ใบไม้ประดับและแบคทีเรียย่อยสลายฟีแนนทรีนบนผิวใบ

นางสาวนุชนาฎ ทองธรรมชาติ

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม (สหสาขาวิชา)
บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2550
ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ORNAMENTAL PLANT LEAVES AND PHENANTHRENE-DEGRADING BACTERIA ON LEAVE SURFACE

Miss Nudchanard Thongthammachat

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements

for the Degree of Master of Science Program in Environmental Science

(Interdisciplinary Program)

Graduate School

Chulalongkorn University

Academic Year 2007

Copyright of Chulalongkorn University

502138

หัวข้อวิทยานิพนธ์	ใบไม้ประดับและแบคทีเรียย่อยสลายฟีแนนทรีนบนผิวใบ
โดย	นางสาวนุชนาฎ ทองธรรมชาติ
สาขาวิชา	วิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม
อาจารย์ที่ปรึกษา	อาจารย์ ดร.เอกวัล ลือพร้อมชัย

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

.....คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ม.ร.ว. กัลยา ติงศภัทิย์)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

.....ประธานกรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร. สมใจ เพ็งปรีชา)

.....อาจารย์ที่ปรึกษา
(อาจารย์ ดร.เอกวัล ลือพร้อมชัย)

.....กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร.ไพเราะ ปิ่นพานิชการ)

.....กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อรฤทัย ภิญญาคง)

นุชนาฎ ทองธรรมชาติ: ใบไม้ประดับและแบคทีเรียย่อยสลายฟีแนนทรีนบนผิวใบ (ORNAMENTAL PLANT LEAVES AND PHENANTHRENE-DEGRADING BACTERIA ON LEAVE SURFACE) อ.ที่ปรึกษา: อ.ดร. เอกวัล ลือพร้อมชัย, 101 หน้า

ฟีแนนทรีนจัดอยู่ในกลุ่มของสารประกอบพอลิไซคลิกอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอนหรือพีเอเอช (polycyclic aromatic hydrocarbons; PAHs) ที่เกิดขึ้นจากการเผาไหม้ของเชื้อเพลิงที่ไม่สมบูรณ์ของกระบวนการต่าง ๆ ในอุตสาหกรรมและควันไอเสียของรถยนต์ เนื่องจาก PAHs บางชนิดเป็นสารก่อมะเร็ง (carcinogen) และเป็นสารมลพิษทางอากาศ การกำจัดสารเหล่านี้หลังจากที่ตกลงบนใบไม้จะช่วยให้คุณภาพอากาศดีขึ้น งานวิจัยนี้จึงได้ศึกษากิจกรรมและประสิทธิภาพของแบคทีเรียที่ย่อยสลายฟีแนนทรีนบนผิวใบของไม้ประดับ 10 ชนิดได้แก่ เข็ม (*Ixora* spp.), แก้ว (*Murraya paniculata*), โมก (*Wrigtia religiosa*), เฟื่องฟ้า (*Bougainvillea* spp.), มะลิ (*Jasminum sambac* (L.) Ait.), โกสน (*Codiaeum variegatum*), ไทรแคระ (*Ficus* sp.), ข่อย (*Streblus asper* Lour.), เข็มม่วง (*Pseuderanthemum graciliflorum* (Nees) Ridl.) และชบา (*Hibiscus rosa sinensis* L.) ในพื้นที่บริเวณจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ผลจากการศึกษาพบว่า บนผิวใบโมกมีจุลินทรีย์ที่ย่อยสลายฟีแนนทรีนมากที่สุดโดยเฉลี่ย คือ 4.48 × 10^5 MPN ต่อกรัมใบไม้สด ลักษณะทางเคมีของใบที่ศึกษาได้แก่ ปริมาณแวกซ์ ปริมาณความชื้น ปริมาณไนโตรเจน ปริมาณฟอสฟอรัส และ PAHs 14 ชนิด พบว่าใบไม้ประดับที่มีจำนวนจุลินทรีย์บนผิวใบที่ย่อยสลายฟีแนนทรีนมากกว่า 10^4 MPN ต่อกรัมใบไม้สด พบความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณแวกซ์กับจำนวนจุลินทรีย์อย่างมีนัยสำคัญ ส่วนใบไม้ประดับที่มีจำนวนจุลินทรีย์บนผิวใบที่ย่อยสลายฟีแนนทรีนน้อยกว่าหรือเท่ากับ 10^4 MPN ต่อกรัมใบไม้สด พบความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณความชื้นกับจำนวนจุลินทรีย์อย่างมีนัยสำคัญ ลักษณะทางกายภาพที่ทำการศึกษา ได้แก่ พื้นที่ใบและจำนวนขนบนผิวใบไม่พบความสัมพันธ์กับจำนวนจุลินทรีย์บนผิวใบที่ย่อยสลายฟีแนนทรีนอย่างมีนัยสำคัญ ต่อมาได้ทำการศึกษาการย่อยสลายฟีแนนทรีนบนใบของใบโมก เข็ม และชบา ซึ่งเป็นตัวแทนกลุ่มไม้ประดับที่มีจำนวนจุลินทรีย์บนผิวใบที่ย่อยสลายฟีแนนทรีนสูง กลาง และต่ำ ที่ความเข้มข้นของฟีแนนทรีนเริ่มต้นเป็น 100 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมใบไม้ ในเวลา 7 วัน พบว่าบนใบโมกและเข็มมีปริมาณฟีแนนทรีนที่เหลือ (%) บนใบของชุดทดลองน้อยกว่าชุดควบคุมและจากการศึกษาประสิทธิภาพของจุลินทรีย์บนผิวใบที่มีฟีแนนทรีนเข้มข้นเริ่มต้นต่างๆ พบว่าจุลินทรีย์บนผิวใบโมกและเข็มมีประสิทธิภาพในการย่อยสลายฟีแนนทรีนบนใบสูงสุดที่ความเข้มข้นเริ่มต้น 50 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมใบไม้ และจุลินทรีย์บนผิวใบชบามีประสิทธิภาพในการย่อยสลายฟีแนนทรีนบนใบได้น้อยที่สุด ทั้งนี้เนื่องมาจากบนผิวใบชบามีจำนวนจุลินทรีย์ที่ย่อยสลายฟีแนนทรีนน้อยที่สุด จึงสรุปได้ว่าจำนวนจุลินทรีย์บนผิวใบที่ย่อยสลายฟีแนนทรีนมีผลต่อประสิทธิภาพในการย่อยสลายฟีแนนทรีนที่สะสมอยู่บนผิวใบ ดังนั้นเกณฑ์ในการเลือกชนิดไม้ประดับที่จะนำไปใช้ลดมลพิษทางอากาศอย่างหนึ่ง คือ ปริมาณแวกซ์ ควรปลูกต้นไม้ที่ใบมีปริมาณแวกซ์มาก เพราะใบพืชเหล่านี้มีแนวโน้มที่จะเป็นแหล่งที่อยู่อาศัยของจุลินทรีย์ที่ย่อยสลายฟีแนนทรีน แล้วช่วยส่งเสริมให้เกิดการกำจัดฟีแนนทรีนตามไปด้วย

สาขาวิชา วิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม (สหสาขาวิชา) ลายมือชื่อนิสิต นุชนาฎ ทองธรรมชาติ

ปีการศึกษา 2550 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา

4889093020: MAJOR OF ENVIRONMENT SCIENCE

KEY WORD: POLYCYCLIC AROMATIC HYDROCARBONS / PHYLLOSPHERE BACTERIA / ORNAMENTAL PLANTS / AIR POLLUTANT

NUDCHANARD THONGTHAMMACHAT: ORNAMENTAL PLANT LEAVES AND PHENANTHRENE-DEGRADING BACTERIA ON LEAVE SURFACE. THESIS ADVISOR: EKAWAN LUEPROMCHAI, Ph.D., 101 pp.

Phenanthrene is a kind of polycyclic aromatic hydrocarbons or PAHs, which are produced from the incomplete combustion during various processes in industries and from the exhaustion of automobiles. Since, some of PAHs are carcinogen and classified as air pollutants. The removal of these compounds after deposition on plant leaves would improve air quality. This research therefore studied the activities and efficiencies of phenanthrene-degrading microorganisms on leaf surface of 10 ornamental plants, including *Ixora* spp., *Murraya paniculata*, *Wrigtia religiosa*, *Bougainvillea* spp., *Jasminum sambac* (L.) Ait., *Codiaeum variegatum*, *Ficus* sp., *Streblus asper* Lour., *Pseuderanthemum graciliflorum* (Nees) Ridl. and *Hibiscus rosa sinensis* L. in Chulalongkorn university. The result shows that *Wrigtia religiosa* had the highest number of phenanthrene-degrading microorganisms, 4.48×10^5 MPN/gram of fresh leaf. Leaf chemical properties including the amount of wax, moisture content, nitrogen, phosphorus and 14 PAHs were studied. It was found that ornamental plants, which had the amount of phenanthrene-degrading microorganisms on leaf surface more than to 10^3 MPN/gram of fresh leaf, showed significant relationship between the amounts of wax and microorganisms. On the other hand, ornamental plants, which had the amount of phenanthrene-degrading microorganisms on leaf surface less than or equal 10^3 MPN/gram of fresh leaf, showed significant relationship between the moisture content and microbial number. Leaf physical properties including leaf area and the amount of trichome on leaf surface were studied. There was no significant relationship between physical properties and the quantity of phenanthrene-degrading microorganisms. Later, the study of phenanthrene degradation was carried out on leaves of *Wrigtia religiosa*, *Ixora* spp., and *Hibiscus rosa sinensis* L. These species are the representatives of plants with the maximum, medium, and least amount of phenanthrene-degrading microorganisms. The initial concentration of phenanthrene was 100 mg/kg leaves. Within 7 days, the remaining phenanthrene (%) was lower in treated leaves than control leaves of *Wrigtia religiosa* and *Ixora* spp. Additional study on the efficiency of phyllospere microorganisms was conducted with various initial phenanthrene concentrations. The results showed that microorganisms on *Wrigtia religiosa* and *Ixora* spp. had highest phenanthrene-degrading efficiency at the phenanthrene concentration equal to 50 mg/kg leaves. In addition, microorganisms on *Hibiscus rosa sinensis* L. has the lowest efficiency in phenanthrene degradation. It can be concluded that the number of phenanthrene-degrading microorganisms were corresponded to the degradation of phenanthrene that accumulated on leaf surface. A criterion for the selection of ornamental plants for lowering the amounts of air pollutants is therefore the leaf wax. The plants with high amount of wax should be grown since their leaves have potential to serve as a habitat for phenanthrene-degrading microorganisms and consequently promote phenanthrene removal.

Field of study Environmental Science Student' s signature นัชนาฏ ทองธรรมชาติ

Academic year 2007 Advisor' s signature Ekawan

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี เนื่องด้วยความกรุณาของผู้ที่เกี่ยวข้องทุกฝ่าย ผู้เขียนขอกราบขอบพระคุณ อ.ดร.เอกวัล ลือพร้อมชัย อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ที่กรุณาให้คำแนะนำ คำปรึกษา รวมทั้งข้อคิดเห็นต่างๆ ที่เป็นประโยชน์อย่างยิ่งต่อการทำวิทยานิพนธ์ในครั้งนี้ นอกจากนี้ยังคอยให้ความเอาใจใส่ ห่วงใยและให้กำลังใจที่ดีมาโดยตลอด ขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร. สมใจ เพ็งปรีชา ที่กรุณาสละเวลามาเป็นประธานในการสอบวิทยานิพนธ์ รองศาสตราจารย์ ดร.ไพเราะ ปิ่นพานิชการ และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อรฤทัย ภิญญาคง ที่กรุณาสละเวลามาเป็นกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ รวมทั้งได้ให้คำแนะนำที่เป็นประโยชน์อย่างยิ่ง ทำให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้มีความสมบูรณ์มากยิ่งขึ้น

ขอขอบคุณการสนับสนุนเงินทุนบางส่วนที่ได้นำมาใช้ในการวิจัยจากทุนอุดหนุนวิทยานิพนธ์ บัณฑิตวิทยาลัย ขอขอบพระคุณ เจ้าหน้าที่ทุกท่านในห้องปฏิบัติการ สถาบันวิจัยสภาวะแวดล้อมที่อนุเคราะห์ห้องปฏิบัติการและเครื่องมือในการวิเคราะห์ รวมทั้งความช่วยเหลือและอำนวยความสะดวกในการใช้เครื่องมือวิเคราะห์ นอกจากนี้ขอขอบคุณ นายชนม์ฎิศักดิ์ ยุตธรรมโม สำหรับการวิเคราะห์ความหลากหลายของแบคทีเรียบนใบไม้ นางสาวสุรัชนา ช้างชาขวงศ์ นางอาภาภรณ์ ศิริพรประสาน และนางสาวอรมาศ สุทธินุ่น ที่คอยช่วยเหลือและให้คำปรึกษาที่ดี รวมถึงน้องๆ ทุกคนในสหสาขาวิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม ที่เป็นกำลังใจที่ดีตลอดมา

สุดท้ายขอขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ พี่สาว และคุณสมศักดิ์ วนาปราการ ที่คอยช่วยเหลือสนับสนุน ให้ความรักและเป็นกำลังใจที่สำคัญเสมอมา

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย ..... ง

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ..... จ

กิตติกรรมประกาศ ..... ฉ

สารบัญ ..... ช

สารบัญตาราง ..... ฌ

สารบัญภาพ ..... ญ

บทที่

1 บทนำ 1

1.1 แนวเหตุผลและทฤษฎี 1

1.2 วัตถุประสงค์ 3

1.3 สมมติฐาน 3

1.4 ขอบเขตการศึกษา 4

1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ 5

2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 6

2.1 สารประกอบพอลิไซคลิกอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอน 6

2.2 การสะสมของ PAHs บนพืช 12

2.3 แบคทีเรียบนใบไม้ 17

2.4 การกำจัด PAHs ในบรรยากาศ 20

2.5 การนำจุลินทรีย์บนใบไม้มาใช้ในการบำบัดสารมลพิษ 25

3. วิธีดำเนินการวิจัย 28

3.1 วัสดุอุปกรณ์และสารเคมี 28

3.2 แผนผังแสดงวิธีการดำเนินงานวิจัย 32

3.3 การเก็บตัวอย่างใบไม้ 33

3.4 วิธีศึกษาลักษณะทางกายภาพ เคมีและชีวภาพของใบไม้ประดับ 10 ชนิด 33

3.5 เปรียบเทียบการลดลงของฟีแนนทรีนที่สะสมบนผิวใบของไม้ประดับที่มีจำนวนของแบคทีเรียที่ย่อยสลายฟีแนนทรีนแตกต่างกัน 34

3.6 วิธีวิเคราะห์ลักษณะทางกายภาพและเคมีของใบไม้ 35

3.7 วิธีวิเคราะห์ลักษณะทางชีวภาพของใบไม้ 37

3.8 วิธีวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ 38
4 ผลการศึกษาและอภิปรายผล 39
4.1 ผลการศึกษาลักษณะทางกายภาพ เคมีและชีวภาพของใบไม้ประดับ 10 ชนิด 39
4.2 เปรียบเทียบการลดลงของฟีแนนทรีนที่สะสมบนผิวใบของไม้ประดับที่มี จำนวนของจุลินทรีย์ที่ย่อยสลายฟีแนนทรีนแตกต่างกัน 56
5 สรุปผลการศึกษาและข้อเสนอแนะ 63
5.1 สรุปผลการศึกษา 63
5.2 ข้อเสนอแนะ 65
รายการอ้างอิง 67
ภาคผนวก 75
ภาคผนวก ก 76
ภาคผนวก ข 81
ภาคผนวก ค 85
ภาคผนวก ง 91
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์ 101

สารบัญตาราง

ตาราง		หน้า
2.1	สมบัติทางกายภาพและเคมีของ PAHs 16 ชนิด	7
2.2	แสดงปริมาณแบคทีเรียบนใบไม้ชนิดต่างๆ	18
3.1	สภาวะของการวิเคราะห์ปริมาณฟีแนนทรีน	37
4.1	แสดงชนิดและปริมาณของสารพีเอเอชที่พบบนผิวใบไม้ประดับ	45
4.2	ความหลากหลายของแบคทีเรียที่พบบนผิวใบไม้ประดับ	49
4.3	ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์แบบเพียร์สัน (R) ระหว่างลักษณะทางกายภาพและเคมีของไม้ประดับ 10 ชนิด	50
4.4	ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์แบบเพียร์สัน (R) ระหว่างลักษณะทางกายภาพและเคมีต่อจำนวนจุลินทรีย์บนผิวใบที่ย่อยสลายฟีแนนทรีนของไม้ประดับ	52
ก.1	แสดงจำนวนจุลินทรีย์ที่ได้จากการหาด้วยวิธี MPN	78
ง.1	ผลการศึกษาลักษณะทางกายภาพ เคมีและชีวภาพของไม้ประดับ	91
ง.2	หาความสัมพันธ์ระหว่างลักษณะทางกายภาพและทางเคมีของใบไม้กับจำนวนจุลินทรีย์บนผิวใบที่ย่อยสลายฟีแนนทรีนน้อยกว่าหรือเท่ากับ 10^4 MPN/กรัมของใบไม้สดด้วยการหาค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์แบบเพียร์สัน (Pearson correlation)	94
ง.3	หาความสัมพันธ์ระหว่างลักษณะทางกายภาพและทางเคมีของใบไม้กับจำนวนจุลินทรีย์บนผิวใบที่ย่อยสลายฟีแนนทรีนมากกว่า 10^4 MPN/กรัมของใบไม้สดด้วยการหาค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์แบบเพียร์สัน (Pearson correlation)	96
ง.4	เปรียบเทียบความแตกต่างของประสิทธิภาพการย่อยสลายฟีแนนทรีนของจุลินทรีย์บนผิวใบโมก เข็มและชบา โดยการวิเคราะห์ความแปรปรวนโดยวิธี one – way ANOVA ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 (เปรียบเทียบโดยใช้ชนิดของไม้ประดับเป็นเกณฑ์)	98

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
2.1	โครงสร้างโมเลกุลของ PAHs 16 ชนิด ตามรายงานของ U.S. EPA	6
2.2	แสดงการเข้าสู่บรรยากาศของ PAHs	10
2.3	แสดงวิถีการสะสมของ PAHs ในรูปที่เกาะจับกับอนุภาคแบบแห้งบนใบไม้	12
2.4	แสดงส่วนประกอบโครงสร้างของคิวติเคิลของใบพืช	13
2.5	วิถีการย่อยสลาย PAHs โดยจุลินทรีย์กลุ่มต่างๆ	23
2.6	วิถีการย่อยสลายฟีแนนทรีนโดยแบคทีเรีย	25
3.1	ไม้ประดับที่ศึกษา	30
3.2	การทดลองเพื่อติดตามปริมาณฟีแนนทรีนบนผิวใบที่ผ่านการคัดเลือก (3 ชนิด)	35
4.1	พื้นที่ใบของไม้ประดับ	40
4.2	จำนวนขนบนผิวใบด้านบนและด้านล่างของไม้ประดับ	41
4.3	ปริมาณความชื้น (%) ของใบไม้ประดับ	42
4.4	ปริมาณแวกซ์ (%) ของใบไม้ประดับ	42
4.5	ปริมาณฟอสฟอรัสใบไม้ประดับ	43
4.6	ปริมาณไนโตรเจนใบไม้ประดับ	44
4.7	จำนวนจุลินทร์บนผิวใบไม้ประดับที่ย่อยสลายฟีแนนทรีน	46
4.8	ปริมาณฟีแนนทรีนที่เหลือ (%) บนผิวใบโมกของชุดทดลองและชุดควบคุมในระยะเวลา0-7 วัน	58
4.9	ปริมาณฟีแนนทรีนที่เหลือ (%) บนผิวใบเข็มของชุดทดลองและชุดควบคุมในระยะเวลา0-7 วัน	58
4.10	ปริมาณฟีแนนทรีนที่เหลือ (%) บนผิวใบชบาของชุดทดลองและชุดควบคุมในระยะเวลา0-7 วัน	58
4.11	จำนวนจุลินทร์บนผิวใบโมกที่ย่อยสลายฟีแนนทรีนในระยะเวลา 0-7 วัน	60
4.12	จำนวนจุลินทร์บนผิวใบเข็มที่ย่อยสลายฟีแนนทรีนในระยะเวลา 0-7 วัน	60
4.13	จำนวนจุลินทร์บนผิวใบเข็มที่ย่อยสลายฟีแนนทรีนในระยะเวลา 0-7 วัน	60
4.14	ปริมาณฟีแนนทรีนที่เหลือ (%) บนผิวใบโมก เข็ม และชบา หลังจากทำการทดลองเป็นเวลา 4 วัน โดยเปรียบเทียบความเข้มข้นของฟีแนนทรีนเริ่มต้นที่ 50, 100 และ 500 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมใบไม้	61
ก.1	แสดงวิธีการนับจำนวนจุลินทรีย์ด้วยวิธี MPN	77

ข.1 กราฟมาตรฐานระหว่างปริมาณฟีแนนทรีนกับพื้นที่ใต้กราฟที่ได้จากการวิเคราะห์โดย GC-MS 81
ข.2 กราฟมาตรฐานระหว่างปริมาณฟีแนนทรีนกับพื้นที่ใต้กราฟที่ได้จากการวิเคราะห์โดย GC 80
ข.3 โครมาโตรแกรมของฟีแนนทรีนที่ได้จากการวิเคราะห์โดย GC 83
ข.4 กราฟมาตรฐานระหว่างปริมาณแนพธาลีนกับพื้นที่ใต้กราฟที่ได้จากการวิเคราะห์โดย GC-MS 84
ค.1 แสดงแถบดีเอ็นเอที่สกัดจากแบคทีเรียบนผิวใบไม้ 90