

แบบสรุปผลการวิจัย
สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ

ชื่อโครงการ การพัฒนาองค์ความรู้เพื่อการจัดการปัญหาภาวะมลพิษในทะเลและอนุรักษ์ความหลากหลายทางชีวภาพบริเวณหมู่เกาะสิขัง (ปีที่ 2)
 Knowledge Management for Marine Pollution Abatement and Biodiversity Conservation around Sichang Islands (2nd Year)

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัย ประจำปี 2554...จำนวนเงิน 2,205,000.- บาท (สองล้านสองแสนห้าพันบาท)
 ระยะเวลาทำการวิจัย...18...เดือน ตั้งแต่วันที่ 15 ธันวาคม 2554 ถึงวันที่ 15 มิถุนายน 2556...

ผู้วิจัย		โทรศัพท์	โทรสาร
รศ. ดร. กัลยา วัฒนากร	ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย	02-218-5409	02-255-0780
รศ. ดร. วรุดิ จุฬาลักษณ์นกุล	ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย	02-218-5482	02-218-5482
ผศ.ดร.สุรางค์ จุฬาลักษณ์นกุล	ภาควิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล	02-889-2138	02-441-9731
ดร. ชมกฤษ วิรุณานนท์	ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย	02-218-5484	02-252-8979
ดร. รุ่งทิวา เปี่ยมทองคำ	หน่วยปฏิบัติการวิจัยเชื้อเพลิงชีวภาพด้วยตัวเร่งปฏิกิริยาชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย	02-218-5482	02-218-5482

1. ความเป็นมา/ปัญหาในการวิจัย

การศึกษาวิจัยเรื่อง “การพัฒนาองค์ความรู้เพื่อการจัดการปัญหาภาวะมลพิษในทะเลและอนุรักษ์ความหลากหลายทางชีวภาพบริเวณหมู่เกาะสิขัง” ในปี 2 เป็นการวิจัยต่อยอดในเชิงการหา

แหล่งที่มาของมลสารกลุ่มโพลีไซคลิกอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอน(Polycyclic Aromatic Hydrocarbons, PAHs) ซึ่งเป็นสารในกลุ่มของสารพิษอินทรีย์ที่มีความคงทน (Persistent Organic Pollutants, POPs) มีองค์ประกอบของไฮโดรเจนและคาร์บอน เกี่ยวกันเป็นลักษณะวงแหวนเบนซีนตั้งแต่ 2-6 วง สารกลุ่มนี้มีความเป็นพิษและเป็นสารก่อมะเร็ง โดยสารเหล่านี้สามารถเกิดได้จากกิจกรรมของมนุษย์ เช่น การเผาไหม้จากเครื่องยนต์ อากาศเสียจากโรงงานอุตสาหกรรม และสาร PAHs ที่เกิดขึ้นโดยธรรมชาติ เช่น ไฟไหม้ป่า สารกลุ่มนี้บางประเภทสลายตัวยากและสามารถตกค้างสะสมในตะกอนดินในทะเล เช่น บริเวณพื้นที่ชายฝั่งทะเลศรีราชาและเกาะสีชัง จ.ชลบุรี ซึ่งเป็นพื้นที่จอดเรือทอดสมอที่มีการจอดเรือสินค้าขนาดใหญ่และเรือบรรทุกน้ำมันมาเป็นระยะเวลายาวนาน มีการขนถ่ายน้ำมันแบบเทกองจากเรือใหญ่เพื่อนำต่อไปยังแหล่งใช้ ซึ่งกิจกรรมดังกล่าวก่อให้เกิดการฟุ้งกระจายของฝุ่นละอองน้ำมัน ซึ่งเมื่อฝุ่นน้ำมันตกสู่พื้นผิวน้ำทะเลจะถูกดูดซับบนสารแขวนลอยและจมตัวลงสะสมในตะกอนดินพื้นที่ท้องทะเล PAHs ทั้งในน้ำมันและน้ำมันจะส่งผลกระทบต่อระบบนิเวศทางทะเลและสัตว์น้ำ ตลอดจนคุณภาพชีวิตของชุมชนบนเกาะสีชัง เนื่องจากเป็น PAHs หลายตัวเป็นสารก่อมะเร็ง (carcinogenic) ตัวอย่าง เช่น เบนโซ[เอ]แอนทราซีน ไครซีน เบนโซ[บี]ฟลูออแรนทีน เบนโซ[เอเอช]ไพรีน เบนโซ[จีเอช]เพอร์ลิน และเป็นสารก่อการกลายพันธุ์(mutagenic) ด้วย ดังนั้นองค์การพิทักษ์สิ่งแวดล้อมแห่งสหรัฐอเมริกา (US.EPA) จึงได้กำหนดให้ PAHs จำนวน 16 ชนิดเป็นสารพิษอันตรายที่ควรได้รับความสำคัญในการศึกษาเป็นอันดับต้นๆ เนื่องจากมีความเป็นพิษต่อสัตว์น้ำทั่วไปและมีผลกระทบต่อสุขภาพมนุษย์ถ้าบริโภคสัตว์น้ำที่มีการปนเปื้อนสาร PAHs เป็นระยะเวลาเวลานาน เพราะ PAHs สามารถถ่ายทอดไปตามห่วงโซ่อาหารได้ เมื่อ PAHs ได้สะสมเข้าสู่ห่วงโซ่อาหารย่อมส่งผลกระทบต่อสิ่งมีชีวิตต่างๆในห่วงโซ่อาหารและส่งผลกระทบต่อมนุษย์ซึ่งเป็นผู้บริโภคอันดับสุดท้าย ซึ่งข้อมูลต่างๆที่ได้รับจากงานวิจัยครั้งนี้จะเป็นประโยชน์ในการนำมาใช้เป็นข้อมูลในการวางแผนบริหารจัดการสิ่งแวดล้อม กำหนดแนวทางการควบคุม และป้องกันปัญหามลพิษเกี่ยวกับสาร PAHs บริเวณพื้นที่จอดเรือทอดสมอเกาะสีชัง จ.ชลบุรีต่อไป

วัตถุประสงค์ที่สำคัญอีกประการหนึ่งเป็นการใช้ประโยชน์จุลินทรีย์เพื่อการจัดการปัญหาภาวะมลพิษในทะเลและพื้นฟูทรัพยากรชายฝั่งทะเลในธรรมชาติอย่างมีสมดุล โดยมุ่งเน้นการย่อยสลายสารกลุ่มโพลีไซคลิกอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอนด้วยจุลินทรีย์กลุ่มไลโปไลติกซึ่งสามารถผลิตเอนไซม์ย่อยน้ำมันและไขมันได้ โดยเฉพาะอย่างยิ่งเอนไซม์ไลเปส ซึ่งจัดเป็นเอนไซม์ประเภท Triacylglycerol acylhydrolase ทำหน้าที่ในการเร่งการย่อยสลายพันธะเอสเทอร์ของโมเลกุลน้ำมันและไขมัน และด้วยความสามารถในการเร่งปฏิกิริยาที่หลากหลายจึงสามารถนำมาประยุกต์ใช้ได้หลายอุตสาหกรรม ตลอดจนการนำมาใช้ในกระบวนการกำจัดน้ำเสีย อย่างไรก็ตามพบว่ายีสต์นี้สามารถผลิตเอนไซม์แลคเคส ซึ่งเป็นเอนไซม์ในกลุ่มของออกซิโดรีดักเตสทำหน้าที่ในการเร่งปฏิกิริยาการเคลื่อนย้ายอะตอมไฮโดรเจน ออกซิเจน หรืออิเล็กตรอน จากสารประกอบหนึ่งไปยังสารประกอบอื่น เอนไซม์แลคเคสจะเข้าไปเป็นตัวเร่งในปฏิกิริยาและมีความสามารถในการใช้สับสเตรทได้หลากหลายชนิด โดยข้อดีของ

การใช้เอนไซม์แลคเคสเป็นตัวเร่งที่เหนือกว่าตัวเร่งปฏิกิริยาอนินทรีย์ ได้แก่ ความจำเพาะเจาะจง และอัตราการเกิดปฏิกิริยาสูง ไม่เป็นพิษ มีความสามารถในการละลายน้ำ สามารถทำซ้ำได้ ปฏิกิริยาเกิดได้ภายใต้สภาวะการทดลอง เช่น พีเอชของสารละลาย อุณหภูมิ และความดันที่ไม่รุนแรง ที่สามารถพบได้ในดินบริเวณชายฝั่งทะเลทั่วไป สำหรับดินตะกอนในทะเลบริเวณที่มีออกซิเจนต่ำหรือไร้ออกซิเจนซึ่งยีสต์ที่ผลิตเอนไซม์ไลเปสและแลคเคสอาจไม่สามารถย่อยสลายคราบน้ำมันได้ดี พบว่ามีแบคทีเรียกลุ่มดีไนทริไฟเออร์ที่มีความสามารถในการใช้สารประกอบอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอนเพื่อการเจริญเติบโตได้เช่นกันในสภาวะดังกล่าวได้ งานวิจัยนี้จึงสนใจนำไลโปไลติกยีสต์และแบคทีเรียกลุ่มดีไนทริไฟเออร์มาใช้ประโยชน์ในการทดสอบความสามารถในการย่อยสลายสารกลุ่มโพลีอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอนในดินตะกอนชายฝั่งที่ปนเปื้อนด้วยน้ำมันในสถานการณ์แตกต่างกัน คือในสภาวะที่มีออกซิเจนและในสภาวะไร้ออกซิเจน เพื่อช่วยในการลดปัญหาภาวะมลพิษทางทะเลด้านน้ำมัน ฟันฟูสภาพแวดล้อมในทะเลให้ดีขึ้น และอนุรักษ์ความหลากหลายทางชีวภาพบริเวณเกาะสีชังและศรีราชาให้ยั่งยืนสืบต่อไป

2. วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1. วิเคราะห์ชนิด ปริมาณ การกระจายและแหล่งกำเนิดของโพลีไซคลิกอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอนในตะกอนดินชายฝั่งทะเลบริเวณเกาะสีชังและศรีราชา จ.ชลบุรี
2. ทดสอบความสามารถและประสิทธิภาพการย่อยสลายสารโพลีอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอนของแลคเคสจากไลโปไลติกยีสต์ทั้งในระดับห้องปฏิบัติการ และในตัวอย่างตะกอนดินจากพื้นที่ศึกษา
3. ทดสอบความสามารถและประสิทธิภาพการย่อยสลายสารโพลีอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอนของแบคทีเรียกลุ่มดีไนทริไฟเออร์ทั้งในระดับห้องปฏิบัติการ

3. ระเบียบวิธีการวิจัย

แผนงานวิจัย เรื่อง “การพัฒนาศักยภาพความรู้เพื่อการจัดการปัญหาภาวะมลพิษในทะเลและอนุรักษ์ความหลากหลายทางชีวภาพบริเวณหมู่เกาะสีชัง (ปีที่ 2)” ประกอบด้วยโครงการวิจัยย่อย 3 โครงการ ดังนี้

1. แหล่งกำเนิดและการกระจายของโพลีไซคลิกอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอนในดินตะกอนชายฝั่งบริเวณเกาะสีชังและศรีราชา จ.ชลบุรี
2. การย่อยสลายทางชีวภาพสารโพลีอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอนด้วยไลโปไลติกยีสต์
3. การย่อยสลายทางชีวภาพสารโพลีอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอนด้วยแบคทีเรียกลุ่มดีไนทริไฟเออร์

โดยในแต่ละโครงการย่อยมีหัวหน้าโครงการและผู้ร่วมวิจัยรับผิดชอบในการดำเนินงานโครงการให้บรรลุตามวัตถุประสงค์ที่กำหนดไว้

4. ผลของการดำเนินโครงการวิจัย

ผลของการดำเนินการวิจัยของโครงการวิจัยย่อยแต่ละโครงการ สามารถสรุปผลได้ดังต่อไปนี้

4.1 โครงการย่อยที่ 1 แหล่งกำเนิดและการกระจายของโพลีไซคลิกอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอนในดินตะกอนชายฝั่งบริเวณเกาะสีชังและศรีราชา จ.ชลบุรี

วัตถุประสงค์ของโครงการ:

1. วิเคราะห์ชนิด ปริมาณ และการกระจายของสารโพลีไซคลิกอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอนในตัวอย่างตะกอนชายฝั่งระหว่างเกาะสีชังและศรีราชา จ.ชลบุรี
2. วิเคราะห์แหล่งกำเนิดของโพลีไซคลิกอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอนในตะกอนดินในบริเวณพื้นที่ศึกษา

ผลของการศึกษา:

การศึกษาก่อนประกอบและแหล่งที่มาของ PAHs ในตะกอนดินผิวหน้าจำนวน 26 ตัวอย่างจากทะเลชายฝั่งระหว่างศรีราชา-เกาะสีชังด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี(GC-FID) พบความเข้มข้นรวมของ PAHs 16 ชนิดตามรายชื่อของ US EPA อยู่ในช่วง 65.2-18,970 นาโนกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง โดยมีความเข้มข้นเฉลี่ย 282 นาโนกรัม/กรัม ตัวอย่างตะกอนดินที่มีความเข้มข้นของ PAHs สูงที่สุดพบที่บริเวณท่าเรือพาณิชย์ทางตอนใต้ของเกาะสีชัง) ระดับของ PAHs ที่ตรวจพบบ่งชี้การปนเปื้อนในระดับปานกลางเมื่อเปรียบเทียบกับ PAHs ที่พบในตะกอนดินบริเวณชายฝั่งทะเลอื่นของโลก PAHs ที่มีจำนวนวงแหวนเบนซีน 4-6 วงมีสัดส่วนสูงโดยเฉลี่ย 87% ของ PAHs รวม โดยทั่วไปพบ Dibenz[a,h]anthracene Benzo[b]fluoranthene Benzo[ghi]perylene Benzo[a]pyrene และ Fluoranthene ในปริมาณสูงกว่า PAHs ตัวอื่นเกือบทุกตัวอย่าง

สาเหตุการปนเปื้อนของสาร PAHs ในตัวอย่างตะกอนดิน พบว่าส่วนใหญ่มีที่มาจาก การเผาไหม้ที่ไม่สมบูรณ์ของอินทรีย์สารธรรมชาติเช่นการเผาหญ้า/พืชล้มลุกต่างๆ และการเผาไหม้จากชุมชน เช่น การเผาถ่านหรือขยะในบริเวณใกล้เคียง รวมทั้งการเผาไหม้เชื้อเพลิงฟอสซิลของเรือข้ามฟาก เรือประมงชายฝั่ง ตลอดจนเรือบรรทุกสินค้าขนาดใหญ่ที่มีอยู่อย่างหนาแน่นในบริเวณศึกษา รวมทั้งกิจกรรมด้านอุตสาหกรรมต่างๆ และการขนถ่ายถ่านหิน ซึ่งปล่อยสาร PAHs ออกสู่สิ่งแวดล้อมทางทะเล และมีอากาศเป็นตัวกลางในการพัดพา PAHs ไปไปสู่แหล่งอื่น นอกจากนี้ PAHs บางส่วนมีที่มาจาก การปล่อยน้ำมันเครื่องที่ใช้แล้วของเรือลงสู่ทะเล การรั่วไหลของน้ำมันเรือ การปล่อยน้ำทิ้งที่มีคราบน้ำมันลงสู่ทะเล การรั่วไหลของคลังน้ำมันเรือ การขนส่งน้ำมัน การล้างถังน้ำมัน การถ่ายน้ำมันหรือ น้ำมันเครื่อง การเกิดอุบัติเหตุทางเรือทำให้เกิดการรั่วไหลของน้ำมัน น้ำทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรม

หรือโรงกลั่นน้ำมัน และกิจกรรมการซ่อมเรือ เป็นต้น การวิเคราะห์อัตราส่วนองค์ประกอบระหว่าง PAHs ที่ใช้บ่งชี้แหล่งกำเนิดพบว่า PAHs ในตะกอนดินผิวหน้าบริเวณนี้ส่วนใหญ่มีแหล่งที่มาหลักจากการเผาไหม้ที่ไม่สมบูรณ์ โดยมีบางสถานที่ที่พบ PAHs มีแหล่งที่มาทั้งจากผลิตภัณฑ์ปิโตรเลียมและจากการเผาไหม้ การตรวจพบ PAHs หลายชนิดที่สามารถก่อให้เกิดมะเร็งได้ในตะกอนในพื้นที่ศึกษา บ่งชี้ว่าตะกอนเหล่านี้เป็นตะกอนที่มีพิษต่อสิ่งแวดล้อม ซึ่งควรมีการตรวจติดตามต่อไปพร้อมกับกระบวนการจัดการชายฝั่งที่มีประสิทธิภาพ เพื่อลดผลกระทบทางด้านลบต่อระบบนิเวศชายฝั่งและความเสี่ยงต่อสุขภาพของมนุษย์

4.2 โครงการย่อยที่ 2 การย่อยสลายทางชีวภาพสารโพลีอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอนด้วยไลโปไลติกยีสต์

วัตถุประสงค์ของโครงการ:

1. ศึกษาการเจริญของไลโปไลติกยีสต์เพื่อนำมาใช้ในกระบวนการย่อยสารโพลีอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอน
2. ทดสอบความสามารถและประสิทธิภาพการย่อยสลายโพลีอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอนชนิดต่างๆของไลโปไลติกยีสต์ในระดับห้องปฏิบัติการ
3. ทดสอบความสามารถและประสิทธิภาพการย่อยสลายโพลีอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอนกับตัวอย่างดินที่ถูกปนเปื้อนด้วยโพลีอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอน

ผลของการศึกษา:

การทดลองดำเนินการโดยการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการเจริญเติบโตของ *A. pullulans* พบการเจริญเติบโตของยีสต์ *A. pullulans* อย่างรวดเร็วในระยะเพิ่มจำนวน (Log phase) ที่ช่วงเวลา 0-48 ชั่วโมงแรก และเข้าสู่ช่วงการเจริญเติบโตแบบคงที่ (Stationary phase) ที่ชั่วโมงที่ 48-60 โดยมีปริมาณโปรตีนสูงสุดที่ 310.69 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ในชั่วโมงที่ 48 โดยอยู่ในช่วงสุดท้ายของ Log phase และเริ่มคงที่ตามอัตราการเจริญที่คงที่ ชั่วโมงที่ 72 มีค่ากิจกรรมของไลเปสที่ 7.336 ยูนิตต่อมิลลิลิตร ซึ่งมีค่ากิจกรรมของเอนไซม์สูงเมื่อวิเคราะห์หาค่ากิจกรรมจำเพาะของไลเปสจากเชื้อยีสต์ *A. pullulans* พบว่าในชั่วโมงที่ 60 มีกิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์เท่ากับ 769.16 ไมโครโมลต่อมิลลิลิตร ต่อนาทีต่อมิลลิกรัมโปรตีนดังนั้นที่ชั่วโมงที่ 60 จึงเหมาะสมที่สุดที่จะนำเอนไซม์ที่ผลิตได้ไปใช้ประโยชน์

เมื่อนำแลคเคสจากไลโปไลติกยีสต์ความเข้มข้น 711 ยูนิตต่อมิลลิลิตร มาทดสอบการย่อยสลายสารโพลีอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอนในระดับห้องปฏิบัติการ แล้วนำมาวิเคราะห์หาปริมาณสารโพลีอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอนที่เหลืออยู่ด้วยเทคนิคทางโครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง พบว่าแลคเคสจากไลโปไลติกยีสต์จากเกาะสิขัง สามารถย่อยสลาย Naphthalene Anthracene Pyrene และ Benzo[a]pyrene ได้ 24.35, 38.16, 25.38 และ 45.33 % ตามลำดับ ภายใน 48 ชั่วโมง เนื่องจากแลคเคสเป็นเอนไซม์ในกลุ่มออกซิโดรีดักเทส (Oxidoreductase) ที่สามารถเกิดปฏิกิริยา โดยให้อิเล็กตรอนและ

มีโมเลกุลออกซิเจนเป็นตัวรับอิเล็กตรอน ออกซิเจนที่ได้รับอิเล็กตรอนจะรวมกับโปรตอนที่มีอยู่ในสารละลายกลายเป็นน้ำ ดังนั้นแลคเคสสามารถใช้สับสเตรทประเภทสารในกลุ่มโพลีอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอนได้ (Octavio และคณะ, 2006) และการทดสอบความสามารถในย่อยสลายสารโพลีอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอนในตัวอย่างดินด้วยแลคเคสจากยีสต์ *A. pullulans* พบว่าปริมาณ Naphthalene ลดลง 51.34 เปอร์เซ็นต์ และปริมาณ Anthracene ลดลง 85.06 เปอร์เซ็นต์ภายในเวลา 9 วัน ถึงแม้ว่าสารโพลีอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอนจะยึดเกาะกับอนุภาคของดินหรือดินตะกอนได้ดีก็ตาม งานวิจัยชิ้นนี้จึงเป็นประโยชน์อย่างยิ่งในการนำไปแก้ไขปัญหาการปนเปื้อนของน้ำมันที่มีสารพิษโพลีอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอนปนอยู่ เพื่อสิ่งแวดล้อมที่ดีและลดความเสี่ยงต่อสุขภาพของมนุษย์

4.3 โครงการย่อยที่ 3 การย่อยสลายทางชีวภาพสารโพลีอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอนด้วยแบคทีเรียดีไนทรีไฟเออร์

วัตถุประสงค์ของโครงการ:

คัดแยกแบคทีเรียดีไนทรีไฟเออร์จากตะกอนดินที่มีคุณสมบัติในการกำจัดสารประกอบประเภทโพลีอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอนในสภาวะไร้ออกซิเจน

ผลของการศึกษา:

ผลการวิจัยการคัดแยกจุลินทรีย์ชนิดดีไนทรีไฟเออร์จากดินตะกอนใต้ทะเลบริเวณเกาะสีชัง จังหวัด ชลบุรีจำนวน 26 ตัวอย่าง พบจุลินทรีย์ที่สามารถเจริญได้ดีในอาหารที่มีส่วนประกอบของ PAHs (Naphthalene, Phenanthrene, Pyrene และ Benzo[a]pyrene) ความเข้มข้น 200 ppm ในสภาวะไร้ออกซิเจน ซึ่งถูกคัดแยกมาสกัดจีโนมิกดีเอ็นเอและเพิ่มปริมาณ 16S rDNA รวมถึงวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์บน 16S rDNA เพื่อระบุชนิด และทำการทดสอบทางชีวเคมี ผลการวิจัยพบว่าจุลินทรีย์ที่สามารถคัดแยกจากตะกอนดินใต้ทะเลมี 63 ไอโซเลต มี 8 ไอโซเลตที่พบใน 5 สถานที่ (สถานที่ที่ 2, 7, 9, 12, 15) คือ *Enterococcus faecalis*, *Paenibacillus macerans*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus tequilensis*, *Proteus mirabilis* และ *Enterobacter asburiae* จัดเป็นดีไนทรีไฟเออร์แบคทีเรียทั้ง 8 ไอโซเลต โดยมีลำดับนิวคลีโอไทด์คล้ายคลึงกับฐานข้อมูล Genbank 96% และมีการประเมินประสิทธิภาพการย่อยสลายสารประกอบPAHs ทั้ง 4 ชนิดคือ Naphthalene, Phenanthrene, Pyrene และ Benzo[a]pyrene ด้วยเทคนิค HPLC พบว่าเมื่อเวลาผ่านไป 16 วัน จุลินทรีย์ทั้ง 8 ไอโซเลตสามารถย่อยสลาย สารประกอบ PAHs ที่มีจำนวนวงเบนซีนต่างกัน ที่ความเข้มข้นเริ่มต้น 200 ppm ได้ ในปริมาณที่แตกต่างกันเมื่อใส่เชื้อดีไนทรีไฟเออร์แบคทีเรีย ทั้งนี้โดยเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่ใส่ดีไนทรีไฟเออร์แบคทีเรีย ซึ่งไม่พบการลดลงของสารประกอบPAHs ดังนั้นแสดงให้เห็นว่าดีไนทรีไฟเออร์แบคทีเรียมีความสามารถในการย่อยสลายสารประกอบโพลีไซคลิกอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอนที่มีจำนวนวงประกอบของวงเบนซีนต่างกันได้อย่างมีประสิทธิภาพ โดยเฉพาะ Naphthalene ซึ่งเป็นสารประกอบPAHs ตัวที่เล็กที่สุด ดีไนทรีไฟเออร์แบคทีเรียทุกตัวสามารถย่อยสลายได้มากกว่า 60% ส่วน Pyrene พบดีไนทรีไฟเออร์แบคทีเรียบางตัวที่สามารถย่อยสลายได้ประสิทธิภาพอยู่ระหว่าง 50% ถึง 60% คือ *Enterococcus faecalis*, *Paenibacillus macerans*, *Bacillus tequilensis*, และ *Bacillus subtilis* สำหรับ Benzo[a]pyrene นั้นมีดีไนทรีไฟเออร์แบคทีเรียชนิด *Proteus mirabilis* และ *Paenibacillus macerans* ที่

มีประสิทธิภาพสามารถย่อยสลายได้ 50% และ 60%ตามลำดับ ส่วน Phenanthrene นั้นมีดีในทรีไฟอิงแบคทีเรีย คือ *Proteus mirabilis* ที่มีความสามารถในการย่อยสลายได้ 50% ส่วนดีในทรีไฟอิงแบคทีเรียตัวอื่นๆ พบความสามารถในการย่อยสลายได้น้อยกว่า 50%

5. สรุปภาพรวมของแผนงาน

การศึกษาวิจัยเรื่อง “การพัฒนาศักยภาพความรู้เพื่อการจัดการปัญหาภาวะมลพิษในทะเลและอนุรักษ์ความหลากหลายทางชีวภาพบริเวณหมู่เกาะสีชัง (ปีที่ 2)” ประกอบด้วยการศึกษาสองด้าน คือ ส่วนแรกเป็นการศึกษาวิจัยด้านแหล่งกำเนิดและการกระจายของโพลีไซคลิกอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอนในดินตะกอนชายฝั่งบริเวณที่จอตทอดสมอบริเวณเกาะสีชังและศรีราชา จ.ชลบุรี ส่วนที่สอง เป็นการศึกษาประสิทธิภาพในการย่อยสลายทางชีวภาพสารโพลีไซคลิกอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอนโดยไลโปไลติกยีสต์และแบคทีเรียชนิดดีในทรีไฟเออร์ โดยมีกลยุทธ์ของแผนงานวิจัยดังไคอะแกรมข้างล่าง



ภาพที่ 5.1 แสดงภาพรวมและตัวชี้วัดของแผนงานวิจัย

ทั้งนี้ แผนงานวิจัย เรื่อง “การพัฒนาองค์ความรู้เพื่อการจัดการปัญหาภาวะมลพิษในทะเลและอนุรักษความหลากหลายทางชีวภาพบริเวณเกาะสีชัง และศรีราชา จ.ชลบุรี” ปีที่ 2 ได้มีการดำเนินงานในส่วนของการสร้างนักวิจัยรุ่นใหม่ด้วย โดยสนับสนุนให้อาจารย์ นักวิจัยของคณะวิทยาศาสตร์และนักวิจัยในหน่วยงานสนับสนุนซึ่งเพิ่งสำเร็จการศึกษาได้เข้าร่วมทำการวิจัยในฐานะผู้ร่วมงานในโครงการวิจัย เป็นการสะสมความเชี่ยวชาญด้านการศึกษาลิงแวดล้อมทางทะเลและงานวิจัยที่เกี่ยวข้องตามแผนการสร้างนักวิจัยของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย นอกจากนี้ในแต่ละโครงการวิจัยยังมีการสร้างนักวิจัยและ/หรือผู้ช่วยนักวิจัยในระดับปริญญาโทหรือนิสิตปริญญาเอกเป็นการเปิดโอกาสให้บัณฑิตที่เพิ่งสำเร็จการศึกษาได้มีประสบการณ์ในการดำเนินการวิจัย

5.1. ผลผลิต (Output) ที่ได้เมื่อแผนงานเสร็จสิ้นประกอบด้วย

- ผลงานวิชาการตีพิมพ์เผยแพร่ในวารสารวิชาการระดับนานาชาติหรือระดับชาติ และ/หรือการเผยแพร่ผลงานในการประชุมวิชาการระดับนานาชาติหรือระดับชาติ 9 เรื่อง: โครงการที่ 1 (4 เรื่อง) โครงการที่ 2 (2 เรื่อง) และโครงการที่ 3 (3 เรื่อง)
- เว็บไซต์เกี่ยวกับการปนเปื้อนของสาร PAHs ในตะกอนดินบริเวณทะเลชายฝั่งระหว่างเกาะสีชังและศรีราชา สายพันธุ์แบคทีเรียกลุ่มดีไนทริไฟเออร์ที่มีความสามารถในการใช้สารไฮโดรคาร์บอนเป็นแหล่งคาร์บอน <http://sichang.webatu.com/> ซึ่งเป็นแหล่งให้ความรู้แก่บุคคลทั่วไป
- สายพันธุ์ของจุลินทรีย์ที่สามารถย่อยสลายสารอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอนได้อย่างมีประสิทธิภาพในสภาวะที่มีออกซิเจน และสภาวะไร้ออกซิเจน (โครงการที่ 2 และ 3)
- นักวิจัยรุ่นใหม่ซึ่งเป็นนิสิตระดับปริญญาโท/เอก โดยทำงานเป็นผู้ช่วยนักวิจัยในแต่ละโครงการย่อย ทำให้นิสิตได้มีประสบการณ์ในการดำเนินการวิจัยของตนเองต่อไป โดยในแผนงานนี้มีจำนวน 4 คน ดังนี้
 1. นางสาวรัตนศิริินทร์ ทรัพย์เจริญ (นิสิตปริญญาเอกหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต)
 2. นายฉัตร บุญเพิ่ม (นิสิตปริญญาโทหลักสูตรสหสาขาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม)
 3. นางสาวพัชราภรณ์ การงาน (นิสิตปริญญาโทหลักสูตรเทคโนโลยีชีวภาพ)
 4. นางสาวจิราพร พวงแก้ว (นิสิตปริญญาโทหลักสูตรเทคโนโลยีชีวภาพ)

5.2. ผลลัพธ์ (Outcome) ที่ได้จากแผนงานวิจัยนี้ ได้แก่

- องค์ความรู้ด้านสิ่งแวดล้อมและมลภาวะทางทะเลบริเวณเกาะสีชังและทะเลใกล้เคียงซึ่งสามารถใช้เป็นแหล่งอ้างอิงสำหรับนิสิต นักศึกษาในสถาบันการศึกษาตั้งแต่ระดับมัธยมถึงระดับอุดมศึกษา
- ทราบถึงปริมาณการปนเปื้อนของมลสาร PAHs ที่สะสมอยู่ในตะกอนดิน และการประยุกต์ใช้จุลินทรีย์ที่สามารถย่อยสลายทางชีวภาพสารโพลีอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอนในสิ่งแวดล้อมได้อย่างมีประสิทธิภาพ
- มีความรู้จากการศึกษาครั้งนี้ไปบูรณาการเพื่อออกมาตรการหรือข้อกำหนดเพื่อลดผลกระทบ หรือป้องกันสภาพมลภาวะของทะเล
- มีการพัฒนาผลิตภัณฑ์จากจุลินทรีย์ที่สามารถย่อยสลายไขมัน/สารโพลีอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอนในสิ่งแวดล้อมได้อย่างมีประสิทธิภาพต่อไป

5.3. หน่วยงานที่นำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

หน่วยงานที่เกี่ยวข้องที่สามารถนำผลการวิจัยไปใช้ประโยชน์ได้ เช่น

1. อำเภอศรีราชาและอำเภอเกาะสีชัง จังหวัดชลบุรี
2. กรมควบคุมมลพิษ กระทรวงทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม
3. กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง กระทรวงทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม
4. กรมการขนส่งทางน้ำ และพาณิชยนาวี กระทรวงคมนาคม
5. กรมประมง กระทรวงเกษตรและสหกรณ์
6. สำนักงานนโยบาย และแผนทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม
7. มหาวิทยาลัย