บทที่ 4

ผลการทดลอง

4.1 ลักษณะทางกายภาพและองค์ประกอบทางเคมีของวัสดุทางการเกษตรที่ใช้ในการทดลอง

วัสดุทางการเกษตรที่ใช้ในการทดลองมีทั้งหมด 4 ชนิด ได้แก่ ใบจามจุรี ฟางข้าว ใยบวบและนมผักกระเฉด โดยใบจามจุรีเก็บมาจากบริเวณจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เป็นใบแห้งสีน้ำตาล ฟางข้าวเก็บจากทุ่งนา อ.ธัญบุรี จ.ปทุมธานี ส่วนใยบวบและนมผักกระเฉดซื้อจากร้านค้าในตลาดคลองเตยและปากคลองตลาดตามลำดับ ผลการวิเคราะห์ลักษณะทางกายภาพและองค์ประกอบทางเคมีของวัสดุทางการเกษตรส่งวิเคราะห์ที่ฝ่ายวิเคราะห์ดินและน้ำ กองเกษตรเคมี กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ และภาควิชาปฐพีวิทยา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ ดังแสดงในตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 ลักษณะทางกายภาพและองค์ประกอบทางเคมีของวัสดุทางการเกษตร

พารามิเตอร์	ผลการวิเคราะห์			
	ใบจามจุรี	ฟางข้าว	ใยบวบ	นมผักกระเฉด
ความจุสูงสุดของการอุ้มน้ำ(%)	317.36*	563.08*	853.40*	1025.81*
ความเป็นกรดด่าง	6.4*	6.0*	5.8*	5.9*
ปริมาณอินทรีย์คาร์บอน(%)	35.89*	42.22*	52.85*	33.20*
ปริมาณไนโตรเจน(%)	2.08**	0.35**	0.35**	1.62**
ปริมาณฟอสฟอรัส(%)	0.15**	0.12**	0.07**	0.32**
ปริมาณโปแทสเซียม(%)	0.63**	1.36**	0.11**	4.48**
อัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน	17.25**	120.63**	151.0**	20.49**

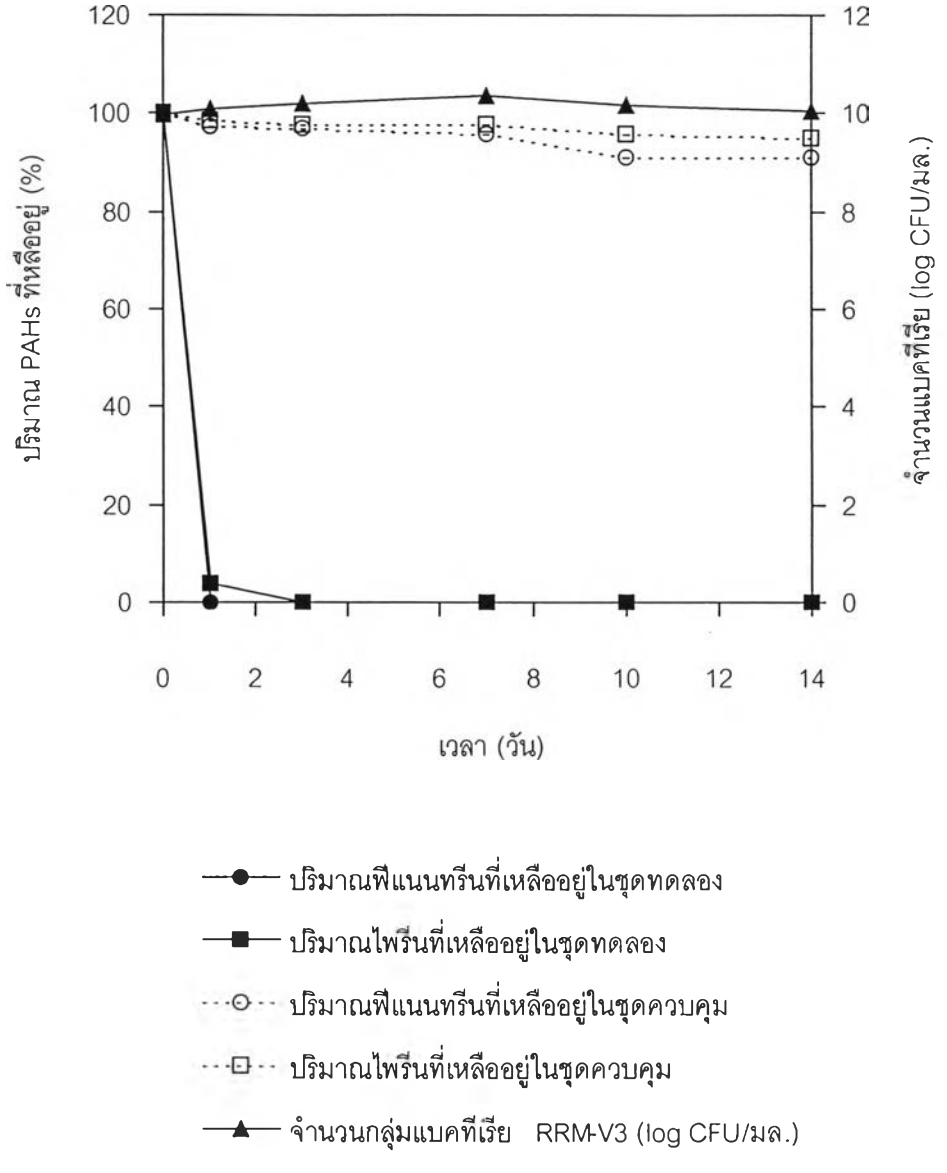
หมายเหตุ * วิเคราะห์โดยฝ่ายวิจัยดิน กองเกษตรเคมี กระทรวงเกษตรและสหกรณ์

** วิเคราะห์โดย ภาควิชาปฐพีวิทยา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

4.2 การย่อยสลายไพรีนและฟีแนนทรีนของกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ในอาหารเหลว CFMM

กลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่ใช้ในการทดลองนี้เป็นกลุ่มแบคทีเรียซึ่งคัดแยกจากใบจามจุรี มีความสามารถในการย่อยสลายไพรีนและฟีแนนทรีน ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ได้หมดภายในเวลา 14 วัน และยังสามารถย่อยสลายสารประกอบ PAHs ชนิดอื่นได้ เช่น อะซีแนพธีน ฟลูออรีน ฟีแนนทรีนและฟลูออแรนทีน (จิรทีปม์ แสนรัก, 2547) เนื่องจากกลุ่มแบคทีเรียนี้ถูกเก็บรักษาและถ่ายเชื้อต่อเนื่องมาเป็นเวลานานจึงอาจส่งผลต่อประสิทธิภาพการย่อยสลาย (Parekh และคณะ, 1995) ดังนั้นจึงจำเป็นต้องตรวจสอบความสามารถในการย่อยสลายไพรีนและฟีแนนทรีนโดยการเติมกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 จำนวน 10 log CFU/มล.ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงในอาหารเหลว CFMM ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ที่มีไพรีนและฟีแนนทรีนความเข้มข้นชนิดละ 0.05 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ชุดควบคุมคืออาหารเหลว CFMM ที่เติมเฉพาะไพรีนและฟีแนนทรีนแต่ไม่เติมกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 เขย่าและเก็บตัวอย่างเป็นเวลา 14 วัน เพื่อนับจำนวนกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 และวิเคราะห์ปริมาณไพรีนและฟีแนนทรีนที่เหลืออยู่ในอาหารเลี้ยงเชื้อ

จากผลการวิเคราะห์ปริมาณไพรีนและฟีแนนทรีนที่เหลืออยู่ โดยคิดเป็นเปอร์เซ็นต์เปรียบเทียบจากวันที่ 0 พบว่า กลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ยังคงมีความสามารถสูงในการย่อยสลายไพรีนและฟีแนนทรีนโดยปริมาณสารลดลงอย่างรวดเร็วจนไม่สามารถตรวจสอบได้ในวันที่ 3 และวันที่ 1 ของการทดลองตามลำดับ ในขณะที่ชุดควบมีปริมาณไพรีนเหลืออยู่ 95.25 เปอร์เซ็นต์และ ฟีแนนทรีน 91.03 เปอร์เซ็นต์ในวันที่ 14 ของการทดลอง สอดคล้องกับการเจริญของกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่มีการเพิ่มจำนวนสูงสุดเท่ากับ 10.35 log CFU/มล. ในวันที่ 7 หลังจากนั้นจำนวนกลุ่มแบคทีเรียจะลดลงเล็กน้อยจนสิ้นสุดการทดลอง (รูปที่ 4.1)

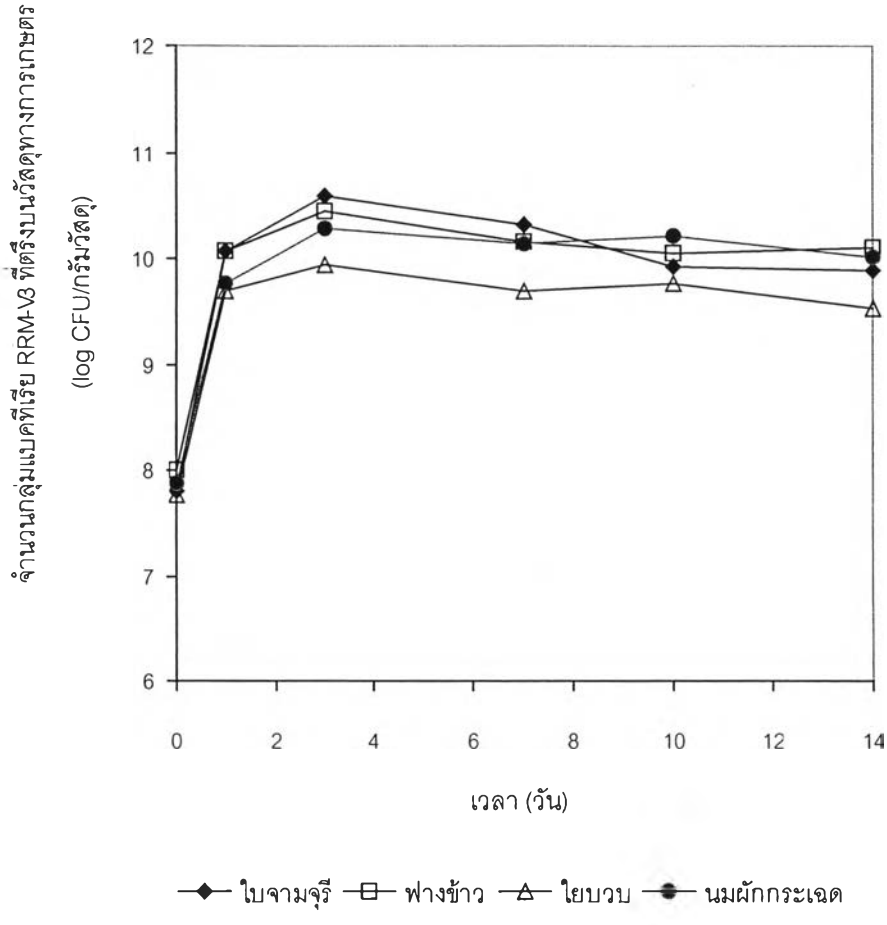


รูปที่ 4.1 **การย่อยสลายไพรีนและฟีแนนทรีนในอาหารเหลว** CFMM **โดยกลุ่มแบคทีเรีย** RRM-V3

4.3 การเตรียมกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่ตรึงบนวัสดุทางการเกษตร

นำวัสดุทางการเกษตรปลอดเชื้อทั้ง 4 ชนิด ได้แก่ ใบจามจุรี ฟางข้าว ใยบวบ และนมผักกระเฉด ชนิดละ 0.5 กรัม มาปรับค่าความชื้นเป็น 70% ของความจุสูงสุดของการอุ้มน้ำและความเป็นกรด-ด่างให้เป็น 6.5-7.0 เติมกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 จำนวนเชื้อเริ่มต้น 8 log CFU/มล.ผสมให้เข้ากัน บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส นาน 14 วัน และเก็บตัวอย่างในวันที่ 0, 1, 3, 7, 10 และ วันที่14 เพื่อตรวจนับจำนวนกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่สามารถเจริญได้บนวัสดุทางการเกษตรบนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง LB

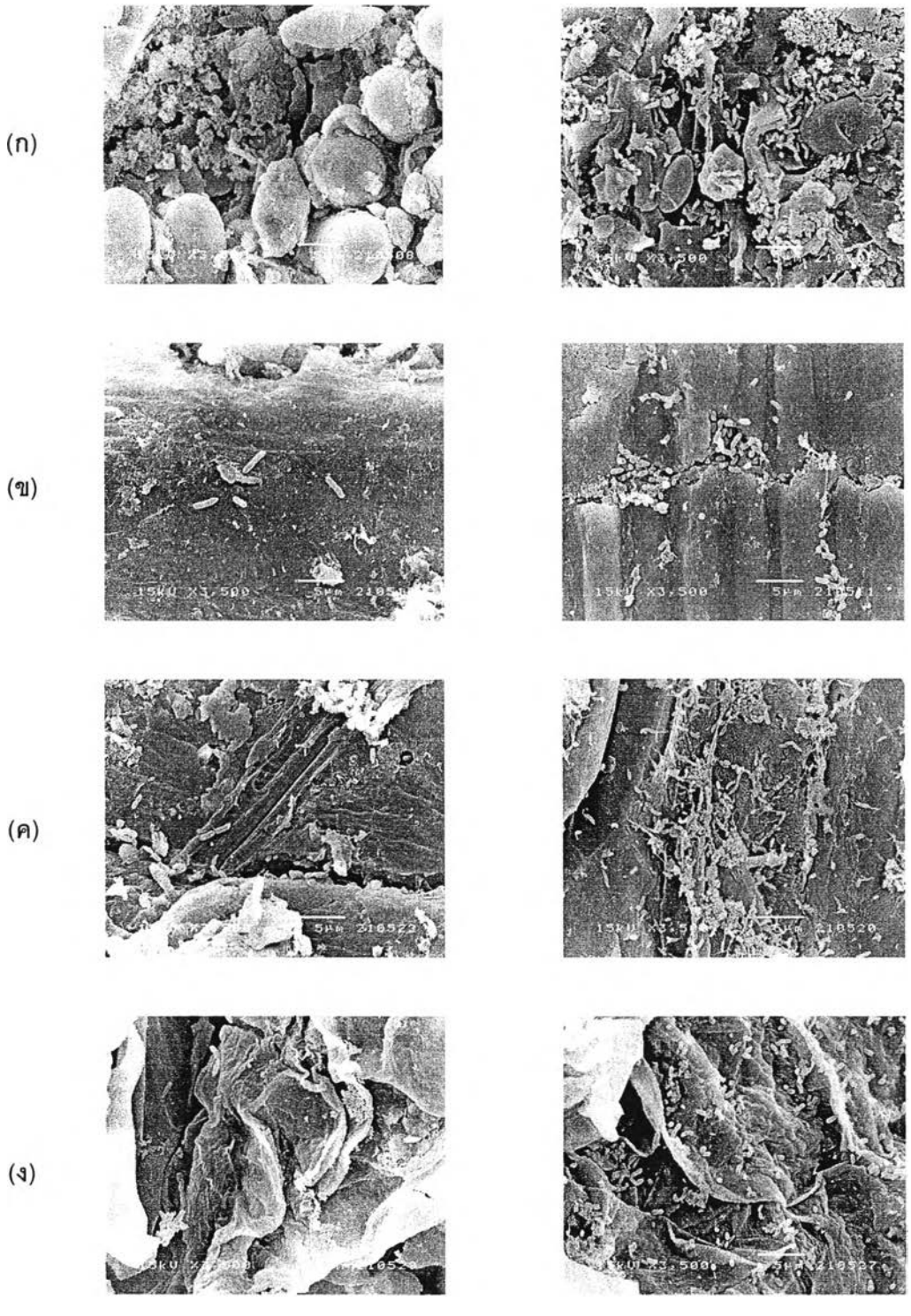
ผลการทดลองพบว่าจำนวนกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่ตรึงในวัสดุทางการเกษตร มีจำนวนเซลล์เริ่มต้นเท่ากับ 7.8, 8.0, 7.76 และ 7.88 log CFU/กรัมใบจามจุรี ฟางข้าง ใยบวบ และนมผักกระเฉดตามลำดับ เมื่อเก็บตัวอย่างที่เวลาต่างๆมาตรวจนับจำนวนแบคทีเรียทั้งหมดพบว่ากลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 มีจำนวนเพิ่มมากขึ้น โดยในวันที่ 3 ของการทดลอง มีจำนวนกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 สูงสุดในทุกวัสดุทางการเกษตร คือ 10.59, 10.45, 9.95 และ 10.29 log CFU/กรัมใบจามจุรี ฟางข้าว ใยบวบ และนมผักกระเฉด ตามลำดับ หลังจากนั้นจำนวนแบคทีเรียจะลดลงจนกระทั่งสิ้นสุดการทดลองเหลือจำนวนเซลล์แบคทีเรียในใบจามจุรี ฟางข้าว ใยบวบ และนมผักกระเฉดเป็น 9.89, 10.1, 9.53 และ 10.1 log CFU/กรัมวัสดุ ตามลำดับ จากการทดลองจะเห็นว่ากลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่ตรึงบนวัสดุทางการเกษตรปลอดเชื้อแต่ละชนิดมีความสามารถในการเจริญและเพิ่มจำนวนได้น่าจะเป็นผลจากการที่กลุ่มแบคทีเรียใช้สารอาหารต่างๆที่มีในวัสดุทางการเกษตรเป็นแหล่งคาร์บอนและพลังงานเพื่อการเจริญเติบโต ซึ่งใบจามจุรีเป็นวัสดุทางการเกษตรที่ให้ผลในการเจริญและการอยู่รอดของกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ได้สูงที่สุดเนื่องจากใบจามจุรีมีอัตราส่วนของคาร์บอนต่อไนโตรเจน (C:N ratio) ใกล้เคียงค่า 10:1 (รูปที่ 4.2)



รูปที่ 4.2 จำนวนกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่ตรึงบนวัสดุทางการเกษตร

4.3.1 การตรวจสอบกลุ่มแบคทีเรียที่ตรึงบนวัสดุทางการเกษตรโดยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราด (Scanning Electron Microscope; SEM)

เมื่อศึกษาลักษณะการเจริญของกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่ตรึงบนวัสดุทางการเกษตรแต่ละชนิด โดยผสมกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ในวัสดุทางการเกษตรปลอดเชื้อ เก็บตัวอย่างวันที่ 0 ซึ่งเป็นวันเริ่มต้นและวันที่ 3 ซึ่งเป็นวันที่มีจำนวนกลุ่มแบคทีเรียสูงที่สุด นำไปส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราด (Scanning Electron Microscope; SEM) ดำเนินการทดลองที่ศูนย์เครื่องมือวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย จากผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่าวันที่ 3 ของการทดลอง กลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 เจริญและมีจำนวนเพิ่มขึ้นในใบจามจุรี ฟางข้าว ใยบวบและนมผักกระเฉด และสามารถเจริญได้ทั้งบริเวณผิวภายนอกและภายในโครงสร้างของวัสดุทางการเกษตรทุกชนิด ดังนั้นจะใช้กลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่ตรึงบนวัสดุทางการเกษตรแต่ละชนิดเป็นเวลา 3 วัน เพื่อเป็นหัวเชื้อในการย่อยสลายสาร PAHs ที่ปนเปื้อนในอาหารเหลวและดินในการทดลองต่อไป (รูปที่ 4.3)



รูปที่ 4.3 ลักษณะการเจริญของกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่ตรึงบนใบจามจุรีปลอดเชื้อ (ก) ฟางข้าวปลอดเชื้อ (ข) ใยบวบปลอดเชื้อ (ค) และนมผักกระเฉดปลอดเชื้อ (ง) วันที่ 0 (ด้านซ้าย) และวันที่ 3 (ด้านขวา) ภายใต้กำลังขยาย 3,500 เท่า

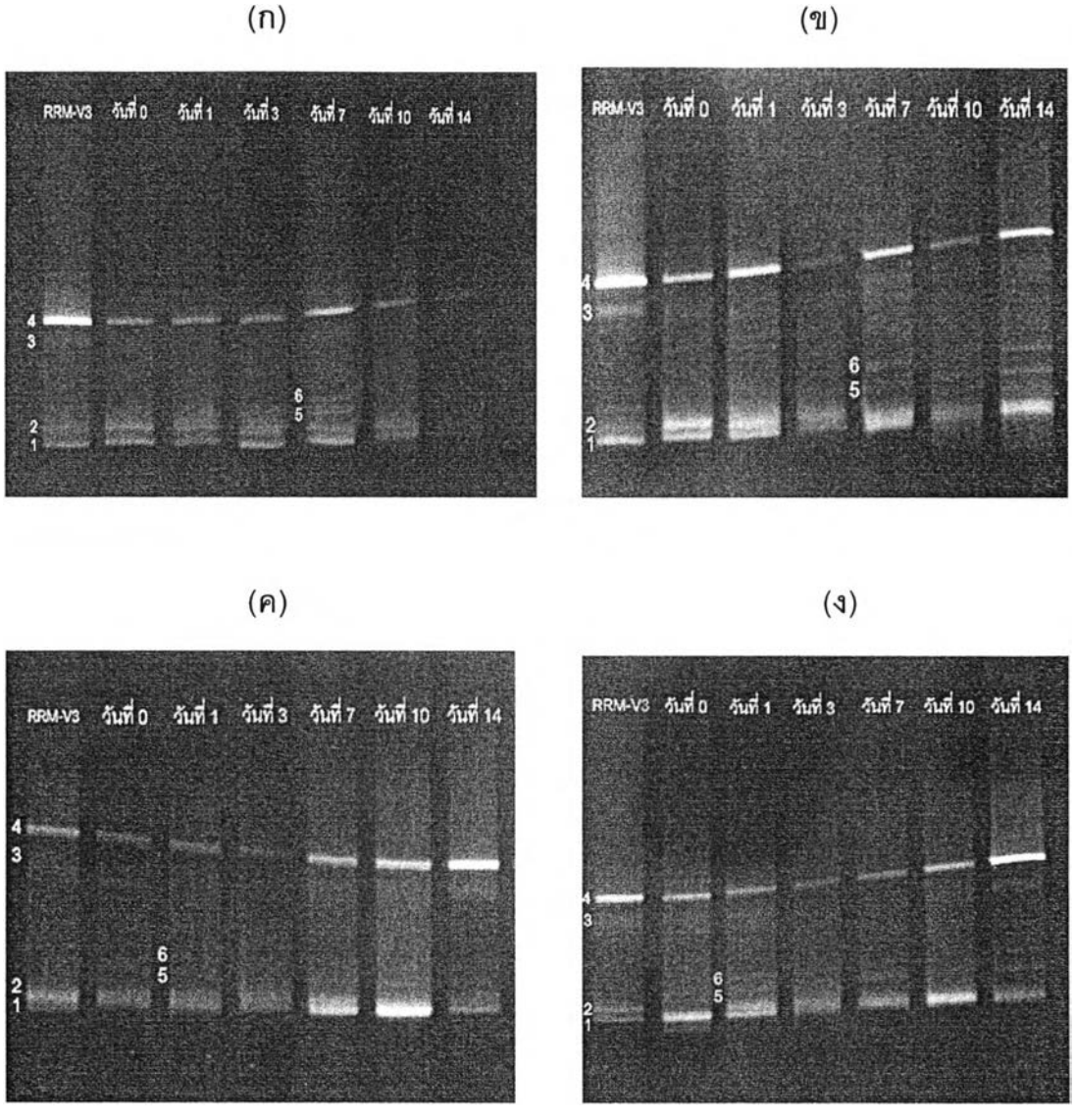
4.3.2 การติดตามพลวัตรประชากรกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่ตรึงบนวัสดุทางการเกษตรโดยวิธี Denaturing Gradient Gel Electrophoresis (DGGE)

เมื่อติดตามการเปลี่ยนแปลงพลวัตรประชากรกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่ตรึงบนใบจามจุรี ฟางข้าว ใยบวบและนมผักกระเฉดปลอดเชื้อโดยใช้ใช้เทคนิค DGGE ในพอลิอะคริลาไมด์เจลที่มี 40 - 70% denaturant ในชุดควบคุมกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่เลี้ยงในอาหารเหลวพบว่ามีแถบดีเอ็นเอ 4 แถบ ดังแสดงด้วยหมายเลข 1, 2, 3, 4 ในรูปที่ 4.4ก (ช่องวิ่งที่ 1) เมื่อติดตามการเปลี่ยนแปลงประชากร กลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ตรึงในใบจามจุรี พบว่าวันที่ 0 ของการตรึงมีแถบดีเอ็นเอเกิดขึ้น 4 แถบ ตรงกับแถบดีเอ็นเอของกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่ใช้เป็นชุดควบคุมผลบวก วันที่ 7 ของการตรึง มีแถบดีเอ็นเอเพิ่มขึ้น 2 แถบคือแถบที่ 5 และ 6 วันที่ 10 ของการตรึง แถบดีเอ็นเอทั้งสองนี้จะหายไปคงเหลือแถบดีเอ็นเอทั้งหมดในโปรไฟล์ของ DGGE 4 แถบ ซึ่งในวันที่ 14 ของการตรึงแถบดีเอ็นเอมีความจางมากที่สุด

เมื่อติดตามการเปลี่ยนแปลงประชากรกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่ตรึงในฟางข้าวปลอดเชื้อ พบว่าวันที่ 0 ของการตรึงมีแถบดีเอ็นเอเกิดขึ้นตรงกับแถบดีเอ็นเอของกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่เป็นชุดควบคุมผลบวก ดังแสดงในรูปที่ 4.4ข วันที่ 7 ของการตรึง มีแถบดีเอ็นเอเพิ่มขึ้น 2 แถบในโปรไฟล์ของ DGGE คือแถบที่ 5 และ 6 แถบดีเอ็นเอทั้งสองที่เกิดขึ้นนี้ยังคงอยู่ตลอดช่วงเวลาของการทดลอง ซึ่งในวันที่ 3 แถบดีเอ็นเอมีความเข้มน้อยที่สุด และวันที่ 14 มีความเข้มของแถบดีเอ็นเอมากที่สุด ในขณะที่ผลการเจริญของกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 สูงที่สุดในวันที่ 3

การเปลี่ยนแปลงประชากรกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่ตรึงในใยบวบปลอดเชื้อ พบว่า วันที่ 0 มีแถบดีเอ็นเอเกิดขึ้นตรงกับแถบดีเอ็นเอของกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่เป็นชุดควบคุมผลบวก ดังแสดงในรูปที่ 4.4ค วันที่ 1 ของการตรึง มีแถบดีเอ็นเอแถบที่ 5 และ 6 เพิ่มขึ้นในโปรไฟล์ของ DGGE แถบดีเอ็นเอทั้งสองนี้จะหายไปในวันที่ 3 และ 7 และปรากฏแถบดีเอ็นเอแถบที่ 5 อีกครั้งในวันที่ 10 ของการตรึงและคงอยู่ตลอดช่วงการทดลอง โดยมีความเข้มของแถบดีเอ็นเอแต่ละแถบเพิ่มขึ้นและลดลงแตกต่างกันในแต่ละวัน

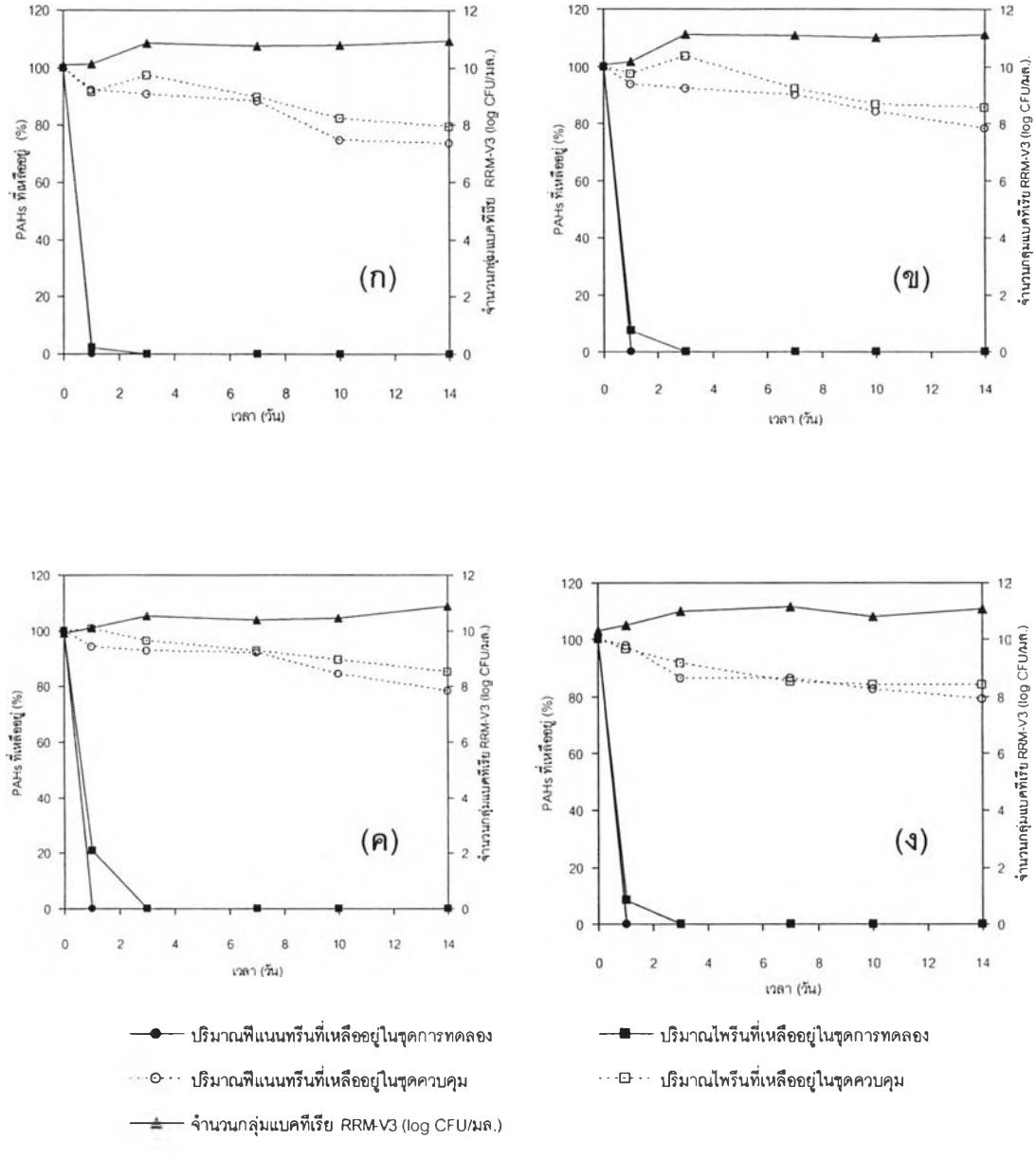
เมื่อติดตามการเปลี่ยนแปลงประชากรกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่ตรึงในนมผักกระเฉด พบว่าวันที่ 0 มีแถบดีเอ็นเอเกิดขึ้นตรงกับแถบดีเอ็นเอของกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่เป็นชุดควบคุมผลบวก ดังแสดงในรูปที่ 4.4ง วันที่ 1 ของการตรึงมีแถบดีเอ็นเอเพิ่มขึ้น 2 แถบในโปรไฟล์ของ DGGE คือแถบที่ 5 และ 6 แถบดีเอ็นเอทั้งสองที่เกิดขึ้นนี้ยังคงมีอยู่ตลอดช่วงเวลาของการทดลอง ซึ่งความเข้มของแถบดีเอ็นเอในวันที่ 3 ของการตรึงมีความจางมากที่สุด ในขณะที่การเจริญของกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 เพิ่มขึ้นสูงที่สุด และน้อยที่สุดในวันที่ 14 ของการทดลอง



รูปที่ 4.4 พลวัตรประชากรกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่ตรึงในใบจามจุรี (ก) ฟางข้าว (ข) ใยบวบ (ค) และนมผักกระเฉดปลอดเชื้อ (ง) ที่เวลาต่าง ๆโดยวิธี DGGE ในพอลิอะคริลาไมด์เจลที่มี 40 - 70% denaturant แถบดีเอ็นเอหมายเลข 1-6 แสดงสายพันธุ์แบคทีเรียที่พบ

4.4 การย่อยสลายไพรีนและฟีแนนทรีนของกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่ตรึงบนวัสดุทางการเกษตรในอาหารเหลว CFMM

ทดสอบความสามารถในการย่อยสลายไพรีนและฟีแนนทรีนของกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่ตรึงบนใบจามจุรี ฟางข้าว ใยบวบและนมผักกระเฉด โดยนำกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ผสมกับวัสดุทางการเกษตรปลอดเชื้อแต่ละชนิด ที่ปรับความชื้นและความเป็นกรดด่างแล้ว บ่มและเก็บตัวอย่างวันที่ 3 ซึ่งเป็นวันที่กลุ่มแบคทีเรียเจริญเพิ่มจำนวนสูงที่สุด คือมีจำนวนกลุ่มแบคทีเรียประมาณ 10 log CFU/กรัมวัสดุ เติมอาหารเหลว CFMM ปริมาตร 5 มิลลิลิตรที่มีไพรีนและ ฟีแนนทรีนความเข้มข้นชนิดละ 0.05 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เขย่าและเก็บตัวอย่างเป็นเวลา 14 วัน เก็บตัวอย่างในวันที่ 0, 1, 3, 7, 10 และ วันที่ 14 ของการทดลอง จากผลการวิเคราะห์ปริมาณไพรีนและฟีแนนทรีนที่เหลืออยู่โดยคิดเป็นเปอร์เซ็นต์เปรียบเทียบจากวันที่ 0 พบว่า ปริมาณไพรีนและฟีแนนทรีนลดลงอย่างรวดเร็วจนหมดในวันที่ 3 และ วันที่ 1 ตามลำดับในทุกวัสดุ สอดคล้องกับผลการตรวจนับจำนวนกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่ตรึงกับใบจามจุรี ฟางข้าว ใยบวบ และนมผักกระเฉด ในอาหารเลี้ยงเชื้อ CFMM ซึ่งมีจำนวนเชื้อเริ่มต้นเท่ากับ 10.11, 10.07, 9.92 และ 10.32 log CFU/มล. ตามลำดับ กลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 มีจำนวนเพิ่มขึ้นสูงสุดในวันที่ 14 ของการทดลองโดยมีจำนวนเท่ากับ 10.93, 11.13, 10.88 และ 11.07 log CFU/มล. ตามลำดับ ในขณะที่ชุดควบคุมที่ใช้เฉพาะวัสดุทางการเกษตรปลอดเชื้อเพื่อศึกษาการสลายของสาร PAHs เมื่อไม่มีปัจจัยทางชีวภาพมาเกี่ยวข้อง มีการสลายตัวของไพรีนคงเหลือ 79.37, 85.37, 85.24 และ 84.23 เปอร์เซ็นต์ และมีฟีแนนทรีนคงเหลือ 74.43, 78.01, 78.42 และ 79.13 เปอร์เซ็นต์ ในอาหารเหลว CFMM ที่เติมใบจามจุรี ฟางข้าว ใยบวบ และนมผักกระเฉด ตามลำดับในวันที่ 14 ของการทดลอง แสดงให้เห็นว่ากลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่เลี้ยงบนวัสดุทางการเกษตรสามารถย่อยสลายไพรีนและฟีแนนทรีนเพื่อใช้เป็นแหล่งคาร์บอนในการเจริญได้ ดังแสดงในรูป 4.5



รูปที่ 4.5 การย่อยสลายไพรีนและฟีแนนทรีนในอาหารเหลว CFMM โดยกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่ตรึงในใบจามจุรี (ก) ฟางข้าว (ข) ใยบวบ (ค) และนมผักกระเฉด (ง)

4.5 ลักษณะทางกายภาพและองค์ประกอบทางเคมีของดิน

ตัวอย่างดินที่ใช้ในการทดลองเก็บจากสวนผลไม้ อ.พระประแดง จังหวัดสมุทรปราการ มีสีน้ำตาลเข้มค่อนข้างดำ และดินจากบริเวณอู่ซ่อมรถ อ. พระสมุทรเจดีย์ จังหวัดสมุทรปราการ มีสีดำ เมื่อตรวจสอบการปนเปื้อนของสาร PAHs ในดินโดยการวิเคราะห์ด้วยวิธี GC พบว่าดินสวนผลไม้ไม่มีการปนเปื้อนของไพรีนและฟีแนนทรีน ส่วนดินจากอู่ซ่อมรถมีการปนเปื้อนของไพรีน 8.97 ± 0.9 มิลลิกรัม/กิโลกรัมดิน และฟีแนนทรีน 7.18 ± 1.3 มิลลิกรัม/กิโลกรัมดิน ผลการวิเคราะห์ลักษณะทางกายภาพและองค์ประกอบทางเคมีของดินจากการส่งตัวอย่างวิเคราะห์ที่ฝ่ายวิเคราะห์ดินและน้ำ กองเกษตรเคมี กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ และภาควิชาปฐพีวิทยา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ ดังแสดงในตารางที่ 4.2

ตารางที่ 4.2 ลักษณะทางกายภาพและองค์ประกอบทางเคมีของดิน

พารามิเตอร์	ผลการวิเคราะห์	
	ดินสวน	ดินอู่ซ่อมรถ
ลักษณะดิน	ดินเหนียว	ดินร่วนปนทราย
Sand (%)	11.4	78.2
Silt (%)	33.6	12.4
Clay (%)	55.0	9.4
ค่าความจุการอุ้มน้ำ (%)	71.16	37.73
ค่าความเป็นกรด ด่าง	4.1	7.5
ปริมาณสารอินทรีย์ (%)	3.49	9.3
ปริมาณสารอินทรีย์คาร์บอน (%)	2.03	5.39
ปริมาณไนโตรเจน (%)	0.17	0.465
ปริมาณฟอสฟอรัส (ppm)	518	233
ปริมาณโพแทสเซียม (ppm)	172	70
อัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน	11.94	12
ฟีแนนทรีน (มก./กิโลกรัมดิน)	0	8.97 ± 0.9
ไพรีน (มก./กิโลกรัมดิน)	0	7.18 ± 1.3

4.6 การย่อยสลายไพรีนและฟีแนนทรีนความเข้มข้น 0.05 มก./กรัมดิน ในดินสวน

จากการทดสอบการย่อยสลายไพรีนและฟีแนนทรีนในอาหารเหลว CFMM ของกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่ตรึงบนวัสดุทางการเกษตรพบว่ามีประสิทธิภาพการย่อยสลายสาร PAHs ทั้งสองชนิดได้ดี ดังนั้นในขั้นตอนนี้จึงทำการทดสอบการย่อยสลายไพรีนและฟีแนนทรีนที่ปนเปื้อนในดิน เพื่อเป็นแนวทางในการบำบัดดินที่ปนเปื้อนสาร PAHs ในพื้นที่จริงต่อไป

ศึกษาการย่อยสลายไพรีนและฟีแนนทรีนในดินโดยกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่เตรียมเป็นหัวเชื้อ 2 ชนิด ดังนี้

ก. หัวเชื้อกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่ตรึงบนวัสดุทางการเกษตรแต่ละชนิด

ข. หัวเชื้อกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ในอาหารเหลว CFMM

ดินที่ใช้ในการทดลองเป็นดินจากสวนผลไม้ที่ไม่ผ่านการปนเปื้อนจากสาร PAHs มาก่อนซึ่งศึกษาลักษณะทางกายภาพและองค์ประกอบทางเคมีของดินแล้วดังแสดงในตารางที่ 4.2

ทดสอบการย่อยสลายไพรีนและฟีแนนทรีนในดินโดยแบ่งเป็นชุดการทดลองดังนี้

ชุดควบคุมที่ 1	ดินปลอดเชื้อผสมกับไพรีนและฟีแนนทรีนเพื่อศึกษาการสลายของ PAHs เมื่อไม่มีปัจจัยทางชีวภาพจากดิน
ชุดควบคุมที่ 2	ดินไม่ปลอดเชื้อผสมกับไพรีนและฟีแนนทรีน เพื่อศึกษาการลดลงของ PAHs เมื่อมีปัจจัยทางชีวภาพจากดิน
ชุดควบคุมที่ 3	ดินไม่ปลอดเชื้อผสมกับไพรีนและฟีแนนทรีน และวัสดุทางการเกษตรปลอดเชื้อแต่ละชนิด เพื่อศึกษาผลของวัสดุทางการเกษตรต่อจุลินทรีย์ในดินที่สามารถย่อยสลายสาร PAHs ได้
ชุดการทดลองที่ 1	ดินไม่ปลอดเชื้อผสมไพรีนและฟีแนนทรีน และผสมหัวเชื้อกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่เตรียมในอาหารเหลว CFMM ตามข้อ ข.
ชุดการทดลองที่ 2	ดินไม่ปลอดเชื้อผสมไพรีนและฟีแนนทรีน และผสมหัวเชื้อกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่ตรึงบนวัสดุทางการเกษตรแต่ละชนิดตามข้อ ก.

4.6.1 การย่อยสลายไพรีนและฟีแนนทรีนในดินสวนโดยใช้หัวเชื้อกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่ตรึงบนใบจามจุรี

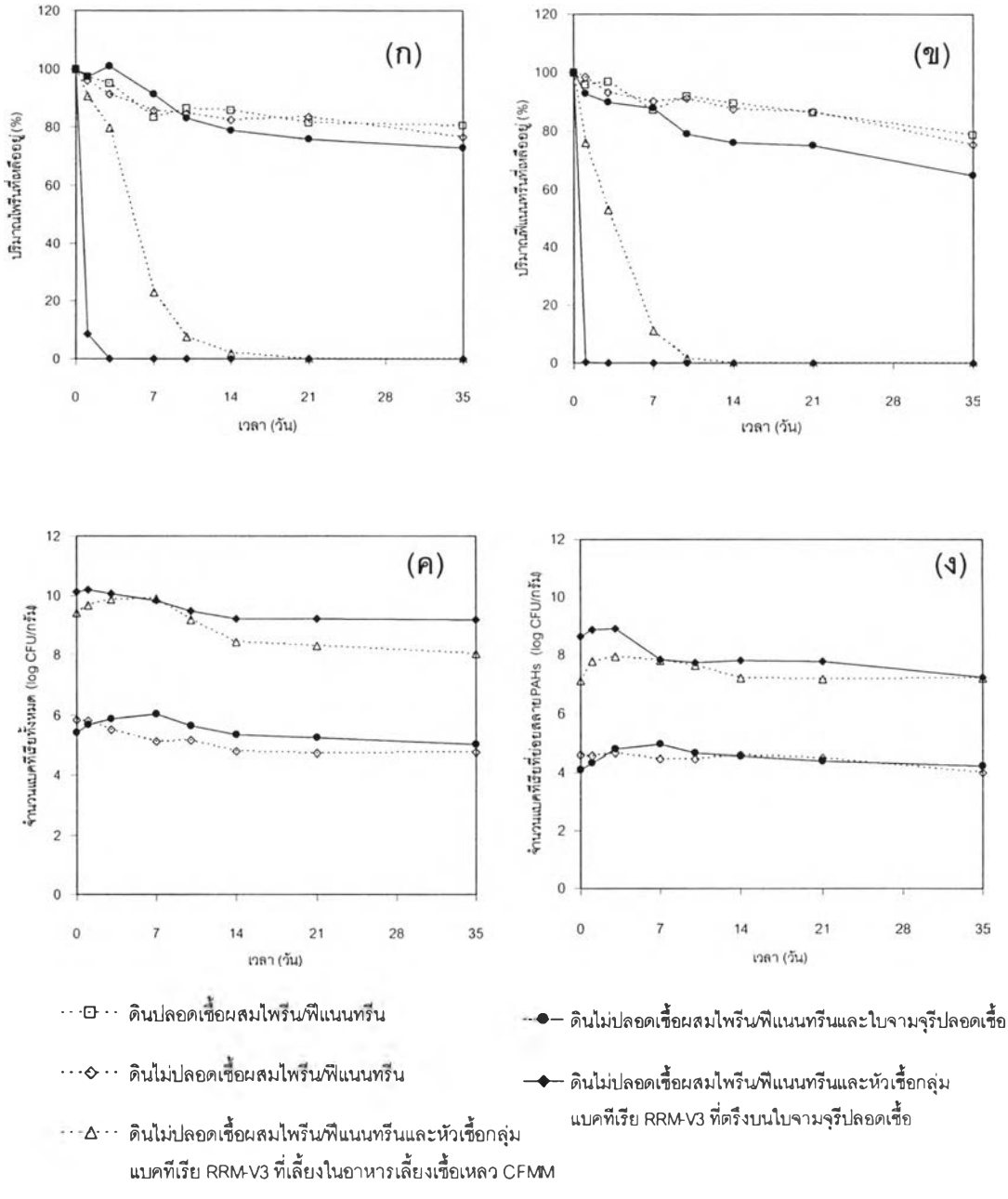
ทดสอบการย่อยสลายไพรีนและฟีแนนทรีน ความเข้มข้น 0.05 มก./กรัมดิน ที่ผสมในดินสวนไม่ปลอดเชื้อโดยหัวเชื้อกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่ตรึงบนใบจามจุรี เพื่อศึกษาการย่อยสลายสาร PAHs ในตัวอย่างดินและการรอดชีวิตของกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ผลการทดลองดังแสดงในรูปที่ 4.6 และตารางที่ 4.3ก-ค ชุดควบคุมที่ 1 ใช้ดินปลอดเชื้อผสมไพรีนและฟีแนนทรีน เพื่อศึกษาการลดลงของสาร PAHs โดยปัจจัยทางกายภาพ มีการลดลงของไพรีนและฟีแนนทรีนเหลือ 80.57 และ 78.42 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในชุดควบคุมที่ 2 ดินไม่ปลอดเชื้อผสมไพรีนและฟีแนนทรีนเพื่อศึกษาการลดลงของสาร PAHs โดยปัจจัยทางกายภาพและชีวภาพจากดิน พบว่ามีการลดลงของไพรีนและฟีแนนทรีนเหลือ 76.57 และ 75.37 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เมื่อตรวจนับจำนวนแบคทีเรียทั้งหมดในชุดควบคุมที่ 2 พบว่ามีค่าเท่ากับ log 4.76 CFU/กรัม และจำนวนแบคทีเรียที่สามารถย่อยสลายไพรีนและฟีแนนทรีนได้มีค่าเท่ากับ log 4.0 CFU/กรัม ซึ่งจะเห็นว่าปริมาณไพรีนและฟีแนนทรีนในดินปลอดเชื้อและดินไม่ปลอดเชื้อมีปริมาณแตกต่างกันค่อนข้างน้อย แสดงว่าปัจจัยทางชีวภาพในดินมีผลต่อการย่อยสลายไพรีนและฟีแนนทรีนเพียงเล็กน้อยเท่านั้น

ในชุดการทดลองที่เติมหัวเชื้อกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่ตรึงบนใบจามจุรีลงในดินไม่ปลอดเชื้อที่ผสมไพรีนและฟีแนนทรีน พบว่าปริมาณสาร PAHs ทั้งสองชนิดลดลงอย่างรวดเร็ว ในวันที่ 1 ของการทดลองมีปริมาณไพรีนและฟีแนนทรีนเหลืออยู่เพียง 8.41 และ 0.32 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และลดลงจนหมดในวันที่ 3 ของการทดลอง จำนวนแบคทีเรียทั้งหมดในดินวันที่ 0 มีค่าเท่ากับ log 10.1 CFU/กรัม มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเล็กน้อยและจะลดลงเท่ากับ log 9.18 CFU/กรัม ในวันที่ 35 จำนวนแบคทีเรียที่สามารถย่อยสลายไพรีนและฟีแนนทรีนได้มีค่าเท่ากับ log 8.64 CFU/กรัม วันที่ 0 มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเล็กน้อยและลดลงเท่ากับ log 7.25 CFU/กรัม ในวันที่ 35

เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ 3 ซึ่งเติมเฉพาะใบจามจุรีปลอดเชื้อที่ไม่มีกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 เพื่อศึกษาผลของใบจามจุรีต่อจุลินทรีย์ในดินที่สามารถย่อยสลายสาร PAHs ได้ พบว่าปริมาณฟีแนนทรีนมีค่าลดลงจากวันแรกของการทดลอง มีปริมาณไพรีนและฟีแนนทรีนเหลืออยู่ 72.9 และ 64.72 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในวันที่ 35 ผลการตรวจนับจำนวนแบคทีเรียทั้งหมดในดินวันที่ 0 มีค่าเท่ากับ log 5.4 CFU/กรัม และเพิ่มจำนวนสูงสุดในวันที่ 7 มีค่าเท่ากับ log 6.01 CFU/กรัม และลดลงเหลือ log 5.02 CFU/กรัม ในวันที่ 35 จำนวนแบคทีเรียที่สามารถย่อยสลายไพรีนและฟีแนนทรีนได้มีค่าเท่ากับ log 4.1 CFU/กรัม ในวันที่ 0 และเพิ่มจำนวนสูงสุดในวันที่ 7 มีค่าเท่ากับ log 4.95 CFU/กรัม และลดลงเหลือ log 4.21 CFU/กรัม ในวันที่ 35 ซึ่งจะเห็นว่าใบจามจุรีที่เติมลงไปน่าจะมีผลทำให้แบคทีเรียในดินที่สามารถย่อยสลายฟีแนนทรีนเจริญและใช้ฟีแนนทรีนได้เพียงอย่างเดียวเท่านั้น

ดังจะเห็นได้จากปริมาณฟีแนนทรีนที่เหลืออยู่ในชุดที่เติมใบจามจุรีปลอดเชื้อมีค่าน้อยกว่าดินไม่ปลอดเชื้อที่ไม่เติมใบจามจุรี ส่วนปริมาณไพรีนมีค่าใกล้เคียงกันทั้งสองชุด

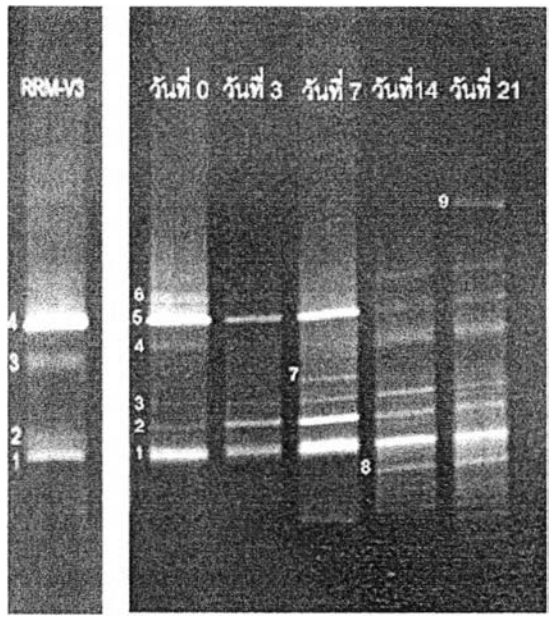
ในชุดการทดลองที่เติมหัวเชื้อกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่เตรียมในอาหารเหลว CFMM ลงในดินที่ผสมไพรีนและฟีแนนทรีน ความเข้มข้นชนิดละ 0.05 มิลลิกรัมต่อกรัมดิน พบว่าปริมาณไพรีนและฟีแนนทรีนลดลงอย่างรวดเร็ว โดยมีไพรีนและฟีแนนทรีนเหลืออยู่ 7.72 และ 1.64 เปอร์เซ็นต์ ในวันที่ 10 ของการทดลอง และไม่สามารถตรวจพบไพรีนและฟีแนนทรีนได้ในวันที่ 14 และ 21 ตามลำดับ จำนวนแบคทีเรียทั้งหมดในดินวันที่ 0 มีค่าเท่ากับ log 9.4 CFU/กรัม และเพิ่มสูงสุดในวันที่ 3 มีค่าเท่ากับ log 9.86 CFU/กรัม จากนั้นจะมีจำนวนลดลงจนกระทั่งสิ้นสุดการทดลองในวันที่ 35 ซึ่งมีค่าเท่ากับ log 9.02 CFU/กรัม ส่วนจำนวนแบคทีเรียที่สามารถย่อยสลายไพรีนและฟีแนนทรีนได้วันที่ 0 มีค่าเท่ากับ log 7.1 CFU/กรัม และเพิ่มสูงสุดในวันที่ 3 มีค่าเท่ากับ log 7.95 CFU/กรัม จากนั้นจะมีจำนวนลดลงมีค่าเท่ากับ log 7.21 CFU/กรัม ในวันที่ 35



รูปที่ 4.6 **ปริมาณไพรีน(ก) และฟีแนนทรีน(ข)ที่เหลืออยู่ จำนวนแบคทีเรียทั้งหมด(ค) และจำนวนแบคทีเรียที่สามารถย่อยสลาย** PAHs **(ง) ระหว่างการย่อยสลายไพรีน/ฟีแนนทรีน ความเข้มข้น** 0.05 **มก./กรัมดินสวนโดยหัวเชื้อกลุ่มแบคทีเรีย** RRM-V3 **ที่ตรึงบนใบจามจุรี**

4.6.1.1 การติดตามพลวัตรประชากรกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ในช่วงเวลาของการบำบัดสาร PAHs ในดินสวนด้วยวิธี Denaturing Gradient Gel Electrophoresis (DGGE)

ติดตามพลวัตรประชากรกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ในช่วงเวลาการบำบัดสาร PAHs ในดินสวนที่ผสมหัวเชื้อกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่ตรึงบนใบจามจุรีปลอดเชื้อ ซึ่งเป็นวัสดุทางการเกษตรที่ให้ผลการบำบัดดินที่ปนเปื้อนไพรีนและฟีแนนทรีนความเข้มข้น 0.05 มิลลิกรัมต่อกรัมดินได้ดีที่สุด จากข้อ 4.5.1 ผลจากการติดตามพลวัตรประชากรกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ในช่วงเวลาของการบำบัด ในพอลิอะคริลาไมด์เจลที่มี 40 - 70% denaturant ดังแสดงในรูป 4.7 เมื่อเริ่มต้นการทดลองมีแถบดีเอ็นเอเกิดขึ้น 6 แถบในโปรไฟล์ของ DGGE โดยแถบที่ 1,2, 4 และ 5 มีตำแหน่งตรงกับแถบดีเอ็นเอของกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่เป็นชุดควบคุมผลบวก วันที่ 7 ของการบำบัดมีแถบดีเอ็นเอแถบที่ 7 เพิ่มขึ้น 1 แถบ และแถบดีเอ็นเอแถบที่ 2 และ 4 มีความเด่นชัดมากขึ้น วันที่ 14 มีแถบดีเอ็นเอแถบที่ 8 เพิ่มขึ้นและคงอยู่ตลอดช่วงการบำบัด วันที่ 21 ของการบำบัดแถบดีเอ็นเอในโปรไฟล์ของ DGGE เริ่มจางลง แต่ยังคงมีแถบดีเอ็นเอที่ตรงกับชุดควบคุมผลบวกปรากฏอยู่ แสดงให้เห็นว่ายังคงมีกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 อยู่ในดินตลอด 21 วัน ของช่วงการบำบัด ซึ่งแถบดีเอ็นเอมีความโดดเด่นมากที่สุดในวันที่ 7 ในขณะการย่อยสลายไพรีนและฟีแนนทรีนและการเจริญของกลุ่มแบคทีเรียที่มีความสามารถในการย่อยสลายสาร PAHs เพิ่มสูงสุดในวันที่ 3 ของการทดลอง

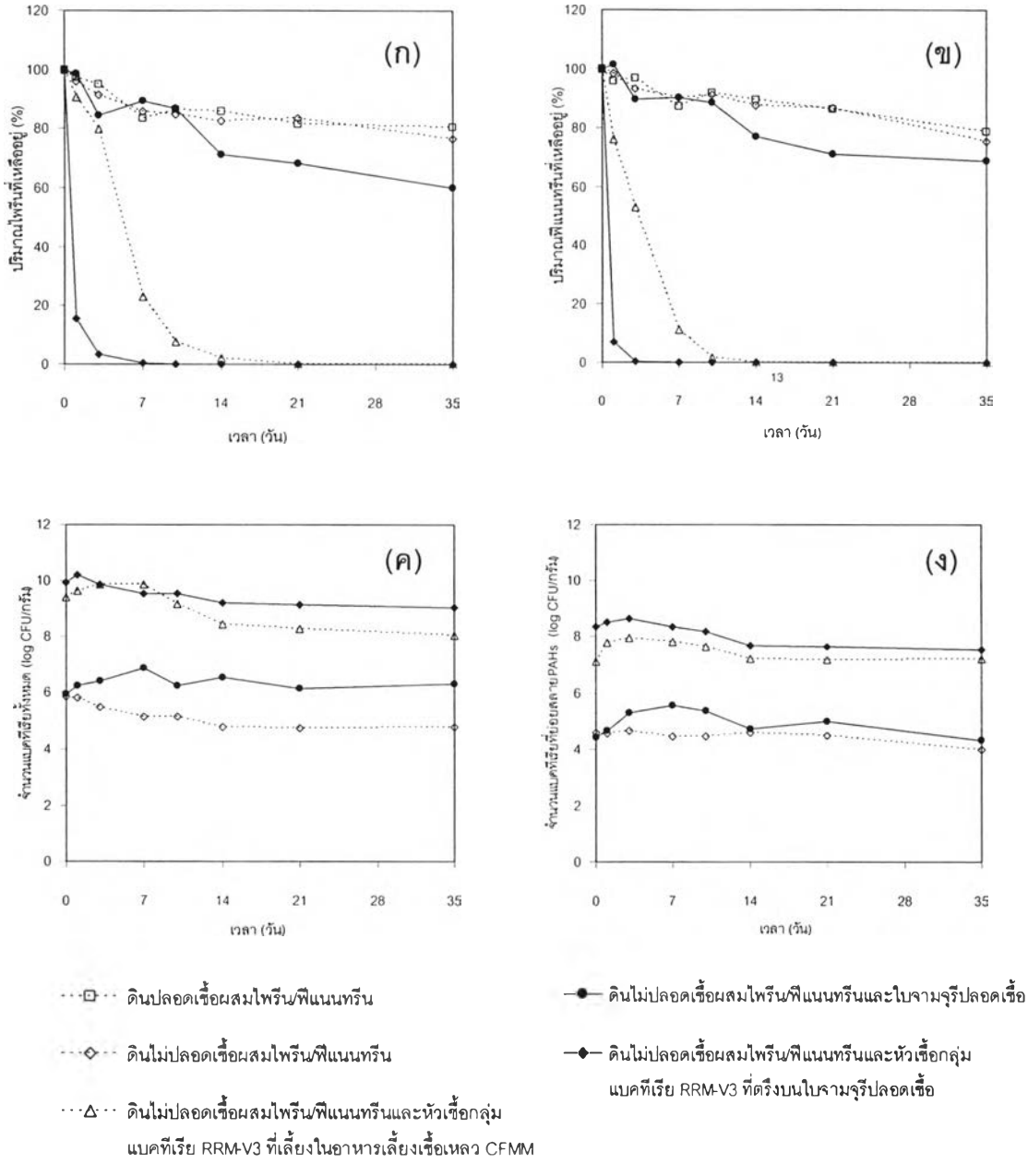


รูปที่ 4.7 พลวัตรประชากรของแบคทีเรียระหว่างการบำบัดไพรีนและฟีแนนทรีนความเข้มข้น 0.05 มก./กรัม ในดินสวนโดยหัวเชื้อกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่ตรึงบนใบจามจุรี

4.6.2 การย่อยสลายไพรีนและฟีแนนทรีนในดินสวนโดยใช้หัวเชื้อกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่ตรึงบนฟางข้าว

การทดสอบการย่อยสลายไพรีนและฟีแนนทรีน ความเข้มข้น 0.05 มก./กรัมดิน ที่ผสมในดินสวนไม่ปลอดเชื้อโดยหัวเชื้อกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่ตรึงบนฟางข้าว ดังแสดงในรูปที่รูปที่ 4.8 และตารางที่ 4.3ก-ค พบว่าปริมาณสาร PAHs ทั้งสองชนิดลดลงอย่างรวดเร็ว ในวันที่ 3 ของการทดลองมีปริมาณไพรีนและฟีแนนทรีนเหลืออยู่เพียง 3.23 และ 0.32 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ และปริมาณฟีแนนทรีนลดลงจนหมดในวันที่ 7 ส่วนไพรีนลดลงจนหมดในวันที่ 10 ของการทดลอง จำนวนแบคทีเรียทั้งหมดในดินวันที่ 0 มีค่าเท่ากับ log 9.94 CFU/กรัม มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเล็กน้อยและจะลดลงเท่ากับ log 9.04 CFU/กรัม ในวันที่ 35 ส่วน จำนวนแบคทีเรียที่สามารถย่อยสลายไพรีน และฟีแนนทรีนได้วันที่ 0มีค่าเท่ากับ log 8.35 CFU/กรัม มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเล็กน้อยและลดลงเท่ากับ log 7.54 CFU/กรัมในวันที่ 35 ของการทดลอง

เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ 3 ซึ่งเติมเฉพาะฟางข้าวปลอดเชื้อที่ไม่มีกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 เพื่อศึกษาผลของฟางข้าวต่อจุลินทรีย์ในดินที่สามารถย่อยสลายสาร PAHs ได้ พบว่าปริมาณไพรีนและฟีแนนทรีนมีค่าลดลงจากวันแรกของการทดลอง ในวันที่ 35 มีปริมาณไพรีนและฟีแนนทรีนเหลืออยู่ 59.9 และ 68.85เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ผลการตรวจนับจำนวนแบคทีเรียทั้งหมดในดินวันที่ 0 มีค่าเท่ากับ log 5.93 CFU/กรัม และเพิ่มจำนวนสูงสุดในวันที่ 7 มีค่าเท่ากับ log 6.86 CFU/กรัม และลดลงเหลือ log 6.35 CFU/กรัม ในวันที่ 35 จำนวนแบคทีเรียที่สามารถย่อยสลายไพรีนและฟีแนนทรีนได้มีค่าเท่ากับ log 4.43 CFU/กรัม ในวันที่ 0 และเพิ่มจำนวนสูงสุดในวันที่ 7 มีค่าเท่ากับ log 5.54 CFU/กรัม และลดลงเหลือ log 4.32 CFU/กรัม ในวันที่ 35 ซึ่งจะเห็นว่าฟางข้าวที่เติมลงไปน่าจะมีผลทำให้แบคทีเรียในดินที่สามารถย่อยสลายไพรีนและฟีแนนทรีนเจริญและใช้สาร PAHs ทั้งสองชนิดได้ ดังจะเห็นได้จากปริมาณไพรีนและฟีแนนทรีนที่เหลืออยู่ในชุดที่เติมฟางข้าวปลอดเชื้อมีค่าน้อยกว่าในชุดดินปลอดเชื้อที่ไม่เติมฟางข้าว

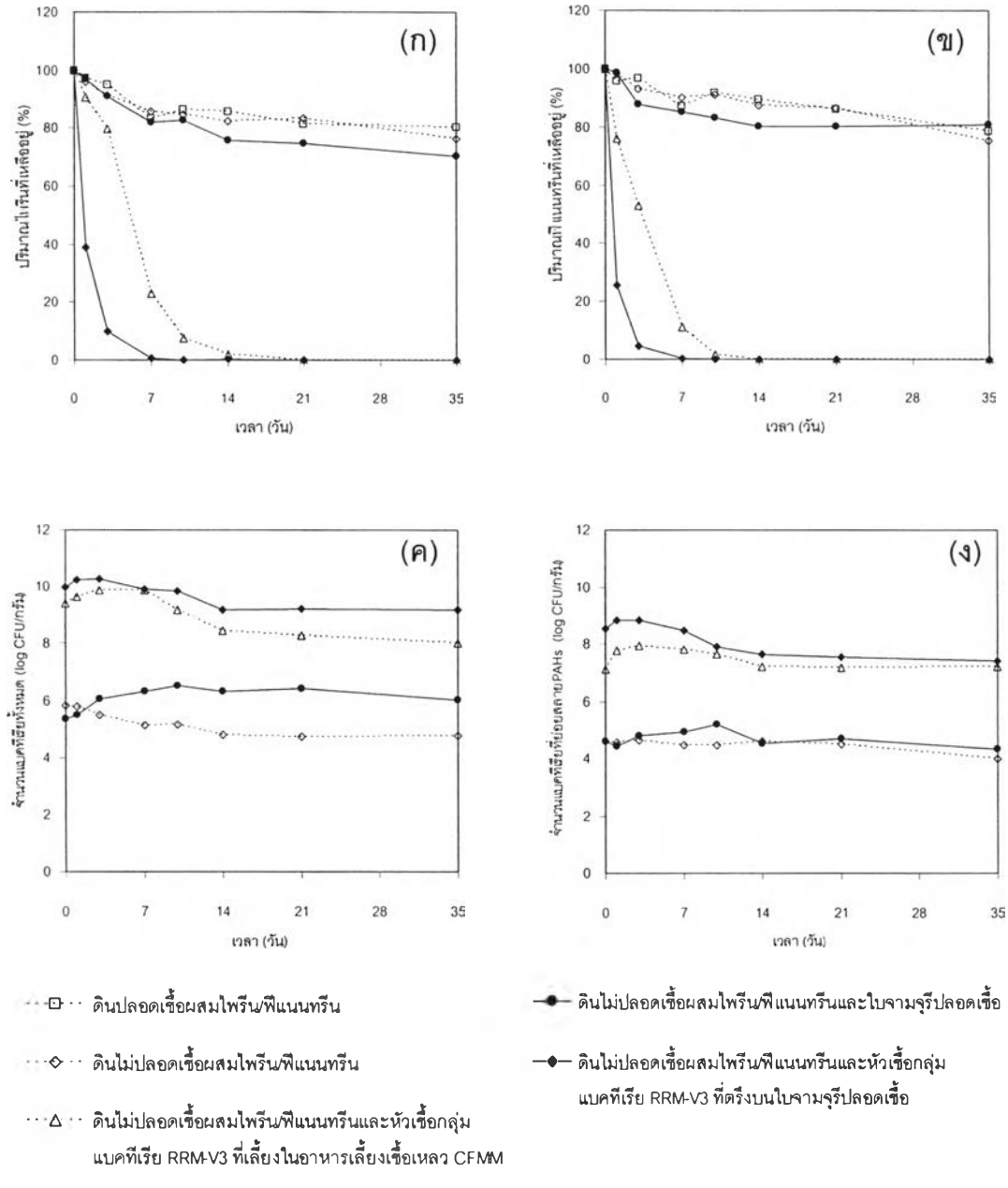


รูปที่ 4.8 ปริมาณไพรีน(ก) และฟีแนนทรีน(ข)ที่เหลืออยู่ จำนวนแบคทีเรียทั้งหมด(ค) และจำนวนแบคทีเรียที่สามารถย่อยสลาย PAHs (ง) ระหว่างการย่อยสลายไพรีน/ฟีแนนทรีน ความเข้มข้น 0.05 มก./กรัมดินสวนโดยหัวเชื้อกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่ตรึงบนฟางข้าว

4.6.3 การย่อยสลายไพรีนและฟีแนนทรีนในดินสวนโดยใช้หัวเชื้อกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่ตรึงบนใยบวบ

การทดสอบการย่อยสลายไพรีนและฟีแนนทรีน ความเข้มข้น 0.05 มก./กรัมดิน ที่ผสมในดินสวนไม่ปลอดเชื้อโดยหัวเชื้อกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่ตรึงบนใยบวบดังแสดงในรูปที่รูปที่ 4.9 และตารางที่ 4.3ก-ค พบว่าปริมาณสาร PAHs ทั้งสองชนิดลดลงอย่างรวดเร็ว ในวันที่ 3 ของการทดลองมีปริมาณไพรีนและฟีแนนทรีนเหลืออยู่เพียง 9.84 และ 4.53 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ และปริมาณไพรีนและฟีแนนทรีนลดลงจนหมดในวันที่ 10 ของการทดลอง จำนวนแบคทีเรียทั้งหมดในดินวันที่ 0 มีค่าเท่ากับ log 9.97 CFU/กรัม เพิ่มขึ้นสูงสุดในวันที่ 3 มีเท่ากับ log 10.26 CFU/กรัม และมีจำนวนลดลงเท่ากับ log 9.17 CFU/กรัม ในวันที่ 35 ส่วน จำนวนแบคทีเรียที่สามารถย่อยสลายไพรีน และฟีแนนทรีนได้วันที่ 0 มีค่าเท่ากับ log 8.52 CFU/กรัม เพิ่มขึ้นสูงสุดในวันที่ 3 มีเท่ากับ log 8.81 CFU/กรัม และมีจำนวนลดลงเท่ากับ log 7.42 CFU/กรัม ในวันที่ 35 ของการทดลอง

เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ 3 ซึ่งเติมเฉพาะใยบวบปลอดเชื้อที่ไม่มีกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 เพื่อศึกษาผลของใยบวบต่อจุลินทรีย์ในดินที่สามารถย่อยสลายสาร PAHs ได้ พบว่าปริมาณไพรีนและฟีแนนทรีนมีค่าลดลงจากวันแรกของการทดลอง ในวันที่ 35 มีปริมาณไพรีนและฟีแนนทรีนเหลืออยู่ 70.49 และ 80.85 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ผลการตรวจนับจำนวนแบคทีเรียทั้งหมดในดินวันที่ 0 มีค่าเท่ากับ log 5.34 CFU/กรัม และเพิ่มจำนวนสูงสุดในวันที่ 10 มีค่าเท่ากับ log 6.52 CFU/กรัม และลดลงเหลือ log 6.02 CFU/กรัม ในวันที่ 35 จำนวนแบคทีเรียที่สามารถย่อยสลายไพรีนและฟีแนนทรีนได้มีค่าเท่ากับ log 4.58 CFU/กรัม ในวันที่ 0 และเพิ่มจำนวนสูงสุดในวันที่ 7 มีค่าเท่ากับ log 5.18 CFU/กรัม และลดลงเหลือ log 4.32 CFU/กรัม ในวันที่ 35

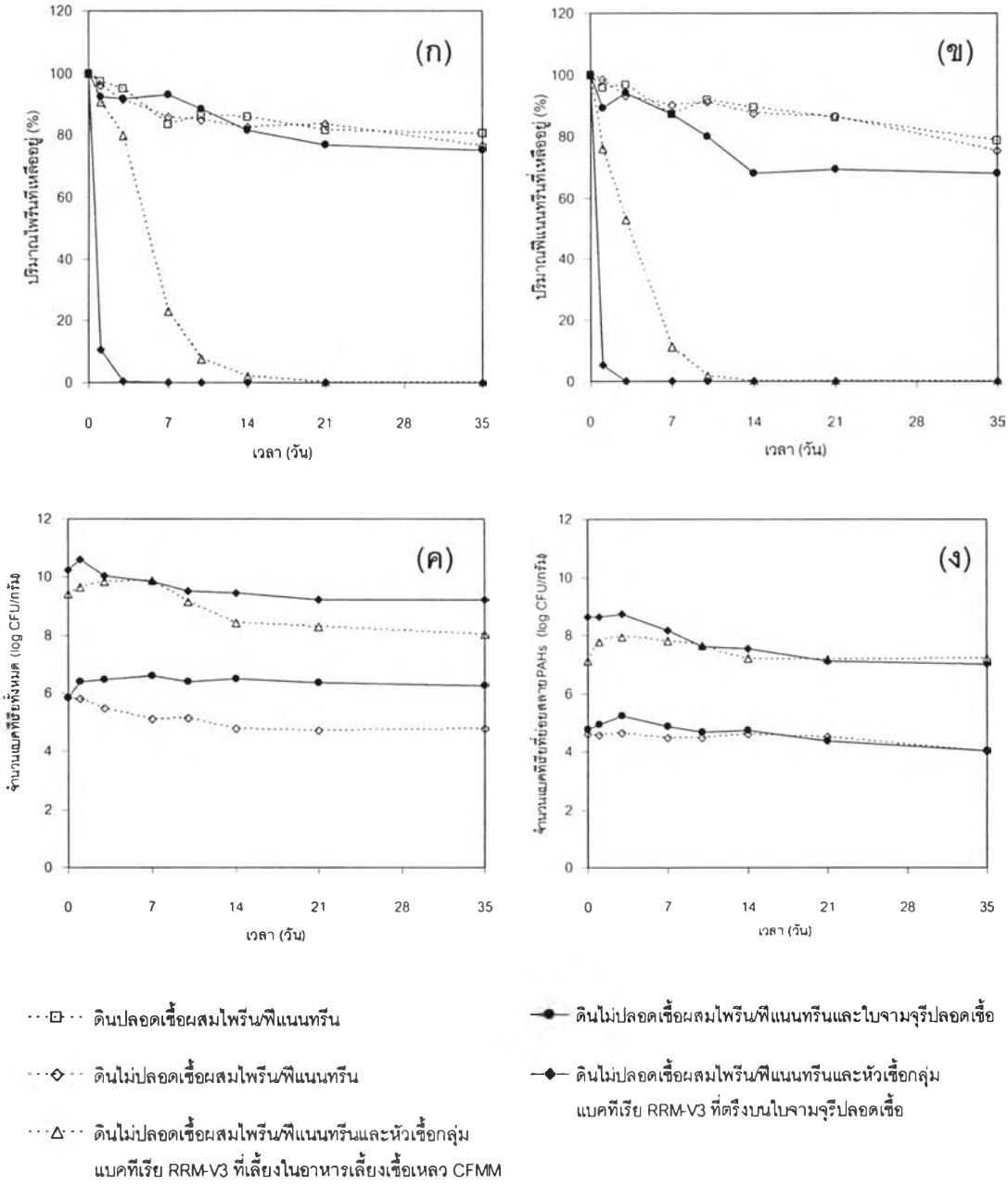


รูปที่ 4.9 ปริมาณไพรีน(ก) และฟีแนนทรีน(ข)ที่เหลืออยู่ จำนวนแบคทีเรียทั้งหมด(ค) และจำนวนแบคทีเรียที่สามารถย่อยสลาย PAHs (ง) ระหว่างการย่อยสลายไพรีน/ฟีแนนทรีน ความเข้มข้น 0.05 มก./กรัมดินสวนโดยหัวเชื้อกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่ตรึงบนใยบวบ

4.6.4 การย่อยสลายไพรีนและฟีแนนทรีนในดินสวนโดยใช้หัวเชื้อกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่ตรึงบนนมผักกระเฉด

การทดสอบการย่อยสลายไพรีนและฟีแนนทรีน ความเข้มข้น 0.05 มก./กรัมดิน ที่ผสมในดินสวนไม่ปลอดเชื้อโดยหัวเชื้อกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่ตรึงบนนมผักกระเฉดดังแสดงในรูปที่รูปที่ 4.10 และตารางที่ 4.3ก-ค พบว่าปริมาณสาร PAHs ทั้งสองชนิดลดลงอย่างรวดเร็ว ในวันที่ 1 ของการทดลอง มีปริมาณไพรีนและฟีแนนทรีนเหลืออยู่เท่ากับ 10.56 และ 5.25 เปอร์เซ็นต์ และปริมาณไพรีนและฟีแนนทรีนลดลงจนหมดในวันที่ 3 และ 7 ของการทดลองตามลำดับ จำนวนแบคทีเรียทั้งหมดในดินวันที่ 0 มีค่าเท่ากับ log 10.23 CFU/กรัม เพิ่มขึ้นสูงสุดในวันที่ 1 มีค่าเท่ากับ log 10.62 CFU/กรัม และมีจำนวนลดลงเท่ากับ log 9.2 CFU/กรัม ในวันที่ 35 ส่วน จำนวนแบคทีเรียที่สามารถย่อยสลายไพรีน และฟีแนนทรีนได้วันที่ 0 มีค่าเท่ากับ log 8.62 CFU/กรัม เพิ่มขึ้นสูงสุดในวันที่ 1 มีค่าเท่ากับ log 8.64 CFU/กรัม และมีจำนวนลดลงเท่า log 7.02 CFU/กรัม ในวันที่ 35 ของการทดลอง

เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ 3 ซึ่งเติมเฉพาะนมผักกระปลอดเชื้อที่ไม่มีกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 เพื่อศึกษาผลของนมผักกระเฉดต่อจุลินทรีย์ในดินที่สามารถย่อยสลายสาร PAHs ได้ พบว่าปริมาณไพรีนและฟีแนนทรีนมีค่าลดลงจากวันแรกของการทดลอง ในวันที่ 35 มีปริมาณไพรีนและฟีแนนทรีนเหลืออยู่ 75.08 และ 68.12 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ผลการตรวจนับจำนวนแบคทีเรียทั้งหมดในดินวันที่ 0 มีค่าเท่ากับ log 5.85 CFU/กรัม และเพิ่มจำนวนสูงสุดในวันที่ 7 มีค่าเท่ากับ log 6.59 CFU/กรัมและลดลงเหลือ log 6.26 CFU/กรัม ในวันที่ 35 จำนวนแบคทีเรียที่สามารถย่อยสลายไพรีนและฟีแนนทรีนได้มีค่าเท่ากับ log 4.75 CFU/กรัม ในวันที่ 0 และเพิ่มจำนวนสูงสุดในวันที่ 3 มีค่าเท่ากับ log 5.21 CFU/กรัม และลดลงเหลือ log 4.04 CFU/กรัม ในวันที่ 35 ซึ่งจะเห็นว่าว่านมผักกระเฉดที่เติมลงไปน่าจะมีผลทำให้แบคทีเรียในดินที่สามารถย่อยสลายฟีแนนทรีนเจริญและใช้ฟีแนนทรีนได้เพียงอย่างเดียวเท่านั้นดังจะเห็นได้จากปริมาณฟีแนนทรีนที่เหลืออยู่ในชุดที่เติมนมผักกระเฉดปลอดเชื้อมีค่าน้อยกว่าในดินที่ไม่เติมนมผักกระเฉดส่วนปริมาณไพรีนมีค่าใกล้เคียงกันทั้งสองชุด



รูปที่ 4.10 ปริมาณไพรีน(ก) และฟีแนนทรีน(ข)ที่เหลืออยู่ จำนวนแบคทีเรียทั้งหมด(ค) และจำนวนแบคทีเรียที่สามารถย่อยสลาย PAHs (ง) ระหว่างการย่อยสลายไพรีน/ฟีแนนทรีน ความเข้มข้น 0.05 มก./กรัมดินสวนโดยหัวเชื้อกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่ตรึงบนนมผักกระเฉด

ตารางที่ 4.3ก สรุปการลดลงของปริมาณไพรีนและฟีแนนทรีนความเข้มข้น 0.05 มก./กรัม ในดินสวนในชุดควบคุมต่างๆ

ภาวะที่ทดสอบ	ปริมาณ PAHs ที่เหลืออยู่ที่เวลาต่างๆ (%)								
	วัน	0	1	3	7	10	14	21	35
ดินปลอดเชื้อ + PAHs	Pyr	100	97.16	94.79	83.41	86.26	85.78	81.52	80.57
	Phe	100	95.52	96.5	87.23	91.75	89.31	86.1	78.42
ดินไม่ปลอดเชื้อ + PAHs	Pyr	100	96.02	91.42	85.71	84.57	82.28	83.42	76.57
	Phe	100	98.35	93.04	89.96	91.18	87.54	86.32	75.37
ดินไม่ปลอดเชื้อ + PAHs + ใบจามจุรี	Pyr	100	97.33	100.72	91.28	82.92	78.8	75.9	72.9
	Phe	100	92.67	89.87	87.76	79.04	76.12	75.18	64.72
ดินไม่ปลอดเชื้อ + PAHs + ฟางข้าว	Pyr	100	98.69	84.5	89.38	86.68	71.24	68.11	59.9
	Phe	100	101.13	89.27	90.07	88.56	76.88	71.14	68.85
ดินไม่ปลอดเชื้อ + PAHs +ใยบวบ	Pyr	100	97.04	91.23	82.12	82.65	75.97	74.74	70.49
	Phe	100	98.47	87.65	85.31	83.26	80.31	80.19	80.85
ดินไม่ปลอดเชื้อ + PAHs + นมผักกระเฉด	Pyr	100	92.2	91.55	93.07	88.23	81.54	76.88	75.08
	Phe	100	89.11.	94.06	87.12	79.78	67.98	69.37	68.12

ตารางที่ 4.3ข สรุปการย่อยสลายไพรีนและฟีแนนทรีนความเข้มข้น 0.05 มก./กรัม ในดินสวนโดยหัวเชื้อกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่เตรียมโดยวิธีต่าง ๆ

ภาวะที่ทดสอบ		ปริมาณ PAHs ที่เหลืออยู่ที่เวลาต่างๆ (%)							
	วัน	0	1	3	7	10	14	21	35
ดินไม่ปลอดเชื้อ + PAHs+ เชื้อที่เตรียมสด	Pyr	100	90.67	79.82	22.99	7.72	1.91	0	0
	Phe	100	76.06	53.04	11.22	1.64	0	0	0
ดินไม่ปลอดเชื้อ + PAHs + เชื้อที่ตรึงบนใบจามจุรี	Pyr	100	8.41	0	0	0	0	0	0
	Phe	100	0.32	0	0	0	0	0	0
ดินไม่ปลอดเชื้อ + PAHs + เชื้อที่ตรึงบนฟางข้าว	Pyr	100	15.56	3.23	0.32	0	0	0	0
	Phe	100	7.07	0.32	0	0	0	0	0
ดินไม่ปลอดเชื้อ + PAHs + เชื้อที่ตรึงบนใยบวบ	Pyr	100	38.82	9.82	0.75	0	0	0	0
	Phe	100	25.53	4.53	0.22	0	0	0	0
ดินไม่ปลอดเชื้อ + PAHs + เชื้อที่ตรึงบนนมผักกระเฉด	Pyr	100	10.56	0.45	0	0	0	0	0
	Phe	100	5.25	0	0	0	0	0	0

ตารางที่ 4.3ค เปรียบเทียบการย่อยสลายไพรีนและฟีแนนทรีนความเข้มข้น 0.05 มก./กรัม ในดินสวน โดยการเติมวัสดุทางการเกษตรปลอดเชื้อและวัสดุทางการเกษตรที่มีกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 เจริญอยู่

ภาวะที่ทดสอบ	ปริมาณ PAHs ที่เหลืออยู่ในวันที่ 7 ของการทดลอง (%)		
	PAHs	ไม่มีกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3	มีกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3
ดินปลอดเชื้อ	Pyr	83.41	ND
	Phe	87.23	ND
ดินไม่ปลอดเชื้อ	Pyr	85.71	22.99
	Phe	89.96	11.22
ดินไม่ปลอดเชื้อ + ใบจามจุรี	Pyr	91.28	0
	Phe	87.76	0
ดินไม่ปลอดเชื้อ +ฟางข้าว	Pyr	89.38	0.32
	Phe	90.07	0
ดินไม่ปลอดเชื้อ +ใยบวบ	Pyr	82.12	0.75
	Phe	85.31	0.22
ดินไม่ปลอดเชื้อ +นมผักกระเฉด	Pyr	93.07	0
	Phe	87.12	0

4.7 การย่อยสลายไพรีนและฟีแนนทรีนความเข้มข้น 0.5 มก./กรัมดิน ในดินชนิดต่าง ๆ โดยใช้หัวเชื้อกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่ตรึงบนใบจามจุรี

จากการทดลองที่ผ่านมาข้างต้นพบว่ากลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่ตรึงบนวัสดุทางการเกษตรทั้ง 4 ชนิด มีประสิทธิภาพในการบำบัดไพรีนและฟีแนนทรีนที่ความเข้มข้น 0.05 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรในดินหมดภายในเวลา 3 วัน ดังนั้นขั้นตอนนี้จึงศึกษาประสิทธิภาพการย่อยสลายไพรีนและฟีแนนทรีนที่ความเข้มข้นสูงขึ้นในดิน โดยเพิ่มความเข้มข้นของไพรีนและฟีแนนทรีน เป็น 10 เท่า

ทดสอบโดยเติมหัวเชื้อกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่ตรึงบนใบจามจุรี ซึ่งเป็นวัสดุทางการเกษตรที่ให้ผลการบำบัดดินปนเปื้อนไพรีนและฟีแนนทรีนในข้อ 4.6 ได้ดีที่สุดลงในดินที่มีไพรีนและฟีแนนทรีน ความเข้มข้นชนิดละ 0.5 มิลลิกรัมต่อกรัม ตัวอย่างดินที่ใช้ในการทดสอบได้แก่ ดินสวนและดินจากบริเวณอู่ซ่อมรถจากข้อ 4.5 ผลวิเคราะห์ลักษณะทางกายภาพและองค์ประกอบทางเคมีของดินทั้งสองชนิด ดังแสดงใน ตารางที่ 4.2

ศึกษาการย่อยสลายไพรีนและฟีแนนทรีนในดินโดยกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่เตรียมเป็นหัวเชื้อ 2 ชนิด ดังนี้

ก. หัวเชื้อกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่ตรึงใบจามจุรี

ข. หัวเชื้อกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ในอาหารเหลว CFMM

ทดสอบการย่อยสลายไพรีนและฟีแนนทรีนในดินโดยแบ่งเป็นชุดการทดลองดังนี้

ชุดควบคุมที่ 1	ดินปลอดเชื้อผสมกับไพรีนและฟีแนนทรีน
ชุดควบคุมที่ 2	ดินไม่ปลอดเชื้อผสมกับไพรีนและฟีแนนทรีน
ชุดควบคุมที่ 3	ดินไม่ปลอดเชื้อผสมกับไพรีนและฟีแนนทรีนและผสมใบจามจุรีปลอดเชื้อ
ชุดการทดลองที่ 1	ดินไม่ปลอดเชื้อผสมกับไพรีนและฟีแนนทรีนและผสมหัวเชื้อกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่เตรียมในอาหารเหลว CFMM
ชุดการทดลองที่ 2	ดินไม่ปลอดเชื้อผสมกับไพรีนและฟีแนนทรีน และผสมหัวเชื้อกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3ที่ตรึงบนใบจามจุรี

ทุกชุดการทดลองใช้จำนวนเชื้อเริ่มต้นเท่ากัน คือ ประมาณ 10 log CFU/มล. ความเข้มข้นของไพรีนและฟีแนนทรีนที่ใช้ในการทดลองคือชนิดละ 0.5 มิลลิกรัมต่อกรัมดิน ในรูปสารละลายอะซิโตน บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 35 วัน โดยเก็บตัวอย่างวันที่ 0, 1, 3, 7, 10, 14, 21และวันที่35

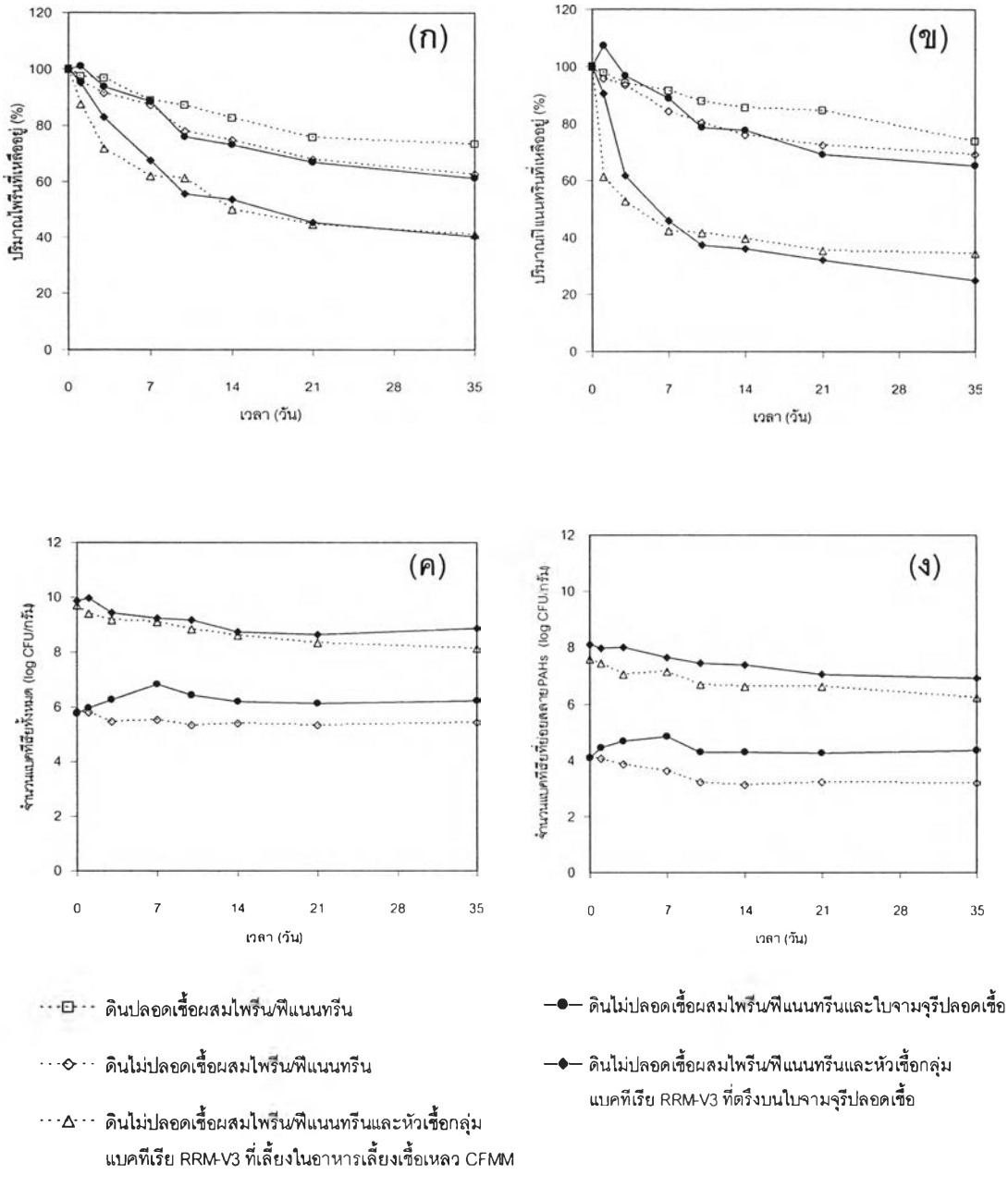
4.7.1 การย่อยสลายไพรีนและฟีแนนทรีนความเข้มข้น 0.5 มก./กรัม ในดินสวนโดยหัวเชื้อกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่ตรึงบนใบจามจุรี

การทดสอบการย่อยสลายไพรีนและฟีแนนทรีน ความเข้มข้น 0.5 มก./กรัมดิน ที่ผสมในดินสวนไม่ปลอดเชื้อโดยหัวเชื้อกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่ตรึงบนใบจามจุรี ผลการทดลองดังแสดงในรูป 4.11 ชุดควบคุมที่ 1 ใช้ดินปลอดเชื้อผสมไพรีนและฟีแนนทรีน เพื่อศึกษาการลดลงของสาร PAHs โดยปัจจัยทางกายภาพ พบว่ามีการลดลงของไพรีนและฟีแนนทรีนเหลือ 73.66 และ 73.16 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในชุดควบคุมที่ 2 ดินไม่ปลอดเชื้อผสมไพรีนและฟีแนนทรีนเพื่อศึกษาการลดลงของสาร PAHs โดยปัจจัยทางกายภาพและชีวภาพจากดิน พบว่ามีการลดลงของไพรีนและฟีแนนทรีนเหลือ 62.36 และ 69.13 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับในวันที่35 เมื่อตรวจนับจำนวนแบคทีเรียทั้งหมดในชุดควบคุมที่ 2 พบว่ามีค่าเท่ากับ log 5.82 CFU/กรัม และจำนวนแบคทีเรียที่สามารถย่อยสลายไพรีนและฟีแนนทรีนได้มีค่าเท่า log 4.12 CFU/กรัม จำนวนแบคทีเรียจะลดลงจนกระทั่งสิ้นสุดการทดลองในวันที่ 35 ซึ่งจำนวนแบคทีเรียทั้งหมดมีค่าเท่ากับ log 5.45 CFU /กรัม และจำนวนแบคทีเรียที่สามารถย่อยสลายไพรีนและฟีแนนทรีน มีค่าเท่ากับ log 3.18 CFU /กรัม

ในชุดการทดลองที่เติมหัวเชื้อกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่ตรึงบนใบจามจุรีลงในดินไม่ปลอดเชื้อที่ผสมไพรีนและฟีแนนทรีนชนิดละ 0.5 มิลลิกรัมต่อกรัมดิน พบว่าปริมาณสาร PAHs ทั้งสองชนิดลดลงอย่างต่อเนื่อง ในวันที่ 35 ของการทดลองมีปริมาณไพรีนและฟีแนนทรีนเหลืออยู่ 40.29 และ 24.96 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ จำนวนแบคทีเรียทั้งหมดในดินวันที่ 0 มีค่าเท่ากับ log 9.87 CFU /กรัม จะลดลงเท่ากับ log 8.87 CFU /กรัม ในวันที่ 35 จำนวนแบคทีเรียที่สามารถย่อยสลายไพรีนและฟีแนนทรีนได้มีค่าเท่ากับ log 8.13 CFU /กรัม ในวันที่ 0 และลดลงเท่ากับ log 6.9 CFU /กรัม วันที่ 35

เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ 3 ซึ่งเติมเฉพาะใบจามจุรีปลอดเชื้อที่ไม่มีกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 เพื่อศึกษาผลของใบจามจุรีต่อจุลินทรีย์ในดินที่สามารถย่อยสลายสาร PAHs ได้ พบว่าปริมาณฟีแนนทรีนมีค่าลดลงจากวันแรกของการทดลอง โดยมีปริมาณไพรีนและฟีแนนทรีนเหลืออยู่ 61.22 และ 65.26 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับในวันที่ 35 ผลการตรวจนับจำนวนแบคทีเรียทั้งหมดในดินวันที่ 0 มีค่าเท่ากับ log 5.76 CFU/กรัม และเพิ่มจำนวนสูงสุดในวันที่ 7 มีค่าเท่ากับ กับ log 6.82 CFU/กรัม และลดลงเหลือ log 5.45 CFU/กรัม ในวันที่ 35 จำนวนแบคทีเรียที่สามารถย่อยสลายไพรีนและฟีแนนทรีนได้มีค่าเท่ากับ log 4.09 CFU/กรัม ในวันที่ 0 และเพิ่มจำนวนสูงสุดในวันที่ 7 มีค่าเท่ากับ log 4.86 CFU/กรัม และลดลงเหลือ log 3.18 CFU/กรัม ในวันที่ 35

ในชุดการทดลองที่เติมหัวเชื้อกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่เตรียมในอาหารเหลว CFMM ลงในดินสวนที่ผสมไพรีนและฟีแนนทรีน ความเข้มข้นชนิดละ 0.5 มิลลิกรัมต่อกรัมดิน พบว่าปริมาณไพรีนและฟีแนนทรีนลดลงอย่างต่อเนื่อง โดยมีไพรีนและฟีแนนทรีนเหลืออยู่ 41.06 และ 34.43 เปอร์เซ็นต์ ในวันที่ 35 ของการทดลอง จำนวนแบคทีเรียทั้งหมดในดินวันที่ 0 มีค่าเท่ากับ log 9.69 CFU /กรัม และมีจำนวนลดลงจนกระทั่งสิ้นสุดการทดลองในวันที่ 35 มีค่าเท่ากับ log 8.12 CFU /กรัม ส่วนจำนวนแบคทีเรียที่สามารถย่อยสลายไพรีนและฟีแนนทรีนได้วันที่ 0 มีค่าเท่ากับ log 7.58 CFU /กรัม และลดลงในวันที่ 35 มีค่าเท่ากับ log 6.2 CFU /กรัม



รูปที่ 4.11 ปริมาณไพรีน(ก) และฟีแนนทรีน(ข)ที่เหลืออยู่ จำนวนแบคทีเรียทั้งหมด(ค) และจำนวนแบคทีเรียที่สามารถย่อยสลาย PAHs (ง) ระหว่างการย่อยสลายไพรีน/ฟีแนนทรีน ความเข้มข้น 0.5 มก./กรัมดินสวนโดยหัวเชื้อกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่ตรึงบนใบจามจุรี

4.7.2 การย่อยสลายไพรีนและฟีแนนทรีนนความเข้มข้น 0.5 มก./กรัม ในดินอู่ซ่อมรถโดยกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่ตรึงบนใบจามจุรี

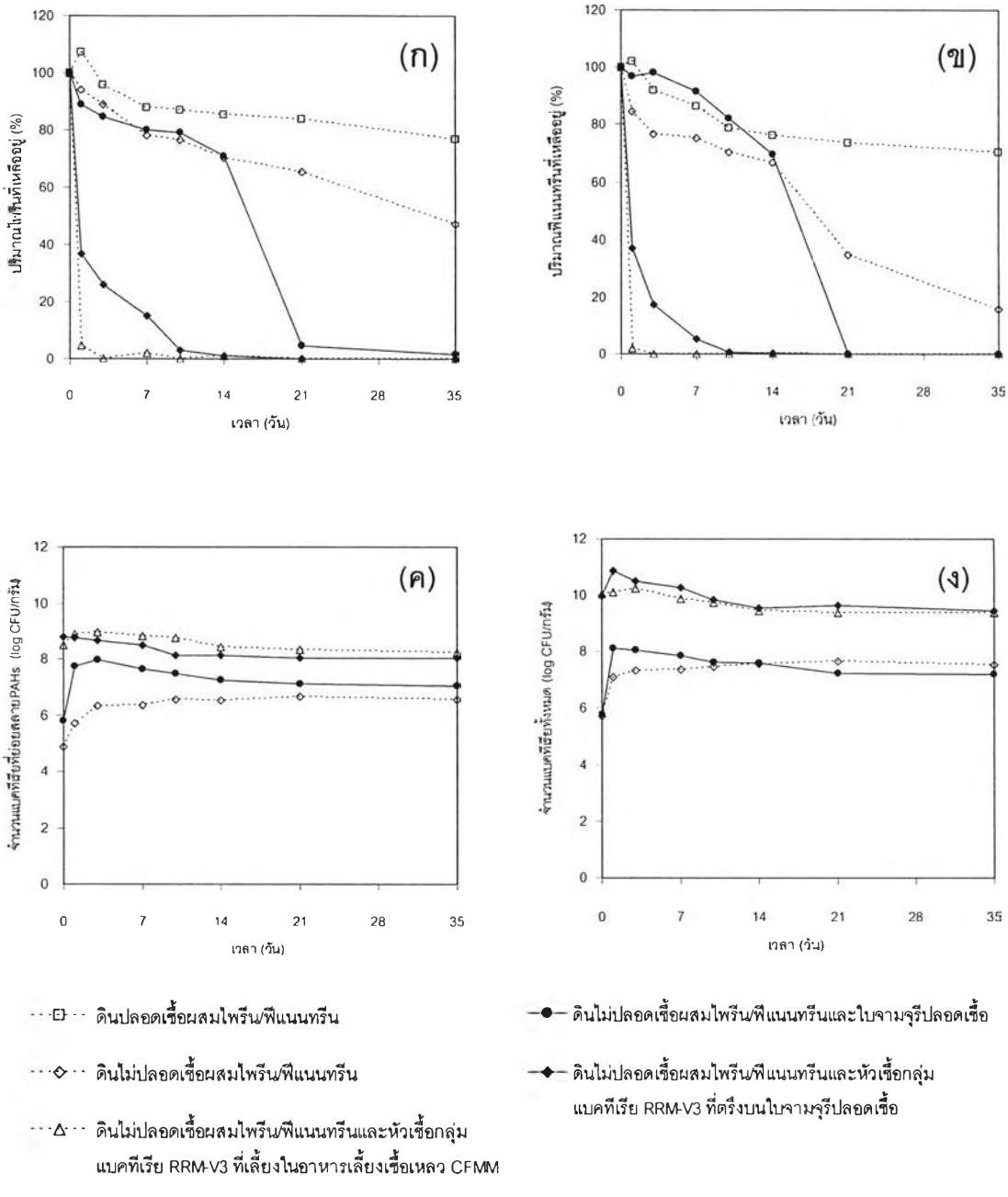
การทดสอบการย่อยสลายไพรีนและฟีแนนทรีน ความเข้มข้น 0.5 มก./กรัมดิน ที่ผสมในดินอู่ซ่อมรถไม่ปลอดเชื้อโดยหัวเชื้อกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่ตรึงบนใบจามจุรี ผลการทดลองดังแสดงในรูป 4.12ชุดควบคุมที่ 1 ใช้ดินปลอดเชื้อผสมไพรีนและฟีแนนทรีน เพื่อศึกษาการลดลงของสาร PAHs โดยปัจจัยทางกายภาพ พบว่ามีการลดลงของไพรีนและฟีแนนทรีนเหลือ 76.69 และ 70.18 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในวันที่ 35 ในชุดควบคุมที่ 2 ดินไม่ปลอดเชื้อผสมไพรีนและฟีแนนทรีนเพื่อศึกษาการลดลงของสาร PAHs โดยปัจจัยทางกายภาพและชีวภาพจากดิน พบว่ามีการลดลงของไพรีนและฟีแนนทรีนเหลือ 47.67 และ 15.72 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับในวันที่35 เมื่อตรวจนับจำนวนแบคทีเรียทั้งหมดในชุดควบคุมที่ 2 พบว่าวันที่ 0 มีค่าเท่ากับ log 5.7 CFU /กรัม และจำนวนแบคทีเรียที่สามารถย่อยสลายไพรีนและฟีแนนทรีนได้มีค่าเท่า log 4.85 CFU /กรัม จำนวนแบคทีเรียจะเพิ่มขึ้นสูงสุดในวันที่ 21 ซึ่งจำนวนแบคทีเรียทั้งหมดมีค่าเท่ากับ log7.63 CFU /กรัม และจำนวนแบคทีเรียที่สามารถย่อยสลายไพรีนและฟีแนนทรีน มีค่าเท่ากับ log 6. 65 CFU /กรัม จากผลการลดลงของปริมาณไพรีนและฟีแนนทรีนและการเพิ่มจำนวนของแบคทีเรียแสดงให้เห็นว่าจุลินทรีย์ที่อยู่ในดินที่มีการปนเปื้อนของสารมาก่อนมีความสามารถในการย่อยสลายไพรีนและฟีแนนทรีนเพื่อใช้เป็นแหล่งอาหารในการเจริญได้

ในชุดการทดลองที่เติมหัวเชื้อกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่ตรึงบนใบจามจุรีลงในดินอู่ซ่อมรถไม่ปลอดเชื้อที่ผสมไพรีนและฟีแนนทรีนชนิดละ 0.5 มิลลิกรัมต่อกรัมดิน พบว่าปริมาณสาร PAHs ทั้งสองชนิดลดลงอย่างรวดเร็ว ในวันที่ 7 มีปริมาณไพรีนและฟีแนนทรีนเหลืออยู่เพียง 15.12 และ 5.07 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และลดลงจนหมดในวันที่ 21 ผลการตรวจนับจำนวนแบคทีเรียทั้งหมดในดินวันที่ 0 มีค่าเท่ากับ log 9.97 CFU /กรัม เพิ่มจำนวนสูงสุดในวันที่ 1 ซึ่งมีค่าเท่ากับ log 10.87 CFU /กรัม และจะมีจำนวนลดลงเท่ากับ log 9.43 CFU /กรัม ในวันที่ 35 จำนวนแบคทีเรียที่สามารถย่อยสลายไพรีนและฟีแนนทรีนได้มีค่าเท่ากับ log 8.8 CFU /กรัม ในวันที่ 0 เพิ่มจำนวนสูงสุดในวันที่ 1 ซึ่งมีค่าเท่ากับ log 8.75 CFU /กรัม และลดลงเท่ากับ log 8.02 CFU /กรัม ในวันที่ 35

เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ 3 ซึ่งเติมเฉพาะใบจามจุรีปลอดเชื้อที่ไม่มีกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 เพื่อศึกษาผลของใบจามจุรีต่อจุลินทรีย์ในดินที่สามารถย่อยสลายสาร PAHs ได้ พบว่าปริมาณฟีแนนทรีนมีค่าลดลงอย่างต่อเนื่อง โดยมีปริมาณไพรีนและฟีแนนทรีนเหลืออยู่ 70.76 และ 69.63 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับในวันที่ 14 ปริมาณฟีแนนทรีนจะลดลงจนหมดในวันที่ 21 และยังคงมีปริมาณไพรีนเหลืออยู่ 1.56 เปอร์เซ็นต์ในวันที่ 35 ของการทดลอง ผลการตรวจนับจำนวนแบคทีเรียทั้งหมดในดินวันที่ 0 มีค่าเท่ากับ log 5.46 CFU/กรัม และเพิ่มจำนวนสูงสุดในวันที่ 1 มีค่าเท่ากับ log 8.12 CFU /กรัม และลดลงเหลือ log 7.19 CFU/กรัม ในวันที่ 35 จำนวนแบคทีเรียที่สามารถย่อยสลายไพรีนและฟีแนนทรีนได้มีค่าเท่ากับ log 5.79 CFU /กรัม ในวันที่ 0 และเพิ่มจำนวนสูงสุดในวันที่ 3 มีค่าเท่ากับ log 7.96 CFU /กรัม และลดลงเหลือ log 7.04 CFU /กรัม ในวันที่ 35

ในชุดการทดลองที่เติมหัวเชื้อกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่เตรียมในอาหารเหลว CFMM ลงในดินอู่ซ่อมรถที่ผสมไพรีนและฟีแนนทรีน ความเข้มข้นชนิดละ 0.5 มิลลิกรัมต่อกรัมดิน พบว่าปริมาณไพรีนและฟีแนนทรีนลดลงอย่างรวดเร็ว โดยมีไพรีนและฟีแนนทรีนเหลืออยู่เพียง 4.59 และ 2.02 เปอร์เซ็นต์ ในวันที่ 1 และลดลงจนหมดในวันที่ 3 ของการทดลอง จำนวนแบคทีเรียทั้งหมดในดินและกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่เติมลงไปวันที่ 0 มีค่าเท่ากับ log 10.03 CFU /กรัม และมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นสูงที่สุดในวันที่ 3 มีค่าเท่ากับ log 10.24 CFU /กรัม และลดลงในวันที่ 35 มีค่าเท่ากับ log 9.39 CFU /กรัม ส่วนจำนวนแบคทีเรียที่สามารถย่อยสลายไพรีนและฟีแนนทรีนได้วันที่ 0 มีค่าเท่ากับ log 8.49 CFU /กรัม เพิ่มขึ้นสูงที่สุดในวันที่ 3 มีค่าเท่ากับ log 8.97 CFU /กรัม และลดลงในวันที่ 35 มีค่าเท่ากับ log 8.22 CFU /กรัม

เลขหมู่ วน.2553
เลขทะเบียน 72 53
วันเดือนปี 25 ก.ค. 2560



รูปที่ 4.12 ปริมาณไพรีน(ก) และฟีแนนทรีน(ข)ที่เหลืออยู่ จำนวนแบคทีเรียทั้งหมด(ค) และจำนวนแบคทีเรียที่สามารถย่อยสลาย PAHs (ง) ระหว่างการย่อยสลายไพรีน/ฟีแนนทรีน ความเข้มข้น 0.5 มก./กรัมดินอู่ซ่อมรถโดยหัวเชื้อกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่ตรึงบนใบจามจุรี