

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์

การคัดเลือกแบคทีเรียที่ย่อยสลายพอลิคลอรีนเทค

ไบฟีนิลจากตะกอนในบ่อน้ำบาดน้ำเสีย

ผู้เขียน

นายวรพล แก่นกำจร

ปริญญา

วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (ชีววิทยา)

คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

อาจารย์ ดร. วสุ ปฐมอารีย์

ประธานกรรมการ

ศาสตราจารย์ ดร. สายสมร ล้ำยอง

กรรมการ

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์หลักของการศึกษาวิจัยในครั้งนี้ คือ การคัดเลือกและบ่งชี้ชนิดของแบคทีเรียที่คัดเลือกได้จากตะกอนในบ่อน้ำบาดน้ำเสีย ซึ่งมีความสามารถในการสลายพอลิคลอรีนเทคไบฟีนิล โดยทำการเก็บตัวอย่างตะกอนในระบบบำบัดน้ำเสียที่ได้จากนิคมอุตสาหกรรมภาคเหนือ จังหวัดลำพูน และโรงบำบัดน้ำเสียมหาวิทยาลัยเชียงใหม่มาคัดแยกแบคทีเรียโดยใช้อาหาร Mineral Salts Agar (MSA) ที่มีพอลิคลอรีนเทคไบฟีนิลเป็นแหล่งของคาร์บอน ในการนี้สามารถคัดเลือกแบคทีเรียที่มีคุณลักษณะแตกต่างกันทางสัณฐานวิทยาและคุณสมบัติการติดสีแบบแกรมได้ทั้งหมด 40 ไอโซเลท และเมื่อนำไปเพาะเลี้ยงบนอาหารคัดเลือกที่มีความเข้มข้นของ Aroclor 1242 และ Aroclor 1254 อย่างละ 10, 25, 50, 75 และ 100 ppm ตามลำดับ พบว่า มีแบคทีเรีย 3 ไอโซเลท ได้แก่ SDs 6, NKd 8 P1 และ NKs 24 P5 ที่สามารถเจริญได้ในทุกความเข้มข้น เมื่อไปตรวจสอบคุณสมบัติทางชีวเคมีและสัณฐานวิทยา พบว่า ทั้ง 3 ไอโซเลทเป็น non-fermentative Gram-negative bacilli (NFGNB) โดย SDs 6 เป็น *Pseudomonas putida* biovar A, NKd 8 P1 เป็น NFGNB Gr. EF-4b และ NKs 24 P5 เป็น *Ochrobactrum anthropi* เมื่อนำมาศึกษาความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการด้วยวิธี 16S rRNA พบว่า ไอโซเลท SDs 6 จัดอยู่ในสกุล *Pseudomonas* และไอโซเลท NKd 8 P1 จัดอยู่ในสกุล *Paracoccus* และมีความใกล้เคียงกับ *Paracoccus thiophilus* มากที่สุด (98.6%) โดยชิ้นส่วนนิวคลีโอไทด์ของ *Paracoccus thiophilus* NKd 8 P1 ได้ถูกบันทึกลงในฐานข้อมูลของ GenBank

(National Center for Biotechnology Information (NCBI)) ภายใต้ accession numbers: EU594260 เมื่อนำแบคทีเรียคัดเลือกรั้ง 3 ชนิดไปศึกษาการเจริญใน Mineral Salts Broth (MSB) พบว่าแบคทีเรียคัดเลือกรั้งมีความสามารถในการเจริญใน MSB ของชุดการทดลองที่ 1 ซึ่งมี Aroclor 1242 ได้ดีกว่าชุดการทดลองที่ 2 ซึ่งมี Aroclor 1254 เป็นแหล่งของคาร์บอน โดยนับปริมาณเซลล์ทั้งหมดทุก 48 ชั่วโมงด้วยวิธี dilution plate ระหว่างวันที่ 0 - 7 พบว่า ในชุดการทดลองที่ 1 มีจำนวนเซลล์อยู่ในช่วง  $6.20 \times 10^3$  -  $1.80 \times 10^7$  CFU/ml ซึ่งมีค่ามากกว่าชุดการทดลองที่ 2 ซึ่งมีจำนวนเซลล์อยู่ในช่วง  $5.80 \times 10^3$  -  $2.10 \times 10^7$  CFU/ml จากนั้น ได้วิเคราะห์ผลผลิตที่ได้จากกระบวนการย่อยสลาย PCBs โดยใช้เทคนิค Gas Chromatography/Mass Spectrometry (GC/MS) ภายใต้ระบบตรวจวัดอิเล็กตรอน (electron capture detection: ECD) พบพีคที่สำคัญ ณ ตำแหน่ง retention time ที่ 6.16 และ 7.40 ในทุกชุดการทดลอง เมื่อนำไปเทียบกับฐานข้อมูลที่มีอยู่ใน GC/MS library search พบว่า สารดังกล่าวเป็นสารประกอบจำพวกเอไมด์ ได้แก่ hexadecanamide และ 9 - octadecenamide ตามลำดับ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่  
Copyright© by Chiang Mai University  
All rights reserved

**Thesis Title** Selection of Polychlorinated Biphenyls Degrading Bacteria  
from Sediments in Sewage Treatment Ponds

**Author** Mr. Woraphon Kaenkumchorn

**Degree** Master of Science (Biology)

**Thesis Advisory Committee** Lecturer Dr. Wasu Pathom – aree Chairperson  
Professor Dr. Saisamorn Lumyong Member

### Abstract

The main objective of this research was to isolate and identify selected bacteria from sediment of waste water treatment ponds capable of degrading polychlorinated biphenyls (PCBs). Sediment samples were taken from Northern Region Industrial Estate, Lamphun province and Chiang Mai University wastewater treatment plant for the isolation of bacteria on Mineral Salts Agar (MSA) containing PCBs as carbon source. Forty different bacterial isolates were obtained based on their morphological and Gram staining characteristics. Three isolates, SDs 6, NKd 8 P1 and NKs 24 P5 were able to grow on MSA with various concentrations of standard PCB mixtures i.e. Aroclor 1242 and 1254 at 10, 25, 50, 75 and 100 ppm, respectively. Biochemical and morphological characterization of the three isolates indicated that they were non-fermentative Gram-negative bacilli (NFGNB). Isolate SDs 6, was *Pseudomonas putida* biovar A; isolate NKd 8 P1, was NFGNB Gr. EF-4b and isolate NKs 24 P5, was *Ochrobactrum anthropi*. Phylogenetic analysis based on 16S rRNA gene sequencing confirmed that SDs 6 was member of the genus *Pseudomonas* and NKd 8 P1 was member of the genus *Paracoccus* with *P. thiophilus* as its nearest neighbour. The nucleotide sequence of *Paracoccus thiophilus* NKd 8 P1 was deposited in the GenBank (National Center for Biotechnology Information (NCBI)) under the accession

numbers: EU594260. Two experimental designs were used to evaluate the growth of these bacteria in Mineral Salts Broth (MSB). The 3 isolates in experimental 1 which contained Aroclor 1242 grew better than in experimental 2 which contained Aroclor 1254 as carbon source. The total cell count determined by dilution plate every 48 hours during day 0 - 7 in experimental 1 was  $6.20 \times 10^3$  -  $1.80 \times 10^7$  CFU/ml and that in experimental 2, was  $5.80 \times 10^3$  -  $2.10 \times 10^7$  CFU/ml. The products in the PCBs biodegradation were analyzed using Gas Chromatography/Mass Spectrometry (GC/MS) with electron capture detection (ECD). The main peaks were detected at the retention time 6.16 and 7.40 in all the experiments. Comparison with the database in the GC/MS library search indicated that they were amide compounds i.e. hexadecanamide and 9 - octadecenamide, respectively.



ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่  
Copyright© by Chiang Mai University  
All rights reserved