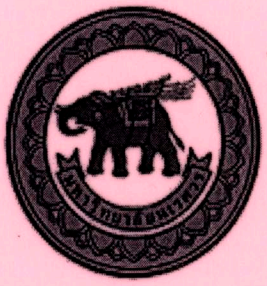
ห้องสมุดงานวิจัย สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ
250200



รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการ ความหลากหลายของเห็ดที่มีความสามารถย่อยสลายสารพิษตกค้างทางการเกษตรกลุ่ม Chlorinated Hydrocarbon Compounds: 2,4 PCB

(Biodiversity of Mushroom Having Ability to Degrade Chlorinated Hydrocarbon Compounds: 2, 4 PCB)

โดย รองศาสตราจารย์ ดร.ศิริพงษ์ เปรมจิต และคณะ

ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร
อำเภอเมือง จังหวัดพิษณุโลก 65000
โทรศัพท์ 055-261000-4 ต่อ 3342 โทรสาร 055-261025
E-mail siripongp@nu.ac.th

30 เมษายน 2555

b00256581

ห้องสมุดงานวิจัย สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ
250200

สัญญาเลขที่ R2553B085

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการ
ความหลากหลายของเห็ดที่มีความสามารถย่อยสลายสารพิษตกค้างทางการ เกษตรกลุ่ม Chlorinated Hydrocarbon Compounds: 2,4 PCB

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ห้องสมุดงานวิจัย

ผู้วิจัย

รองศาสตราจารย์ ดร.ศิริพงษ์ เปรมจิต

สนับสนุนโดยกองทุนวิจัยมหาวิทยาลัยนเรศวร

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับเงินสนับสนุนจากงบประมาณแผ่นดิน มหาวิทยาลัยนเรศวร ประจำปีงบประมาณ 2553 สัญญาเลขที่ R2553B085

ขอขอบคุณผู้ร่วมวิจัย ผศ.ดร.ดวงพร เปรมจิต จากภาควิชาวิทยาศาสตร์การเกษตร คณะเกษตรศาสตร์ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยนเรศวร ที่ช่วยแนะนำและระดมความคิดเห็นในการแก้ปัญหาระหว่างการวิจัยตลอดจนผู้ช่วยวิจัย จากภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ นางสาวจิรัฐิติกาล ศรีปราบหล่ม และนางสาวรวิศกุล โพธิรุกขา

ขอขอบคุณภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ ที่ให้สถานที่ในการทำวิจัย

บทคัดย่อ

250200

การคัดกรองเห็ดราจำนวน 125 สายพันธุ์ จากป่าชุมชน จังหวัดพิษณุโลกและจังหวัดพิจิตร ในขั้นต้นโดยการย่อยสลายสีสังเคราะห์ 3 ชนิด คือ Azure-B, Phenol red และ Remazol brilliant blue R (RBBR) เพื่อคัดเลือกสายพันธุ์ที่สามารถย่อยสลาย 2,4-Dichlorobiphenyls (2,4-PCB) จากการคัดกรองพบว่าสีสังเคราะห์ดังกล่าวนี้จะถูกย่อยสลายได้โดยเห็ดรา 71 สายพันธุ์ และได้คัดเลือกเห็ดราจำนวน 7 สายพันธุ์ซึ่งมีอัตราการย่อยสลายสีสังเคราะห์แต่ละชนิดสูงกว่าและเทียบเท่ากับเชื้อเห็ดมาตรฐาน *T. versicolor* NBRC 6482 เพื่อนำไปย่อยสลายสารประกอบ 2,4-PCB โดยเมื่อนำเห็ดราทั้ง 7 สายพันธุ์ไปย่อยสลาย 2,4-PCB ในอาหาร Basal medium และ YMPG medium เป็นเวลา 15 และ 30 วัน พบว่าในวันที่ 15 ของการย่อยสลายเชื้อ *M. xanthopus, H. calyptraeformis* และ *Scytinopogon* sp. ให้อัตราการย่อยสลายสูงกว่าเชื้อ *T. versicolor* และเมื่อระยะเวลาการย่อยสลายเพิ่มขึ้น เชื้อทุกสายพันธุ์มีอัตราการย่อยสลายสูงขึ้น โดยในวันที่ 30 ของการย่อยสลาย เชื้อ *M. xanthopus* และเชื้อ *T. versicolor* ให้อัตราการย่อยสลายสูงสุด 100 % ทั้งในอาหาร Basal medium และ YMPG medium

ABSTRACT

250200

One hundred and twenty-five mushrooms were collected in the Phitsanulok and Pichit community forest preservation for selection of the strain that have ability to degrade 2,4-Polychlorinated biphenyl (2,4-PCB) . Screening was performed by plate test method by observing the decolorization of three synthetic dyes; Azure-B, Phenol red and Remazol brilliant blue R (RBBR). The screening results the 71 strains with decolorization ability were discovered. Seven strains clear zone ratio than that of *T. versicolor* NBRC 6482 were selected for further study of degradation of 2,4-PCB in Basal and YMPG medium. The selected strains were culture in medium and incubate for 15 and 30 days. The medium filtrate were extracted with hexane and concentrated. Analysis of degradation rate of 2,4-PCB by the mushroom were performed by GC/MS. Results showed that *M. xanthopus*, *H. calyptraefoemis* and *Scytinopogon* sp. had higher rate of degradation of 2,4-PCB than that of *T. versicolor* at 15 days of incubation. The 2,4-PCB was completely degraded (100 %) by *M. xanthopus* and *T. versicolor* at 30 days of incubation both in Basal and YMPG medium.

สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	I
บทคัดย่อภาษาไทย	II
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	III
สารบัญตาราง	IV
สารบัญภาพ	V
บทที่ 1 บทนำ	
ความเป็นมาของปัญหา	1
จุดมุ่งหมายของการศึกษา	2
ขอบเขตของงานวิจัย	3
ทฤษฎี สมมติฐาน และกรอบแนวความคิดของโครงการวิจัย	3
ทบทวนวรรณกรรม/สารสนเทศที่เกี่ยวข้อง	5
บทที่ 2 วิธีดำเนินงานวิจัย	
การเก็บตัวอย่างเห็ดรา	14
การคัดแยกเชื้อให้ได้เชื้อบริสุทธิ์	14
การจัดจำแนกสายพันธุ์เชื้อเห็ดรา	15
การคัดกรองเชื้อเห็ดราจากแหล่งธรรมชาติที่สามารถสร้าง ligninolytic enzymes โดยการย่อยสลายสีสังเคราะห์	16
การทดสอบการย่อยสลายสารประกอบ 2,4-PCB ในอาหาร production medium	16
การเก็บรักษาตัวอย่างเห็ดรา	17
บทที่ 3 ผลการวิจัย	
การเก็บตัวอย่างเห็ดราและคัดแยกเชื้อเห็ดราที่ได้จากแหล่งธรรมชาติ	18
การจัดจำแนกชนิดของเห็ดราที่คัดแยกได้จากแหล่งธรรมชาติ	19
การคัดกรองเชื้อเห็ดราจากแหล่งธรรมชาติที่สามารถสร้าง ligninolytic enzymes โดยการย่อยสลายสีสังเคราะห์	26

สารบัญ (ต่อ)

บทที่ 3 ผลการวิจัย

การทดสอบการย่อยสลายสารประกอบ 2,4-PCB ในอาหาร production medium 26

บทที่ 4 อภิปรายและสรุปผลการวิจัย

อภิปรายผลการวิจัย 30

สรุปผลการวิจัย 34

เอกสารอ้างอิง 35

ภาคผนวก 43

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	แสดงผลการคัดแยกและร้อยละไอโซเลตของเห็ดราที่ได้จากแหล่งธรรมชาติโดยสรุป	19
2	แสดงจำนวนเห็ดราที่สามารถย่อยสลายสีสังเคราะห์แต่ละชนิดบนอาหารทดสอบที่มีแหล่งไนโตรเจนสูงและต่ำโดยสรุป	23
3	แสดงค่า Clear zone ratio ของเห็ดราซึ่งเป็นตัวแทนของแต่ละกลุ่มที่ถูกคัดเลือกจำนวน 7 สายพันธุ์ที่มีการสร้าง ligninolytic enzymes จากการย่อยสลายสีสังเคราะห์แต่ละชนิด ทั้งในอาหารทดสอบที่มีแหล่งไนโตรเจนสูง และหรือต่ำ	25
4	แสดงเปอร์เซ็นต์การย่อยสลายสาร 2,4-PCB โดยเชื้อเห็ดราชนิดต่างๆ ในอาหาร Production medium 2 ชนิด เป็นเวลา 15 และ 30 วัน	27

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	โครงสร้างทางเคมีของ PCBs	5
2	กลไกการเกิดปฏิกิริยา oxidation ของ ligninolytic enzymes	10
3	แสดงปฏิกิริยา oxidation ของเชื้อเห็ดราต่ออาหารทดสอบที่มีสี Azure-B ที่ใช้ในการทดสอบการสร้างเอนไซม์ Lignin peroxidase (LiP)	20
4	แสดงปฏิกิริยา oxidation ของเชื้อเห็ดราต่ออาหารทดสอบที่มีสี Phenol red ที่ใช้ในการทดสอบการสร้างเอนไซม์ Manganese peroxidase (MnP)	21
5	แสดงปฏิกิริยา oxidation ของเชื้อเห็ดราต่ออาหารทดสอบที่มีสี RBBR ที่ใช้ในการทดสอบการสร้างเอนไซม์ Laccase	21
6	แสดงอัตราการย่อยสลาย 2,4-PCB ในอาหาร YMPG medium เป็นเวลา 15 และ 30 วัน	28
7	แสดงอัตราการย่อยสลาย 2,4-PCB ในอาหาร Basal medium เป็นเวลา 15 และ 30 วัน	28
8	ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเห็ด *Lentinus similis*	48
9	ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเห็ด *Scytinopogon* sp.	50
10	ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเห็ด *Coprinus cinereus*	52
11	ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเห็ด *Hygrocybe calyptraefoemis*	54
12	ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเห็ด *Grifola gigantea*	56
13	ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเห็ด *Megacollybia platyphylla*	58
14	ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเห็ด *Microporus xanthopus*	60