



เลขที่เอกสาร: 61120145610106000

สวพ-ว-4(1)

ใบนำส่งรายงานวิจัย

เลขที่รับ(สวพ).....

วันที่รับ.....

ขอส่งรายงานวิจัย มก. ประจำปีงบประมาณ (1) 2557

(2) ลักษณะโครงการ เป็นโครงการวิจัยเดี่ยว รหัส ว-ท(พ-ท(ด)111.56) ชื่อโครงการ การย่อยสลายทางชีวภาพของสารประกอบโพลีไซคลิก อะโรมาติก ไฮโดรคาร์บอน (พีเอเอช) ด้วยจุลินทรีย์เขตร้อน

(3) หัวหน้าโครงการ ผศ.สุรัชย์ ธชีพันธ์

(4) หน่วยงาน ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ บางเขน

(5) ประเภทโครงการวิจัย โครงการวิจัย 3 สาขา โครงการวิจัยสาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

(6) รายงานที่ส่ง รายงานผลการวิจัยฉบับสมบูรณ์ (ฉบับจริง) จำนวน 3 ชุด พร้อม CD/Diskette 5 แผ่น

(7) การเผยแพร่ผลงานวิจัย ประสงค์ให้ สวพ. เผยแพร่ได้

ลงชื่อ.....

(ผศ.สุรัชย์ ธชีพันธ์)

หัวหน้าโครงการ

19 ต.ค. 2558

ใบรับรายงานวิจัย

เลขที่รับ(สวพ).....

วันที่รับ.....

ขอส่งรายงานวิจัย มก. ประจำปีงบประมาณ (1) 2557

(2) ลักษณะโครงการ เป็นโครงการวิจัยเดี่ยว รหัส ว-ท(พ-ท(ด)111.56) ชื่อโครงการ การย่อยสลายทางชีวภาพของสารประกอบโพลีไซคลิก อะโรมาติก ไฮโดรคาร์บอน (พีเอเอช) ด้วยจุลินทรีย์เขตร้อน

(3) หัวหน้าโครงการ ผศ.สุรัชย์ ธชีพันธ์

(4) หน่วยงาน ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ บางเขน

(5) ประเภทโครงการวิจัย โครงการวิจัย 3 สาขา โครงการวิจัยสาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

(6) รายงานที่ส่ง รายงานผลการวิจัยฉบับสมบูรณ์ (ฉบับจริง) จำนวน 3 ชุด พร้อม CD/Diskette 5 แผ่น

(7) การเผยแพร่ผลงานวิจัย ประสงค์ให้ สวพ. เผยแพร่ได้

ลงชื่อ.....

(เจ้าหน้าที่สถาบันวิจัยและพัฒนา)

...../...../.....



รายงานผลการวิจัยฉบับสมบูรณ์
ทุนอุดหนุนวิจัย มก.ปีงบประมาณ 2557

รหัสโครงการวิจัย ว-ท(พ-ท(ด)111.56)
การย่อยสลายทางชีวภาพของสารประกอบโพลีไซคลิก อะโรมาติก ไฮโดรคาร์บอน
(พีเอเอช) ด้วยจุลินทรีย์เขตร้อน
Biodegradation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs)
by tropical microorganisms

หัวหน้าโครงการ ผศ.สุรัชย์ ธชีพันธ์
หน่วยงานต้นสังกัด ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ บางเขน
หน่วยงานหลัก ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ บางเขน

แหล่งทุน : ทุนอุดหนุนวิจัย มก.

สถาบันวิจัยและพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

แบบรายงานผลการวิจัยฉบับสมบูรณ์
โครงการวิจัย (Project)
โครงการวิจัยทุนอุดหนุนวิจัย มก. ปีงบประมาณ 2557

ส่วนที่ 1 ข้อมูลโครงการวิจัย

- 1.1 รหัส ว-ท(พ-ท(ด)111.56) ชื่อโครงการวิจัย การย่อยสลายทางชีวภาพของสารประกอบโพลีไซคลิก อะโรมาติก ไฮโดรคาร์บอน (พีเอเอช) ด้วยจุลินทรีย์เขตร้อน
- 1.2 ลักษณะโครงการ เป็นโครงการวิจัยเดี่ยว
- 1.3 ชื่อหัวหน้าโครงการ ผศ.สุรัชย์ ธชีพันธ์
- 1.4 หน่วยงานต้นสังกัด ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ บางเขน
 หน่วยงานหลัก ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ บางเขน
- 1.5 ประเภทโครงการ โครงการวิจัย 3 สาขา โครงการวิจัยสาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
- 1.6 ระยะเวลาดำเนินงานวิจัยตลอดโครงการ 2 ปี ตั้งแต่ปีงบประมาณ 2556 ถึงปีงบประมาณ 2557
- 1.7 สถานที่ดำเนินงานวิจัย/เก็บข้อมูล
 - ภาควิชาเคมี และภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
- 1.8 งบประมาณรวมตลอดโครงการ 460,000.00 บาท ประกอบด้วย
 - ปีงบประมาณ 2556 ได้รับ 200,000.00 บาท
 - ปีงบประมาณ 2557 ได้รับ 260,000.00 บาท
- 1.9 วัตถุประสงค์โครงการวิจัย
 1. เพื่อศึกษาความเป็นไปได้ในการใช้จุลินทรีย์เขตร้อนย่อยสลายสารประเภทพีเอเอช (PAHs)
 2. เพื่อทำการคัดเลือกกลุ่มแบคทีเรียที่มีความสามารถในการย่อยสลายสารประเภทพีเอเอช
 3. เพื่อทำการคัดเลือกกลุ่มราที่มีความสามารถในการย่อยสลายสารประเภทพีเอเอช
 4. เพื่อศึกษาและเปรียบเทียบความสามารถในการย่อยสลายสารประเภทพีเอเอชของกลุ่มแบคทีเรียและราในเขตร้อน
- 1.10 เป้าหมายผลงานวิจัยตลอดโครงการ

ปีงบประมาณ	เดือนที่	ผลงานวิจัยที่คาดว่าจะได้
2557	1-6	ตัวอย่างราจากธรรมชาติ
	7-12	1. การเพิ่มจำนวนราที่มีความสามารถในการย่อยสลายสารพีเอเอช 2. ผลทดสอบเบื้องต้นของประสิทธิภาพของราในการย่อยสลายสารพีเอเอช
2556	1-6	ตัวอย่างแบคทีเรียจากธรรมชาติ
	7-12	1. การเพิ่มจำนวนแบคทีเรียที่มีความสามารถในการย่อยสลายสารพีเอเอช

2. ผลทดสอบเบื้องต้นของประสิทธิภาพของแบบที่เรียนในการย่อยสลาย
เอเอช

1.11 สรุปผลการดำเนินงานวิจัยตลอดโครงการ

- วัตถุประสงค์ (ตามแผน)

- 1.ศึกษาข้อมูลและสั่งซื้ออุปกรณ์และสารเคมีที่จำเป็น
- 2.การเก็บตัวอย่างจากธรรมชาติแหล่งต่าง ๆ ในประเทศไทย
- 3.การเพิ่มจำนวนราจากดินที่มีความสามารถในการย่อยสลายสารพีเอเอช
- 4.การคัดเลือกและคัดแยกราที่มีความสามารถย่อยสลายสารพีเอเอช
- 5.การทดสอบประสิทธิภาพการย่อยสลายสารพีเอเอช
- 6.สรุปผลการทดลอง

- เป้าหมาย/ผลที่คาดหวัง (ตามแผน)

- 1.อุปกรณ์และสารเคมีที่จำเป็น
- 2.ตัวอย่างราจากแหล่งธรรมชาติ
- 3.สามารถเพิ่มจำนวนราที่มีความสามารถในการย่อยสลายสารพีเอเอชได้
- 4.ราที่มีความสามารถย่อยสลายสารพีเอเอช
- 5.ผลการทดสอบประสิทธิภาพการย่อยสลายพีเอเอช
- 6.รายงานผลการทดลอง

- ผลการดำเนินงาน (ปฏิบัติได้จริง)

- 1.อุปกรณ์และสารเคมีที่จำเป็นสำหรับการทดลอง
- 2.ตัวอย่างราจากแหล่งธรรมชาติ
- 3.สามารถเพิ่มจำนวนราที่มีความสามารถในการย่อยสลายสารพีเอเอชได้
- 4.ราที่มีความสามารถย่อยสลายสารพีเอเอช
- 5.ผลการทดสอบประสิทธิภาพการย่อยสลายพีเอเอช
- 6.รายงานผลการทดลอง

1.12 ผลการดำเนินงานวิจัยเป็นไปตามแผนหรือไม่ อย่างไร

- เป็นไปตามแผน

1.13 ปัญหา อุปสรรคในการดำเนินงาน และแนวทางแก้ไข

- ไม่มีปัญหาและอุปสรรค

1.14 สรุปผลการดำเนินงานตามวัตถุประสงค์

- บรรลุ

1.15 ผลผลิต/สิ่งที่ได้จากการวิจัย (Outputs)

- หัวเรื่องการศึกษาค้นคว้าพิเศษที่สนับสนุน

การย่อยสลายทางชีวภาพของสารประกอบโพลีไซคลิก อะโรมาติก ไฮโดรคาร์บอน (พีเอเอช) ด้วยจุลินทรีย์
เขตร้อน

1.16 จุดเด่นของผลงานวิจัย / ผลผลิต / สิ่งที่ได้จากการวิจัย (outputs)

- สร้างองค์ความรู้ใหม่/นวัตกรรมที่ทันสมัย

สายพันธุ์แบคทีเรียและราที่มีความสามารถในการย่อยสลายสารพีเอเอช

- สร้างนักวิจัยหน้าใหม่/พัฒนานักวิจัย

พัฒนาศักยภาพนักวิจัย

- อื่นๆ

นำผลการศึกษาไปใช้ประโยชน์ในการทำจัดสารพีเอเอชที่ปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อม

1.17 การนำผลการวิจัยไปใช้ประโยชน์ (Outcomes)

1. การนำผลการวิจัยไปเผยแพร่/ถ่ายทอด

1.1 วารสารวิชาการระดับชาติ/วารสารวิชาการระดับนานาชาติ 1 เรื่อง

อยู่ระหว่างส่งตีพิมพ์/กำลังเขียนต้นฉบับ ในวารสารวิชาการระดับนานาชาติ

- ผู้แต่ง : C. Pothiratana, T. Jitthanasuwan, J. Ratchawong and S. Thachepan

- ชื่อเรื่อง : Phenanthrene biodegradation by *Pseudomonas* sp. CH3 isolated from oil-contaminated soil ชื่อวารสาร : Chiang Mai J. Sci.

1.2 นำเสนอในการประชุม/สัมมนาในระดับชาติและนานาชาติ 1 เรื่อง

นำเสนอในการประชุม/สัมมนาในระดับนานาชาติ

- ลักษณะเอกสาร/รูปแบบการนำเสนอ : บทความเต็มรูปแบบ/ภาคโปสเตอร์

- ชื่อผู้เสนอผลงาน : Churapa Teerapatsakul, Chetsada Pothiratana, Surachai Thachepan and Lerluck Chitradon

- ชื่อเรื่อง : Ligninolytic Enzymes of *Lentinus polychrous* and Its Application in Xenobiotic Biodegradation

- ชื่อการประชุมสัมมนา : MIE Bioforum 2014

- วัน/เดือน/ปี : จาก 18 พ.ย. 2557 ถึง 21 พ.ย. 2557

- สถานที่/เมือง/ประเทศ : Shima, Mie, Japan

- หน้า : 0 ถึง 0

1.3 เผยแพร่ผลงานในรูปแบบการจัดนิทรรศการ

-

1.4 บทความ

-

1.5 จัดอบรมถ่ายทอด

-

1.6 นำเสนอทางสื่อผสม

-

1.7 ภาครัฐนำไปใช้กำหนดแผน/นโยบาย

-

1.9 อื่นๆ

-

2. เป้าหมายการนำผลลัพธ์ / ผลสำเร็จที่ได้ / หรือคาดว่าจะได้จากการวิจัยไปใช้ประโยชน์

1. ด้านการศึกษา/เสริมการเรียนการสอน

- ใช้ประโยชน์จากการวิจัยเพื่อเป็นตัวอย่างสำหรับการเรียนการสอน

2. ด้านทรัพยากรธรรมชาติ/สิ่งแวดล้อม

- นำความรู้ที่ได้ไปประยุกต์ใช้ในการบำบัดสารที่มีสมบัติคล้ายคลึงกันในสิ่งแวดล้อม

3. นำความรู้ไปวิจัย/พัฒนาขั้นต่อไป

- นำความรู้ที่ได้ไปวิจัยและพัฒนาต่อเพื่อประยุกต์ใช้ในการบำบัดสารที่มีสมบัติคล้ายคลึงกันในสิ่งแวดล้อมต่อไป

1.18 ผลกระทบ (Impact) ที่เกิดจากการนำผลการวิจัยไปใช้ สอดคล้องกับยุทธศาสตร์ด้านใด

- ยุทธศาสตร์การบริหารราชการแผ่นดิน (พ.ศ.2548 - 2551)

1. ยุทธศาสตร์การปรับโครงสร้างเศรษฐกิจสู่การเติบโตอย่างมีคุณภาพและยั่งยืน

เป้าประสงค์ การพัฒนาวิทยาศาสตร์ เทคโนโลยี วิจัย และนวัตกรรม

2. ยุทธศาสตร์การจัดการทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อมอย่างยั่งยืน

เป้าประสงค์ การอนุรักษ์ ฟื้นฟู และสร้างความมั่นคงของฐานทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม

3. ยุทธศาสตร์การพัฒนาคนสู่สังคมแห่งการเรียนรู้ตลอดชีวิตอย่างยั่งยืน

เป้าประสงค์ การส่งเสริมการเรียนรู้ตลอดชีวิต

- นโยบายและยุทธศาสตร์การวิจัยของชาติ(พ.ศ.2551 - 2553)

ยุทธศาสตร์การวิจัยที่ 4 การสร้างศักยภาพและความสามารถในการพัฒนานวัตกรรมและบุคลากรทางการวิจัย

กลยุทธ์การวิจัยที่ 1 พัฒนา วิทยาศาสตร์เทคโนโลยี และนวัตกรรมสู่เชิงพาณิชย์ รวมทั้งองค์ความรู้ใหม่ทางวิทยาศาสตร์ สังคมศาสตร์ และการพัฒนาองค์ความรู้ใหม่ในวิทยาการต่าง ๆ

แผนงานวิจัยที่ 1 การวิจัยและพัฒนาเกี่ยวกับนวัตกรรม สิ่งประดิษฐ์และองค์ความรู้ใหม่ทางวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี เช่น เทคโนโลยีชีวภาพ วัสดุศาสตร์ เทคโนโลยีสารสนเทศและการสื่อสาร นาโนเทคโนโลยี วิทยาศาสตร์การแพทย์และสาธารณสุข สัตว์ทดลองและวิธีการอื่นเพื่อทดแทนการ

1.19 การรับความคุ้มครองทรัพย์สินทางปัญญา

-

1.20 การได้รับรางวัล

-

1.21 งานที่จะทำต่อไป

- 1. ทดสอบจุลินทรีย์สายพันธุ์ที่ได้กับสารพีเอเอชนิดอื่นนอกจากพีแนทรีน ฟลูออรีน และไพรีน เพื่อให้ครอบคลุมสารพีเอเอหลากหลายชนิดและโครงสร้าง
- 2. เก็บตัวอย่างเพิ่มเติมเพื่อคัดเลือกจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพสูงในการย่อยสลายสารพีเอเอ
- 3. ศึกษากลไกการย่อยสลายทางชีวภาพของสารพีเอเอโดยจุลินทรีย์ที่ได้จากผลงานวิจัย

1.22 คำชี้แจงเพิ่มเติม

-

1.23 ได้แนบรายงานผลการวิจัยฉบับสมบูรณ์ของโครงการ (Project) ตามหัวข้อในส่วนที่ 2 มาด้วยแล้ว

ลงชื่อ.....หัวหน้าโครงการ

(ผศ.สุรัชย์ ธิชีพันธ์)

19 ต.ค. 2558

ส่วนที่ 2

รายงานผลการวิจัยฉบับสมบูรณ์
โครงการวิจัยทุนอุดหนุนวิจัย มก. ปีงบประมาณ 2557

โครงการวิจัยรหัส ว-ท(พ-ท(ด)111.56)

การย่อยสลายทางชีวภาพของสารประกอบโพลีไซคลิก อะโรมาติก ไฮโดรคาร์บอน (พีเอเอช) ด้วยจุลินทรีย์เขตร้อน

(1)สุรชัย ตรีพันธ์, (2)เชษฐา โพธิรัตน์, (3)ชรรษา ธีรภัทรสกุล
 (1)Surachai Thachepan, (2)Chetsada Pothiratana,
 (3)churapa teerapatsakul

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ได้ทำการแยกแบคทีเรียที่มีความสามารถในการย่อยสลายพีแนทรีน (strain CH3) จากดินที่ปนเปื้อนน้ำมันในประเทศไทยด้วยเทคนิค spraying plate ผลการวิเคราะห์ลำดับ 16S rDNA ของแบคทีเรีย strain CH3 นี้แสดงว่าเป็น *Pseudomonas* sp. เมื่อทำการเลี้ยงในอาหาร minimal salt medium พบว่า แบคทีเรีย *Pseudomonas* sp. CH3 ย่อยสลายพีแนทรีนทั้งหมดในอาหารได้ภายใน 3 วัน ที่อุณหภูมิห้อง (30±2°C) และภายใน 6 วัน ที่อุณหภูมิ 37 °C เมื่อเลี้ยงแบคทีเรีย *Pseudomonas* sp. CH3 ที่อุณหภูมิ 42°C พบว่า แบคทีเรียสามารถเจริญได้และย่อยสลายพีแนทรีนได้ประมาณ 23% ของความเข้มข้นพีแนทรีนเริ่มต้นในอาหาร ดังนั้น แบคทีเรียชนิดนี้จึงเหมาะสมสำหรับใช้ในการย่อยสลายพีแนทรีนในเขตร้อนที่อาจมีอุณหภูมิเกิน 40°C ในฤดูร้อน นอกจากนี้ แบคทีเรีย *Pseudomonas* sp. CH3 สามารถใช้สารอะโรมาติกและสารประกอบคาร์บอนที่มีขนาดเล็ก ซึ่งนับเป็นการกำจัดวัฏภูมิพิษด้วยวิธีที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม

นอกจากแบคทีเรียแล้ว งานวิจัยนี้ศึกษาและคัดเลือก white rot fungi ที่สามารถย่อยสลาย PAHs ได้แก่ พีแนทรีน ฟลูออรีน และไพรีน ผลการศึกษาพบ white rot fungi ชนิดใหม่ คือ strain RYNF13 ที่สามารถย่อยสลายพีเอเอชอย่างมีประสิทธิภาพสูง ราชนิดนี้ย่อยสลายพีแนทรีนทั้งหมดในอาหาร mineral salt glucose medium ได้ภายใน 18 วัน ที่อุณหภูมิห้อง (30±2°C) และย่อยสลายฟลูออรีนและไพรีนได้ 95% และ 50% ตามลำดับที่สภาวะแบบเดียวกัน ในการย่อยสลายทางชีวภาพของพีเอเอช strain RYNF13 หลังเอนไซม์ย่อยสลายลิกนิน 3 ชนิด ได้แก่ manganese peroxidase, laccase และ lignin peroxidase เอนไซม์หลักที่หลั่งออกมา คือ manganese peroxidase โดยวัดค่า enzyme activity ได้สูงสุด คือ 178 U/mL?1 ในอาหารที่ผสมพีแนทรีน ดังนั้น strain RYNF13 เป็นราในเขตร้อนที่มีศักยภาพสำหรับการกำจัดวัฏภูมิพิษจากสิ่งแวดล้อม

คำสำคัญ : การย่อยสลายทางชีวภาพ , สารประกอบโพลีไซคลิกอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอน , แบคทีเรียที่ใช้ออกซิเจน , ราจำพวกที่ย่อยสลายลิกนิน , รากลุ่มไวรอก

ABSTRACT

In this research, phenanthrene-degrading bacteria strain CH3 was isolated from oil-contaminated soil in Thailand using a spraying plate technique. The strain CH3 was identified as *Pseudomonas* sp. CH3 based on its 16S rDNA sequence analysis. Complete degradation of phenanthrene in the minimal salt medium culture was observed within 3 days of incubation at room temperature (30±2°C) whereas at 37 °C, complete degradation of phenanthrene occurred within 6 days. At 42°C, the strain CH3 was still able to grow and degrade approximately 23% of phenanthrene. Therefore, the strain CH3 is suitable for phenanthrene bioremediation in tropical areas, where temperature may exceed 40°C during the hot season. Additionally, *Pseudomonas* sp. CH3 can utilize aromatics and small carbon compounds, thus offering an environmentally friendly method to remove hazardous substances from the environment.

Screening of white rot fungi with capability to degrade PAHs, phenanthrene, fluorene and pyrene, were investigated. A newly isolated white rot fungal strain RYNF13 was selected according to its high efficiency in biodegradation of PAHs. Complete degradation of phenanthrene in the mineral salt glucose medium culture was observed within 18 days of incubation at room temperature (30±2°C) whereas 95% of fluorene and 50% of pyrene were degraded in the same condition. The strain RYNF13 secreted three kinds of ligninolytic enzyme, manganese peroxidase, laccase and lignin peroxidase, during PAHs biodegradation. Manganese peroxidase was the major enzyme produced by the fungus. In the culture containing phenanthrene, manganese peroxidase showed the highest enzymatic activity at 178 U/mL. Thus, RYNF13 is a promising tropical white rot fungus for an environmentally friendly removal of hazardous substances from the environment.

Key words : Biodegradation , PAHs , aerobic bacteria , ligninolytic fungi , white rot fungi

(1)ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ บางเขน

(1)Faculty of Science

(2)คณะวิทยาศาสตร์ บางเขน

(2)Faculty of Science

(3)คณะวิทยาศาสตร์ บางเขน

(3)Faculty of Science