


การใช้ใบพืชตระกูลถั่วและพารามิเตอร์บางประการในการเสริมการย่อยสลายไฟรีนในดิน



นางสาว สุพินดา ศิริวราศิลป์

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาจุลชีววิทยาทางอุตสาหกรรม ภาควิชาจุลชีววิทยา


คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2545

ISBN 974-17-2385-7

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

UTILIZATION OF LEGUMINOUS LEAVES AND CERTAIN PARAMETERS FOR ENHANCING PYRENE
DEGRADATION IN SOIL



Miss Supinda Siriwarasin

ศูนย์วิทยทรัพยากร

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science in Industrial Microbiology

Department of Microbiology

Faculty of Science

Chulalongkorn University

Academic Year 2002

ISBN 974-17-2385-7

หัวข้อวิทยานิพนธ์

การใช้ไบโพืชตระกูลถั่วและพารามิเตอร์บางประการในการเสริมการย่อย
สลายไฟรินในดิน

โดย

นางสาว สุพินดา ศิริวราศิลป์

สาขาวิชา

จุลชีววิทยาทางอุตสาหกรรม

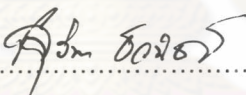
อาจารย์ที่ปรึกษา


รองศาสตราจารย์ ดร.กาญจนา จันทร์ทองจีน


คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้แนบวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็น
ส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาโท

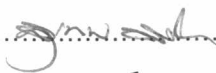

..... คณบดีคณะวิทยาศาสตร์
(รองศาสตราจารย์ ดร. วันชัย ไพฑิชากร)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์


..... ประธานกรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร. สุรีนา ชวนิชย์)


..... อาจารย์ที่ปรึกษา
(รองศาสตราจารย์ ดร.กาญจนา จันทร์ทองจีน)


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


..... กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุเทพ ธนีย์วัน)


..... กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.กอบชัย ภัทรกุลวณิชย์)

สุพินดา ศิริวาราศิลป์ : การใช้ใบพืชตระกูลถั่วและพารามิเตอร์บางประการในการเสริมการ
ย่อยสลายไพรีนในดิน (UTILIZATION OF LEGUMINOUS LEAVES AND CERTAIN
PARAMETERS FOR ENHANCING PYRENE DEGRADATION IN SOIL) อ.ที่ปรึกษา :
รศ.ดร.กาญจนา จันทร์ทองจีน; 97 หน้า. ISBN 974-17-2385-7

ศึกษาผลของการเติมใบพืชตระกูลถั่วที่ร่วงหล่นจากต้นจามจุรี (*Samanea saman*)
มะขาม (*Tamarindus indica*) และนนทรี (*Peltophorum pterocarpum*) สะสมในดินเพื่อกระตุ้น
การย่อยสลายสารประกอบไพรีนที่ทำให้ปนเปื้อนและเติมสารประกอบพีแนทรีนเพื่อเป็นสับสเตรท
ร่วม โดยผสมดินและใบไม้บดในอัตราส่วน 9 : 1 แล้วบรรจุลงในขวดแก้วฝาเกลียว ปรับความชื้นให้มี
ค่าเท่ากับ 60% ของความจุสูงสุดของการอุ้มน้ำของดินผสม บ่มไว้ที่อุณหภูมิ 30 °ซ. ในที่มีด
นำตัวอย่าง 1 หลอดพร้อมหลอดควบคุมซึ่งใช้ดินผสมฆ่าเชื้อไปสกัดและวิเคราะห์ปริมาณ PAHs ทั้ง
2 ชนิดทุก 14 วันโดยทำ 2 ซ้ำ ด้วยวิธี HPLC และตรวจหาแบคทีเรียย่อยสลายสารทั้งสองชนิดโดยนับ
จำนวนบนอาหารเลี้ยงเชื้อ พบว่าตรวจไม่พบไพรีนและพีแนทรีนในวันที่ 56 ของการทดลองในดินที่
เติมใบมะขาม แต่พบ PAHs ทั้งสองชนิดเหลืออยู่เล็กน้อยเมื่อเสร็จสิ้นการทดลอง (84 วัน) ในดินที่
เติมใบจามจุรีและใบนนทรี เมื่อตรวจหาแบคทีเรียที่สามารถย่อยสลายพีแนทรีนและไพรีนที่เกิดขึ้น
ในดินที่ทดลองโดยนับจำนวนบนอาหารเลี้ยงเชื้อ CFMM ที่พันทับด้วยสารละลาย พีแนทรีนและ
ไพรีน พบว่าจำนวนแบคทีเรียย่อยสลาย PAHs ทั้งสองเพิ่มขึ้นและสอดคล้องกับปริมาณพีแนทรีน
และไพรีนที่ลดลง ได้เลือกใช้ใบมะขามมาใช้ในการศึกษาและพบว่าความเข้มข้นสูงสุดของไพรีนใน
ดินที่ใบมะขามสามารถย่อยสลายได้จนไม่สามารถตรวจพบ คือ 1.0 มก./กรัมดินเมื่อบ่มไว้ 56 วัน แต่
เมื่อเพิ่มปริมาณไพรีนเป็น 2.0 3.0 และ 4.0 มก./กรัมดิน ปริมาณไพรีนที่ถูกย่อยสลายได้คือ
74.66 % , 34.46 % และ 7.52% ตามลำดับ โดยใช้เวลาในการบ่ม 84 วัน ได้ใช้ปริมาณไพรีน 2.0
มก./กรัมดิน ในการทดลองปรับพารามิเตอร์ คือ สภาวะความชื้นในดิน อุณหภูมิในการบ่มและการให้
อากาศ พบว่าอัตราการย่อยสลายไพรีนจะเพิ่มขึ้นอย่างช้าๆ หลังจากปรับพารามิเตอร์เป็นลำดับ โดย
ความชื้นที่เหมาะสมอยู่ที่ 70% ของความจุสูงสุดของการอุ้มน้ำ อุณหภูมิในการบ่มที่เหมาะสมต่อ
การย่อยสลายไพรีนคือ 35 °ซ. ส่วนการให้อากาศโดยการเปิดฝาเกลียวให้อากาศ 1 หรือ 2 ครั้งต่อ
สัปดาห์และการเติมไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ พบว่าอัตราการย่อยสลายไพรีนคล้ายคลึงกันหมดทุก
สภาวะ หลังจากการทดลองปรับพารามิเตอร์ดังกล่าวนี้เป็นผลให้การย่อยสลายไพรีนโดยจุลินทรีย์ใน
ใบมะขามเพิ่มขึ้นจาก 74.66% เป็น 92.95%

ภาควิชา จุลชีววิทยา
สาขาวิชา จุลชีววิทยาทางอุตสาหกรรม
ปีการศึกษา 2545

ลายมือชื่อนิสิต.....
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา.....
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม.....

4372460223 : MAJOR INDUSTRIAL MICROBIOLOGY

KEY WORD : PYRENE / POLYCYCLIC AROMATIC HYDROCARBON / DEGRADATION / SOIL

SUPINDA SIRIWARASIN : UTILIZATION OF LEGUMINOUS LEAVES AND CERTAIN
PARAMETERS FOR ENHANCING PYRENE DEGRADATION IN SOIL.

THESIS ADVISOR : ASSOC.PROF.KANCHANA JUNTONGJIN, Ph.D. 97 pp.

ISBN 974-17-2385-7

Addition of leguminous leaves fallen from rain tree (*Samanea saman*), tamarind (*Tamarindus indica*) and yellow flame (*Peltophorum pterocarpum*) for enhancing pyrene degradation in the soil were determined. The soil spiked with pyrene and supplemented with phenanthrene to act as a cosubstrate was mixed with the leaves at the ratio of 9 :1 in screw-capped vials and the moisture content was adjusted to 60% of water holding capacity. All vials were incubated at 30°C in the dark. One vial from the experimental set and another from the sterile control set were collected in duplicate 14 days to quantify the remaining of both PAHs and the numbers of PAHs degrading bacteria by using HPLC and plate count technique, respectively. It was found that pyrene and phenanthrene were undetectable from the soil mixtures supplemented with tamarind leaves after 56 days of incubation, but the small amount were found in the soil added with rain tree and yellow flame leaves throughout the experiments (84 days). Phenanthrene and pyrene degrading bacteria were detected on CFMM agar plates sprayed with phenanthrene and pyrene solutions. Numbers of the positive colonies increased with the decreasing amounts of phenanthrene and pyrene in the soil. The tamarind leaves were selected for further experiments. Maximum concentration of pyrene in the soils capable of being completely degraded in the presence of tamarind leaves was found to be 1 mg/g after 56 days of incubation. However, if the amounts were increased to be 2, 3 and 4 mg/g, the degradative activities became to be 74.66 %, 34.46 % and 7.52% respectively by 84-day of incubation. Optimal parameters including moisture, temperature and aeration in the soil were adjusted to increase the degradative enhancement of 2 mg/g pyrene contamination. The results showed that a moisture content at 70% of water holding capacity was optimum. The suitable temperature for pyrene degradation was 35°C. As for the aeration, the rates of biodegradation at one- and two-time of the vial cap-opening as well as H₂O₂ supplementation were similar. Under the optimal conditions, microbial degradation of pyrene in the contaminated soil was increased from 74.66% to 92.95%.

Department Microbiology

Field of study Industrial Microbiology

Academic year 2002

Student's signature.....*Supinda Siriwarasin*.....

Advisor's signature.....*Kanchana Juntongjin*.....

Co-advisor's signature.....*-*.....

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จไปได้ด้วยดีด้วยความช่วยเหลืออย่างดียิ่งของ รองศาสตราจารย์ ดร. กาญจนา จันทองจีน อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ที่กรุณาให้ความรู้ คำแนะนำ และข้อคิดเห็นต่าง ๆ ตลอดจนกำลังใจที่ผู้วิจัยได้รับมาตลอดระยะเวลาศึกษาอยู่ที่นี้ ซึ่งผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงไว้ ณ ที่นี้

ขอกราบขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ ดร. สุรีนา ชวนิชย์ ที่กรุณารับเป็นประธาน กรรมการในการสอบ และความช่วยเหลือต่าง ๆ ที่ให้แก่ผู้วิจัย

ขอกราบขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ ดร. ไพเราะ ปิ่นพานิชการ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุเทพ ธนียวัน และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. กอบชัย ภักทรกุลวณิชย์ ที่กรุณารับเป็นกรรมการ ในการสอบและให้คำแนะนำต่าง ๆ ตลอดจนช่วยแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอกราบขอบพระคุณอาจารย์ทุกท่านในภาควิชาจุลชีววิทยาที่กรุณาให้ความรู้และคำแนะนำต่าง ๆ แก่ผู้วิจัย

ขอขอบคุณทุนอุดหนุนโครงการวิจัยหรือค้นคว้าเพื่อทำวิทยานิพนธ์ จุฬาลงกรณ์ มหาวิทยาลัย ทุนอุดหนุนและส่งเสริมวิทยานิพนธ์ระดับปริญญาโท-เอก ในสถาบันอุดมศึกษาของรัฐ ทบวงมหาวิทยาลัย และทุนการศึกษามูลนิธิชิน โสภณพานิช ที่ให้ทุนอุดหนุนสำหรับการทำวิจัย

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ในภาควิชาจุลชีววิทยาทุกท่านที่คอยช่วยอำนวยความสะดวกในการ ทำวิจัย ขอขอบคุณ คุณนารีรัตน์ เจริญช่าง คุณกิติพงศ์ ปวรางกูร ตลอดจนพี่ ๆ เพื่อน ๆ และ น้อง ๆ ทุกคนในห้อง 462 ที่มีส่วนช่วยเหลือให้ข้อคิดเห็น เสนอแนะแนวทางในการทำวิจัยและให้ กำลังใจตลอดมา

ขอขอบคุณ คุณสุรียา ร้อยพุท ที่ช่วยเหลือ รับฟัง ให้ข้อเสนอแนะ และเป็นกำลังใจให้ผู้ วิจัยเสมอมา

สุดท้ายนี้ขอกราบขอบพระคุณ บิดา มารดา และขอบคุณน้องสาวที่ให้การสนับสนุนและ ความช่วยเหลือตลอดจนกำลังใจแก่ผู้วิจัยเสมอมา

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญ.....	ช
สารบัญตาราง.....	ฌ
สารบัญรูป.....	ฉ
บทที่	
1. บทนำ.....	1
2. วารสารปริทัศน์.....	4
3. อุปกรณ์และวิธีดำเนินงานวิจัย.....	23
4. ผลการทดลอง.....	34
5. สรุปและอภิปรายผลการทดลอง.....	70
6. ข้อเสนอแนะในงานวิจัย.....	79
รายการอ้างอิง.....	80
ภาคผนวก.....	91
ภาคผนวก ก.....	92
ภาคผนวก ข.....	94
ภาคผนวก ค.....	96
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์.....	97

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
2.1	แบบที่เรียที่สามารถย่อยสลายไพรีนเพื่อใช้เป็นแหล่งคาร์บอนและพลังงาน	8
2.2	แบบที่เรียที่สามารถย่อยสลายไพรีนแบบโคเมแทบอลิซึม.....	9
4.1	ลักษณะทางกายภาพและองค์ประกอบทางเคมีของดินที่นำมาใช้ในการ ทดลอง.....	34
4.2	องค์ประกอบทางเคมีของไบจามจรี ไบมะขาม และไบนนทรี.....	35
4.3	ลักษณะทางกายภาพขององค์ประกอบทางเคมีของดินผสมไบจามจรี ไบมะขาม และไบนนทรี ในอัตราส่วน 9 : 1 (ค่าโดยประมาณจากการคำนวณ).....	35
4.4	จำนวนแบบที่เรียทั้งหมดและราทั้งหมดที่ตรวจพบในดินระหว่างการทดลอง 0 -42 วัน.....	38
4.5	แสดงจำนวนแบบที่เรียย่อยสลายพีแนนทรินที่ตรวจพบในชุดการทดลองต่างๆ ของการศึกษาการเร่งการย่อยสลาย PAHs ในดินที่ปนเปื้อน เมื่อเติมไบจามจรี ไบมะขาม และไบนนทรี ระหว่างการทดลอง 0 -84 วัน.....	43
4.6	แสดงจำนวนแบบที่เรียย่อยสลายไพรีนที่ตรวจพบในชุดการทดลองต่างๆ ของ การศึกษาการเร่งการย่อยสลาย PAHs ในดินที่ปนเปื้อน เมื่อเติมไบจามจรี ไบ มะขาม และไบนนทรี ระหว่างการทดลอง 0 -84 วัน.....	46

สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
2.1	7
2.2	8
2.3	11
3.1	27
3.2	27
4.1	37
4.2	39
4.3	40
4.4	42
4.5	44
4.6	48

4.7	แสดงลักษณะโคโลนีของแบคทีเรียที่ย่อยสลายไพรีน ซึ่งสร้างบริเวณใสรอบโคโลนีอาหารเลี้ยงเชื้อ CFMM ที่พันทับด้วยไพรีนโดยแยกได้จากชุดการทดลองดินผสม ไบจามจรี (ก) ดินผสมไบมะขาม (ข) และดินผสมไบนนทรี (ค).....	47
4.8	ปริมาณไพรีนที่เหลืออยู่และ จำนวนแบคทีเรียย่อยสลายไพรีนในชุดการทดลองดินผสมไบจามจรี ดินผสมไบมะขาม และดินผสมไบนนทรี.....	48
4.9	ปริมาณไพรีนที่เหลืออยู่และ จำนวนแบคทีเรียย่อยสลายไพรีนในชุดการทดลองดินผสมไบจามจรี ดินผสมไบมะขาม และดินผสมไบนนทรี.....	51
4.10	ปริมาณไพรีนที่เหลืออยู่และ จำนวนแบคทีเรียย่อยสลายไพรีนในชุดการทดลองดินผสมไบจามจรี ดินผสมไบมะขาม และดินผสมไบนนทรี.....	54
4.11	ปริมาณไพรีนที่เหลืออยู่และ จำนวนแบคทีเรียย่อยสลายไพรีนในชุดการทดลองดินผสมไบจามจรี ดินผสมไบมะขาม และดินผสมไบนนทรี.....	57
4.12	ปริมาณพีแนทรีนและไพรีนความเข้มข้น 2.0 มก./ กรัมดิน ที่เหลืออยู่ในชุดการทดลองดินผสมไบมะขามและดินปลอดเชื้อผสมไบมะขามปลอดเชื้อเมื่อเปิดฝาเกลียวให้อากาศ 1 และ 2 ครั้งต่อสัปดาห์.....	60
4.13	ปริมาณพีแนทรีนและไพรีนความเข้มข้น 2.0 มก./ กรัมดิน ที่เหลืออยู่ในชุดการทดลองดินผสมไบมะขามและดินปลอดเชื้อผสมไบมะขามปลอดเชื้อเมื่อเติมไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 0.01 %, 0.03% และ 0.05%	62
4.14	ปริมาณพีแนทรีนและไพรีนความเข้มข้น 2.0 มก./ กรัมดิน ที่เหลืออยู่ในชุดการทดลองดินผสมไบมะขามและดินปลอดเชื้อผสมไบมะขามปลอดเชื้อก่อนและหลังปรับสภาวะที่เหมาะสมแล้ว.....	64
4.15	แสดงโครมาโทแกรม HPLC ปริมาณพีแนทรีนและไพรีนในวันที่ 84 ของชุดการทดลองก่อนการปรับสภาวะที่เหมาะสม (ก) ชุดการทดลองดินปลอดเชื้อผสมไบมะขามปลอดเชื้อ (ข) ชุดการทดลองดินผสมไบมะขาม.....	65
4.16	แสดงโครมาโทแกรม HPLC ปริมาณพีแนทรีนและไพรีนในวันที่ 84 ของชุดการทดลองหลังการปรับสภาวะที่เหมาะสม (ก) ชุดการทดลองดินปลอดเชื้อผสมไบมะขามปลอดเชื้อ (ข) ชุดการทดลองดินผสมไบมะขาม.....	66
4.17	แสดงลักษณะพื้นผิวและจุลินทรีย์ที่อยู่บนพื้นผิวของไบจามจรีภายใต้กล้อง S.E.M. ที่กำลังขยาย 5,000 เท่า.....	67
4.18	แสดงลักษณะพื้นผิวและจุลินทรีย์ที่อยู่บนพื้นผิวของไบมะขามภายใต้กล้อง S.E.M. ที่กำลังขยาย 5,000 เท่า.....	68

- 4.19 แสดงลักษณะพื้นผิวและจุลินทรีย์ที่อยู่บนพื้นผิวของไบบนนทรีภายใต้กล้อง
S.E.M. ที่กำลังขยาย 5,000 เท่า.....



ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย