# เอกสารอ้างอิง


ภาษาไทย

จิรทีปฆ์ แสนรัก. 2547. การย่อยสลายไพรีนและสารประกอบพอลิไซคลิกอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอนชนิดอื่นโดยกลุ่มแบคทีเรียที่แยกได้จากใบพืชตระกูลถั่ว. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

ดุสิต ขาวเหลือง. วิกฤตสิ่งแวดล้อม : ผลพวงจากความทันสมัยแต่ไม่พัฒนา. วารสารศึกษาศาสตร์ 2548: 2-4.

วรัษยา สุนทรศารทูล. 2542. ความสัมพันธ์ระหว่างชนิดนก พันธุ์พืช และการจัดการสวนสาธารณะเขตกรุงเทพมหานคร. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต สหสาขาวิชาวิทยาศาสตร์สภาวะแวดล้อม จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

ศรัณยา คุ้มวงษา. 2543. การย่อยสลายสาร PAHs ในดิน : แหล่งดินที่สามารถย่อยสลายสาร Acenaphthylene, Acenaphthrene , Anthracene , Dibenzofuran , Fluoranthrene, Phenanthrene และ Pyrene ได้. โครงการการเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์ ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

ภาษาอังกฤษ

Akhtar, N., Iqbal, J., and Iqbal, M. 2004. Removal and recovery of nickel(II) from aqueous solution by loofa sponge immobilized biomass of *Chlorella sorokiniana*: characterization studies. Journal of Hazardous Materials 108: 85-94.

Alexander, M. Cometabolism. In , Biodegradation and Bioremediation. pp.177-195. USA: Academic press, 1994.

ATSDR (Agency for Toxic Substances and Disease Registry). 1990. Toxicological profile for polycyclic aromatic hydrocarbons. acenaphthene, a., anthracene, benzo(a)anthracene, benzo(a)pyrene, benzo(b)fluoranthene, benzo(g,i,h)perylene, benzo(k)fluoranthene, chrysene, dibenzo(a,h)anthracene, fluoranthene, fluorene, indeno(1,2,3-c,d)pyrene, phenanthrene, pyrene: Clement International Corporation, under Contract NO. 205-88-0608. ATSDR/TP-90-20.

ATSDR (Agency for Toxic Substances and Disease Registry). Health effects. In Agency for Toxic Substances and Disease Registry, Toxicological profile for polycyclic aromatic hydrocarbons , 11-206. Atlanta: GA, 1995.

Benyahia, F., and Polomarkaki, R. 2005. Mass transfer and kinetic studies under no cell growth conditions in nitrification using alginate gel immobilized *Nitrosomonas*. Process Biochemistry 40: 1251-1262.

Blandino, A., Macias, M., and Cantero, D. 1999. Formation of calcium alginate gel capsules: Influence of sodium alginate and $CaCl_2$ concentration on gelation kinetics. Journal of Bioscience and Bioengineering 88(6): 686-689.

Boogaard, P. J. 2008. Urinary biomarkers in the risk assessment of PAHs. Occupational and Environmental Medicine 65(4): 221-222.

Boonyatumanond, R., Wattayakorn, G., Togo, A., and Takada, H. 2006. Distribution and origins of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in riverine, estuarine, and marine sediments in Thailand. Marine Pollution Bulletin 52: 942-956.

Cassidy, M. B., Lee, H., and Trevors, J.T. 1996. Environmental applications of immobilized microbial cells: a review. Journal of Industrial Microbiology 16:79-101.

Cerniglia, C. E. 1992. Biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons. Biodegradation 3: 351-368.

Cheetham, P. S. J., Blunt, K. W., and Bucke, C. 1979. Physical studies on cell immobilization using calcium alginate gels. Biotechnology and Bioengineering 21: 2155-2168.

Chen, K.-C., and Huang, C.-T. 1988. Effects of the growth of *Trichosporon cutaneum* in calcium alginate gel beads upon bead structure and oxygen transfer characteristics. Enzyme Microbiology and Technology 10: 284-292.

Chen, Y-M., Lin, T-F., Huang, C., Lin, J-C., and Hsieh, F-M. 2007. Degradation of phenol and TCE using suspended and chitosan-bead immobilized *Pseudomonas putida*. Journal of Hazardous Materials 148(3): 660-670.

Colowick, S. P., and Kaplan, N.O. 1987. Immobilized enzymes and cells Part B. Methods in Enzymology 135: 173-472.

Desouky, A.E.H., Beshay, U., Abdelhamid, A.O., Moawad , H., and Zaki, S. 2003. Effects of mixed nitrogen sources on biodegradation of phenol by immobilized *Acinetobacter* sp. strain W-17. African Journal of Biotechnology 2(1): 8-12.

Dua, M., Singh, A., Sethunathan, N., and Johri, A. K. 2002. Biotechnology and bioremediation: Successes and limitations. Applied Microbiology and Biotechnology 59: 143-152.

Dubinin. M.M. In: P.L. Walker, Editor, *Chemistry and Physics of Carbon* Vol. 2, Marcel Dekker, New York (1966), pp. 51-120.

Gibson, D. T., and Subramanian, V. Microbial degradation of aromatic hydrocarbons. In Gibson, D. T. (Ed.), Microbial Degradation of Organic Compounds. pp. 181-252. New York: Marcel Dekker. 1984.

Gundel, J., Mannschreck, C., Buttner, K. Ewers, U., and Angerer, J. 1996. Urinary levels of 1-hydroxypyrene, 1-, 2-, 3-, and 4-hydroxyphenanthrene in females living in an industrial area of Germany. Archives of Environmental Contamination and Toxicology 31(4): 585-590.

Ha, J., Engler, C. R., and Wild, J. R. 2009. Biodegradation of coumaphos, chlorferon, and diethylthiophosphate using bacteria immobilized in Ca-alginate gel beads. Bioresource Technology 100(3): 1138-1142.

Habe, H., and Omori, T. 2003. Genetics of polycyclic aromatic hydrocarbon metabolism in diverse aerobic bacteria. Bioscience Biotechnology and Biochemistry 67(2): 225-243.

Hati, S. S. D., G. A. Egwu, G. O., and Ogugbuaja, V. O. 2009. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) contamination of synthetic industrial essential oils utilized in Northern Nigeria. African Journal of Pure and Applied Chemistry 3(5): 86-91.

Idris, A., and Suzana, W. 2006. Effect of sodium alginate concentration, bead diameter, initial pH and temperature on lactic acid production from pineapple waste using immobilized *Lactobacillus delbrueckii*. Process Biochemistry 41:1117-1123.

Iwabuchi, T., Inomatayamauchi, Y., Katsuta, A., and Harayama, S. 1998. Isolation and characterisation of marine Norcardioides capable of growing and degrading phenanthrene at 42°C. Journal of Marine Biotechnology 6: 86-90.

Johnsen, A. R., Wick, L.Y., and Harms, H. 2005. Principles of microbial PAH-degradation in soil. Environmental Pollution 133: 71-84.

Kang, H., Hwang, S.Y., Kim, Y.M., Kim, E., Kim, Y.S., and Kim, S.K. 2003. Degradation of phenanthrene and naphthalene by a *Burkholderia* species strain. Canadian Journal Microbioogy 49: 139-144.

Kerrar, A. D., Gais, S., Ouallouche, K., Khodja, A. N., Mahlous, M., and Hacene, H. 2007. Immobilization of *Rhodococcus erythropolis* B4 on radiation crosslinked poly (vinylpyrrolidone) hydrogel: Application to the degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons. Nuclear Instruments and Methods in Physics Research 265: 370-374.

Kim, S. J., Kweon, O., Jones, R. C., Freeman, J. P., Edmondson, R. D., and Cerniglia, C. E. 2007. Complete and integrated pyrene degradation pathway in *Mycobacterium vanbaalenii* PYR-1 based on systems biology. Journal Bacteriology 189(2): 464-472.

Kim, T.J., Lee, E.Y., Kim, Y.J., Cho, K-S., and Ryu, H.W. 2004. Degradation of polyaromatic hydrocarbons by *Burkholderia cepacia* 2A-12. Journal of Microbiology and Biotechnology 19(4): 411-417.

Kim, Y-H., Freeman, J.P., Moody, J.D., Engesser, K-H.,and Cerniglia, C.E. 2005. Effects of pH on the degradation of phenanthrene and pyrene by *Mycobacterium vanbaalenii* PYR-1. Applied Microbiology and Biotechnology 67(2): 275-285.

Konsoula, Z., and Liakopoulou-Kyriakides, M. 2006. Thermostable alpha-amylase production by *Bacillus subtilis* entrapped in calcium alginate gel capsules. Enzyme and Microbial Technology 39: 690–696.

Lal, B., and Khanna, S. 1996. Degradation of crude oil by *Acinetobacter calcoaceticus* and *Alcaligenes odorans*. Journal of Applied Bacteriology 81: 355-362.

Lan, W. U., Gang, G.E., and Jinbao, W.A.N. 2009. Biodegradation of oil wastewater by free and immobilized *Yarrowia lipolytica* W29. Journal of Environmental Sciences 21:237-242.

Lee, K-Y., and Heo, T-R. 2000. Survival of *Bifidobacterium longum* immobilized in calcium alginate beads in simulated gastric juices and bile salt solution. Applied and Environmental Microbiology 66: 869–873.

Lehto, K.M., Puhakka, J.A., and Lemmeyinen, H. 2003. Photodegradation products of polycyclic aromatic hydrocarbons in water and their amenability to biodegradation. Polycyclic Aromatic Compound 23: 401-416.

Leitao, A. L. 2009. Potential of *Penicillium* species in the bioremediation field. International Journal Environmental Research and Public Health 6:1472-1484.

Liguori, L., Heggstad, K., Hove, H. T., and Julshamn, K. 2006. An automated extraction approach for isolation of 24 polyaromatic hydrocarbons (PAHs) from various marine matrixes. Analytica Chimica Acta 573-574: 181-188.

Luepromchai, E., Lertthamrongsak, W., Pinphanichakarn, P., Thaniyavarn, S., Pattaragulwanit, K., and Juntongjin, K. 2007. Biodegradation of PAHs in petroleum-contaminated soil using tamarind leaves as microbial inoculums. Songklanakarin Journal Science Technology 29(2): 515-527.

Mallick, S., and Dutta, T.K. 2008. Kinetics of phenanthrene degradation by *Staphylococcus* sp. strain PN/Y involving 2-hydroxy-1-naphthoic acid in a novel metabolic pathway. Process Biochemistry 43: 1004-1008.

Mandal, S., Puniya, A.K.,and Singh, K. 2005. Effect of alginate concentrations on survival of microencapsulated *Lactobacillus casei* NCDC-298. International Dairy Journal 16: 1190–1195.

Maria, C.S. Bioremediation of organic contaminants. In , Microbiological examination of water and wastewater. pp. 79-84. CRV Florida,USA: Press LLC. 1999.

Meador, J. P., Stein, J.E., Reichert, W.L., and Varanasi, U. 1995. Bioaccumulation of polycyclic aromatic hydrocarbons by marine organisms. Reviews of Environmental Contamination and Toxicology 143: 79-165.

Miller, C. D., Hall, K., Liang, Y.N., Nieman, K., Sorensen, D., Issa, B., Anderson, A.J., and Sims, R.C. 2004. Isolation and characterization of polycyclic aromatic hydrocarbon-degrading *mycobacterium* isolates from soil. Microbial Ecology 48: 230-238.

Monteiro, P. P. R., Reis-Henriques, M.A., and Coimbra, J. 2000. Plasma steroid levels in female flounder (Platichthys flesus) after chronic dietary exposure to single

ต้นฉบับ หน้าขาดหาย

Peretz, S., and Cinteza, O. 2008. Removal of some nitrophenol contaminants using alginate gel beads. Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects 319: 165-172.

Pizzul, L., Castillo, M.P., and Stenstrom, J. 2007. Effect of rapeseed oil on the degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons in soil by *Rhodococcus wratislaviensis*. International Biodeterioration & Biodegradation 59(2): 111-118.

Prieto, M.B., Hidalgo, A., Serra, J.L., and Llama, M.J. 2002. Degradation of phenol by *Rhodococcus erythropolis* UPV-1 immobilized on Biolite in a packed-bed reactor. Journal of Biotechnology 97(1): 1-11.

Rahman, R. N. Z. A., Ghazali, F. M., Salleh, A. B., and Basri, M. 2006. Biodegradation of hydrocarbon contamination by immobilized bacterial cells. The Journal of Microbiology 44: 354-359.

Ravelet, C., Krivobok, S., Sage, L., and Steiman, R. 2000. Biodegradation of pyrene by sediment fungi. Chemosphere 40: 557-563.

Rehm, B. H. A. (ed.). Alginate: Biology and Applications. DOI: 10.1007/978-3-540-92679-5. New York: Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2009.

Resource Conservation and Recovery Act (RCRA). Hazardous waste listing [online]. 2008. Available from: http://www.epa.gov/osw/hazard/wastetypes/pdfs/listing-ref.pdf [January 6, 2010].

Robles-Gonzalez, I. V. F., F., and Poggi-Varaldo, H.M. 2008. A review on slurry bioreactors for bioremediation of soils and sediments. Microbial Cell Factories review: 1-16.

Romero, M.C., Salvioli, M.L., Cazau, M.C., and Arambarri, A. M. 2002. Pyrene degradation by yeasts and filamentous fungi. Environmental Pollution 117(1): 159-163.

Salem, S.R., and Al-Barakati, F.A. 2005. Optimization of operative different conditions affecting phenol degradation by free and entrapped *Acinetobacter johnsonii* cells. Pakistan Journal of Biological Sciences 8(3): 361-368.

Segura, A., Duque, E., Mosqueda, G., Ramos, J. L., and Junker, F. 1999. Multiple responses of gram-negative bacteria to organic solvents. Environmental Microbiology Minireview 1(3): 191–198.

Seo, J. S., Keum, Y. S., and Li, Q. X. 2009. Bacterial degradation of aromatic compounds. International Journal of Environmental Research and Public Health 6(1): 278-309.

Seoud, M. A., and Maachi, R. 2003. Biodegradation of naphthalene by free and alginate entrapped *Pseudomonas* sp. Z. Naturforsch 58: 726-731.

Sikkema, J., de Bont, J.A., and Poolman, B. 1995. Mechanisms of membrane toxicity of hydrocarbons. Microbiological Reviews 59(2): 201–222.

Stingley, R. L. K., A. A., and Cerniglia C. E. 2004. Molecular characterization of a phenanthrene degradation pathway in *Mycobacterium vanbaalenii* PYR-1 Biochemical and Biophysical Research Communications 322: 133-146.

Supaka, N., Pinphanichakarn, P., Pattaragulwanit, K., Thaniyavarn, S., Omori, T., and Juntongjin, K. 2001. Isolation and Characterization of a phenanthrene-degrading *Sphingomonas* sp. strain P2 and its ability to degrade fluoranthene and pyrene via cometabolism. Science Asia 27: 21-28.

Tallur, P. N., Megadi, V. B., and Ninnekar, H. Z. 2009. Biodegradation of p-cresol by immobilized cells of *Bacillus* sp. strain PHN 1. Biodegradation 20(1): 79-83.

Tanaka, H., Irie, S., and Ochi, H. 1989. A novel immobilization method for prevention of cell leakage from the gel matrix. Journal of Fermentation and Bioengineering 68(3): 216-219.

Thorn, K. A., and Aiken, G. R. . 1998. Biodegradation of crude oil into nonvolatile organic acids in a contaminated aquifer near Bemidji, Minnesota. Organic geochemistry 29(4): 909-931.

Tian, L., Ma, P., and Zhong, J.J. 2003. Kinetics and key enzyme activities of phenanthrene degradation by *Pseudomonas Mendocina*. Process Biochem 37: 1431-1437.

Trejo, M., and Quintero, R. 2000. Bioremediation of contaminated soil. In J. O. Eugenia, S. Gloria, and H. Elizabeth, (Eds.), Environmental Biotechnology Cleaner Bioprocess. pp. 179-189. London: Tayler and Francis Limited.

Trzesicka-Mlynarz, D. T., and Ward, O. P. 1996. Degradation of fluoranthrene in a soil matrix by indigenous and introduced bacteria. Biotechnology Letters 18:181-186.

Tsen, J. H., Lin, Y. P., and King, V. A. 2003. Banana puree fermentation by *Lactobacillus acidophilus* immobilized in Ca-alginate. The Journal of General and Applied Microbiology 49(6): 357-361.

Turnbull, G., Ousley, M., Walker, A., Shaw, E., and Morgan, J.A.W. 2001. Degradation of substituted phenylurea herbicides by *Arthrobacter globiformis* strain D47 and characterization of a plasmid-associated hydrolase gene, *puhA*. Applied and Environmental Microbiology 67(5): 2270-2275.

U.S. EPA. 1987. Health and environmental effects profile for phenanthrene: The environmental criteria and assessment office, office of health and environmental assessment, U.S. Environmental Protection Agency, Cincinnati, OH, for the office of solid waste and emergency response ECAO-CIN-P226.

Van Veen, J. A., Van Overbeek, L.S., and Van Elsas, J.D. 1997. Fate and activity of microorganisms introduced into soil. Microbiology and Molecular Biology Reviews 61: 121-135.

Verschueren, K. Handbook of environmental data on organic chemicals. New York: Thomson publishing, pp. 596-599, 1997.

Vidali, M. 2001. Bioremediation. An overview. Pure and Applied Chemistry 73(7): 1163-1172.

Wand, G. S., Mangold, D., Ali, M., and Giggey, P. 1999. Adrenocortical responses and family history of alcoholism. Alcoholism Clinical and Experimental Research 23(7): 1185-1190.

Wang, B., Lai, Q., Cui, Z., Tan, T., and Shao, Z. 2008. A pyrene-degrading consortium from deep-sea sediment of the West Pacific and its key member *Cycloclasticus* sp. P1. Environmental Microbiology Reports 10(8): 1948-1963.

Wang, C., and Li, Y. 2007. Incorporation of granular activated carbon in an immobilized membrane bioreactor for the biodegradation of phenol by *Pseudomonas putida*. Biotechnology Letters 29(9): 1353-1356.

Wang, J., Yang, H., Lu, H., Zhou, J., Wang, J., and Zheng, C. 2009. Aerobic biodegradation of nitrobenzene by a defined microbial consortium immobilized in polyurethane foam. Chemistry and Materials Science 25(5): 875-881.

Wang, X., Gai, Z., Yu, B., Feng, J., Xu, C., Yuan, Y., Lin, Z., and Xu, P. 2007. Degradation of Carbazole by Microbial Cells Immobilized in Magnetic Gellan Gum Gel Beads. Applied and Environmental Microbiology 73: 6421-6428.

Wilson, S. C., and Jones, K. C. 1993. Bioremediation of soil contaminated with polynuclear aromatic hydrocarbons (PAHs): a review. Environmental Pollution 81(3): 229-249.

Yang, K., Wang, X., Zhu, L., and Xing, A.B. 2006. Competitive Sorption of pyrene, phenanthrene, and naphthalene on multiwalled carbon nanotubes. Environmental Science and Technology *40*(18): 5804–5810.

Zhang, W., and He, X. 2009. Encapsulation of living cells in small alginate microcapsules by electrostatic spraying: A parametric study. Journal of Biomechanical Engineering 131: 1-6.

Zhao, H. P., Wu, Q.S., Wang, L., Zhao, X.T., and Gao, H.W. 2009. Degradation of phenanthrene by bacterial strain isolated from soil in oil refinery fields in Shanghai, China. Journal of Hazardous Materials 164: 863-869.

Zhou, X., Liu, L., Chen, Y., Xu, S., and Chen, J. **2007**. Efficient biodegradation of cyanide and ferrocyanide by Na-alginate beads immobilized with fungal cells of *Trichoderma koningii*. Canadian Journal of Microbiology 53(9): 1033-1037.

Zinjarde, S.S., and Pant, A. 2000. Crude oil degradation by free and immobilized cells of *Yarrowia lipolytica* NCIM 3589. Journal of Environment Science Health 35(5): 755-763.

ภาคผนวก

# ภาคผนวก ก

## สูตรและวิธีการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

1. **อาหารเลี้ยงเชื้อ** Carbon Free Mineral Salt Medium (CFMM)

| | | | |
|---|---|---|---|
| ก. | แอมโมเนียมไนเตรต ($NH_4NO_3$) | 3.0 | กรัม |
| | ไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟตเดคะไฮเดรต ($Na_2HPO_4 \cdot 12H_2O$) | 5.5 | กรัม |
| | โปแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต ($KH_2PO_4$) | 0.8 | กรัม |
| ข. | แมกนีเซียมซัลเฟตเฮพทะไฮเดรต ($MgSO_4 \cdot 7H_2O$) | 0.1 | กรัม |
| | เฟอริกคลอไรด์เฮกซะไฮเดรต ($FeCl_3 \cdot 6H_2O$) | 0.05 | กรัม |
| | แคลเซียมคลอไรด์ไดไฮเดรต ($CaCl_2 \cdot 2H_2O$) | 0.05 | กรัม |

ชั่งสารส่วน ก. ละลายในน้ำกลั่นปริมาตร 1,000 มล. ปรับค่าความเป็นกรด-ด่าง ด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 1 นอร์มัล ให้เป็น 7.5 จากนั้นนึ่งฆ่าเชื้อด้วยความดันไอ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 $^{o}$ซ เป็นเวลา 15 นาที เติมสารละลายในส่วน ข. ที่ทำการเตรียมแยกแต่ละชนิดและทำให้ปราศจากเชื้อโดยกรองผ่านชุดกรองสำเร็จรูปเซลลูโลสอะซีเตทขนาดรู 0.45 ไมโครเมตร ลงในอาหารที่ทำการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว

2. **อาหารเลี้ยงเชื้อเหลว** Luria-Bertani (LB broth)

| | | |
|---|---|---|
| ทริปโตน (tryptone) | 10.0 | กรัม |
| สารสกัดจากยีสต์ (yeast extract) | 5.0 | กรัม |
| โซเดียมคลอไรด์ (NaCl) | 5.0 | กรัม |

ละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำกลั่นปริมาตร 1000 มล. ปรับค่าความเป็นกรด-ด่างด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 1 นอร์มัล ให้เป็น 7.0 ปรับปริมาตรให้เป็น 1,000 มล. นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยความดันไอ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 $^{o}$ซ เป็นเวลา 15 นาที

3. **อาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง** Luria-Bertani (LB agar)

เตรียมอาหารด้วยวิธีเช่นเดียวกับการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว LB แต่ละลายผงวุ้น 15 กรัมต่ออาหารเลี้ยงเชื้อ 1,000 มล. ลงไปในอาหารก่อนนำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยความดันไอ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 $^{o}$ซ เป็นเวลา 15 นาที

# ภาคผนวก ข

## สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

**1. สารละลายฟีแนนทรีนและไพรีนในไดเมทิลซัลฟอกไซด์**

ชั่งฟีแนนทรีนและไพรีนอย่างละ 0.05 กรัม ละลายในไดเมทธิลซัลฟอกไซด์ปริมาตร 10 มล.ผสมด้วยเครื่องปั่นผสมจนผลึก PAHs ละลายหมด ทำให้ปราศจากเชื้อโดยกรองด้วยชุดกรองสำเร็จรูปชนิด PTFE ที่มีขนาดรูกว้าง 0.20 ไมโครเมตร เก็บรักษาในขวดสีชาหรือห่อให้มิดชิดเก็บที่อุณหภูมิ –20 $^{o}$ซ เติมลงในอาหารเหลว CFMM ที่ผ่านการฆ่าเชื้อและเย็นลงที่อุณหภูมิห้องแล้ว

**2. สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 1 นอร์มัล**

ชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์ 40 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 900 มล. ในขวดวัดปริมาตรขนาด 1,000 มล. ปรับปริมาตรให้ครบ 1,000 มล. ด้วยน้ำกลั่น

**3. สารละลายโซเดียมคลอไรด์** 0.85%

ชั่งโซเดียมคลอไรด์ 0.85 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 100 มล. นึ่งฆ่าเชื้อด้วยความดันไอ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 $^{o}$ซ เป็นเวลา 15 นาที

**4. สารปฏิชีวนะนิสตาติน**

ชั่งนิสตาติน 40 มก.ละลายในไดเมทธิลซัลฟอกไซด์ปริมาตร 1 มล.ทำให้ปราศจากเชื้อโดยกรองด้วยชุดกรองสำเร็จรูปชนิด PTFE ที่มีขนาดรูกว้าง 0.20 ไมโครเมตร เก็บรักษาในขวดสีชาหรือห่อให้มิดชิดเก็บที่อุณหภูมิ –20 $^{o}$ซ การนำมาใช้จะให้มีปริมาตรสุดท้ายเท่ากับ 40 มก./ลิตร โดยเติม 1 ไมโครลิตรต่อ1 มิลลิลิตร

**5. 70% เอธานอล**

ละลายเอธานอลสัมบูรณ์ ปริมาตร 700 มล. ในน้ำกลั่นปลอดประจุปริมาตร 300 มล.

**6. กลีเซอรอล**

นำกลีเซอรอลมานึ่งฆ่าเชื้อด้วยความดันไอ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 °ซ เป็นเวลา 15 นาที ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วนึ่งฆ่าเชื้อซ้ำอีกรอบหนึ่ง

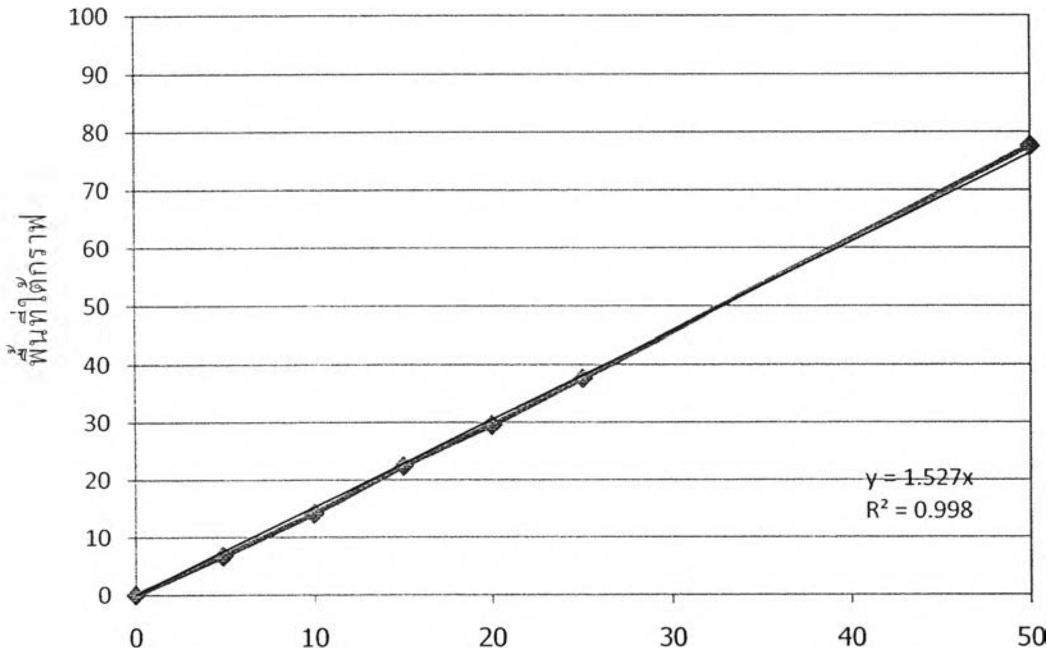
**7. สารละลายโซเดียมซิเตรต**

ชั่งโซเดียมซิเตรตไดไฮเดรต 1 กรัมละลายในน้ำกลั่น 100 มล. (ความเข้มข้น 1 % w/v) นึ่งฆ่าเชื้อด้วยความดันไอ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 °ซ เป็นเวลา 15 นาที

# ภาคผนวก ค

## กราฟมาตรฐาน

1. กราฟมาตรฐานของฟีแนนทรีน




ความเข้มข้นฟีแนนทรีน (มิลลิกรัมต่อลิตร)

**รูปที่ ค. 1 กราฟมาตรฐานระหว่างปริมาณฟีแนนทรีนกับพื้นที่ใต้กราฟที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟี**

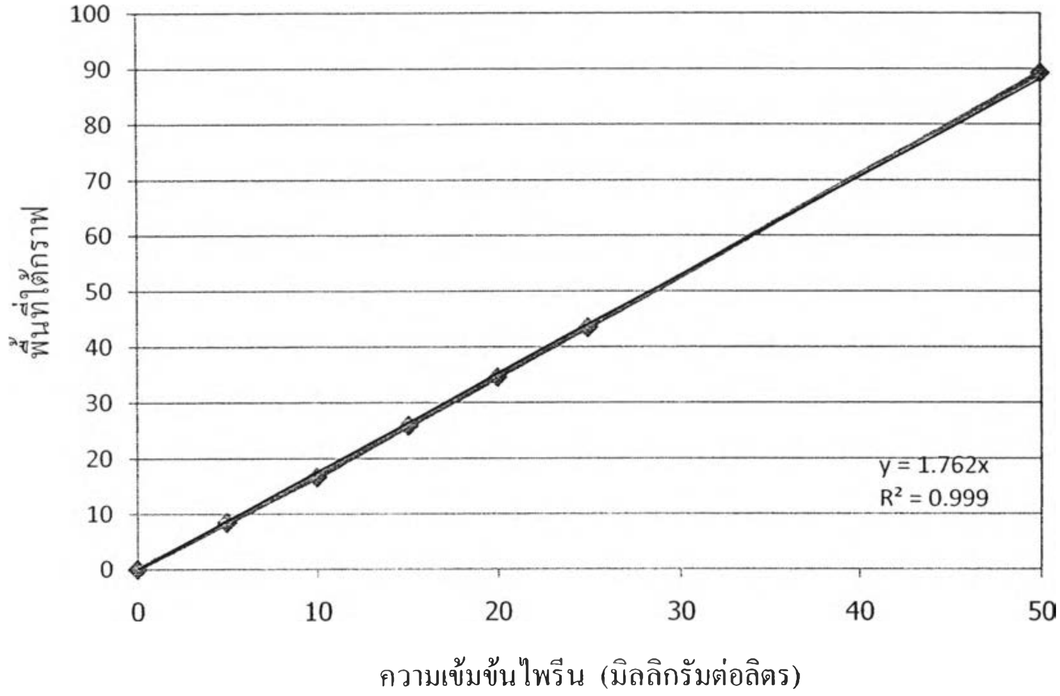
ความเข้มข้นของฟีแนนทรีนหาได้จากนำพื้นที่ใต้กราฟที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยเครื่องวิเคราะห์แก๊สโครมาโตกราฟฟี มาแทนค่าในสมการเส้นตรงดังต่อไปนี้

พื้นที่ใต้กราฟ = (ความชันของกราฟมาตรฐาน × ปริมาณฟีแนนทรีน) + จุดตัดแกนวาย

โดยที่ ความชันของกราฟมาตรฐาน = 1.527

จุดตัดแกนวาย = 0.0

2. กราฟมาตรฐานของไพรีน




**รูปที่ ค. 2 กราฟมาตรฐานระหว่างปริมาณไพรีนกับพื้นที่ใต้กราฟที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟี**

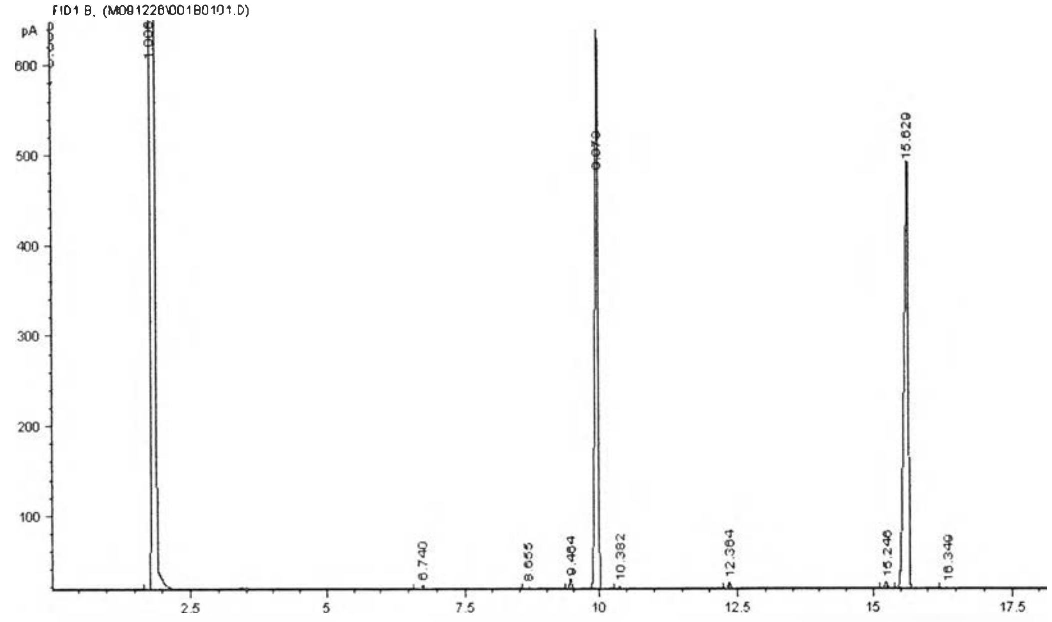
ความเข้มข้นของไพรีนหาได้จากนำพื้นที่ใต้กราฟที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยเครื่องวิเคราะห์แก๊สโครมาโตกราฟีมาแทนค่าในสมการเส้นตรงดังต่อไปนี้

พื้นที่ใต้กราฟ = (ความชันของกราฟมาตรฐาน × ปริมาณไพรีน) + จุดตัดแกนวาย

โดยที่ ความชันของกราฟมาตรฐาน = 1.762

จุดตัดแกนวาย = 0.0

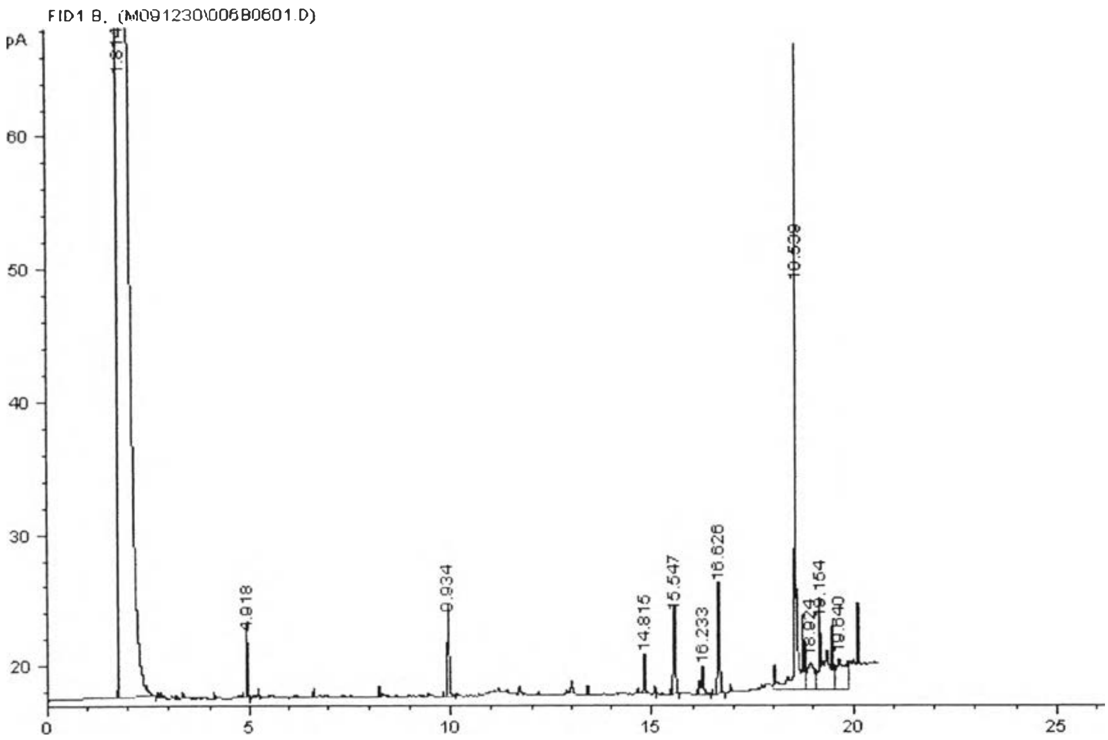
3. โครมาโตแกรมของฟีแนนทรีนและไพรีน




| # | Time | Area | Height | Width | Symmetry |
|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 1.806 | 700482.7 | 299917.5 | 0.0389 | 0.983 |
| 2 | 6.74 | 9.7 | 3.2 | 0.0512 | 1.017 |
| 3 | 8.655 | 4.1 | 1.3 | 0.0611 | 1.061 |
| 4 | 9.464 | 31.8 | 8.5 | 0.0621 | 0.98 |
| 5 | 9.973 | 2286.3 | 458 | 0.0832 | 1.158 |
| 6 | 10.382 | 7.1 | 1.9 | 0.068 | 1.029 |
| 7 | 12.364 | 19 | 5.7 | 0.0627 | 1.024 |
| 8 | 15.246 | 22 | 5.7 | 0.069 | 0.968 |
| 9 | 15.629 | 2459.6 | 468.6 | 0.0852 | 1.379 |
| 10 | 16.349 | 4.6 | 8.4E-1 | 0.0952 | 1.051 |

**รูปที่ ค.** 3 **โครมาโตแกรมฟีแนนทรีนและไพรีนที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟี** (Retention time **ของฟีแนนทรีนประมาณ** 9.973 **นาที และ**Retention time **ของไพรีนประมาณ** 15.629 **นาที**)

4. โครมาโตแกรมของตัวอย่างน้ำเสียห้องปฏิบัติการ




| # | Time | Area | Height | Width | Symmetry |
|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 1.814 | 477019.2 | 123032.6 | 0.0612 | 0.77 |
| 2 | 4.918 | 11.1 | 4.6 | 0.0441 | 0.955 |
| 3 | 9.934 | 20.8 | 6 | 0.0645 | 0.903 |
| 4 | 14.815 | 9.6 | 2.7 | 0.0652 | 0.788 |
| 5 | 15.547 | 24.6 | 5.9 | 0.0651 | 0.917 |
| 6 | 16.233 | 11.2 | 1.9 | 0.1002 | 1.323 |
| 7 | 16.626 | 30.2 | 8.1 | 0.0675 | 0.979 |
| 8 | 18.539 | 153 | 30.4 | 0.0747 | 0.67 |
| 9 | 18.924 | 22.3 | 2 | 0.1648 | 0.662 |
| 10 | 19.154 | 65.6 | 4.9 | 0.1725 | 0.219 |
| 11 | 19.64 | 41.2 | 2.2 | 0.2383 | 0.338 |

**รูปที่ ค. 4 โครมาโตแกรมของตัวอย่างน้ำเสียห้องปฏิบัติการที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟี** (Retention time **ของฟีแนนทรีนประมาณ** 9.934 **นาที และ** Retention time **ของไพรีนประมาณ** 15.547 **นาที**)

# ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นางสาวอภิรดี ประเวศจรรยา เกิดเมื่อวันที่ 1 ธันวาคม พ.ศ.2528 ที่จังหวัดกรุงเทพมหานคร สำเร็จการศึกษาปริญญาวิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาจุลชีววิทยา ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในปีการศึกษา 2550 และเข้ารับการศึกษาต่อในระดับปริญญามหาบัณฑิต สาขาจุลชีววิทยาทางอุตสาหกรรม ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในปีการศึกษา 2551