธิลีน

นางสาวศรัลยา แพงไตร

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาจุลชีววิทยาทางอุตสาหกรรม ภาควิชาจุลชีววิทยา
คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2543
ISBN 974-346-647-9
ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

I19511590

BIODEGRADATION OF POLYCYCLIC AROMATIC HYDROCARBONS BY ACENAPHTHYLENE-OXIDIZING BACTERIA

Miss Saranya Phaengthai

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science in Industrial Microbiology
Department of Microbiology
Faculty of Science
Chulalongkorn University
Academic Year 2000

ISBN 974-346-647-9

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การย่อยสลายทางชีวภาพของพอลิไซคลิกอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอนโดยแบคทีเรียที่ออกซิไดส์อะซีแนพธิลีน
โดย	นางสาวศรัลยา แพงไตร
ภาควิชา	จุลชีววิทยา
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุเทพ ธนียวัน

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

.....คณบดีคณะวิทยาศาสตร์
(รองศาสตราจารย์ ดร. วันชัย โพธิ์พิจิตร)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

.....ประธานกรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร. กาญจณา จันทองจีน)

.....อาจารย์ที่ปรึกษา
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุเทพ ธนียวัน)

.....กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร. ไพเราะ ปิ่นพานิชการ)

.....กรรมการ
(อาจารย์ ดร. กอบชัย ภัทรกุลวณิชย์)

ศรัลยา แพงไตร : การย่อยสลายทางชีวภาพของพอลิไซคลิกอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอนโดยแบคทีเรียที่ออกซิไดส์อะซีแนพธิลีน (BIODEGRADATION OF POLYCYCLIC AROMATIC HYDROCARBONS BY ACENAPHTHYLENE-OXIDIZING BACTERIA). อ. ที่ปรึกษา : ผศ. ดร. สุเทพ ธนียวัน, 110 หน้า. ISBN 974-346-647-9.

แบคทีเรียสายพันธุ์ CU-A1 ซึ่งสามารถย่อยสลายอะซีแนพธิลีน แยกได้จากตัวอย่างดินที่ปนเปื้อนน้ำมันเครื่อง ในเขตกรุงเทพมหานคร เมื่อนำมาจำแนกชนิดทางอนุกรมวิธานตามลักษณะฟีโนไทป์ ร่วมกับการวิเคราะห์ลำดับเบสของ 16 เอสไรโบโซมัลดีเอ็นเอ พบว่าแบคทีเรียสายพันธุ์ CU-A1 เป็นแบคทีเรียในสกุล *Rhizobium* ซึ่งเป็นการพบครั้งแรกสำหรับเชื้อแบคทีเรีย *Rhizobium* ที่สามารถย่อยสลายอะซีแนพธิลีนได้และให้ชื่อเป็น *Rhizobium* sp. สายพันธุ์ CU-A1 แบคทีเรียสายพันธุ์นี้สามารถย่อยสลายอะซีแนพธิลีนในอาหารเหลว CFMM จากปริมาณเริ่มต้น 600 มก.ต่อลิตร จนไม่สามารถตรวจวัดได้โดยวิธีไฮเพอร์ฟอร์มานซ์ลิควิดโครมาโตกราฟีหลังการเลี้ยงเชื้อ 3 วัน และเมื่อแปรผันความเข้มข้นของอะซีแนพธิลีนที่ 300, 600 และ 900 มก.ต่อลิตร พบว่าเชื้อสามารถเจริญได้ โดยมีการเพิ่มจำนวนและย่อยสลายอะซีแนพธิลีนจนไม่สามารถตรวจหาได้ภายในเวลา 2 วัน, 3 วัน และ 4 วัน ตามลำดับ การศึกษาผลของสารลดแรงตึงผิวทวีน 80 ต่อรูปแบบการเจริญของเชื้อ พบว่าทวีน 80 ที่ความเข้มข้น 0.05 % สามารถเพิ่มอัตราการเจริญและการย่อยสลายอะซีแนพธิลีนได้เร็วขึ้นกว่าไม่มีการเติมสารนี้ เมื่อเติมทวีน 80 เชื้อสามารถย่อยสลายอะซีแนพธิลีนจาก 600 มก.ต่อลิตร จนไม่สามารถตรวจวัดได้ในวันที่ 2 ของการเลี้ยงเชื้อ ขณะที่เมื่อไม่มีการเติมทวีน 80 อะซีแนพธิลีนถูกย่อยสลายไปเพียง 30 % นอกจากนี้ *Rhizobium* sp. สายพันธุ์ CU-A1 สามารถย่อยสลายสารประกอบพอลิไซคลิกอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอนชนิดอื่น คือ แนพธาลีนได้ และสามารถย่อยสลาย ฟีแนนทรีน ฟลูออรีน และอะซีแนพธีน ได้เมื่อมีอะซีแนพธิลีนรวมอยู่ในอาหารเหลว โดยย่อยสลายฟีแนนทรีน ฟลูออรีน และอะซีแนพธีน จนไม่สามารถตรวจวัดได้ภายในเวลา 7 วันของการเลี้ยงเชื้อ จากการตรวจสอบด้วยวิธีรินแลย์โครมาโตกราฟี พบว่ามีสารมัธยันต์เกิดขึ้นหลายชนิดระหว่างการย่อยสลายอะซีแนพธิลีนโดยเชื้อนี้ และเมื่อนำมาทำให้บริสุทธิ์บางส่วนโดยซิลิกาเจลคอลัมน์โครมาโตกราฟี ได้สารมัธยันต์ในส่วนที่ชะด้วย 0 % เอทธิลอะซีเตตในเฮกเซน

ภาควิชา จุลชีววิทยา
สาขาวิชา จุลชีววิทยาทางอุตสาหกรรม
ปีการศึกษา 2543

ลายมือชื่อนิสิต.....ศรัลยา.....แพงไตร.....
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา.....
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม.....

4072391323: **MAJOR** INDUSTRIAL MICROBIOLOGY

KEY **WORD** : *Rhizobium* sp. / ACENAPHTHYLENE / POLYCYCLIC AROMATIC HYDROCARBONS

SARANYA PHAENGTHAI : BIODEGRADATION POLYCYCLIC AROMATIC HYDROCARBONS BY ACENPHTHYLENE-OXIDIZING BACTERIA. THESIS ADVISOR : ASSIS. PROF. SUTHEP THANIYAVARN, Ph. D. 110 pp. ISBN 974-346-647-9.

A bacterial strain capable of oxidizing acenaphthylene was isolated from petroleum-contaminated soil sample collected from Bangkok. Conventional enrichment culture technique was employed for the isolation by the use of acenaphthylene as sole source of carbon and energy. Phenotypic characterization along with 16S ribosomal DNA sequence analysis indicated that the potent acenaphthylene degrader belongs to genus *Rhizobium*. This was the first finding that *Rhizobium* sp. can degrade the PAH, acenaphthylene. Therefore it was designated as *Rhizobium* sp. strain CU-A1. The organism used up the supplemented acenaphthylene (600 mg/l of CFMM) on the third day of cultivation as determined by high performance liquid chromatography. Cultivation of the organism in culture medium supplemented with 300, 600 and 900 mg/l acenaphthylene, the organism could utilize acenaphthylene down to undetectable amount within 2, 3, and 4 days, respectively. The degradation of acenaphthylene by *Rhizobium* sp. strain CU-A1 was enhanced by the non-ionic surfactant tween 80. After 2 days of cultivation, 100 % of the initial amount of acenaphthylene (600 mg/l) was degraded in the presence of tween 80 (0.05 %) as opposed to 30 % without this synthetic surfactant. In addition to acenaphthylene, the organism could also use naphthalene as both carbon and energy sources, whereas phenanthrene, fluorene and acenaphthene were only cometabolized. During cometabolism, the strain used up phenanthrene, fluorene and acenaphthene (100 mg/l) on the seventh day of cultivation. As the growth progress in the presence of acenaphthylene, several metabolites could be detected via thin layer chromatography and were further purified by using silica gel column chromatography.

Department Microbiology — Student 's signature Saranya Phaengthai

Field of study Industrial Microbiology — Advisor 's signature

Academic year 2000 — Co-advisor 's signature

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จไปได้ด้วยดีด้วยความช่วยเหลืออย่างดียิ่งของผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุเทพ ธนียวัน อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ที่ได้กรุณาช่วยตรวจแก้ต้นฉบับวิทยานิพนธ์ ตลอดจนให้ความรู้ คำแนะนำ และข้อคิดเห็นต่างๆ ซึ่งผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงไว้ ณ ที่นี้ด้วย

ขอกราบขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ ดร. กาญจณา จันทองจีน ที่กรุณารับเป็นประธานกรรมการในการสอบ ตลอดจนให้ความรู้ คำแนะนำต่างๆ แก่ผู้วิจัยตลอดระยะเวลาการศึกษา รวมทั้งช่วยจำแนกชนิดของแบคทีเรียที่ใช้ในงานวิจัยนี้ ด้วยวิธีวิเคราะห์หาลำดับเบสของ 16 เอสไรโบโซมัลดีเอ็นเอ โดยทำวิจัยที่ Biotechnology Research Center. The University of Tokyo.

ขอกราบขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ ดร. ไพเราะ ปิ่นพานิชการ และอาจารย์ ดร. กอบชัย ภัทรกุลวณิชย์ ที่กรุณารับเป็นกรรมการในการสอบ และให้ความรู้ คำแนะนำต่างๆ ตลอดจนช่วยแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอกราบขอบพระคุณอาจารย์ ดร. สุจิมา รัพเพิร์ท ที่กรุณาให้ความรู้ ข้อคิดเห็นและคำแนะนำต่างๆ แก่ผู้วิจัยในช่วงต้นของการศึกษา

กราบขอบพระคุณอาจารย์ทุกท่านในภาควิชาจุลชีววิทยา และขอขอบคุณอาจารย์อรฤทัย ภิญญาคง ที่ช่วยพิสูจน์เอกลักษณ์ของสารมัธยันต์ที่ประเทศญี่ปุ่น ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ในภาควิชาจุลชีววิทยาทุกท่าน ตลอดจนพี่ๆ เพื่อนๆ และน้องๆ ทุกคนที่มีส่วนช่วยเหลือและให้กำลังใจตลอดมา

สุดท้ายขอกราบขอบพระคุณบิดา มารดา และพี่สาว ที่ให้การสนับสนุนและความช่วยเหลือ ตลอดจนให้กำลังใจแก่ผู้วิจัยเสมอมา

สารบัญ

เรื่อง หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย.....ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....จ
กิตติกรรมประกาศ.....ฉ
สารบัญ.....ช
สารบัญตาราง.....ซ
สารบัญรูป.....ฌ
สัญลักษณ์และคำย่อ.....ฎ
บทที่
1. บทนำ.....1
2. วารสารปริทัศน์.....4
3. อุปกรณ์และวิธีดำเนินงานวิจัย.....34
4. ผลการทดลอง.....47
5. สรุปและอภิปรายผลการทดลอง.....86
6. ข้อเสนอแนะในการวิจัย.....93
รายการอ้างอิง.....94
ภาคผนวก
ภาคผนวก ก.....104
ภาคผนวก ข.....106
ภาคผนวก ค.....108
ประวัติผู้เขียน.....110

สารบัญตาราง

ตารางที่ **หน้า**

1.1 องค์ประกอบหลักของของเสียอันตรายและสารพิษที่เกิดขึ้นจากโรงงานอุตสาหกรรม.....1
2.1 แหล่งกำเนิดและวิธีการเข้าสู่สิ่งแวดล้อมของอะซีแนพธิลีนและสาร PAHs ชนิดอื่น.....5
2.2 สมบัติของสาร PAHs.....12
2.3 ค่าใช้จ่ายของวิธีการบำบัดทางชีวภาพ.....17
2.4 การย่อยสลายสาร PAHs ชนิดต่างๆ โดยจุลินทรีย์.....19
2.5 ชนิดของจุลินทรีย์ที่สามารถย่อยสลายอะซีแนพธิลีนได้.....24
3.1 สถานที่เก็บตัวอย่างดินเพื่อนำมาแยกเชื้อแบคทีเรียที่ย่อยสลายอะซีแนพธิลีนได้.....37
3.2 การตรวจสอบผลของทวีน 80 ต่อรูปแบบการเจริญของเชื้อ โดยการใช้อะซีแนพธิลีนเป็นแหล่งคาร์บอนและพลังงาน.....41
4.1 ลักษณะโคโลนีที่เกิดขึ้นบนอาหารแข็ง CFMM ที่มีอะซีแนพธิลีนวางบนฝาจานอาหารเลี้ยงเชื้อ.....48
4.2 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของแบคทีเรียสายพันธุ์ CU-A1.....51
4.3 ลักษณะทางชีวเคมีของแบคทีเรียสายพันธุ์ CU-A1.....52
4.4 ปริมาณของ PAHs แต่ละชนิดที่เหลือในอาหารเลี้ยงเชื้อของ *Rhizobium* sp. สายพันธุ์ CU-A1 หลังการเลี้ยงเชื้อในอาหารเหลว CFMM เป็นเวลา 7 วัน.....68
4.5 ผลการย่อยสลายแบบโคเมตาบอลิสมของ PAHs ต่างๆ ร่วมกับอะซีแนพธิลีน โดย *Rhizobium* sp. สายพันธุ์ CU-A1 หลังการเลี้ยงเชื้อในอาหารเหลวเป็นเวลา 7 วัน.....77
4.6 ค่า Rf ของสารที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยวิธีธินแลย์โครมาโตกราฟี.....82
5.1 การย่อยสลายสารประกอบอะโรมาติก โดยแบคทีเรียสกุล *Rhizobium*.....87

สารบัญรูป

รูปที่ **หน้า**

2.1 โครงสร้างโมเลกุลของอะซีแนพธิลีน.....4
2.2 ปริมาณอะซีแนพธิลีนและสาร PAHs ชนิดอื่น เฉลี่ยตลอดทั้งปี ในกรุงเทพมหานคร.....7
2.3 ความสัมพันธ์ของอัตราการย่อยสลายของ PAHs ในดิน.....9
2.4 โครงสร้างโมเลกุลของสาร PAHs.....13
2.5 วิถีเมตาบอลิสมที่แบคทีเรีย *Pseudomonas aeruginosa* สายพันธุ์ PAO1 ใช้ในการย่อยสลายอะซีแนพธิลีน.....25
2.6 การย่อยสลายสาร PAHs โดยจุลินทรีย์.....29
2.7 ลักษณะโครงสร้างโดยทั่วไปของสารลดแรงตึงผิว.....31
2.8 การเกิดไมเซลล์ของสารลดแรงตึงผิว เมื่อความเข้มข้นสูงถึงค่า CMC.....31
3.1 การสกัดสารมัธยันต์ที่เกิดจากการย่อยสลายอะซีแนพธิลีน จากอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวก่อนที่จะนำไปทำให้บริสุทธิ์.....44
4.1 ลักษณะโคโลนีของแบคทีเรียสายพันธุ์ CU-A1 บนอาหารแข็ง LB.....49
4.2 ลักษณะรูปร่างของแบคทีเรียสายพันธุ์ CU-A1 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ (กำลังขยาย 1000 เท่า).....50
4.3 ลำดับเบสของ 16 เอสไรโบโซมัลดีเอ็นเอของแบคทีเรียสายพันธุ์ CU-A1.....54
4.4 ลักษณะของอาหารเหลว CFMM ที่มีอะซีแนพธิลีน หลังการเลี้ยงเชื้อ *Rhizobium* sp. สายพันธุ์ CU-A1 เป็นเวลา 3 วัน เปรียบเทียบกับหลอดควบคุมที่ไม่เติมเชื้อ.....56
4.5 กราฟแสดงการเจริญของ *Rhizobium* sp. สายพันธุ์ CU-A1 ในอาหารเหลว CFMM ที่มีอะซีแนพธิลีนเข้มข้น 300 มก.ต่อลิตร.....58
4.6 กราฟแสดงการเจริญของ *Rhizobium* sp. สายพันธุ์ CU-A1 ในอาหารเหลว CFMM ที่มีอะซีแนพธิลีนเข้มข้น 600 มก.ต่อลิตร.....59
4.7 กราฟแสดงการเจริญของ *Rhizobium* sp. สายพันธุ์ CU-A1 ในอาหารเหลว CFMM ที่มีอะซีแนพธิลีนเข้มข้น 900 มก.ต่อลิตร.....60
4.8 โครมาโตแกรมการวิเคราะห์ HPLC เพื่อหาปริมาณอะซีแนพธิลีนและสารมัธยันต์ที่เกิดขึ้นจากการย่อยสลายอะซีแนพธิลีนความเข้มข้น 600 มก.ต่อลิตร โดย *Rhizobium* sp. สายพันธุ์ CU-A1 หลังเลี้ยงเชื้อที่เวลาต่างๆ.....62

4.9 ผลของทวีน 80 ต่อรูปแบบการเจริญของเชื้อ *Rhizobium* sp. สายพันธุ์ CU-A1 โดยการใช้อะซีแนพธิลีนเป็นแหล่งคาร์บอนและพลังงาน.....65

4.10 เปรียบเทียบลักษณะของอาหารเหลว CFMM ที่มีอะซีแนพธิลีนความเข้มข้น 600 มก.ต่อลิตร หลังการเลี้ยงเชื้อ *Rhizobium* sp. สายพันธุ์ CU-A1 ตั้งแต่วันที่ 0 ถึงวันที่ 7 เมื่อ (ก) ไม่มี และ (ข) มีการเติมทวีน 80.....66

4.11 โครมาโตแกรมการวิเคราะห์ HPLC เพื่อหาปริมาณอะซีแนพธิลีนและสารมัธยันต์ที่เกิดขึ้นจากการย่อยสลายอะซีแนพธิลีนโดย *Rhizobium* sp. สายพันธุ์ CU-A1 เมื่อ (ก) ไม่มี หรือ (ข) มีการเติมทวีน 80 ที่เวลาเลี้ยงเชื้อต่างๆ.....67

4.12 จำนวนของ *Rhizobium* sp. สายพันธุ์ CU-A1 และปริมาณของแนพธาลีนที่เหลือหลังการเลี้ยง 7 วัน (โดยใช้แนพธาลีนความเข้มข้น 200 มก.ต่อลิตร).....70

4.13 จำนวนของ *Rhizobium* sp. สายพันธุ์ CU-A1 และปริมาณของอะซีแนพธิลีนที่เหลือหลังการเลี้ยง 7 วัน (โดยใช้อะซีแนพธิลีนความเข้มข้น 600 มก.ต่อลิตร).....71

4.14 ลักษณะของอาหารเหลว CFMM จากการเลี้ยงเชื้อ *Rhizobium* sp. สายพันธุ์ CU-A1 เป็นเวลา 7 วัน

หลอดที่ 1 มีแบคทีเรียและมีอะซีแนพธิลีน ในวันที่ 0

หลอดที่ 2 ไม่มีแบคทีเรียและมีอะซีแนพธิลีน ในวันที่ 7

หลอดที่ 3 มีแบคทีเรียและมีอะซีแนพธิลีน ในวันที่ 7

หลอดที่ 4 มีแบคทีเรียและมีอะซีแนพธีนร่วมกับอะซีแนพธิลีน ในวันที่ 0

หลอดที่ 5 ไม่มีแบคทีเรียและมีอะซีแนพธีนร่วมกับอะซีแนพธิลีน ในวันที่ 7

หลอดที่ 6 มีแบคทีเรียและมีอะซีแนพธีนร่วมกับอะซีแนพธิลีน ในวันที่ 7.....73

4.15 ลักษณะของอาหารเหลว CFMM จากการเลี้ยงเชื้อ *Rhizobium* sp. สายพันธุ์ CU-A1 เป็นเวลา 7 วัน

หลอดที่ 1 มีแบคทีเรียและมีแอนทราซีนร่วมกับอะซีแนพธิลีน ในวันที่ 0

หลอดที่ 2 ไม่มีแบคทีเรียและมีแอนทราซีนร่วมกับอะซีแนพธิลีน ในวันที่ 7

หลอดที่ 3 มีแบคทีเรียและมีแอนทราซีนร่วมกับอะซีแนพธิลีน ในวันที่ 7

หลอดที่ 4 มีแบคทีเรียและมีฟลูออรีนร่วมกับอะซีแนพธิลีน ในวันที่ 0

หลอดที่ 5 ไม่มีแบคทีเรียและมีฟลูออรีนร่วมกับอะซีแนพธิลีน ในวันที่ 7

หลอดที่ 6 มีแบคทีเรียและมีฟลูออรีนร่วมกับอะซีแนพธิลีน ในวันที่ 7.....74

4.16 ลักษณะของอาหารเหลว CFMM จากการเลี้ยงเชื้อ *Rhizobium* sp. สายพันธุ์ CU-A1 เป็นเวลา 7 วัน

หลอดที่ 1 มีแบคทีเรียและมีไดเบนโซฟูแรนร่วมกับอะซีแนพธิลีน ในวันที่ 0
หลอดที่ 2 ไม่มีแบคทีเรียและมีไดเบนโซฟูแรนร่วมกับอะซีแนพธิลีน ในวันที่ 7
หลอดที่ 3 มีแบคทีเรียและมีไดเบนโซฟูแรนร่วมกับอะซีแนพธิลีน ในวันที่ 7
หลอดที่ 4 มีแบคทีเรียและมีฟลูออแรนธีนร่วมกับอะซีแนพธิลีน ในวันที่ 0
หลอดที่ 5 ไม่มีแบคทีเรียและมีฟลูออแรนธีนร่วมกับอะซีแนพธิลีน ในวันที่ 7
หลอดที่ 6 มีแบคทีเรียและมีฟลูออแรนธีนร่วมกับอะซีแนพธิลีน ในวันที่ 7.....75
4.17 ลักษณะของอาหารเหลว CFMM จากการเลี้ยงเชื้อ *Rhizobium* sp. สายพันธุ์ CU-A1 เป็นเวลา 7 วัน
หลอดที่ 1 มีแบคทีเรียและมีไพรีนร่วมกับอะซีแนพธิลีน ในวันที่ 0
หลอดที่ 2 ไม่มีแบคทีเรียและมีไพรีนร่วมกับอะซีแนพธิลีน ในวันที่ 7
หลอดที่ 3 มีแบคทีเรียและมีไพรีนร่วมกับอะซีแนพธิลีน ในวันที่ 7
หลอดที่ 4 มีแบคทีเรียและมีฟีแนนทรีนร่วมกับอะซีแนพธิลีน ในวันที่ 0
หลอดที่ 5 ไม่มีแบคทีเรียและมีฟีแนนทรีนร่วมกับอะซีแนพธิลีน ในวันที่ 7
หลอดที่ 6 มีแบคทีเรียและมีฟีแนนทรีนร่วมกับอะซีแนพธิลีน ในวันที่ 7.....76
4.18 การเจริญและปริมาณของอะซีแนพธิลีนและฟีแนนทรีน ที่เหลือในอาหารเลี้ยงเชื้อ *Rhizobium* sp. สายพันธุ์ CU-A1 เมื่อเลี้ยงเป็นเวลา 7 วัน.....78
4.19 การเจริญและปริมาณของอะซีแนพธิลีนและฟลูออรีน ที่เหลือในอาหารเลี้ยงเชื้อ *Rhizobium* sp. สายพันธุ์ CU-A1 เมื่อเลี้ยงเป็นเวลา 7 วัน.....79
4.20 การเจริญและปริมาณของอะซีแนพธิลีนและอะซีแนพธีน ที่เหลือในอาหารเลี้ยงเชื้อ *Rhizobium* sp. สายพันธุ์ CU-A1 เมื่อเลี้ยงเป็นเวลา 7 วัน.....80
4.21 โครมาโตแกรมของการวิเคราะห์ TLC ของสารประกอบที่เกิดจากการย่อยสลายอะซีแนพธิลีน โดย *Rhizobium* sp. สายพันธุ์ CU-A1.....81
4.22 TLC โครมาโตแกรมหลังจากการทำให้บริสุทธิ์บางส่วนโดยซิลิกาเจลคอลัมน์โครมาโต-กราฟี.....83
4.23 HPLC โครมาโตแกรมของลำดับส่วนที่ชะด้วย 0 % เอทธิลอะซีเตตในเฮกเซน.....84
4.24 โครมาโตแกรมของไอออนที่เกิดการแตกตัว (Total Ion Chromatogram, TIC).....85
ค.1 กราฟมาตรฐานระหว่างปริมาณอะซีแนพธิลีนกับพื้นที่ใต้กราฟ ที่ได้จากการวิเคราะห์โดยวิธี HPLC.....108
ค.2 กราฟผลของไดเมทธิลซัลฟอกไซด์ต่อการเจริญของเชื้อ *Rhizobium* sp. สายพันธุ์ CU-A1.....109

สัญลักษณ์และคำย่อ

มก. = มิลลิกรัม

มล. = มิลลิลิตร

มม. = มิลลิเมตร

ซ.ม. = เซนติเมตร

ม. = เมตร

°ซ. = องศาเซลเซียส

% = เปอร์เซ็นต์

กก. = กิโลกรัม