



บทสรุปสำหรับผู้บริหาร

โครงการ

การพัฒนาศักยภาพความรู้เพื่อการจัดการปัญหาภาวะมลพิษในทะเลและ
อนุรักษ์ความหลากหลายทางชีวภาพบริเวณหมู่เกาะสี่ช้าง (ปีที่ 2)
**Knowledge Management for Marine Pollution Abatement and
Biodiversity Conservation around Sichang Islands (2nd Year)**

โดย

กัลยา วัฒนยากร และคณะ

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

และ

คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ

พ.ศ. 2556

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ (ภาษาไทย)	1
บทคัดย่อ (ภาษาอังกฤษ)	2
ความเป็นมา/ปัญหาในการวิจัย	3
วัตถุประสงค์การวิจัย	4
ระเบียบวิธีการวิจัย	4
ผลของการดำเนินโครงการวิจัย	5
สรุปภาพรวมของแผนงาน	8
รายชื่อผู้วิจัย	11

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...

บทคัดย่อ

แผนการศึกษาวิจัยเรื่อง “การพัฒนาองค์ความรู้เพื่อการจัดการปัญหาภาวะมลพิษในทะเลและอนุรักษ์ความหลากหลายทางชีวภาพบริเวณหมู่เกาะสิขัง (ปีที่ 2)” ประกอบด้วยการศึกษาวิจัยด้านการกระจายและแหล่งกำเนิดของโพลีไซคลิกอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอนในดินตะกอนชายฝั่งบริเวณเกาะสิขังและศรีราชา จ.ชลบุรี และการศึกษาประสิทธิภาพในการย่อยสลายทางชีวภาพสารโพลีไซคลิกอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอนโดยไลโปไลติกยีสต์และแบคทีเรียชนิดดีในทรีไฟเออร์

การศึกษาองค์ประกอบและแหล่งที่มาของ PAHs ในตะกอนดินจากทะเลชายฝั่งระหว่างศรีราชา-เกาะสิขังด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี พบความเข้มข้นรวมของ PAHs 16 ชนิดอยู่ในช่วง 65.2-18,970 นาโนกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ความเข้มข้นเฉลี่ย 282 นาโนกรัม/กรัม PAHs ที่มีจำนวนวงแหวนเบนซีน 4-6 วงมีส่วนสูงโดยเฉลี่ย 87% ของ PAHs รวม อัตราส่วนองค์ประกอบระหว่าง PAHs ที่ใช้บ่งชี้แหล่งกำเนิดพบว่าตะกอนดินบริเวณนี้ส่วนใหญ่มีแหล่งที่มาหลักจากการเผาไหม้ที่ไม่สมบูรณ์ การตรวจพบ PAHs หลายชนิดที่สามารถก่อให้เกิดมะเร็งได้ในตะกอนในพื้นที่ศึกษา บ่งชี้ว่าตะกอนเหล่านี้เป็นตะกอนที่มีพิษต่อสิ่งแวดล้อม มีผลกระทบต่อระบบนิเวศทางทะเลและชายฝั่งและต่อสุขภาพของมนุษย์

การศึกษากาย่อยสลายทางชีวภาพของสารโพลีอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอนด้วยแลคเคสที่ผลิตได้จากไลโปไลติกยีสต์สายพันธุ์ *Aureobasidium pullulans* var. *melanogenum* ที่คัดเลือกจากดินเกาะสิขังพบว่า สามารถย่อยสลายสารละลาย Naphthalene Anthracene Pyrene และ Benzo[a]pyrene ได้ 24.35, 38.16, 25.38 และ 45.33 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ภายในเวลา 48 ชั่วโมง สำหรับการย่อยสลายสารโพลีอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอนในตัวอย่างดินด้วยแลคเคสจากยีสต์ พบว่าปริมาณ Naphthalene ลดลง 51.34 เปอร์เซ็นต์ และปริมาณ Anthracene ลดลง 85.06 เปอร์เซ็นต์ ภายในเวลา 9 วัน

การคัดแยกจุลินทรีย์ชนิดดีในทรีไฟเออร์จากดินตะกอนใต้ทะเลบริเวณเกาะสิขังจำนวน 26 ตัวอย่าง พบว่าสามารถคัดแยกจุลินทรีย์จากตะกอนดินใต้ทะเล 6 ไอโซเลตที่เป็นดีในทรีไฟเออร์แบคทีเรียคือ *Enterococcus faecalis*, *Paenibacillus macerans*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus tequilensis*, *Proteus mirabilis* และ *Enterobacter asburiae* และมีประสิทธิภาพการย่อยสลายสาร Naphthalene Phenanthrene Pyrene และ Benzo[a]pyrene ที่แตกต่างกัน ขึ้นอยู่กับดีในทรีไฟเออร์แต่ละชนิด

ข้อมูลต่างๆที่ได้รับจากงานวิจัยครั้งนี้จะเป็นประโยชน์ในการนำมาใช้เป็นข้อมูลในการวางแผนบริหารจัดการสิ่งแวดล้อม กำหนดแนวทางการควบคุม และลดผลกระทบทางด้านลบต่อระบบนิเวศชายฝั่ง บริเวณศรีราชาและเกาะสิขัง จ.ชลบุรีต่อไป

คำสำคัญ: โพลีไซคลิกอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอน ไลโปไลติกยีสต์ แลคเคส ดีในทรีไฟเออร์แบคทีเรีย การย่อยสลายทางชีวภาพ

Abstract

The project “Knowledge Management for Marine Pollution Abatement and Biodiversity Conservation around Sichang Islands (2nd Year)” consists of two parts. The first part involves the sources and distribution of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in coastal sediments of Koh Sichang and Siracha in Chonburi Province, while the second part deals with the ability of lipolytic yeast and denitrifying bacteria in biodegrading these PAHs compounds.

The characteristic distribution and source identification of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in surface sediment samples from Koh Sichang and Siracha coastal marine area was carried out by GC-FID. The results showed that the total concentrations of 16 PAHs ranged from 65.2 to 18,970 ng/g dry weight, with median concentration of 282ng/g. The PAHs profiles were dominated by four- to six-ring compounds which accounted for 87% of total PAHs. Source identification using diagnostic PAH ratios indicated that composition of PAHs in most sediment samples were characterized by pyrogenic PAH compositions. The presence of almost all human carcinogenic PAHs in the study area indicated that these sediments can impose serious threat to coastal and marine ecosystems, as well as to human health.

Biodegradability of laccase; produced by lipolytic yeast, *Aureobasidium pullulans* var. *melanogenum* from Sichang Island, on naphthalene, anthracene, pyrene and benzo[a]pyrene was determined using High Performance Liquid Chromatography (HPLC). The results revealed that the laccase produced from *A. pullulans* was able to degrade benzo[a]pyrene, anthracene, pyrene and naphthalene by 45.33, 38.16, 25.38 and 24.35 percent respectively, after the 48-h incubation period. For contaminated soils, degradation of naphthalene and anthracene by laccase were 51.34 and 85.06 percent respectively, after incubation for 9 days.

Denitrifying bacteria were screened from marine sediments collected from Sichang Island, Chonburi province. In this study, 8 bacterial isolates screened from marine sediments could be identified as species of *Enterococcus faecalis*, *Paenibacillus macerans*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus tequilensis*, *Proteus mirabilis* and *Enterobacter asburiae*. Biodegradation efficiencies depended on types of the denitrifiers.

The obtained information from this study will be helpful in developing mitigation plan for eliminating, reducing to acceptable levels and adoption of best practice environmental management technique in order to reduce the negative impacts on coastal ecosystems of Koh Sichang and Siracha.

Key words: polycyclic aromatic hydrocarbons, PAHs, lipolytic yeast, laccase, denitrifying bacteria, biodegradation

1. ความเป็นมา/ปัญหาในการวิจัย

การศึกษาวิจัยเรื่อง “การพัฒนานองค์ความรู้เพื่อการจัดการปัญหาภาวะมลพิษในทะเลและอนุรักษ์ความหลากหลายทางชีวภาพบริเวณหมู่เกาะสีชัง” ในปีที่ 2 เป็นการวิจัยต่อยอดในเชิงการหาแหล่งที่มาของมลสารกลุ่มโพลีไซคลิกอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอน (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 เช่นบริเวณพื้นที่ชายฝั่งทะเลศรีราชาและเกาะสีชัง จ.ชลบุรี ซึ่งเป็นพื้นที่ที่จอดเรือทอดสมอที่มีการจอดเรือสินค้าขนาดใหญ่และเรือบรรทุกน้ำมันมาเป็นระยะเวลายาวนาน มีการขนถ่ายน้ำมันแบบเทกองจากเรือใหญ่เพื่อนำต่อไปยังแหล่งใช้ ซึ่งกิจกรรมดังกล่าวก่อให้เกิดการฟุ้งกระจายของฝุ่นละอองดำน้ำ ซึ่งเมื่อฝุ่นดำน้ำตกสู่พื้นผิวน้ำทะเลจะถูกดูดซับบนสารแขวนลอยและจมตัวลงสะสมในตะกอนดินพื้นที่ท้องทะเล PAHs ทั้งในดำน้ำและน้ำมันจะส่งผลกระทบต่อระบบนิเวศทางทะเลและสัตว์น้ำ ตลอดจนคุณภาพชีวิตของชุมชนบนเกาะสีชัง เนื่องจากเป็น PAHs หลายตัวเป็นสารก่อมะเร็ง (carcinogenic) ตัวอย่าง เช่นเบนโซ[เอ]แอนทราซีน ไครซีน เบนโซ[บี]ฟลูออแรนทีน เบนโซ[เอเอช]ไพรีน เบนโซ[จีเอชไอ]เพอร์ลิน และเป็นสารก่อการกลายพันธุ์ (mutagenic) ด้วย ดังนั้นองค์การพิทักษ์สิ่งแวดล้อมแห่งสหรัฐอเมริกา (US.EPA) จึงได้กำหนดให้ PAHs จำนวน 16 ชนิดเป็นสารพิษอันตรายที่ควรได้รับความสำคัญในการศึกษาเป็นอันดับต้นๆ เนื่องจากมีความเป็นพิษต่อสัตว์น้ำทั่วไปและมีผลกระทบต่อสุขภาพมนุษย์ถ้าบริโภคสัตว์น้ำที่มีการปนเปื้อนสาร PAHs เป็นระยะเวลาเวลานาน เพราะ PAHs สามารถถ่ายทอดไปตามห่วงโซ่อาหารได้ เมื่อ PAHs ได้สะสมเข้าสู่ห่วงโซ่อาหารย่อมส่งผลกระทบต่อสิ่งมีชีวิตต่างๆในห่วงโซ่อาหารและส่งผลกระทบต่อถึงมนุษย์ซึ่งเป็นผู้บริโภคอันดับสุดท้าย ซึ่งข้อมูลต่างๆที่ได้รับจากงานวิจัยครั้งนี้จะเป็นประโยชน์ในการนำมาใช้เป็นข้อมูลในการวางแผนบริหารจัดการสิ่งแวดล้อม กำหนดแนวทางการควบคุม และลดผลกระทบทางด้านลบต่อระบบนิเวศชายฝั่ง บริเวณศรีราชาและเกาะสีชัง จ.ชลบุรีต่อไป

วัตถุประสงค์ที่สำคัญอีกประการหนึ่งเป็นการใช้ประโยชน์จุลินทรีย์เพื่อการจัดการปัญหาภาวะมลพิษในทะเลและพื้นฟูทรัพยากรชายฝั่งทะเลในธรรมชาติอย่างมีสมดุล โดยมุ่งเน้นการย่อยสลายสารกลุ่มโพลีไซคลิกอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอนด้วยจุลินทรีย์กลุ่มไลโปไลติกซึ่งสามารถผลิตเอนไซม์ย่อยน้ำมันและไขมันได้ โดยเฉพาะอย่างยิ่งเอนไซม์ไลเปส ซึ่งจัดเป็นเอนไซม์ประเภท Triacylglycerol acylhydrolase ทำหน้าที่ในการเร่งการย่อยสลายพันธะเอสเทอร์ของโมเลกุลน้ำมันและไขมัน และด้วยความสามารถในการเร่งปฏิกิริยาที่หลากหลายจึงสามารถนำมาประยุกต์ใช้ได้หลายอุตสาหกรรม ตลอดจนการนำมาใช้ในกระบวนการกำจัดน้ำเสีย อย่างไรก็ตามพบว่ายีสต์นี้สามารถผลิตเอนไซม์แลคเคส ซึ่งเป็นเอนไซม์ในกลุ่มของออกซิโดรีดักเทสทำหน้าที่ในการเร่งปฏิกิริยาการเคลื่อนย้ายอะตอมไฮโดรเจน ออกซิเจน หรืออิเล็กตรอน จากสารประกอบหนึ่งไปยังสารประกอบอื่น เอนไซม์แลคเคสจะเข้าไปเป็นตัวเร่งในปฏิกิริยา

และมีความสามารถในการใช้สับสเตรทได้หลากหลายชนิด โดยข้อดีของการใช้เอนไซม์แลคเคสเป็นตัวเร่งที่เหนือกว่าตัวเร่งปฏิกิริยาอนินทรีย์ ได้แก่ ความจำเพาะเจาะจง และอัตราการเกิดปฏิกิริยาสูง ไม่เป็นพิษ มีความสามารถในการละลายน้ำ สามารถทำซ้ำได้ ปฏิกิริยาเกิดได้ภายใต้สภาวะการทดลอง เช่น พีเอชของสารละลาย อุณหภูมิ และความดันที่ไม่รุนแรง ที่สามารถพบได้ในดินบริเวณชายฝั่งทะเลทั่วไป สำหรับดินตะกอนในทะเลบริเวณที่มีออกซิเจนต่ำหรือไร้ออกซิเจนซึ่งยีสต์ที่ผลิตเอนไซม์ไลเปสและแลคเคสไม่สามารถย่อยสลายสารบน้ำมันได้ดี พบว่ามีแบคทีเรียกลุ่มดีไนทริไฟเออร์ที่มีความสามารถในการใช้สารประกอบอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอนเพื่อการเจริญเติบโตได้เช่นกันในสภาวะดังกล่าวได้ งานวิจัยนี้จึงสนใจนำไลโปไลติกยีสต์และแบคทีเรียกลุ่มดีไนทริไฟเออร์มาใช้ประโยชน์ ในการทดสอบความสามารถในการย่อยสลายสารกลุ่มโพลีอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอนในดินตะกอนชายฝั่งที่ปนเปื้อนด้วยน้ำมันในสถานการณ์แตกต่างกัน คือในสภาวะที่มีออกซิเจนและในสภาวะไร้ออกซิเจน เพื่อช่วยในการลดปัญหาภาวะมลพิษทางทะเลด้านน้ำมัน พื้นฟูสภาพแวดล้อมในทะเลให้ดีขึ้น และอนุรักษ์ความหลากหลายทางชีวภาพบริเวณเกาะสีชังและศรีราชาให้ยั่งยืนสืบต่อไป

2. วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1. วิเคราะห์ชนิด ปริมาณ การกระจายและแหล่งกำเนิดของโพลีไซคลิกอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอนในตะกอนดินชายฝั่งทะเลบริเวณเกาะสีชังและศรีราชา จ.ชลบุรี
2. ทดสอบความสามารถและประสิทธิภาพการย่อยสลายสารโพลีอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอนของแลคเคสที่ผลิตจากไลโปไลติกยีสต์ทั้งในระดับห้องปฏิบัติการ 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

ผลของการดำเนินการวิจัยของโครงการวิจัยย่อยแต่ละ โครงการ สามารถสรุปผลได้ดังต่อไปนี้

4.1 โครงการย่อยที่ 1 แหล่งกำเนิดและการกระจายของโพลีไซคลิกอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอนในดินตะกอนชายฝั่งบริเวณเกาะสีชังและศรีราชา จ.ชลบุรี

วัตถุประสงค์ของโครงการ:

1. วิเคราะห์ชนิด ปริมาณ และการกระจายของสารโพลีไซคลิกอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอนในตัวอย่างตะกอนชายฝั่งระหว่างเกาะสีชังและศรีราชา จ.ชลบุรี
2. วิเคราะห์แหล่งกำเนิดของโพลีไซคลิกอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอนในตะกอนดินในบริเวณพื้นที่ศึกษา

ผลของการศึกษา:

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

สาเหตุการปนเปื้อนของสาร PAHs ในตัวอย่างตะกอนดิน พบว่าส่วนใหญ่มีที่มาจากการเผาไหม้ที่ไม่สมบูรณ์ของอินทรีย์สารธรรมชาติเช่นการเผาหญ้า/พืชล้มลุกต่างๆ และการเผาไหม้จากชุมชนเช่น การเผาถ่านหรือขยะในบริเวณใกล้เคียง รวมทั้งการเผาไหม้เชื้อเพลิงฟอสซิลของเรือข้ามฟาก เรือประมงชายฝั่ง ตลอดจนเรือบรรทุกสินค้าขนาดใหญ่ที่มีอยู่อย่างหนาแน่นในบริเวณศึกษา รวมทั้งกิจกรรมด้านอุตสาหกรรมต่างๆ และการขนถ่ายถ่านหิน ซึ่งปล่อยสาร PAHs ออกสู่สิ่งแวดล้อมทางทะเล และมีอากาศเป็นตัวกลางในการพัดพา PAHs ไปไปสู่แหล่งอื่น นอกจากนี้ PAHs บางส่วนมีที่มาจากการปล่อยน้ำมันเครื่องที่ใช้แล้วของเรือลงสู่ทะเล การรั่วไหลของน้ำมันเรือ การปล่อยน้ำทิ้งที่มีคราบน้ำมันลงสู่ทะเล การรั่วไหลของคลังน้ำมันเรือ การขนส่งน้ำมัน การล้างถังน้ำมัน การถ่ายน้ำมันหรือน้ำมันเครื่อง การเกิดอุบัติเหตุทางเรือทำให้เกิดการรั่วไหลของน้ำมัน น้ำทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรมหรือโรงกลั่นน้ำมัน และกิจกรรมการซ่อมเรือ เป็นต้น การวิเคราะห์อัตราส่วนองค์ประกอบระหว่าง PAHs ที่ใช้บ่งชี้แหล่งกำเนิดพบว่า PAHs ในตะกอนดินผิวหน้าบริเวณนี้ส่วนใหญ่มีแหล่งที่มาหลักจากการเผาไหม้ที่ไม่สมบูรณ์ โดยมีบางสถานที่พบPAHs มีแหล่งที่มาทั้งจากผลิตภัณฑ์ปิโตรเลียมและจากการเผาไหม้ การตรวจพบ PAHs หลายชนิดที่สามารถก่อให้เกิดมะเร็งได้

ในตะกอนในพื้นที่ศึกษา บ่งชี้ว่าตะกอนเหล่านี้เป็นตะกอนที่มีพิษต่อสิ่งแวดล้อม ซึ่งควรมีการตรวจติดตามต่อไปร่วมกับกระบวนการจัดการชายฝั่งที่มีประสิทธิภาพ เพื่อลดผลกระทบทางด้านลบต่อระบบนิเวศชายฝั่งและความเสี่ยงต่อสุขภาพของมนุษย์

4.2 โครงการย่อยที่ 2 การย่อยสลายทางชีวภาพสารโพลีอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอนด้วยไลโปไลติกยีสต์

วัตถุประสงค์ของโครงการ:

1. ศึกษาการเจริญของไลโปไลติกยีสต์เพื่อนำมาใช้ในกระบวนการย่อยสลายสารโพลีอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอน
2. ทดสอบความสามารถและประสิทธิภาพการย่อยสลายโพลีอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอนชนิดต่างๆของแลกเคสจากไลโปไลติกยีสต์ในระดับห้องปฏิบัติการ
3. ทดสอบความสามารถและประสิทธิภาพการย่อยสลายโพลีอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอนกับตัวอย่างดินที่ถูกปนเปื้อนด้วยโพลีอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอน

ผลของการศึกษา:

การทดลองดำเนินการโดยการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการเจริญเติบโตของ *A. pullulans* พบการเจริญเติบโตของยีสต์ *A. pullulans* อย่างรวดเร็วในระยะเพิ่มจำนวน (Log phase) ที่ช่วงเวลา 0-48 ชั่วโมง และเข้าสู่ช่วงการเจริญเติบโตแบบคงที่ (Stationary phase) ที่ชั่วโมงที่ 48-60 โดยมีปริมาณโปรตีนสูงสุดที่ 310.69 ไมโครกรัมต่อมิลลิกรัมในชั่วโมงที่ 48 โดยอยู่ในช่วงสุดท้ายของ Log phase และเริ่มคงที่ตามอัตราการเจริญที่คงที่ ชั่วโมงที่ 72 มีค่ากิจกรรมของไลเปสที่ 7.336 ยูนิตต่อมิลลิกรัม ซึ่งมีค่ากิจกรรมของเอนไซม์สูงเมื่อวิเคราะห์หาค่ากิจกรรมจำเพาะของไลเปสจากเชื้อยีสต์ *A. pullulans* พบว่าในชั่วโมงที่ 60 มีกิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์เท่ากับ 769.16 ไมโครโมลต่อมิลลิกรัมต่อนาที่ต่อมิลลิกรัมโปรตีนดังนั้นที่ชั่วโมงที่ 60 จึงเหมาะสมที่สุดที่จะนำเอนไซม์ที่ผลิตได้ไปใช้ประโยชน์

เมื่อนำแลกเคสจากไลโปไลติกยีสต์ความเข้มข้น 711 ยูนิตต่อมิลลิกรัม(0.16 กรัม) มาทดสอบการย่อยสลายสารโพลีอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอน ในระดับห้องปฏิบัติการ แล้วนำมาวิเคราะห์หาปริมาณสารโพลีอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอนที่เหลืออยู่ด้วยเทคนิคทางโครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง พบว่าแลกเคสจากไลโปไลติกยีสต์จากเกาะสีชัง สามารถย่อยสลาย Naphthalene Anthracene Pyrene และ Benzo[a]pyrene ได้ 24.35, 38.16, 25.38 และ 45.33 % ตามลำดับ ภายใน 48 ชั่วโมง เนื่องจากแลกเคสเป็นเอนไซม์ในกลุ่มออกซิโดรีดักเทส (Oxidoreductase) ที่สามารถเกิดปฏิกิริยา โดยให้อิเล็กตรอนและมีโมเลกุลออกซิเจนเป็นตัวรับอิเล็กตรอน ออกซิเจนที่ได้รับอิเล็กตรอนจะรวมกับโปรตอนที่มีอยู่ในสารละลายกลายเป็นน้ำ ดังนั้นแลกเคสสามารถใช้สับสเตรทประเภทสารในกลุ่มโพลีอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอนได้ และการทดสอบความสามารถในการย่อยสลายสารโพลีอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอนในตัวอย่างดินด้วยแลกเคสจากยีสต์ปริมาณ 5 กรัม พบว่าปริมาณ Naphthalene ลดลง 51.34 เปอร์เซ็นต์ และปริมาณ Anthracene ลดลง 85.06 เปอร์เซ็นต์ ภายในเวลา 9 วัน ถึงแม้ว่าสารโพลีอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอนจะยึดเกาะกับอนุภาคของดินหรือดินตะกอนได้ดีก็ตามแลกเคสก็สามารถย่อยสลายสารประกอบPAHs ได้ จากงานวิจัยชิ้นนี้จึง

เป็นประโยชน์อย่างยิ่งในการนำไปแก้ไขปัญหการปนเปื้อนของน้ำมันที่มีสารพิษปนอยู่ในสิ่งแวดล้อม เพื่อสิ่งแวดล้อมและสุขภาพที่ดีต่อไป

4.3 โครงการย่อยที่ 3 การย่อยสลายทางชีวภาพสารโพลีอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอนด้วยแบคทีเรียดีไนทรีไฟเออร์

วัตถุประสงค์ของโครงการ:

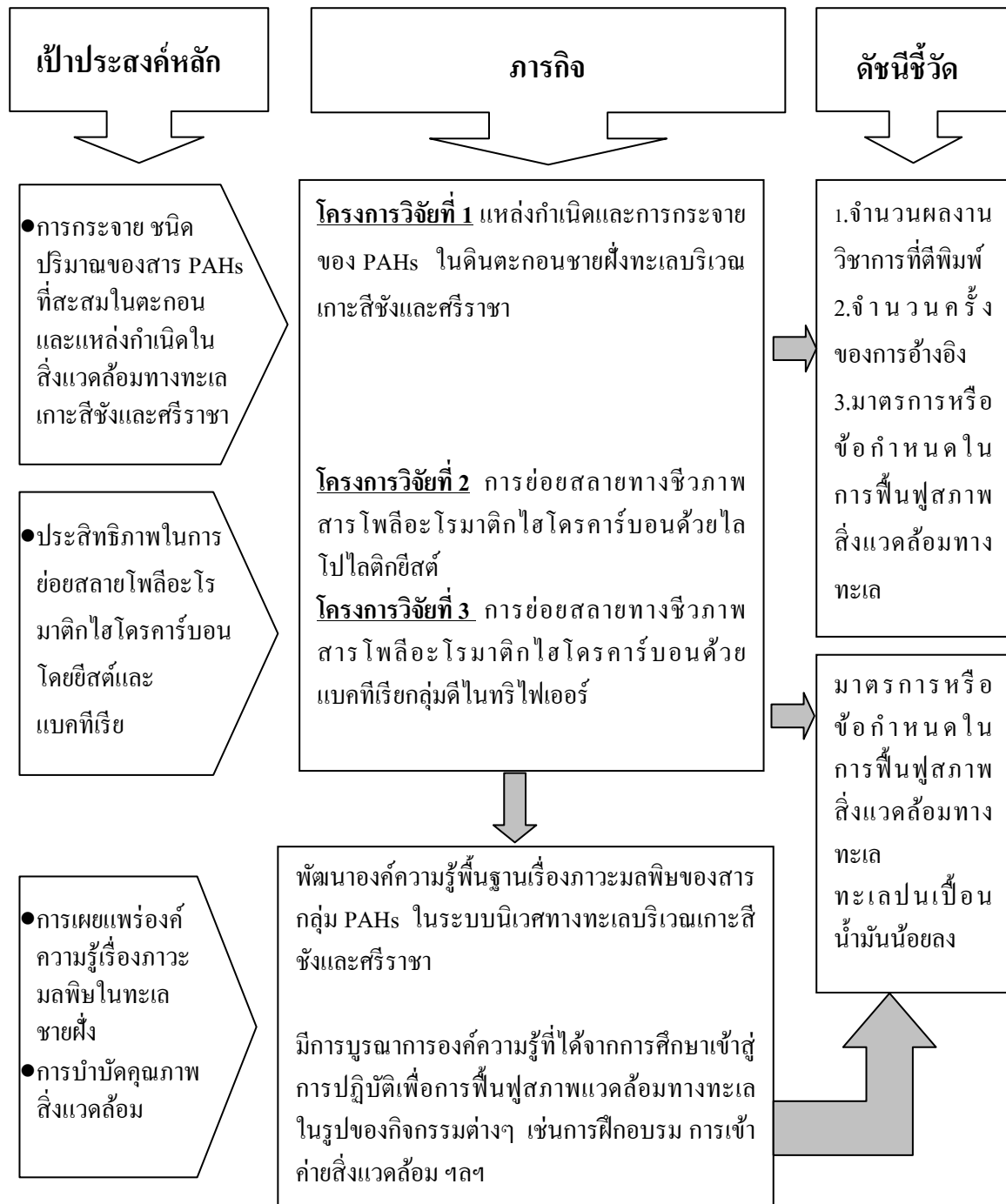
คัดแยกแบคทีเรียดีไนทรีไฟเออร์จากตะกอนดินที่มีคุณสมบัติในการกำจัดสารประกอบประเภทโพลีอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอนในสถานะไร้ออกซิเจน

ผลของการศึกษา:

ผลการวิจัยการคัดแยกจุลินทรีย์ชนิดดีไนทรีไฟเออร์จากดินตะกอนใต้ทะเลบริเวณเกาะสีชัง จังหวัด ชลบุรีจำนวน 26 ตัวอย่าง พบจุลินทรีย์ที่สามารถเจริญได้ดีในอาหารที่มีส่วนประกอบของ PAHs (Naphthalene, Phenanthrene, Pyrene และ Benzo[a]pyrene) ความเข้มข้น 200 ppm ในสถานะไร้ออกซิเจน ซึ่งถูกคัดแยกมาสกัดจีโนมิกดีเอ็นเอและเพิ่มปริมาณ 16S rDNA รวมถึงวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์บน 16S rDNA เพื่อระบุชนิด และทำการทดสอบทางชีวเคมี ผลการวิจัยพบว่าจุลินทรีย์ที่สามารถคัดแยกจากตะกอนดินใต้ทะเลมี 63 ไอโซเลต มี 8 ไอโซเลตที่พบใน 5 สถานี (สถานีที่ 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 สารประกอบPAHs ที่มีจำนวนวงเบนซีนต่าง ๆ กัน ที่ความเข้มข้นเริ่มต้น 200 ppm ได้ ในปริมาณที่แตกต่างกันเมื่อใส่เชื้อดีไนทรีไฟเออร์แบคทีเรีย ทั้งนี้โดยเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่ใส่ดีไนทรีไฟเออร์แบคทีเรีย ซึ่งไม่พบการลดลงของสารประกอบ PAHs ดังนั้นแสดงให้เห็นว่า ดีไนทรีไฟเออร์แบคทีเรียมีความสามารถในการย่อยสลายสารประกอบโพลีอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอนที่มีจำนวนองค์ประกอบของวงเบนซีนต่าง ๆ กัน ได้อย่างมีประสิทธิภาพ โดยเฉพาะ Naphthalene ซึ่งเป็นสารประกอบ PAHs 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* ที่มีประสิทธิภาพสามารถย่อยสลายได้ 50% และ 60%ตามลำดับ ส่วน Phenanthrene นั้นมีดีไนทรีไฟเออร์แบคทีเรีย คือ *Proteus mirabilis* ที่มีความสามารถในการย่อยสลายได้ 50% ส่วนดีไนทรีไฟเออร์แบคทีเรียตัวอื่นๆ พบความสามารถในการย่อยสลายได้น้อยกว่า 50% โดยสรุปอาจกล่าวได้ว่าประสิทธิภาพการย่อยสลายสารประกอบPAHsแตกต่างกัน ขึ้นอยู่กับดีไนทรีไฟเออร์แต่ละชนิด

5. สรุปภาพรวมของแผนงาน

การศึกษาวิจัยเรื่อง “การพัฒนางานองค์ความรู้เพื่อการจัดการปัญหาภาวะมลพิษในทะเลและอนุรักษ ความเป็น ความหลากหลายทางชีวภาพบริเวณหมู่เกาะสีชัง (ปีที่ 2)” ประกอบด้วยการศึกษาสองด้าน คือ ส่วนแรกเป็น การศึกษาวิจัยด้านแหล่งกำเนิดและการกระจายของโพลีไซคลิกอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอนในดินตะกอน ชายฝั่งบริเวณที่จอดทอดสมอบริเวณเกาะสีชังและศรีราชา จ.ชลบุรี ส่วนที่สอง เป็นการศึกษาประสิทธิภาพ ในการย่อยสลายทางชีวภาพสารโพลีไซคลิกอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอนโดยไลโปไลติกยีสต์และแบคทีเรีย ชนิดดีไนทรีไฟเออร์ โดยมีกลยุทธ์ของแผนงานวิจัยดังไอะแกรมข้างล่าง



ภาพที่ 1 แสดงภาพรวมและตัวชี้วัดของแผนงานวิจัย

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

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/> ซึ่งเป็นแหล่งให้ความรู้แก่นักศึกษาทั่วไป
- สายพันธุ์ของจุลินทรีย์ที่สามารถย่อยสลายสารอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอนได้อย่างมีประสิทธิภาพในสภาวะที่มีออกซิเจนและสภาวะไร้ออกซิเจน (โครงการที่ 2 และ 3)
- นักวิจัยรุ่นใหม่ซึ่งเป็นนิสิตระดับปริญญาโท/เอก โดยทำงานเป็นผู้ช่วยนักวิจัยในแต่ละโครงการย่อย ทำให้นิสิตได้มีประสบการณ์ในการดำเนินการวิจัยของตนเองต่อไป โดยในแผนงานนี้มีจำนวน 4 คน ดังนี้

1. นางสาวรัตนศิริินทร์ ทรัพย์เจริญ (นิสิตปริญญาเอกหลักสูตรวิทยาศาสตร์ทางทะเล)
2. นายฉัตร บุญเพิ่ม (นิสิตปริญญาโทหลักสูตรสหสาขาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม)
3. นางสาวพัชราภรณ์ การงาน (นิสิตปริญญาโทหลักสูตรเทคโนโลยีชีวภาพ)
4. นางสาวจิราพร พวงแก้ว (นิสิตปริญญาโทหลักสูตรเทคโนโลยีชีวภาพ)

5.2. ผลลัพธ์ (Outcome) ที่ได้จากแผนงานวิจัยนี้ ได้แก่

- องค์ความรู้ด้านสิ่งแวดล้อมและมลภาวะทางทะเลบริเวณเกาะสีชังและทะเลใกล้เคียง ซึ่งสามารถใช้เป็นแหล่งอ้างอิงสำหรับนิสิต นักศึกษาในสถาบันการศึกษาดังแต่ระดับมัธยมถึงระดับอุดมศึกษา
- ทราบถึงปริมาณการปนเปื้อนของมลสาร PAHs ที่สะสมอยู่ในตะกอนดิน และการประยุกต์ใช้จุลินทรีย์ที่สามารถย่อยสลายทางชีวภาพสารโพลีอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอนในสิ่งแวดล้อมได้อย่างมีประสิทธิภาพ
- มีความรู้จากการศึกษาครั้งนี้ไปบูรณาการเพื่อออกมาตรการหรือข้อกำหนดเพื่อลดผลกระทบ หรือป้องกันสภาพมลภาวะของทะเลชายฝั่ง
- 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

ชื่อโครงการ การพัฒนาองค์ความรู้เพื่อการจัดการปัญหาภาวะมลพิษในทะเลและอนุรักษ์ความหลากหลายทางชีวภาพบริเวณหมู่เกาะสี่ช้าง (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. วรวิทย์ จุฬาลักษณ์นากุล	สถาบันวิจัยทรัพยากรทางน้ำ และคณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย	02-218-5482	02-218-5482
ผศ.ดร.สุภางค์ จุฬาลักษณ์นากุล	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