ภาคผนวก

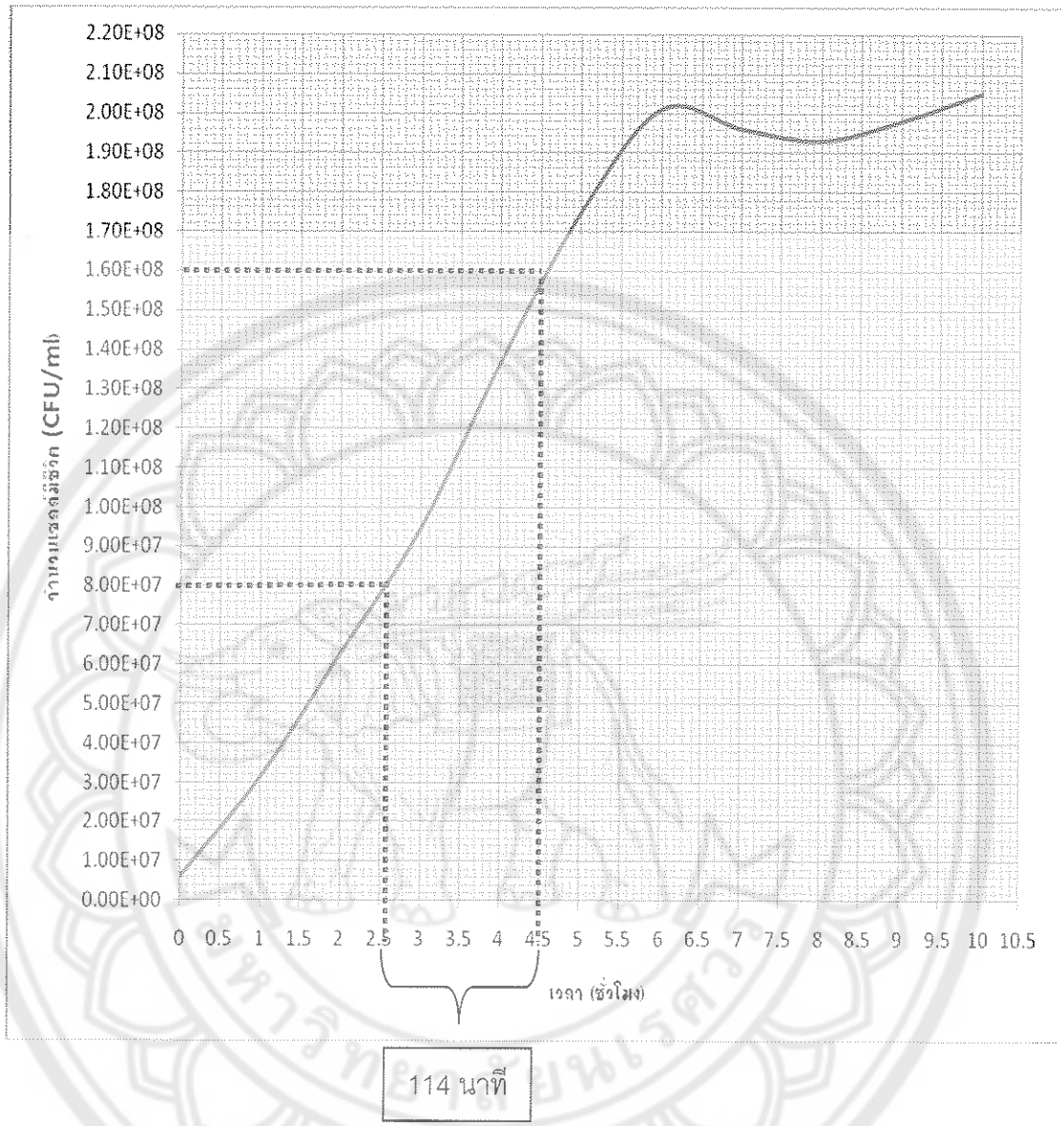
ภาคผนวก ก ลักษณะการเจริญของเชื้อ *Bacillus megaterium* สายพันธุ์ RS91

การเจริญของเชื้อ *B. megaterium* สายพันธุ์ RS91

ผลจากการเก็บตัวอย่างแบคทีเรียที่ทำการเลี้ยงในอาหารเหลว Tryptic Soy Broth แล้วนำไปตรวจวัดค่าความขุ่นและตรวจนับจำนวนเซลล์รอดชีวิตทุกๆ 1 ชั่วโมงจนกว่าค่าความขุ่นจะคงที่ พบว่าเชื้อมีการเจริญแบบ exponential (เพิ่มจำนวนแบบทวีคูณ) ในช่วง 1 ถึง 5 ชั่วโมงแรก และเริ่มเข้าสู่ช่วง stationary phase (จำนวนเซลล์คงที่) ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 6 จนถึงชั่วโมงที่ 10 ดังตาราง

ตาราง 16 บันทึกผลการเจริญของเชื้อ *B. megaterium* สายพันธุ์ RS91

เวลาที่เพาะเลี้ยง (ชม.)	จำนวนเซลล์/มล.	Log จำนวนเซลล์/มล.	ค่าความขุ่น (OD 600)
0	6.27×10^6	6.797268	0.089
1	3.15×10^7	7.498311	0.223
2	6.03×10^7	7.799341	0.419
3	9.47×10^7	7.97635	0.799
4	1.37×10^8	8.136721	0.972
5	1.75×10^8	8.243038	1.222
6	2.01×10^8	8.303196	1.316
7	1.96×10^8	8.292256	1.38
8	1.93×10^8	8.285557	1.37
9	1.98×10^8	8.296665	1.35
10	2.05×10^8	8.311754	1.3



ภาพ 5 แสดงความสัมพันธ์ของจำนวนเซลล์มีชีวิตกับเวลาของเชื้อ *B. megaterium* สายพันธุ์ RS91

จากภาพสามารถคำนวณหาระยะเวลาที่เชื้อ *B. megaterium* สายพันธุ์ RS91 ใช้ในการแบ่งตัวเพิ่มเป็น 2 เท่าหรือค่า generation time ได้ดังนี้

เลือกช่วงการเจริญของเชื้อที่มีการเพิ่มจำนวน 2 เท่า โดยให้อยู่ในช่วงที่เส้นกราฟมีความชันสูงที่สุดลากเส้นประจากจำนวนเซลล์ที่ต่างกันบนแกน y ตัดเส้นกราฟแล้วลากลงมาสู่แกน x ซึ่งเป็นระยะเวลา ผลต่างของระยะเวลาคือค่า generation time

จำนวนเซลล์ 1.6×10^8 cfu/ml ที่ระยะเวลา 4.5 ชั่วโมง เท่ากับ 270 นาที

จำนวนเซลล์ 8×10^7 cfu/ml ที่ระยะเวลา 2.6 ชั่วโมง เท่ากับ 156 นาที

ค่า generation time ที่ได้เท่ากับ 114 นาที

จากค่า generation time ที่ได้สามารถคำนวณหาค่าอัตราการเจริญหรือ specific growth rate (μ) ได้ดังนี้

$\mu = 0.693/td\ (Hr)$

$= 0.693/1.9$

$= 0.36$ generation/Hr

หมายความว่าใน 1 ชั่วโมง *B. megaterium* สายพันธุ์ RS91 แบ่งตัวได้ 0.36 ครั้ง

ภาคผนวก ข การคำนวณปริมาณเนื้อสารและร้อยละของตะกั่ว

ปริมาณเนื้อสาร

ค่าตะกั่วที่วิเคราะห์ได้จาก AASในแต่ละขั้นตอนการเก็บตัวอย่าง คือ A, B, C, D และ E ตามลำดับ

ปริมาตรของสารในแต่ละขั้นตอนการเก็บตัวอย่าง

เริ่มต้น	30 mL
เหลือ	30 mL
ล้าง 1,2	5 mL
ย่อย	50 mL

การคำนวณเนื้อสารขั้นตอนเริ่มต้น

ที่ปริมาตร 1,000 mL	มีเนื้อสาร	A	mg
ดังนั้นปริมาตร 30 mL	มีเนื้อสาร	(A × 30)/1,000	mg

การคำนวณเนื้อสารขั้นตอนเหลือ

ที่ปริมาตร 1,000 mL	มีเนื้อสาร	B	mg
ดังนั้นปริมาตร 30 mL	มีเนื้อสาร	(B × 30)/1,000	mg

การคำนวณเนื้อสารขั้นตอนล้าง 1, 2

ที่ปริมาตร 1,000 mL	มีเนื้อสาร	C และ D	mg
ดังนั้นปริมาตร 5 mL	มีเนื้อสาร	(C × 30)/1,000	mg
		และ (D × 30)/1,000	mg

การคำนวณเนื้อสารขั้นตอนย่อย

ที่ปริมาตร 1,000 mL	มีเนื้อสาร	E	mg
ดังนั้นปริมาตร 50 mL	มีเนื้อสาร	(E × 50)/1,000	mg

ร้อยละของตะกั่ว

ปริมาณเนื้อสารที่คำนวณได้ในแต่ละขั้นตอน เหลือ, ล้าง 1, ล้าง 2 และย่อย คือ M, N,O และ P ตามลำดับ

ปริมาณเนื้อสารที่คำนวณได้ในขั้นตอนเริ่มต้น คือ Q

การคำนวณร้อยละของตะกั่วในขั้นตอนเหลือ	
ปริมาณเนื้อสารเริ่มต้นเท่ากับ Q	คิดเป็นร้อยละ 100
ปริมาณเนื้อสารเหลือเท่ากับ M	คิดเป็นร้อยละ (M/Q) × 100
การคำนวณร้อยละของตะกั่วในขั้นตอนล้าง1	
ปริมาณเนื้อสารเริ่มต้นเท่ากับ Q	คิดเป็นร้อยละ 100
ปริมาณเนื้อสารเหลือเท่ากับ N	คิดเป็นร้อยละ (N/Q) × 100
การคำนวณร้อยละของตะกั่วในขั้นตอนล้าง 2	
ปริมาณเนื้อสารเริ่มต้นเท่ากับ Q	คิดเป็นร้อยละ 100
ปริมาณเนื้อสารเหลือเท่ากับ O	คิดเป็นร้อยละ (O/Q) × 100
การคำนวณร้อยละของตะกั่วในขั้นตอนเหลือ	
ปริมาณเนื้อสารเริ่มต้นเท่ากับ Q	คิดเป็นร้อยละ 100
ปริมาณเนื้อสารเหลือเท่ากับ P	คิดเป็นร้อยละ (P/Q) × 100