

## สารบัญ

	หน้า
สารบัญ	(8)
รายการตาราง	(10)
รายการภาพ	(11)
สัญลักษณ์คำย่อและตัวย่อ บทที่	(13)
1. บทนำ	
บทนำต้นเรื่อง	1
บทตรวจเอกสาร	2
วัตถุประสงค์	17
ขอบเขตการวิจัย	17
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	17
2. วัสดุอุปกรณ์และวิธีการ	
วัตถุดิบ	18
อาหารเลี้ยงเชื้อ	18
สารเคมี	18
อุปกรณ์	18
วิธีวิเคราะห์	19
วิธีการทดลอง	20
3. ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง	
ผลการวิเคราะห์ปริมาณสารพารา,พารา'-คีคีทีในตัวอย่างดิน	26
ผลการคัดเลือกเชื้อที่สามารถเจริญบนสารพารา,พารา'-คีคีที	29
ผลการคัดเลือกเชื้อที่ดีที่สุดในการย่อยสลายสารพารา,พารา'-คีคีที	34
ผลของสภาวะที่เหมาะสมต่อประสิทธิภาพในการย่อยสลายสารพารา,พารา'- คีคีที	38
ผลการจำแนกชนิดของเชื้อที่สามารถย่อยสลายสารพารา,พารา'-คีคีที	49
4. สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ	57

## สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
เอกสารอ้างอิง	59
ภาคผนวก	65
ประวัติผู้เขียน	93

## รายการตาราง

ตารางที่	หน้า
1. ระดับความเป็นพิษเฉียบพลันของดีดีที (LD <sub>50</sub> ) ทางปากและผิวหนังต่อสัตว์	4
2. ชนิดของ primer ที่ใช้ในการเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอและหาลำดับเบสของ 16S rDNA	25
3. ลักษณะดิน ปริมาณสารพารา,พารา'-ดีดีที และปริมาณเชื้อที่เจริญได้ในสารพารา,พารา'-ดีดีที ในตัวอย่างดิน	27
4. ความสามารถในการย่อยสลายสารพารา,พารา'-ดีดีทีของเชื้อที่คัดเลือกได้	32
5. ปริมาณสารพารา,พารา'-ดีดีทีที่ลดลง ผลผลิตมวลชีวภาพ และอัตราการใช้สารอาหารตั้งต้นของเชื้อ SB1A10 ภายหลังจากการเลี้ยงในอาหาร MSYM ผสมยีสต์สกัดร้อยละ 0.5 และสารพารา,พารา'-ดีดีทีเริ่มต้นที่ความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นเวลา 10 วัน	46
6. ผลการทดสอบคุณสมบัติทางสัณฐานวิทยาและชีวเคมีของเชื้อที่คัดเลือกได้	53
7. ลักษณะโคโลนิบนอาหาร MSYM ผสมสารพารา,พารา'-ดีดีที 25 พีพีเอ็ม	54
8. ผลการเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอของเชื้อ SB1A10 โดยใช้ไพรเมอร์ ต่าง ๆ	55
9. การเปลี่ยนแปลงของปริมาณ โปรตีน ปริมาณและการลดลงของสารพารา,พารา'-ดีดีที และพีเอชของเชื้อที่คัดเลือกได้	76
10. การเปลี่ยนแปลงของปริมาณ โปรตีน ปริมาณและการลดลงของสารพารา,พารา'-ดีดีที และพีเอชของเชื้อ SB1A10 เมื่อเลี้ยงที่อุณหภูมิต่าง ๆ	78
11. การเปลี่ยนแปลงของปริมาณ โปรตีน ปริมาณและการลดลงของสารพารา,พารา'-ดีดีที และพีเอชของเชื้อ SB1A10 เมื่อเลี้ยงที่พีเอชต่าง ๆ	80
12. การเปลี่ยนแปลงของปริมาณ โปรตีน ปริมาณและการลดลงของสารพารา,พารา'-ดีดีที และพีเอชของเชื้อ SB1A10 เมื่อเลี้ยงในสารอาหารต่าง ๆ	82
13. การเปลี่ยนแปลงของปริมาณ โปรตีน ปริมาณและการลดลงของสารพารา,พารา'-ดีดีทีและพีเอชของเชื้อ SB1A10 เมื่อเลี้ยงในอาหาร MSYM ผสมดีดีที ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ	85
14. ค่าดูดกลืนแสงของ BSA ที่ความยาวคลื่น 750 นาโนเมตรที่ความเข้มข้นต่าง ๆ	87
15. การเทียบเคียงเชื้อแบคทีเรียที่คัดแยกได้ (SB1A10)	92

## รายการภาพ

ภาพที่	หน้า
1. โครงสร้างทางเคมีของคีคีที	3
2. วิธีการย่อยสลายสารคีคีทีในมนุษย์	5
3. การย่อยสลายคลอรีนไฮโดรคาร์บอนโดยปฏิกิริยา Hydrolytic displacement	9
4. การย่อยสลายสารคีคีทีโดยปฏิกิริยา Elimination of HCl	10
5. ปฏิกิริยา Reductive displacement ภายใต้สภาวะไร้อากาศ	10
6. วิธีการย่อยสลายสารคีคีทีโดยเชื้อ <i>Alcaligenes eutrophus</i> A5 ภายใต้สภาวะ มี อากาศ	11
7. การย่อยสลายสารคีคีทีโดยเชื้อรา <i>Phanerochaete chrysosporium</i>	12
8. (A) โคโลนีของเชื้อที่เจริญบนอาหาร NA ผสมสารพารา,พารา'-คีคีที 25, 50 หรือ 100 พีพีเอ็ม (B) วงใสรอบโคโลนีของสายพันธุ์ SB1A01 และ SB1A10	33
9. การเจริญของแบคทีเรียในอาหาร MSYM ที่ไม่มีสารพารา,พารา'-คีคีที (◆) และมีสาร พารา,พารา'- คีคีที 25 พีพีเอ็ม (▲) และการลดลงของสารพารา,พารา'- คีคีที (■) ของแบคทีเรียสายพันธุ์ A) SB1A01, B) SB2A02, C) SB1A10, D) SB1A12, E) SB1B05	35
10. อัตราการย่อยสลายสารพารา,พารา'-คีคีทีจากเชื้อที่คัดเลือกได้ชั่วโมงที่ 240	36
11. ผลของอุณหภูมิต่อการเปลี่ยนแปลงค่าพีเอช การลดลงของสารพารา,พารา'- คีคีที และ ปริมาณโปรตีนของเชื้อ SB1A10 เมื่อเลี้ยงในอาหาร MSYM ผสมสาร พารา,พารา'-คีคีที 25 พีพีเอ็ม	39
12. ผลของอุณหภูมิต่ออัตราการย่อยสลายของสารพารา,พารา'-คีคีทีโดยเชื้อ SB1A10 ชั่วโมงที่ 240	40
13. ผลของพีเอชต่อการเปลี่ยนแปลงค่าพีเอช การลดลงของสารพารา,พารา'-คีคีที และ ปริมาณโปรตีนของเชื้อ SB1A10 เมื่อเลี้ยงในอาหาร MSYM ผสมสารพารา,พารา'- คีคีที 25 พีพีเอ็ม	41
14. ผลของพีเอชต่ออัตราการย่อยสลายของสารพารา,พารา'-คีคีทีโดยเชื้อ SB1A10 ชั่วโมงที่ 240	42

## รายการภาพ (ต่อ)

ภาพที่	หน้า
15. ผลของสารอาหารร่วมต่อการเปลี่ยนแปลงค่าพีเอช การลดลงของสารพารา,พารา'-คีคีที และปริมาณ โปรตีนของเชื้อ SB1A10 เมื่อเลี้ยงในอาหาร MSYM ผสมสารพารา,พารา'-คีคีที 25 พีพีเอ็ม	44
16. ผลของสารอาหารร่วมต่ออัตราการย่อยสลายของสารพารา,พารา'-คีคีทีโดยเชื้อ SB1A10 ชั่วโมงที่ 240	45
17. ผลของความเข้มข้นเริ่มต้นที่มีต่อการเปลี่ยนแปลงค่าพีเอช การลดลงของสารพารา,พารา'-คีคีที และปริมาณ โปรตีนของเชื้อ SB1A10 เมื่อเลี้ยงในอาหาร MSYM ผสมสารพารา,พารา'-คีคีที 25 พีพีเอ็ม	48
18. ผลของความเข้มข้นสารพารา,พารา'-คีคีทีเริ่มต้นต่ออัตราการย่อยสลายของสารพารา,พารา'-คีคีทีโดยเชื้อ SB1A10 ชั่วโมงที่ 240	49
19. รูปร่างเซลล์ของเชื้อที่คัดเลือกได้ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ (100 เท่า)	52
20. เจลอิเล็กโตรโฟรีซิสของดีเอ็นเอที่เพิ่มจำนวนด้วยเทคนิค PCR ของเชื้อ SB1A10 โดยใช้ไพรเมอร์ต่าง ๆ (เลน 1-6 : น้ำกลั่น, 63F -531R, 63F-536R, 63F-805R, 63F-1115R และ 63F:1492R ตามลำดับ)	54
21. ไฟโลจินิกทรีของเชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์ SB1A10	56
22. กราฟมาตรฐาน BSA สำหรับวิเคราะห์ปริมาณ โปรตีน	87
23. กราฟมาตรฐานของสารพารา,พารา'-คีคีทีที่ได้จากเครื่อง GC- $\mu$ ECD	88
24. โครมาโตแกรมและผลที่แสดงจากการฉีดตัวอย่างในเครื่อง GC- $\mu$ ECD	89
25. เครื่อง GC- $\mu$ ECD Hewlett-Packard รุ่น 6890	90
26. ลำดับเบสดีเอ็นเอของเชื้อ SB1A10	91

## สัญลักษณ์คำย่อและตัวย่อ

ดีดีเอ (DDA)	Dichlorodiphenyldichloro-acetate
ดีดีดี (DDD)	Dichlorodiphenyl dichloroethane
ดีดีอี (DDE)	Dichlorodiphenyl dichloroethene
ดีดีที (DDT)	Dichlorodiphenyl trichloroethane
ดีบีพี (DBP)	Dichlorobenzophenone
บีเอชซี (BHC)	Hexachlorobenzene
พีซีบี (PCB)	<i>p</i> -Chlorobiphenyl หรือ Polychlorinate biphenyl
พีพีเอ็ม (ppm)	ส่วนในล้านส่วน (part per million)
พีพีบี (ppb)	ส่วนในพันล้านส่วน (part per billion)
พีพีที (ppt)	ส่วนในล้านล้านส่วน (part per trillion)
เอชซีเอช (HCH)	Hexachlorocyclohexane
ทีดีอี (TDE)	Trichlorodiphenylethane
BLAST	Basic Local Alignment Search Tools
BSA	Bovine serum albumin
DNA	Deoxyribonucleic acid
MSM	Mineral salt medium
MSYM	Mineral salt-yeast extract medium
NA	Nutrient agar
NB	Nutrient broth
PCR	Polymerase chain reaction
TSB	Tryptic soy broth