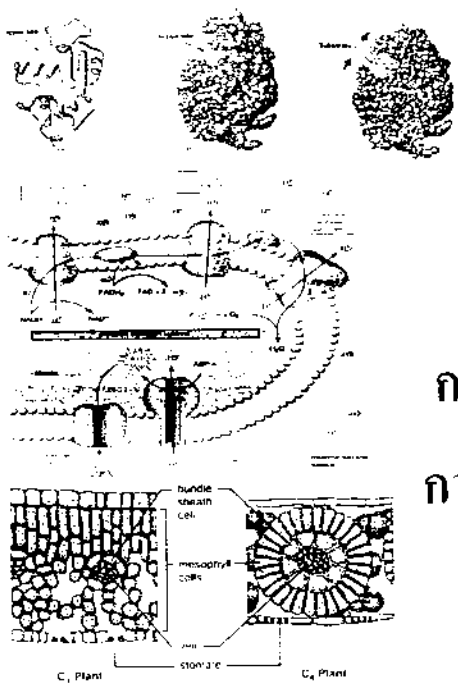
# การอบรมครูสาขาชีววิทยา

## หลักสูตร 1

## วันที่ 29 เมษายน – 10 พฤษภาคม 2545

## ณ เทคโนธานี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี




# ตอน

# พลังงานและชีวิต

# การหายใจระดับเซลล์

# การสังเคราะห์ด้วยแสง

เรียบเรียงโดย

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. เบญจมาศ จิตรสมบูรณ์

สาขาวิชาชีววิทยา สำนักวิชาวิทยาศาสตร์

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

# บทที่ 1
# พลังงานและชีวิต
# (Energy and Life)

พลังงานเป็นสิ่งจำเป็นต่อการดำรงชีวิตของสิ่งมีชีวิตทุกชนิด สิ่งมีชีวิตต้องใช้พลังงานในการเจริญเติบโต การสืบพันธุ์ การรักษาความสมดุลย์ภายในร่างกาย (homeostasis) และการรักษาคุณลักษณะอื่น ๆ ที่เป็นเอกภาพของสิ่งมีชีวิต การศึกษาถึงแหล่งพลังงาน การสร้าง การเก็บสะสม การถ่ายทอด และการใช้พลังงานของเซลล์ในสิ่งมีชีวิตจึงมีความสำคัญยิ่ง กระบวนการ metabolism ที่ทำให้สิ่งมีชีวิตดำรงอยู่ได้ต้องอาศัยเอนไซม์ ซึ่งเป็นโปรตีนที่ทำหน้าที่ช่วยเร่งปฏิกิริยาเคมีต่าง ๆ ให้เกิดขึ้นอย่างรวดเร็ว และเกิดที่อุณหภูมิภายในร่างกายของสิ่งมีชีวิต พลังงานและเอนไซม์จึงเป็นสิ่งจำเป็นยิ่งสำหรับกระบวนการ metabolism ของเซลล์

## พลังงานและการเปลี่ยนรูปของพลังงาน

**พลังงาน คือความสามารถในการทำงาน** เกิดขึ้นได้หลายรูป เช่น พลังงานไฟฟ้า (electrical energy) พลังงานกล (mechanical energy) พลังงานเคมี (chemical energy) พลังงานรังสี (radiant energy) และ พลังงานปรมาณู (atomic energy) เป็นต้น พลังงานอาจแบ่งเป็น 2 ประเภทตามสถานะ คือ

**1. พลังงานจลน์ (kinetic energy)** เป็นพลังงานของการเคลื่อนไหว (energy of motion) เกี่ยวข้องกับความเร็ว และทำให้เกิดงานโดยมีการเคลื่อนที่เกิดขึ้น เช่น ลูกบอลล์ที่ถูกขว้าง การไหลของน้ำตก กล้ามเนื้อที่กำลังหดตัว เป็นต้น

**2. พลังงานศักย์ (potential energy)** คือพลังงานที่มีอยู่ หรือเก็บสะสมไว้ (stored energy) มีศักยภาพที่จะถูกเปลี่ยนเป็นพลังงานจลน์ เช่นพันธะเคมีในโมเลกุลของสาร ก้อนหินบนยอดเขา น้ำที่กักไว้ในเขื่อน เป็นต้น

พลังงานจลน์ และพลังงานศักย์สามารถเปลี่ยนสถานะกันได้ เช่น battery มีพลังงานศักย์ทางเคมี ก้อนหินบนภูเขามีพลังงานศักย์ทางกล เมื่อมีกระแสไฟฟ้าไหลใน battery หรือก้อนหินตกจากยอดเขา เป็นพลังงานจลน์ แต่การที่จะทำให้เกิดงาน ต้องมีการถ่ายทอดพลังงานสู่วัตถุชนิดที่สองด้วย เช่น นำกระแสไฟฟ้าไปหมุน motors และ ก้อนหินตกใส่คาน เป็นต้น เมื่อเกิดงาน วัตถุหนึ่งจะมีพลังงานลดลง ส่วนอีกวัตถุหนึ่งจะมีพลังงานเพิ่มขึ้น เพราะเกิดการถ่ายทอดพลังงานจาก

วัตถุหนึ่งไปยังอีกวัตถุหนึ่ง ในการถ่ายทอดพลังงานมักจะเกิดการเปลี่ยนแปลงรูปของพลังงาน เช่น เมื่อเปิด switch ไฟ พลังงานไฟฟ้าบางส่วนถูกเปลี่ยนเป็นพลังงานแสง เป็นต้น

**หน่วยวัดพลังงาน** พลังงานทุกรูปสามารถเปลี่ยนเป็นความร้อน หน่วยวัดพลังงานจึงใช้หน่วยของความร้อน เรียกว่า **kilocalorie** 1 kilocalorie มีค่าเท่ากับ 1000 calorie และ 1 calorie คือ ปริมาณความร้อนที่ใช้ในการเพิ่มอุณหภูมิของน้ำหนัก 1 กรัมให้มีอุณหภูมิสูงขึ้น 1 องศา celsius

## กฎของ thermodynamics

**Thermodynamics (อุณหพลศาสตร์)** เป็นวิชาวิทยาศาสตร์ว่าด้วยกฎเกณฑ์ต่าง ๆ ที่ควบคุมกระบวนการในการเปลี่ยนแปลงความร้อน และการเปลี่ยนรูปของพลังงาน **กฎของ thermodynamics** มี 2 ข้อ คือ

**กฎข้อที่ 1 (first law of thermodynamics)** ระบุว่า **พลังงานไม่สามารถถูกสร้างขึ้นหรือถูกทำลาย แต่สามารถเปลี่ยนจากรูปหนึ่งสู่อีกรูปหนึ่งได้ และพลังงานรวมทั้งหมดของจักรวาลมีค่าคงที่** เมื่อมีการถ่ายทอดพลังงานจากระบบหนึ่งสู่ระบบหนึ่ง พลังงานที่เสียไปของระบบหนึ่งจะเท่ากับพลังที่เพิ่มขึ้นของอีกระบบหนึ่ง บางครั้งเรียกกฎข้อที่ 1 ของ thermodynamics ว่า **Law of conservation of energy** กฎข้อที่ 1 ช่วยอธิบายสาเหตุที่**สิ่งมีชีวิตไม่สามารถสร้างพลังงานเอง แต่ต้องเก็บเกี่ยวจากแหล่งอื่นอย่างต่อเนื่อง**

**กฎข้อที่ 2 (second law of thermodynamics)** ระบุว่า **ความไม่เป็นระเบียบของมวลในจักรวาลจะเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง การถ่ายทอดพลังงานจะเกิดขึ้นเองต่อเมื่อ entropy ของทั้งระบบเพิ่มขึ้นเท่านั้น** บางครั้งเรียกกฎข้อที่ 2 ของ thermodynamics ว่า **Law of entropy** กฎข้อที่สองช่วยอธิบายสาเหตุที่**ประสิทธิภาพในการถ่ายทอดพลังงานของทุกระบบไม่สามารถเกิดขึ้นเต็ม 100%** เพราะการถ่ายทอดพลังงานทุกครั้ง จะมีพลังงานบางส่วนสูญเสียไปในรูปของความร้อนเพื่อใช้เพิ่ม entropy ให้ระบบ (**entropy** เป็นการวัดความไม่เป็นระเบียบ หมายถึงสถานะกายที่ไม่เป็นระเบียบของพลังงานที่ใช้ทำงานไม่ได้ และความร้อนเป็นพลังงานที่มีรูปแบบไม่เป็นระเบียบมากที่สุด)

## การถ่ายทอดพลังงานในสิ่งที่มีชีวิตโดยปฏิกิริยา oxidation/reduction

เมื่อได้รับพลังงาน electron ของอะตอมสามารถเคลื่อนที่ไปในระดับชั้นที่มีพลังงานสูงขึ้น เกิดเป็นพลังงานศักย์ ที่สามารถถูกปล่อยออกมา เมื่อเกิดการเคลื่อนที่ของ electron กลับสู่ระดับชั้นของพลังงานเดิม ดังนั้น พลังงานศักย์ที่เก็บในพันธะเคมีหนึ่งสามารถที่จะถ่ายทอดสู่พันธะเคมีอื่นโดยการเคลื่อนที่ของ electron ระหว่างระดับชั้นของพลังงานที่แตกต่างกัน เมื่อ electron ที่อยู่ใน

ระดับชั้นพลังงานสูง (energetic electron) เคลื่อนที่จากอะตอมหนึ่งสู่อีกอะตอมหนึ่ง จะนำพลังงานศักย์ติดตัวไปด้วย และ electron จะเข้าไปอยู่ในระดับชั้นที่มีพลังงานสูงกว่าปกติในอะตอมที่สอง เป็นการเก็บพลังงานศักย์ของอะตอม ดังนั้น **การถ่ายทอด electron ในปฏิกิริยาทางเคมีจากอะตอมหรือโมเลกุลหนึ่ง ไปยังอีกอะตอมหรือโมเลกุลอื่นจึงเป็นการถ่ายทอดพลังงานในสิ่งที่มีชีวิต** เราเรียกปฏิกิริยาทางเคมีที่มีการถ่ายทอดของ electron ว่า **oxidation /reduction หรือ redox reactions**

**ปฏิกิริยา oxidation** คือ **ปฏิกิริยาที่เกิดการสูญเสีย electron** อะตอมหรือโมเลกุลที่มีการสูญเสีย electron เรียกว่าถูก oxidized สารที่มีความสามารถในการยึด electron ได้สูงเรียกว่า **oxidizing agent** ในระบบของสิ่งที่มีชีวิต oxygen เป็นสารที่สามารถยึด electron ได้ดีมาก และมักเป็นตัวที่รับ electron ในปฏิกิริยาเคมี

**ปฏิกิริยา reduction** คือ **ปฏิกิริยาที่มีการรับ electron** อะตอมหรือโมเลกุลที่ได้รับ electron เรียกว่า ถูก reduced และสารที่มีความสามารถในการยึด electron ได้ต่ำเรียกว่า **reducing agent**

ในปฏิกิริยาทางเคมี ปฏิกิริยา oxidation และ reduction เกิดร่วมกันเสมอ เพราะเมื่อมีการสูญเสีย electron จากอะตอมหนึ่งจะต้องมีการรับ electron โดยอีกอะตอมหนึ่งเกิดขึ้น และelectron จะถ่ายทอดจาก reducing agent สู่ oxidizing agent เสมอ เมื่อเกิดการถ่ายทอด electron ในปฏิกิริยา oxidation/reduction จะมีการปล่อยพลังงานอิสระออกมาซึ่งเป็นไปตามกฎของ thermodynamics ในระบบของสิ่งมีชีวิต การเคลื่อนที่ของ electron จากอะตอมหนึ่งไปสู่อีกอะตอมหนึ่งมักเกิดควบคู่กับ proton ดังนั้น oxidation/reduction ในปฏิกิริยาทางเคมีจึงมักเกี่ยวข้องกับการสูญเสียของ hydrogen atom (ประกอบด้วย 1 proton และ 1 electron) จากโมเลกุลหนึ่ง (oxidation) ไปให้อีกโมเลกุลหนึ่ง (reduction)

## *ปฏิกิริยาทางเคมีและการเปลี่ยนแปลงพลังงาน*

ปฏิริยาทางเคมีอาจปลดปล่อยพลังงานออกมาในรูปของความร้อนสู่สิ่งแวดล้อม เรียกว่า **exothermic** หรืออาจเป็นกระบวนการที่ดูดความร้อนจากสภาพแวดล้อม เรียกว่า **endothermic** ปริมาณความร้อนทั้งหมดของระบบเรียกว่า **enthalpy** ซึ่งเป็นพลังงานศักย์ทั้งหมด ส่วนพลังงานที่ใช้ทำงานได้ของปฏิกิริยาเคมี ซึ่งเกิดที่อุณหภูมิและความดันคงที่ เรียกว่า พลังงานอิสระของ Gibb(**Gibb's free energy**) เขียนแทนด้วยอักษร G เพื่อเป็นเกียรติแก่นักฟิสิกส์ชาวอเมริกัน Josaih Gibbs

ในการเกิดปฏิกิริยาทางเคมี Gibb's free energy อาจจะมีค่าลดลงหรือเพิ่มขึ้นจากพลังงานที่มีอยู่เดิม การเปลี่ยนแปลงของ Gibb's free energy ($\Delta$ G) ขึ้นกับความแตกต่างของผลรวมของพลังงานอิสระระหว่าง product ($\Sigma$G product) และ reactant ($\Sigma$G reactant) ดังสมการ

$$\Delta G = \Sigma G \text{ product} - \Sigma G \text{ reactant}$$

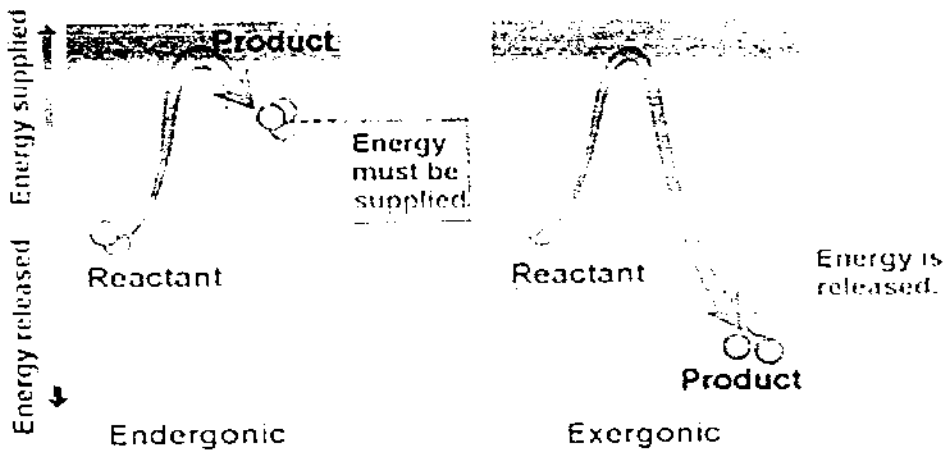
เมื่อปฏิกิริยาอยู่ในสภาวะสมดุลย์ อัตราการเกิดของปฏิกิริยาที่ไปข้างหน้า (forward reaction) จะเท่ากับอัตราการเกิดของปฏิกิริยาย้อนหลัง (reverse reacton) หรือ $\Sigma$G product = $\Sigma$G reactant และค่า $\Delta G = 0$

ปฏิกิริยาไม่สามารถเกิดขึ้นได้เอง ค่า $\Sigma$G product > $\Sigma$G reactant และค่า $\Delta$ G เป็นบวก เรียกปฏิกิริยาที่ product มีค่าพลังงานมากกว่า reactant และต้องการ free energy ในการเกิดปฏิกิริยาว่า **endergonic reaction** (รูปที่ 1.1)

ในกรณีที่ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นได้เอง (spontaneous reaction) ค่า $\Sigma$G product < $\Sigma$G reactant และค่า $\Delta$ G เป็นลบ เรียกปฏิกิริยาที่ product มีค่าพลังงานน้อยกว่า reactant และเกิดการปล่อย free energy ในระหว่างการเกิดปฏิกิริยาว่า **exergonic reaction** (รูปที่ 1.1)

ค่า $\Delta$ G มีประโยชน์ในการทำนายแนวโน้มของการเกิดปฏิกิริยา และใช้คำนวณหาจำนวนพลังงานที่ถูกปล่อยออกมา หรือพลังงานที่ต้องการใช้ในการเกิดปฏิกิริยาทางเคมี

จากกฎข้อที่สองของ thermodynamics ปฏิกิริยาเคมีจะเกิดขึ้นได้เอง ก็ต่อเมื่อมีทิศทางการเปลี่ยนแปลงสู่สภาวะที่ความไม่เป็นระเบียบสูงขึ้น หรือมี พลังงานลดน้อยลง ดังนั้น exergonic reaction จึงเกิดได้เองและเกิดได้ง่ายกว่า endergonic reaction ปฏิกิริยา endergonic ที่เกิดภายในเซลล์ได้เพราะมีการพ่วงปฏิกิริยา endergonic เข้ากับ exergonic ใน **coupling reaction**




**รูปที่ 1.1** แสดงระดับพลังงานของ reactant และ product ใน endergonic และ exergonic reactions (Raven and Johnson, 1995 a)

**ATP: พลังงานสำหรับเซลล์**

ATP (adenosine triphosphate) เป็นเสมือน**เงินตราของพลังงาน (energy currency)** ที่ถูกใช้โดยเซลล์ในปฏิกิริยาเคมีต่าง ๆ ที่ต้องการพลังงาน ATP ทำหน้าที่เป็น**สารรับส่งพลังงาน (energy carrier) ภายในเซลล์** โดยพลังงานจะถูกเก็บไว้ชั่วคราวในพันธะเคมีของ ATP

ข้อได้เปรียบของการใช้ ATP เป็น energy carrier ภายในเซลล์ คือ

1) ATP เป็น energy currency ที่สามารถถูกใช้ในปฏิกิริยาเคมีได้หลายประเภทภายในเซลล์

2) เมื่อถูกสลายพันธะเคมีที่มีพลังงานสูง ปริมาณพลังงานที่ถูกปล่อยออกมามีค่าเหมาะสมกับวัตถุประสงค์ที่ต้องใช้ในเซลล์ ไม่เกิดการสูญเปล่าของพลังงานมากนัก

3) การสลายของ ATP สามารถเกิดพ่วงกับ endergonic reaction โดยพลังงานที่ถูกปล่อยออกจากการสลายของ ATP ซึ่งเป็น exergonic reaction ถูกใช้เพื่อช่วยให้ endergonic reaction สามารถเกิดได้ ทำให้ไม่เกิดการสูญเสียของพลังงานมากนัก

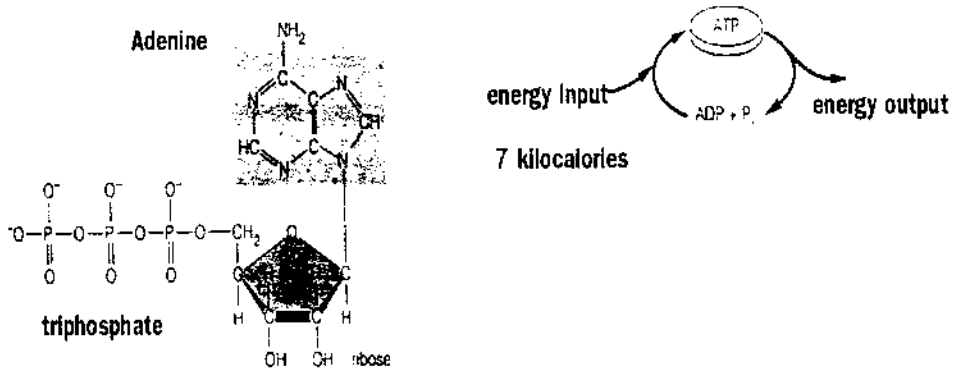
การใช้ประโยชน์ของ ATP ภายในเซลล์

1) งานด้านสาร (chemical work) ATP ให้พลังงานที่ใช้ในการสังเคราะห์ macromolecules ต่างๆ ภายในเซลล์

2) งานด้านการขนส่งสาร (transport work) ATP ให้พลังงานที่ใช้ในการขนส่งสารต่าง ๆ ผ่านเยื่อ

3) งานด้านเครื่องจักรกล (mechanical work) ATP ให้พลังงานที่กล้ามเนื้อใช้ในการหดตัว การเคลื่อนที่ของเซลล์โดย cilia และ flagella และการดึง chromosome แยกจากกัน เป็นต้น

โครงสร้างของ ATP แสดงในรูปที่ 1. 2 ATP เป็น *nucleotide* ประกอบด้วยเบส adenine น้ำตาล ribose และ phosphate 3 หมู่ พันธะเคมีที่เชื่อมระหว่าง phosphate 2 หมู่สุดท้ายเป็นพันธะเคมีที่มีพลังงานสูง เมื่อเซลล์ต้องการใช้พลังงาน จะสลายพันธะเคมีที่มีพลังงานสูงของ ATP โดยการดึง phosphate หมู่สุดท้ายออกจากโมเลกุลก่อน ATP จะถูกเปลี่ยนเป็น ADP (adenosine diphosphate) พร้อมกับปล่อยพลังงานออกมา เป็นปฏิกิริยา exergonic เมื่อต้องการพลังงานเพิ่มเติม พันธะเคมีที่มีพลังงานสูงที่สองสามารถถูกสลายต่อไป โดยการสูญเสีย phosphate อีก 1 หมู่ จาก ADP เกิดเป็น AMP (adenosine monophosphate) พลังงานที่ถูกปล่อยออกมา บางส่วนสูญเสียไปเป็นความร้อน บางส่วนถูกนำไปใช้งาน เมื่อ ATP ถ่ายทอดหมู่ phosphate ให้กับโมเลกุลอื่น โมเลกุลของสารที่รับหมู่ phosphate ที่มีพลังงานสูงจะมีพลังงานเพิ่มขึ้น *AMP และ ADP สามารถ* รับหมู่ phosphate และใช้พลังงานเกิดการสังเคราะห์ATP กลับคืนในกระบวนการ **phosphorylation** ซึ่งเป็น endergonic reaction ดังนั้น **ATP จึงเป็นตัวเชื่อมระหว่างปฏิกิริยา exergonic และ endergonic** โดยทั่วไป ATP ภายในเซลล์จะถูกใช้และถูกสร้างขึ้นใหม่ตลอดเวลา




**รูปที่ 1.2** แสดงโครงสร้างของ ATP และการสลายตัวของ ATP เป็น ADP (Starr, 1994)

**พลังงานกระตุ้น (Activation energy)**

Activation energy เป็นพลังงานจลน์ต่ำสุดที่ใช้กระตุ้นให้สารที่จะทำปฏิกิริยากันให้อยู่ในสภาวะที่สามารถทำปฏิกิริยาได้ (activated state) activation energy เป็นพลังงานที่ต้องใช้เพื่อสลายพันธะเคมีที่มีอยู่เดิม ก่อนที่จะเกิดปฏิกิริยาการสร้างพันธะเคมีใหม่ ปฏิกิริยา endergonic สามารถเกิดได้ก็ต่อเมื่อมี activation energy เพิ่มให้อยู่ตลอดเวลา จนกระทั่งปฏิกิริยาสิ้นสุดลง อัตราการเกิดปฏิกิริยา exergonic ไม่ได้ขึ้นกับปริมาณพลังงานที่ถูกปล่อยออกมา แต่ขึ้นกับปริมาณของ activation energy ที่ต้องใช้ในการกระตุ้นเพื่อให้เริ่มเกิดปฏิกิริยา ปฏิกิริยาที่ต้องใช้ activation energy ปริมาณมากจะเกิดขึ้นช้า ต้องอาศัยตัวเร่งปฏิกิริยา (catalyst) เพื่อช่วยลด activation energy เร่งปฏิกิริยาให้เกิดเร็วขึ้น

**เอนไซม์ (Enzyme)**

**เอนไซม์เป็น organic catalyst หรือสารอินทรีย์ที่ทำหน้าที่เร่งปฏิกิริยาภายในเซลล์ของสิ่งมีชีวิตให้เกิดได้เร็วขึ้น โดยที่ตัวมันเองไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงอย่างถาวรหรือหมดสิ้นไป** เอนไซม์จะเพิ่มเฉพาะอัตราเร็วของการเกิด ปฏิกิริยาโดยไม่มีผลต่อจุดสมดุลย์ หรือการเปลี่ยนแปลงพลังงานอิสระใด ๆ ของปฏิกิริยา

**คุณสมบัติที่สำคัญของเอนไซม์**

1. **เอนไซม์ทั้งหมดเป็นโปรตีน** มีคุณสมบัติของโปรตีน เช่น มีขนาดใหญ่ น้ำหนักโมเลกุลมาก เสียสภาพ (denature) เมื่อถูกความร้อน สำหรับกลุ่ม **RNA** ที่มีความสามารถเร่งปฏิกิริยาทางชีวภาพได้เช่นเดียวกับเอนไซม์ แต่ไม่ใช่โปรตีน เรียกว่า **ribozyme**

2. **เอนไซม์ทำหน้าที่ช่วยเร่งปฏิกิริยาให้เกิดเร็วขึ้นเท่านั้น ไม่ได้เป็นตัวที่ทำให้เกิดปฏิกิริยาเอง** เอนไซม์ไม่สามารถทำให้ปฏิกิริยาที่ไม่เกิดขึ้นตามธรรมชาติเกิดขึ้นได้เอง เพียงแต่ช่วยเร่งปฏิกิริยาให้เกิดเร็วขึ้นเท่านั้น เอนไซม์มีประสิทธิภาพในการทำงานสูงกว่าตัวเร่งทางเคมีมาก

3. **เอนไซม์จะไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงอย่างถาวรหรือหมดเปลืองไป** เอนไซม์อาจจะ อิ่มตัว (saturate) ด้วย substrate แต่สามารถ recycle มาทำหน้าที่ใหม่ได้อีกรอบ เมื่องานเดิมเสร็จสิ้น

4. **เอนไซม์มีความจำเพาะ (specificity)** ต่อ substrate มาก เอนไซม์ชนิดหนึ่งสามารถเร่งปฏิกิริยาได้เฉพาะชนิด หรือใช้ substrate ได้เพียงชนิดเดียว ซึ่งคุณสมบัติข้อนี้ทำให้เอนไซม์ควบคุมปฏิกิริยาต่าง ๆ ภายในเซลล์ให้เกิดขึ้นอย่างมีระเบียบ ความจำเพาะของ เอนไซม์ต่างชนิดกันอาจมีมากน้อยต่างกัน เช่น มี เอนไซม์บางชนิดที่มี specificity น้อย คือสามารถเร่งปฏิกิริยาที่คล้ายกันได้หรือใช้ substrate ที่มีโครงสร้างคล้ายกัน

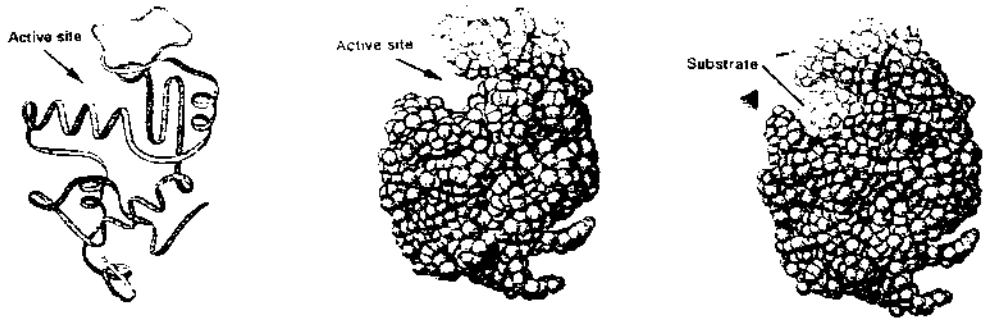
5. **เอนไซม์มีมีความสามารถเร่งปฏิกิริยาได้ทั้งสองทิศทาง (reversibility)** ช่วยรักษาปริมาณสารต่าง ๆ ในเซลล์ให้อยู่ในระดับที่พอดี

**Enzyme-Substrate Complexes**

เอนไซม์สามารถจับกับ substrate เกิด enzyme-substrate complex ก่อนที่จะได้ผลผลิต (product) ของปฏิกิริยา และได้เอนไซม์อิสระที่สามารถจับกับ substrate ได้ใหม่ ดังแสดงในสมการต่อไปนี้

$$E \text{ (enzyme)} + S \text{ (substrate)} \longrightarrow ES \text{ (enzyme-substrate complex)} \longrightarrow E + P \text{ (Product)}$$

โมเลกุลของเอนไซม์ มีบริเวณที่จับกับ substrate ได้เรียกว่า **active site** substrate ต้องมีโครงสร้างจำเพาะ ซึ่งสามารถจับได้พอดีกับ active site เท่านั้น (เหมือนลูกกุญแจกับแม่กุญแจ) การจับของ substrate ที่ active site สามารถเหนี่ยวนำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงรูปร่างสามมิติของเอนไซม์ได้เล็กน้อยช่วยให้รูปร่างของ active site พอดีกับรูปร่างของ substrate ยิ่งขึ้น ส่งผลให้ substrateจับกับเอนไซม์ได้ดีขึ้น เรียกหลักการนี้ว่า **induced-fit model** (รูปที่ 1.3)



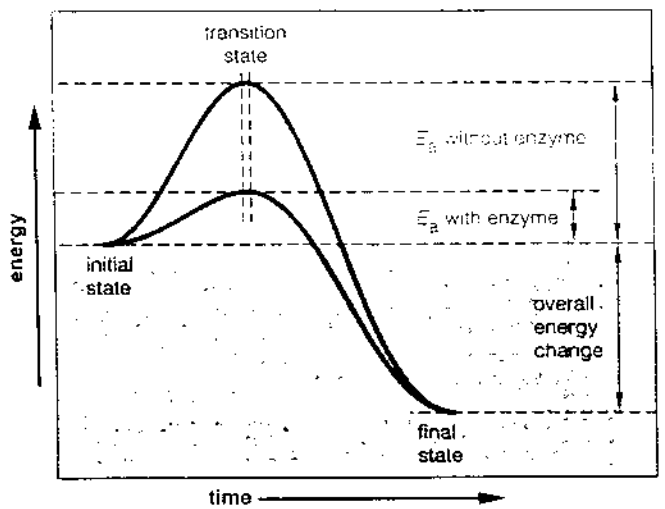

**รูปที่ 1.3** การเหนี่ยวนำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงรูปร่างสามมิติของเอนไซม์ เมื่อ substrate จับกับเอนไซม์บริเวณ active site ใน induced-fit model (Raven and Johnson, 1995 a)

## หลักการทำงานของเอนไซม์

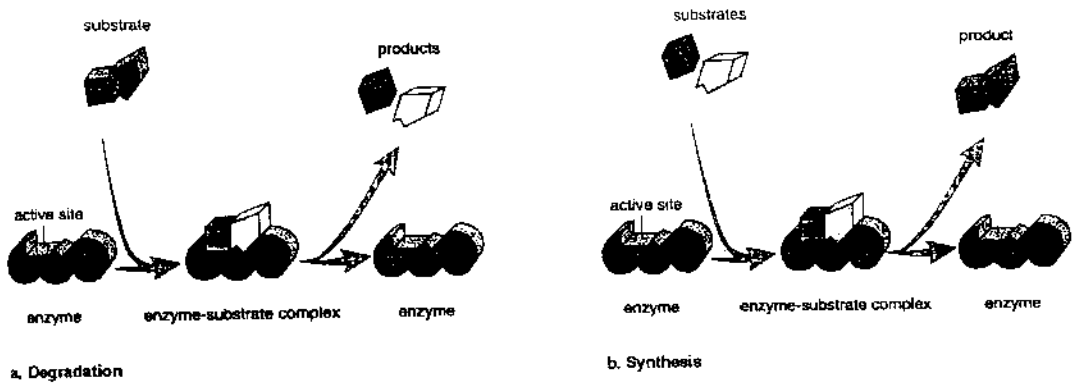
การทำงานของเอนไซม์ อาศัยหลักการทำงานเดียวกันกับตัวเร่งทางปฏิกิริยาทางเคมีคือ เร่งให้เกิดปฏิกิริยาเร็วขึ้นโดยการ**ลดพลังงานกระตุ้น (activation energy) สำหรับปฏิกิริยา** (รูปที่ 1.4) การลดพลังงานกระตุ้น อาจเกิดขึ้นได้ 2 วิธีคือ

1 ในปฏิกิริยาที่เกี่ยวข้องกับการสลายตัว (degradation) เอนไซม์จับกับ substrate แล้วทำให้พันธะเคมีที่มีอยู่เดิมอ่อนกำลังลง จึงสามารถแตกตัว ทำให้ปฏิกิริยาเกิดได้ง่ายขึ้น (รูปที่ 1. 5A)

2 ในกรณีของปฏิกิริยาที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์สาร (synthesis) เอนไซม์นำโมเลกุลของ substrate เข้ามาใกล้ชิดกัน ในตำแหน่งที่สามารถเกิดปฏิกิริยา หรือสร้างพันธะเคมีระหว่างกันได้ดีขึ้น เกิดเป็น products ได้ง่ายขึ้น (รูปที่ 1. 5B)




**รูปที่ 1.4** แสดงการลดพลังงานกระตุ้นของ exergonic reaction โดยเอนไซม์ (Starr, 1994)




**รูปที่ 1.5** แสดงการทำงานของเอนไซม์ในปฏิกิริยา degradation (A) และ synthesis (B) (Mader, 2001)

เมื่อ substrate จับกับเอนไซม์ที่ active site ก่อให้เกิดการดึงของพันธะ (strains of bonds) ใน substrate เป็นผลให้พันธะที่มีอยู่อ่อนกำลังลง แตกตัวได้ง่ายขึ้น และการเกิดอันตรกิริยา (interaction) ของกลุ่มต่าง ๆ ที่มีประจุ (charge หรือ polar groups) ของเอนไซม์ และ substrate ที่ active site ทำให้เกิดการกระจายของประจุไฟฟ้าที่ส่งผลให้ substrate อยู่ในสภาวะของ **activated state** หรือ **transition state** ซึ่งมีพลังงานสูงขึ้น **ในสภาวะนี้จะมีการเหนี่ยวนำให้เอนไซม์สามารถจับกับ substrateได้ดีที่สุด** substrate ในสภาวะ transition state สามารถเกิดปฏิกิริยาต่อไปได้เอง เปรียบเหมือนก้อนหินที่อยู่บนหน้าผา และ activation energy เป็นแรงที่ผลักให้ก้อนหินพ้นขอบหน้าผา เกิดสภาวะ activated state กลิ้งตกจากหน้าผาสู่เบื้องล่างได้เอง

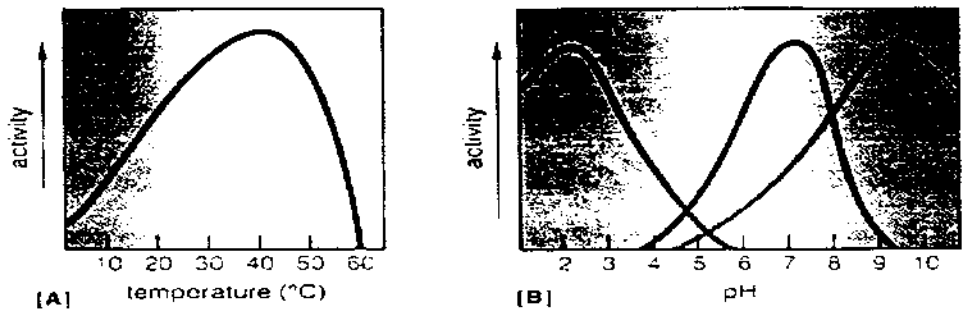
## ปัจจัยที่มีผลต่อการทำงานของเอนไซม์

1. **อุณหภูมิ** เอนไซม์แต่ละชนิดมีความไวต่ออุณหภูมิไม่เหมือนกัน โดยทั่วไปอุณหภูมิที่เอนไซม์ทำงานได้ดีที่สุดอยู่ที่ 35-40 °C (รูปที่ 1.6A) ถ้าอุณหภูมิสูงหรือต่ำไป activity ของเอนไซม์จะลดลง เพราะรูปร่างของเอนไซม์ ขึ้นอยู่กับ hydrogen bond และ hydrophobic interactions ซึ่งไวต่อการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิ ถ้าอุณหภูมิต่ำไป พันธะเหล่านี้ไม่ flexible พอที่จะชักนำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงรูปร่างให้จับกับ substrate ได้ดี ถ้าอุณหภูมิสูงไป พันธะจะไม่มีเสถียรภาพเพียงพอ และเอนไซม์ เสียสภาพ จับกับ substrate ไม่ได้

2. **pH** เอนไซม์แต่ละชนิดทำงานได้ดีที่สุดในสภาวะที่ pH เหมาะสม ซึ่งอาจแตกต่างกันสำหรับเอนไซม์แต่ละชนิด ส่วนใหญ่ pH ที่เหมาะสมสำหรับการทำงานของเอนไซม์ทั่วไปจะเป็น 6-8 (รูปที่ 1.6B)

3. **ความเข้มข้นของ substrate** เมื่อ substrate มีปริมาณเพิ่มขึ้น อัตราการเกิดปฏิกิริยาก็จะเพิ่มขึ้น ยกเว้นกรณีที่เอนไซม์ไม่เพียงพอ (saturated enzyme) ถูกใช้ในการรวมกับ substrate จนหมด ถึงจะเพิ่มปริมาณ substrate ก็ไม่สามารถเพิ่มอัตราการเกิดปฏิกิริยาให้เร็วขึ้น

4. **ความเข้มข้นของเอนไซม์** ถ้าความเข้มข้นของเอนไซม์เพิ่มขึ้น ปฏิกิริยาจะเกิดเร็วขึ้น ยกเว้นกรณีที่ไม่มี substrate เหลือมากพอที่จะทำปฏิกิริยา

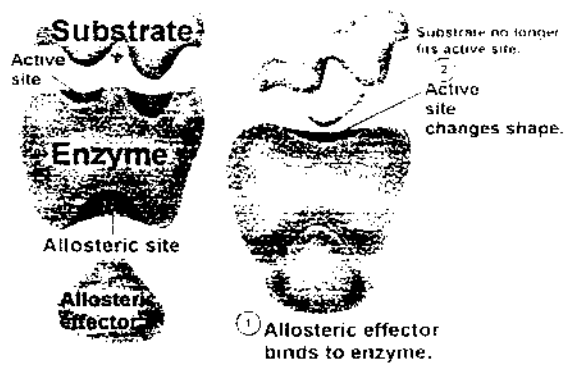



**รูปที่ 1.6** แสดงปัจจัยของอุณหภูมิ และ pH ที่มีผลต่อการทำงานของเอนไซม์ (Starr, 1994)

## การควบคุมการทำงานของเอนไซม์

เซลล์จัดระเบียบการทำงานของ เอนไซม์ โดย**ควบคุมปริมาณเอนไซม์ที่สร้างขึ้น** และ **ควบคุมสถานะภาพต่าง ๆ ที่มีอิทธิพลต่อรูปร่างของเอนไซม์** ในที่นี้จะเน้นเฉพาะประการหลัง คือ การควบคุมการทำงานของเอนไซม์โดยการจับของสารอื่นที่ไม่ใช่ substrate และมีอิทธิพลต่อการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของเอนไซม์

การเปลี่ยนแปลงรูปร่างของเอนไซม์ อันเกิดจากการจับตัวของโมเลกุลอื่นที่ไม่ใช่ substrate เรียกว่า **allosteric change** และสารที่ทำให้เกิด allosteric change ของเอนไซม์ อาจจะเป็น inhibitor หรือ activator ก็ได้ ตำแหน่งที่ activator หรือ inhibitor จับกับเอนไซม์จะเป็นคนละตำแหน่งกับ active site ของ substrate (รูปที่ 1.7) สารที่ทำหน้าที่ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ เรียกว่า **inhibitor** ส่วนสารที่ช่วยเร่งการทำงานของเอนไซม์ให้เกิดดีขึ้น เรียกว่า **activator**




**รูปที่ 1.7** แสดง allosteric inhibition ของเอนไซม์ โดย allosteric effector (inhibitor) (Raven and Johnson, 1995 a)

การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ (Enzyme inhibition)

โดยทั่วไป ถ้า inhibitor สามารถจับกับเอนไซม์ด้วย covalent bond การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์มักเป็นแบบย้อนกลับไม่ได้ (irreversible inhibition) แต่ถ้าการจับกับเอนไซม์ของ inhibitor เป็น weak bond การยับยั้งมักจะกลับคืนได้ การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์มี 2 ประเภทคือ

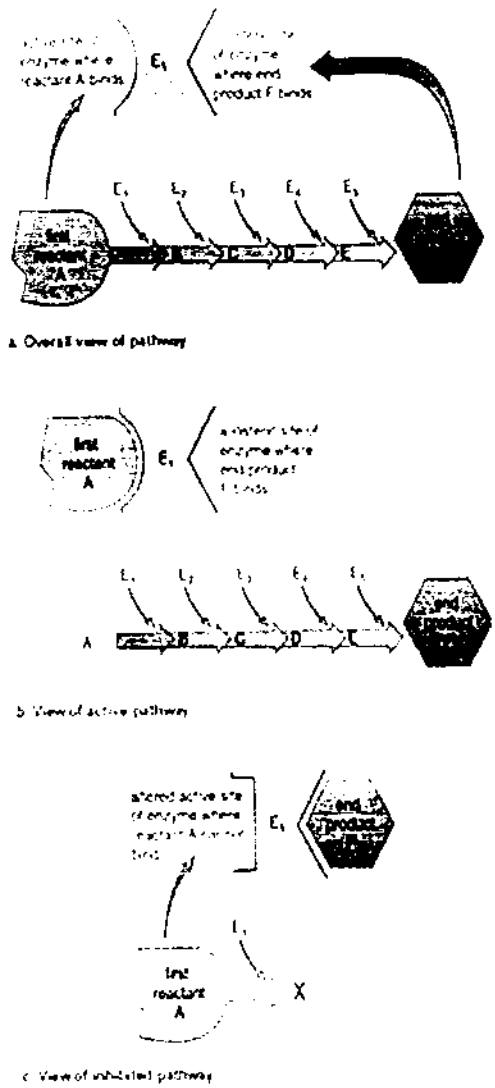
1. **Reversible inhibition** คือการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แบบย้อนกลับได้ (reversible) เอนไซม์ไม่ได้ถูกทำลายอย่างถาวร reversible inhibition มี 2 ประเภทคือ

**1.1 Competitive inhitition** คือการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ โดยสารที่มีรูปร่างคล้าย substrate สามารถแย่ง substrate จับกับเอนไซม์ที่ active site ได้ แต่ไม่ให้ product ออกมา ถ้าเพิ่มความเข้มข้นของ substrate ให้สูงกว่า inhibitor มาก ๆ substrate จะ สามารถแข่งขันกับ inhibitor เพื่อแย่งจับกับเอนไซม์ที่ active site และทำให้อัตราการเกิดปฏิกิริยาลดลงเพียงเล็กน้อยเท่านั้น

**1.2. Noncompetitive inhitition** เป็นการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ โดย allosteric inhibitor ซึ่งเมื่อจับกับเอนไซม์ที่ allosteric site แล้ว ทำให้รูปร่างของเอนไซม์เปลี่ยนไป substrate ไม่สามารถจับกับเอนไซม์ที่ active site ได้ต่อไป ในกรณีนี้ ถึงแม้เพิ่มความเข้มข้นของ substrate ให้สูงกว่า inhibitor มาก ๆ ก็ไม่ช่วยให้เกิดปฏิกิริยาได้

2. **Irreverisble inhibition** คือการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ โดย inhibitor จับกับเอนไซม์แบบ irreversible ด้วยการสร้าง covalent bond หรือเกิดการทำลายเอนไซม์อย่างถาวร ทำให้เอนไซม์ไม่สามารถทำหน้าที่ได้ต่อไป เช่น malathion จับกับ acetylcholinesterase. cabon tetrachloride ทำลายกลุ่มเอนไซม์ cytochrome P450 เป็นต้น

**End product inhibition หรือ feedback inhibition** คือ ระบบการควบคุมการทำงานของเอนไซม์โดยที่ product ตัวสุดท้ายของ pathway ทำหน้าที่เป็นตัวยับยั้งการทำงานของ เอนไซม์ตัวแรกในกระบวนการสังเคราะห์ (รูปที่ 1.8) ปฏิกิริยาชีวเคมีที่เกิดภายในเซลล์ มักจะเกิดเรียงกันเป็นลำดับ โดยที่ product ของปฏิกิริยาแรกจะเป็น substrate ให้กับปฏิกิริยาที่สอง และ product ของปฏิกิริยาที่สองจะเป็น substrate ให้กับปฏิกิริยาที่ถัดไปเรื่อย ๆ เอนไซม์ตัวแรกของปฏิกิริยาตั้งต้นมักจะมีตำแหน่งพิเศษให้โมเลกุลของ product สุดท้ายใน pathway จับ เพื่อยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ การควบคุมการทำงานของเอนไซม์ด้วยวิธี end product inhibition ช่วยประหยัดพลังงานให้แก่เซลล์ เพราะเมื่อความเข้มข้นของ product สูงเกินความต้องการ product ตัวสุดท้าย สามารถจับกับเอนไซม์ในปฏิกิริยาแรกของ pathway ยับยั้งไม่ให้สังเคราะห์ product อีกต่อไป แต่ เมื่อระดับของ product ลดต่ำลง product จะหลุดออกจากเอนไซม์ ทำให้เกิดปฏิกิริยาการสังเคราะห์ product ได้ใหม่ เป็นการรักษาระดับของสารให้เหมาะสมกับการใช้งานภายในเซลล์ตลอดเวลา โดยใช้พลังงานน้อยที่สุด



รูปที่ 1.8 แสดงการควบคุมการทำงานของเอนไซม์โดย End-product inhibition เอนไซม์แรกของปฏิกิริยา E1 มี active site และ allosteric site ซึ่ง substrate (reactant A) และ product F จับตามลำดับ (A) เมื่อ substrate จับกับเอนไซม์ สามารถเกิดปฏิกิริยาจนได้ product F (B) เมื่อ product F มีระดับสูง จะเกิด negative feedback จับกับเอนไซม์ E1 ที่ allosteric site เกิดการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของ active site ทำให้ substrate ไม่สามารถจับกับเอนไซม์ได้ต่อไป (C) (Mader, 2001)

## Cofactor และ Coenzyme

เอนไซม์บางชนิด ประกอบด้วยส่วนที่เป็นโปรตีน และที่ไม่ใช่โปรตีนร่วมกันในการทำงาน เรียกว่า **holoenzyme** ส่วนที่เป็นโปรตีน เรียกว่า **apoenzyme** ส่วนที่ไม่ใช่โปรตีนซึ่งมีขนาดเล็กและช่วยในการทำงานของเอนไซม์ เรียกว่า cofactor หรือ coenzyme **cofactor** มักเป็น **ion ของ**

โลหะต่าง ๆ เช่น Mg, Zn และ Mn เป็นต้น ส่วน coenzyme เป็นสารประกอบอินทรีย์ จะจับกับเอนไซม์อย่างหลวม ๆ coenzyme 1 โมเลกุลอาจเกี่ยวข้องกับเอนไซม์ชนิดต่าง ๆ ได้หลายชนิดและหลายครั้ง ตัวอย่าง coenzyme ที่ช่วยทำหน้าที่รับ electron หรือช่วยถ่ายทอดพลังงานในเซลล์ คือ $NAD^+$ (nicotinamide adenine dinucleotide) $NADP^+$ (nicotinamide adenine dinucleotide phosphate) และ FAD (flavin adenine dinucleotide) coenzyme มักสังเคราะห์จากไวตามินต่าง ๆ เช่น vitamin niacin เป็นสารตั้งต้น (precursor) ที่ใช้ในการสร้าง $NAD^+$ และ $NADP^+$ ส่วน FAD สังเคราะห์จากไวตามิน B12

# บทที่ 2
# การหายใจระดับเซลล์
# Cellular Respiration

การหายใจระดับเซลล์ (cellular respiration) เป็นกระบวนการที่เซลล์ของสิ่งมีชีวิตสลายอาหารเพื่อให้ได้พลังงาน จึงเป็นกระบวนการสำคัญยิ่งเพราะสิ่งมีชีวิตทุกชนิดต้องอาศัยพลังงานในการดำรงชีวิต วิถีทางที่เซลล์ของสิ่งมีชีวิตต่างชนิดใช้ในสลายโมเลกุลของอาหารเพื่อให้ได้พลังงานอาจมีรายละเอียดและความซับซ้อนของปฏิกิริยาเคมีแตกต่างกัน แต่อาศัยหลักการเดียวกัน คือการเกิด oxidation สารอาหารโมเลกุลขนาดใหญ่ ให้สลายเป็นสารโมเลกุลขนาดเล็ก และพลังงานที่ถูกปล่อยออกจากอาหารถูกใช้ในการสร้าง ATP โดยทุกวิถีทางมีกระบวนการเริ่มต้นเดียวกัน คือการสลายโมเลกุลของ glucose ให้เป็น pyruvate โดยกระบวนการ glycolysis ตามด้วยปฏิกิริยาทางชีวเคมีอื่นที่แตกต่างกันในแต่ละวิถีทาง

## ความหมายของการหายใจระดับเซลล์

**การหายใจระดับเซลล์ (Cellular respiration)** เป็นกระบวนการที่เซลล์ของสิ่งมีชีวิตสลายอาหารเพื่อให้ได้พลังงาน โดยการเปลี่ยนพลังงานศักย์ที่สะสมในโมเลกุลของสารอาหารให้อยู่ในรูปของ ATP ซึ่งเป็นพลังงานที่เซลล์สามารถนำไปใช้ cellular respiration จัดเป็น Catabolism เพราะเกิดปฏิกิริยาเคมีเปลี่ยนสารอาหารที่มีโมเลกุลขนาดใหญ่ให้แตกตัวเป็นสารที่มีโมเลกุลขนาดเล็ก และปล่อยพลังงานออกจากปฏิกิริยา

## Cellular respiration และ Breathing

Cellular respiration แตกต่างจากการหายใจแบบธรรมดา (breathing หรือ respiration) breathing หมายถึงกระบวนการแลกเปลี่ยนก๊าซ $CO_2$ ในปอดของสิ่งมีชีวิตกับก๊าซ $O_2$ ในบรรยากาศจากสิ่งแวดล้อมภายนอก ส่วน cellular respiration หมายถึงกระบวนการที่เซลล์ของสิ่งมีชีวิตใช้ ก๊าซ $O_2$ ในการเก็บเกี่ยว (harvest) พลังงานจากโมเลกุลของอาหาร และปล่อยก๊าซ $CO_2$ ออกเป็นของเสียสู่สิ่งแวดล้อมภายนอก กระบวนการทั้ง 2 มีความเกี่ยวข้องกันในด้านการใช้ ก๊าซ $O_2$ และปล่อยก๊าซ $CO_2$ สู่สิ่งแวดล้อมภายนอกเหมือนกัน

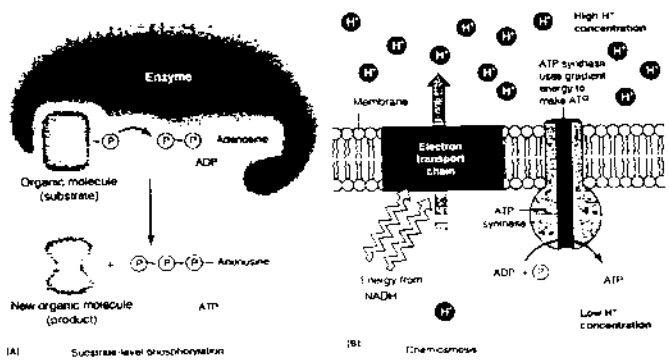
## การสังเคราะห์ ATP ภายในเซลล์

การเกิดปฏิกิริยาประเภท endergonic ภายในร่างกายของสิ่งมีชีวิต จำเป็นต้องอาศัยพลังงานที่ได้จากการสันดาป หรือการสลายอาหารภายในเซลล์ เก็บสะสมในรูปพันธะเคมีที่มีพลังงานสูงของหมู่ phosphate (high energy phosphate bond) ในโมเลกุลของ ATP ซึ่งทำหน้าที่เป็น **สารรับส่งพลังงาน (energy carrier)** ภายในเซลล์ ให้พลังงานโดยการสลาย high energy phosphate bond แก่ปฏิกิริยาที่ต้องการ ATP **จึงเปรียบเสมือนเงินตราของพลังงาน (energy currency)** ที่ถูกใช้สอยเพื่อกิจกรรมต่าง ๆ ภายในเซลล์

การสังเคราะห์ ATP ภายในเซลล์เกิดได้ 2 วิธีคือ

1. **Substrate -level phosphorylation** คือการสังเคราะห์ ATP โดยการย้าย phosphate group จาก substrate ที่มีพลังงานสูง ไปยัง ADP เกิดเป็น ATP (รูปที่ 2.1 A) ปฏิกิริยาที่เกิดเป็น endergonic reaction จึงต้องควบ (couple) เข้ากับ exergonic reaction อื่นซึ่งให้พลังงานสูงกว่าปริมาณที่ต้องใช้ในปฏิกิริยาการสังเคราะห์ ATP โดยวิธี substrate-level phosphorylation

2. **Chemiosmosis** คือการสังเคราะห์ ATP ภายในเซลล์ โดยอาศัยพลังงานศักย์ที่เกิดจากความแตกต่างของความเข้มข้นของสารระหว่าง membrane นักชีวเคมีชาวอังกฤษ **Peter Mitchell** เป็นผู้เสนอทฤษฎีกลไกการสังเคราะห์ ATP ด้วยวิธี Chemiosmosis ทำให้ได้รับรางวัลโนเบลในปี ค.ศ. 1978 กลไกการสังเคราะห์ ATP อาศัยระบบการถ่ายทอด electron แบบลูกโซ่ (electron transport chain) ผ่านโปรตีนต่างๆ ใน mitochondrial membrane หรือ thylakoid membrane ของ chloroplast (พบเฉพาะเซลล์พืช) พลังงานบางส่วนที่ถูกปล่อยออกระหว่างการถ่ายทอด electron ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของ protein channel และเหนี่ยวนำให้เกิดการ pump proton ออกจาก membrane (รูปที่ 2.1 B) ก่อให้เกิดความแตกต่างของความเข้มข้นของ proton (proton gradient) ระหว่างเยื่อ และเป็นแรงผลักดันให้เกิดการสังเคราะห์ ATP ผ่านเอนไซม์ ATP synthase หรือ ATPase ควบคู่กับการแพร่กลับเข้ามาของ proton เรียกวิธีการสังเคราะห์ ATP ที่เกิดจากความแตกต่างของ electrochemical gradient ว่า **chemiosmosis**




**รูปที่ 2.1** การสังเคราะห์ ATP โดยวิธี substrate-level phosphorylaiton (A) และ Chemiosmosis (B) (Campbell *et al*., 2000)

## Catabolic pathway ที่เซลล์ใช้ในการเก็บเกี่ยวพลังงานจากสารอาหาร

Catabolic pathways ที่เซลล์ใช้ในการเก็บเกี่ยวพลังงานจากสารอาหารเพื่อสังเคราะห์ ATP มี 3 pathway คือ

1. **Aerobic respiration หรือ oxidative respiration**
2. **Fermentation**
3. **Anaeobic electron transport หรือ anaerobic respiration**

ทั้ง 3 pathway เริ่มต้นด้วยกระบวนการเดียวกันคือการสลาย 1 โมเลกุลของน้ำตาล glucose ออกเป็นสองโมเลกุลของ pyruvate ใน cytoplasm และให้พลังงานออกมา 2 ATP ซึ่งกระบวนการนี้เรียกว่า **glycolysis** หลังจากนั้น pyruvate อาจถูกนำไปใช้ต่อด้วยกระบวนการที่ใช้ oxygen ใน aerobic pathway หรืออาจถูกนำไปใช้ต่อด้วยกระบวนการที่ไม่ใช้ oxygen ใน anaerobic pathway แล้วแต่ชนิดของสิ่งมีชีวิต ในเซลล์ eukaryotes aerobic pathway เกิดต่อเนื่องใน mitochondria และมีก๊าซ $O_2$ เป็นตัวรับ electron ในขั้นสุดท้าย ส่วน anaerobic pathway เกิดต่อเนื่องใน cytoplasm และมีสารอื่นที่ไม่ใช่ ก๊าซ $O_2$ เป็นตัวรับ electron ในขั้นสุดท้าย ของ pathway

Aerobic respiration จัดเป็น aerobic pathway ส่วน fermentaiton และ anaerobic electron transport จัดเป็น anacrobic pathway **aerobic respiration เป็น pathway ที่ให้ ATP สูงสุด ใน การสลายหนึ่งโมเลกุลของ glucose** เซลล์ของร่างกายคนและสัตว์ส่วนใหญ่ใช้ aeobic respiration ในการเก็บเกี่ยวพลังงานจากอาหาร แต่ในกรณีที่ได้รับก๊าซ $O_2$ ไม่เพียงพอ เช่นระหว่างการออกกำลังกายอย่างหนัก เซลล์สามารถใช้ fermentation pathway ได้ในช่วงระยะเวลาสั้น ๆ แบคทีเรียและ protist ส่วนใหญ่ใช้ anaerobic pathway ในการสร้าง ATP สิ่งมีชีวิตที่สังเคราะห์ ATP โดยใช้ acrobic pathway เรียกว่า **aerobes** ส่วนสิ่งมีชีวิตที่สังเคราะห์ ATP โดยใช้ anaerobic pathway เรียกว่า **anaerobes**

### Aerobic respiraton

Aerobic respiration เป็นกระบวนการสลายอาหารเพื่อให้พลังงานของเซลล์ โดยใช้ redox process ที่ hydrogen (H) จาก glucose หรือสารประกอบอินทรีย์อื่นถูกส่งไปยัง $O_2$ ในกระบวนการ เกิดการสลายโมเลกุลของ glucose อย่างสมบูรณ์ จนได้ $CO_2$ น้ำ และพลังงาน **aerobic respiration จัดเป็น pathway ที่ให้ ATP สูงสุดเมื่อเทียบกับ anaerobic pathway เพราะให้พลังงานถึง 36-38 ATP ต่อการสลาย glucose 1 โมเลกุล** ส่วน anaerobic pathway ให้เพียง 2 ATP ปฏิกิริยาสำหรับ aerobic respiration สรุปเป็นสมการได้ดังนี้คือ

$$C_6H_{12}O_6 + 6O_2 \rightarrow 6CO_2 + 6H_2O$$

กระบวนการ aerobic respiration แบ่งออกเป็น 4 ขั้นตอน ประกอบด้วย 3 metabolic pathway และ 1 ปฏิกิริยา สรุปได้ดังนี้คือ

1. **glycolysis** เกิดการสลายโมเลกุลของน้ำตาล glucose ออกเป็น pyruvate 2 โมเลกุล glycolysis เกิดใน cytoplasm และไม่ต้องใช้ $O_2$ ผลผลิตสุดท้ายที่ได้จากปฏิกิริยาการสลาย glucose 1 โมเลกุลใน glycolytic pathway คือ

Pyruvate 2 โมเลกุล

2 ATP สุทธิ

2 NADH

2. **การสร้าง acetyl CoA** เกิดใน inner compartment หรือ matrix ของ mitochondria (รูปที่ 2. ) แต่ละโมเลกุลของ pyruvate ถูกลำเลียงเข้าสู่ mitochondria เกิด oxidation และถูกเปลี่ยนเป็น acetyl CoA ในปฏิกิริยา เกิดการสร้าง NAD 1 โมเลกุล ต่อ pyruvate 1 โมเลกุล หรือ NAD 2 โมเลกุล ต่อ glucose 1 โมเลกุล

3. **Citric acid cycle** แต่ละโมเลกุลของ acetyl CoA เมื่อเข้าสู่ citric acid cycle จะรวมกับสารประกอบที่มี C 4 อะตอม (oxaloacetate) เกิดเป็น citrate และถูกสลายต่อจนได้ $CO_2$ และ น้ำ citric acid cycle เป็นวัฏจักรที่เกิดใน matrix ของ mitochondria citric acid cycle ต้องหมุน 2 รอบเพราะมี 2 โมเลกุลของ acetyl CoA เข้าสู่วัฏจักรต่อการสลาย glucose 1 โมเลกุล ผลผลิตสุดท้ายที่ได้จาก citric acid cycle ในการสลาย glucose 1 โมเลกุลคือ

6 NADH

2 $FADH_2$

2 ATP

4. **Electron transport phosphorylation** อะตอมของ hydrogen (หรือ electron ของมัน) ที่ถูกแยกออกจากโมเลกุลของ glucose จะถูกส่งให้ coenzyme NAD และ FAD ซึ่งรับและส่ง electron ต่อให้ electron acceptor ตัวอื่นต่อกันเป็นทอด ๆ ในระบบการขนส่ง electron ที่ cristae ของ mitochondria โดยมี $O_2$ เป็นผู้รับ electron ตัวสุดท้ายในระบบ พลังงานที่ถูกปล่อยออกระหว่างการถ่ายทอด electron ก่อให้เกิดการสังเคราะห์ ATP โดยวิธี chemiosmosis ผลลัพท์ที่ได้จากการถ่ายทอด electron ที่เกิดจาก glucose 1 โมเลกุลคือ

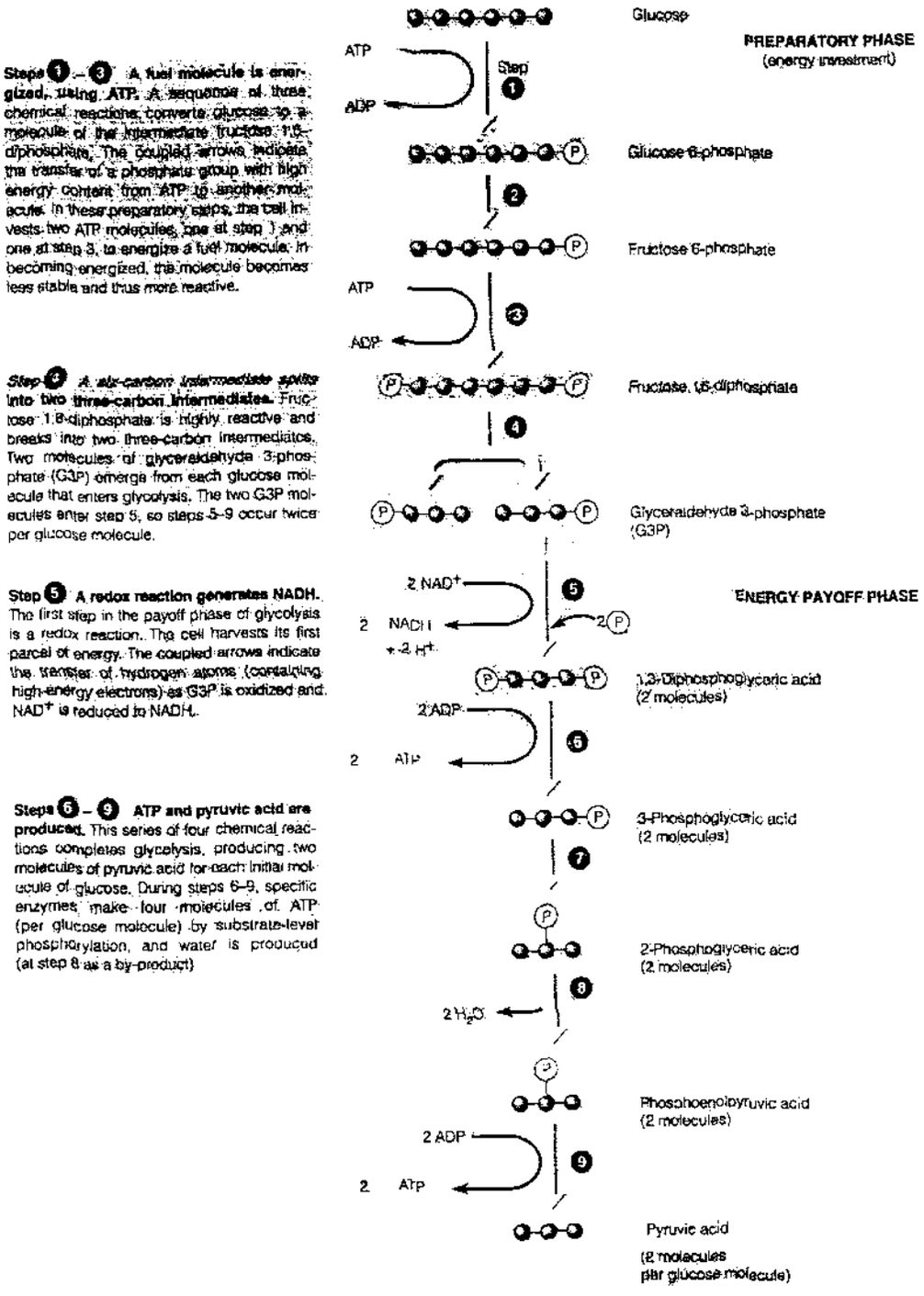
32 หรือ 34 ATP ขึ้นกับชนิดของเซลล์

$O_2$รับ electron เกิดเป็น น้ำ

รายละเอียดแต่ละขั้นตอนของปฏิกิริยา aerobic respiration มีดังนี้คือ

**I. Glycolysis** (Gk. *glykreos* = sweet, *lyo* = loose, dissolve) หรือ glycolytic pathway เป็นปฏิกิริยาเริ่มแรกของการสลายอาหารให้เกิดพลังงานของทุก catabolic pathway เกิดใน cytoplasm ของทั้ง prokaryotes และ eukaryotes **ในสภาวะที่ไม่ต้องใช้ก๊าซ $O_2$** glycolysis ประกอบด้วยปฏิกิริยา 10 ขั้น เพื่อเปลี่ยน **glucose 1 โมเลกุล เป็น pyruvate 2 โมเลกุล** (รูปที่ 2.2 ) โดยปฏิกิริยา 3 ขั้นตอนแรกต้องใช้พลังงานในการ activate โมเลกุลของ glucose. เรียกว่า **energy investment**

หรือ **preparatory phase** ขั้นตอนที่เหลือเป็นปฏิกิริยาการปล่อยพลังงานออกมา เรียกว่า **energy releasing steps** หรือ **energy payoff phase**




**รูปที่ 2.2** แสดงปฏิกิริยาที่เกิดใน glycolytic pathway (Campbell *et al.*, 2000)

รายละเอียดของแต่ละปฏิกิริยาในกระบวนการ glycolysis แสดงในรูปที่ 2. มีดังนี้คือ

1. *Glucose* ถูก *activate* เป็น *glucose* -6-$PO_4$ ( G-6P ) ด้วยการใช้ ATP 1 โมเลกุล เอนไซม์ที่ใช้ในปฏิกิริยาคือ **hexokinase** ซึ่งมีบทบาทสำคัญในการควบคุมกระบวนการ glycolysis เพราะเมื่อเกิดการสะสมของ G-6P ซึ่งเป็น product ของปฏิกิริยา จะเกิด negative feedback ยับยั้งการทำงานของ hexokinase ไม่ให้เปลี่ยน glucose เป็น G-6 P อีกต่อไป

2. G-6-P มีการจัดเรียงตัวใหม่เป็น fructose -6 $PO_4$

3. ATP อีก 1 โมเลกุลถูกใช้ ในการเปลี่ยน fructose-6 $PO_4$ เป็น fructose-1, 6-diphosphate โดยเอนไซม์ phosphofructokinase ซึ่งเป็นอีกจุดหนึ่งที่สำคัญในการควบคุมกระบวนการ glycolysis การทำงานของเอนไซม์นี้จะถูกยับยั้งโดย ATP และ NADH และถูกกระตุ้นโดย ADP $PO_4$, และ fructose-6 $PO_4$ เมื่อเซลล์มี ATP มาก ATP จะยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ ลดกระบวนการ glycolysis แต่ในกรณีที่เซลล์ใช้ ATP มากเกินไป เกิด ADP และ $PO_4$ มาก จะกระตุ้นให้เอนไซม์ เร่งกระบวนการ glycolysis ให้เกิดเร็วขึ้น เพื่อสังเคราะห์ ATP

4. ปฏิกิริยาที่เกิดมี 2 ขั้นคือ fructose 1, 6 diphosphate โมเลกุลที่มี carbon 6 อะตอมเป็นสาร highly reactive และไม่สเถียร จะแตกตัว ให้ 2 โมเลกุลของสารที่ประกอบด้วย carbon 3 อะตอม คือ dihydroxyacetone phosphate (DHAP) และ glyceraldehyde -3-$PO_4$ (G-3P) และ DHAP เปลี่ยน เป็น G-3P โดยเอนไซม์ triose phosphateisomerase

5. เนื่องจากเกิด G3P 2 โมเลกุล ปฏิกิริยาที่เหลือในขั้นที่ 6-10 จึงเกิด 2 ครั้งต่อ glucose 1 โมเลกุล ในปฏิกิริยาขั้นที่ 6 G3P เกิด oxidation ให้ 2 electron และ 1 H แก่ NAD ซึ่งถูก reduce เป็น NADH ขณะเดียวกัน G3P รับ $PO_4$ อีก 1 หมู่ จาก cytoplasm ได้สาร 1,3 diphosphoglycerate (1, 3 DPG)

6. สารประกอบพลังงานสูง 1, 3 DPG ให้ $PO_4$ group แก่ ADP เกิดการสังเคราะห์ ATP ด้วยวิธี **substrate-level phosphorylation** ซึ่งเป็น endergonic reaction ดังนั้น ในขั้นตอนนี้เกิดการสร้าง 2 ATP จาก 1,3 DPG 2 โมเลกุล เป็นการทดแทน 2ATP ที่ถูกใช้ไปในการเกิดปฏิกิริยาที่ 1 และ 3

7. 1, 3 DPG เมื่อให้ $PO_4$ แล้วถูกเปลี่ยนเป็น 3-phosphoglycerate (3-PG)

8. 3-PG มีการจัดเรียงตัวใหม่ ได้เป็น 2-phosphoglycerate (2-PG)

9. 2-phosphoglycerate สูญเสียน้ำ และกลายเป็นสารที่มีพลังงานสูง phosphoenolpyruvate (PEP) ซึ่งไม่ สเถียร และถูกเปลี่ยนเป็น pyruvate โดยการให้ $PO_4$ แก่ ADP เกิดการสังเคราะห์ ATP ด้วยวิธี substrate-level phosphorylation อีกครั้งหนึ่ง ดังนั้น จึงเกิดการสังเคราะห์ 2 ATP จาก 2 โมเลกุลของ PEP

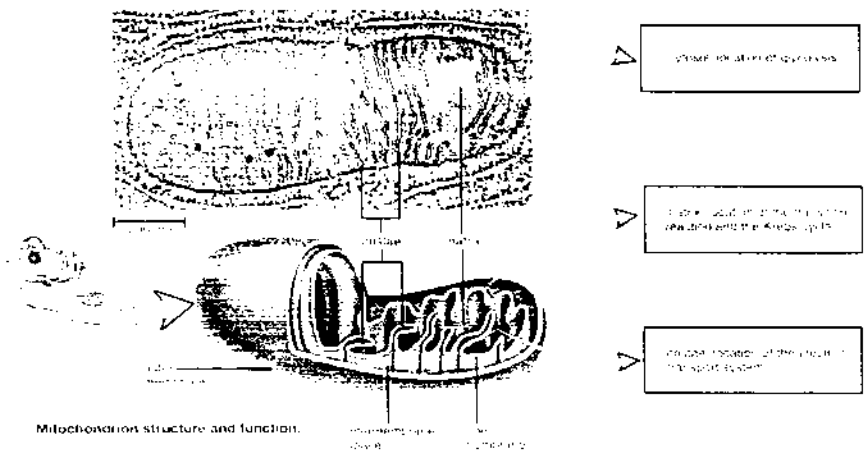
สารตั้งต้นและผลผลิตสุดท้ายที่ได้จากกระบวนการ glycolysis แสดงในตารางที่ 2.1 ส่วนปฏิกิริยารวมทั้งหมดของกระบวนการสรุปได้เป็นสมการดังนี้

$$\text{Glucose} + 2\ \text{ADP} + 2\ PO_4 + 2\ NAD^+ \longrightarrow 2\ \text{Pyruvate} + 2\ \text{ATP} + 2\ \text{NADH} + 2\ H^+ + 2\ H_2O$$

**ตารางที่ 2.1** แสดง สารตั้งต้นและผลผลิตสุดท้ายที่ได้จากกระบวนการ glycolysis (Mader, 2001)

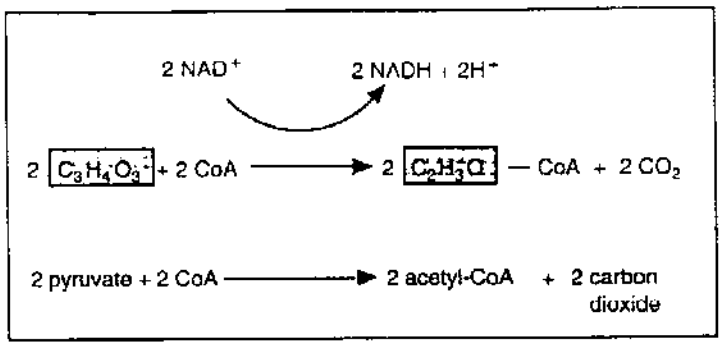
| Glycolysis | |
|---|---|
| inputs | outputs |
| glucose | 2 pyruvate |
| 2 $NAD^+$ | 2 NADH |
| 2 ATP | 4 ATP (net 2 ATP) |
| 2 ADP – 2 (P) | |

**II. การเกิด acetyl CoA** ปฏิกิริยานี้เป็น transition reaction เพราะเป็นปฏิกิริยาเชื่อมระหว่าง glycolysis กับ Citric acid cycle โดย pyruvate ที่เป็นผลผลิตสุดท้ายสุดท้ายจาก glycolysis ถูกลำเลียงเข้าสู่ matrix ซึ่งเป็นของเหลวภายในเยื่อชั้นในของ mitochondria (รูปที่ 2.3)



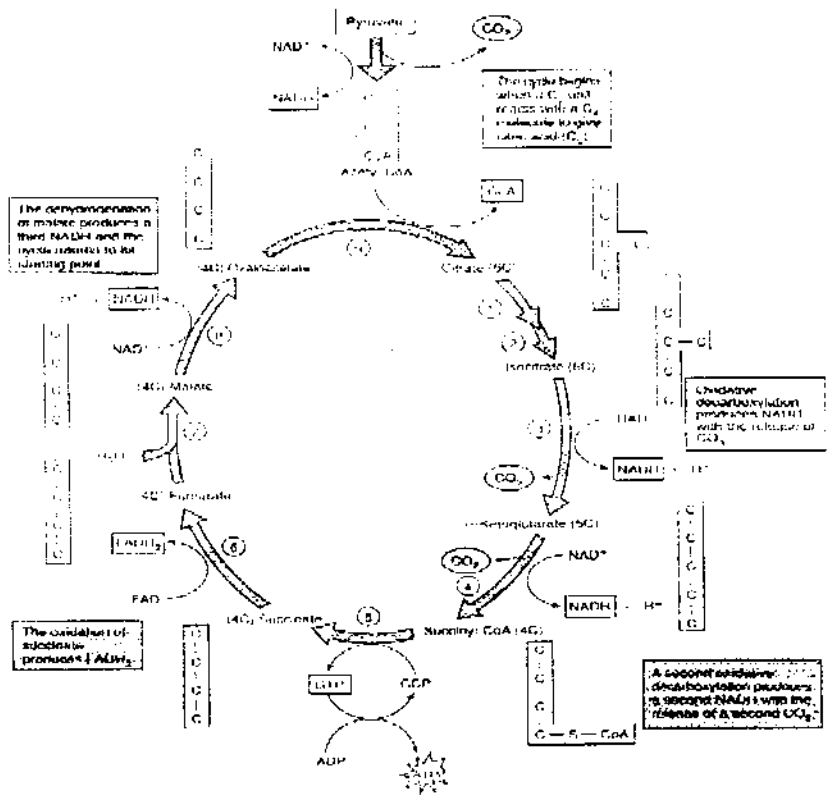

**รูปที่ 2.** 3 แสดงโครงสร้างของ mitochondria และตำแหน่งต่างๆ ของการเกิดปฏิกิริยาที่เกี่ยวข้องกับ aerobic respiration (Mader, 2001)

ภายใน matrix pyruvate จะถูก oxidized ให้ 2 electron และ 1 $H^+$ แก่ NAD และถูกดึง $CO_2$ ออกจากโมเลกุล (decarboxylaiton) เกิดเป็น acetyl group ซึ่งรวมกับ coenzyme A (CoA) ได้เป็น acetyl CoA ดังแสดงใน รูปที่ 2.4 ปฏิกิริยานี้เกิดขึ้น 2 ครั้งต่อ glucose 1 โมเลกุล




**รูปที่ 2.4** แสดงปฏิกิริยาการเกิด acetyl CoA จาก pyruvate (Mader, 2001)

**III Tricarboxylic acid cycle (TCA)** หรือ **Citric acid cycle** หรือเรียก **Krebs cycle** เพื่อเป็นเกียรติต่อ Sir Hans Krebs นักชีวเคมีชาวอังกฤษผู้ค้นพบปฏิกิริยาที่เกิดในวัฏจักรนี้ ทำให้ได้รางวัลโนเบลในปี ค.ศ. 1937 TCA cycle เกิดใน matrix ของ mitochondria (รูปที่ 2.5) และเป็นวัฏจักรเพราะปฏิกิริยาขั้นสุดท้ายให้สารประกอบที่เป็นสารตั้งต้น (reactant) ของปฏิกิริยาแรก เมื่อเข้าสู่ TCA cycle acetyl CoA จะเกิด oxidation จนได้ $CO_2$ ดังแสดงในรูปที่ 2.5




**รูปที่ 2.5** แสดง tricarboxylic acid cycle (Raven and Johnson, 1995 a)

ปฏิกิริยาที่เกิดใน TCA cycle มีดังนี้คือ

1. เมื่อเข้าสู่วัฏจักร acetyl group จาก acetyl CoA รวมตัวกับ oxaloacetate สารที่มี C 4 อะตอม เกิดเป็น citrate สารที่มี C 6 อะตอม ปล่อย Co A เป็นอิสระเพื่อทำปฏิกิริยากับ pyruvate ใหม่ เอนไซม์ที่ใช้คือ citrate synthetase เนื่องจาก citrate มี carboxyl group อยู่ 3 หมู่ จึงเรียกวัฏจักรนี้ว่า tricarboxylic acid cycle
2. Citrate ใช้ปฏิกิริยา 2 ขั้นในการจัดเรียงตัวใหม่เป็น isocitrate
3. Isocitrate จะเกิด oxidation และ decarboxylation (ถูกดึง $CO_2$ ออกจากโมเลกุล) ต่อไปอีก 2 ขั้น ในขั้นตอนแรกของ oxidation isociatrate ให้ 1 $H^+$ และ 2 electron แก่ $NAD^+$ และ เกิด decarboxylation ได้ α-ketoglutarate สารที่มี C 5 อะตอม ขั้นตอนนี้ให้ 1 NADH และกำจัด $CO_2$ 1 โมเลกุล เอนไซม์ที่ใช้คือ isocitrate dehydrogenase
4. ในการเกิด oxidation ครั้งที่สอง α ketoglutarate ให้ 1 $H^+$ และ 2 electron แก่ $NAD^+$ และเกิด decarboxylation พร้อมกับรวมกับ CoA ได้สารที่มีพลังงานสูง succinyl-CoA และให้ 1 NADH และ 1 $CO_2$ เอนไซม์ที่ใช้คือ α- ketoglutarate dehydrogenase เมื่อถึงขั้นตอนนี้ของวัฏจักร มีการปล่อย C ออกไป 3 อะตอม balance กันกับ C3 อะตอมของ pyruvate ที่เข้าสู่ matrix ของ mitochondria ในระยะเริ่มต้น
5. Succinyl CoA ถูกเปลี่ยนเป็น succinate ปล่อย coenzyme ออกมาเพื่อให้เกิดปฏิกิริยาใหม่ และให้พลังงานออกมาใช้ในการสร้าง GTP ซึ่ง GTP ถูกเปลี่ยนเป็น ATP อีกทอดหนึ่ง โดยปฏิกิริยา substrate-level phosphorylation ในกรณีของเซลล์แบคทีเรีย จะเกิดการสร้าง ATP โดยตรง **ใน TCA cycle ขั้นตอนนี้ จะเป็น เพียงขั้นตอนเดียวที่สร้าง ATP**
6. Succinate จะถูก oxidized ต่อไปอีก 3 ขั้น โดยขั้นแรก succinate ถูก oxidized เป็น fumarate โดย succinate dehydrogenase เอนไซม์ นี้ต่างจากเอนไซม์อื่นใน TCA cycle ที่อยู่ติดกับเยื่อ cristae ของ *mitochondria (เอนไซม์อื่นอยู่ใน matrix ของ mitochondria) และอยู่ติดกับ coenzyme* FAD เนื่องจากพลังงานของ electron ที่ถูกสกัด (extract) ในปฏิกิริยานี้ไม่สูงพอที่จะ reduce $NAD^+$ coenzyme FAD จึงถูกใช้ในการรับ 2 electron และ 2 H ได้เป็น $FADH_2$
7. Fumarate ถูก oxidize ต่อได้เป็น malate
8. Oxidation ขั้นสุดท้ายเกิดเมื่อ malate ให้ $1H^+$ และ 2 electron แก่ NAD กลายเป็น oxaloacetate พร้อมที่จะรวมกับ acetyl CoA ในรอบต่อไป ปฏิกิริยาในขั้นตอนนี้ให้ 1 NADH

โดยภาพรวม **TCA cycle ทำหน้าที่สำคัญ 3 ประการ** คือ

1. ลำเลียง electron และ $H^+$ ไปยัง coenzymes $NAD^+$ และ FAD

2. เกิด substrate-level phosphorylations สังเคราะห์ 2 ATP

3. Intermediate ในวงจรทำให้เกิดการสร้าง oxaloacetate เพื่อนำกลับมาใช้ในวงจรรอบต่อไป

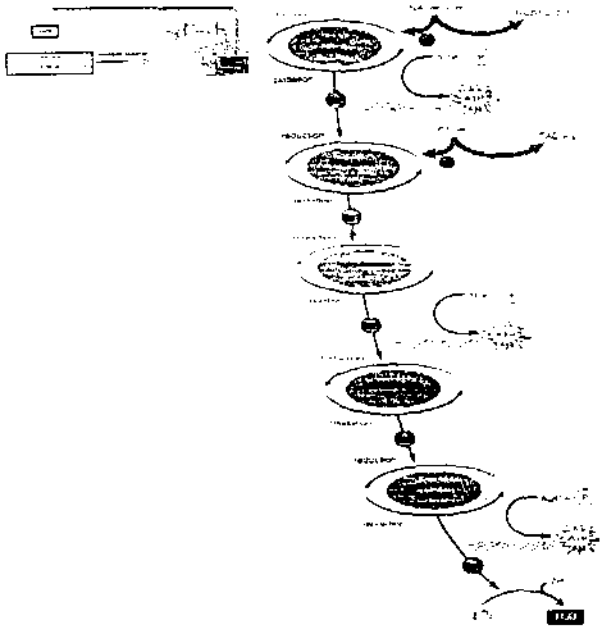
*สารตั้งต้นและผลผลิตสุดท้ายที่ได้จาก TCA cycle แสดงในตารางที่ 2.2 ส่วนปฏิกิริยารวม* ทั้งหมดของวัฏจักรสรุปเป็นสมการได้ดังนี้

$2\ \text{acetyl CoA} + 6\ NAD^+ + 2\ FAD + 2\ ADP + 2PO_4 \longrightarrow 4CO_2 + 6\ NADH + 6H^+ + 2FADH_2 + 2ATP$

**ตารางที่ 2.2** แสดงสารตั้งต้นและผลผลิตสุดท้ายจาก TCA cycle (Mader, 2001)

| Krebs Cycle | |
|---|---|
| inputs | outputs |
| 2 acetyl groups | 4 $CO_2$ |
| 2 ADP + 2 (P) | 2 ATP |
| 6 $NAD^+$ | 6 NADH |
| 2 FAD | 2 $FADH_2$ |

**IV Electron transport phosphorylation** เป็นขั้นตอนสุดท้ายของ aerobic respiration โดย NADH และ $FADH_2$ ที่เกิดจาก 3 ขั้นตอนแรกคือ glycolysis, oxidation of pyruvate, และ TCA cycle จะถ่ายทอด electron ที่ได้รับมาให้กับ oxygen โดยส่ง electron ผ่าน protein carrier ต่าง ๆ ต่อกันเป็นลูกโซ่*ในระบบการขนส่ง electron* (***electron transport system***) (รูปที่ 2.6) การสังเคราะห์ ATP ส่วนใหญ่ของ aerobic respiration เกิดขึ้นในขั้นตอนของการถ่ายทอด electron จาก NADH และ $FADH_2$ ให้แก่ $O_2$ ที่ electron transport system



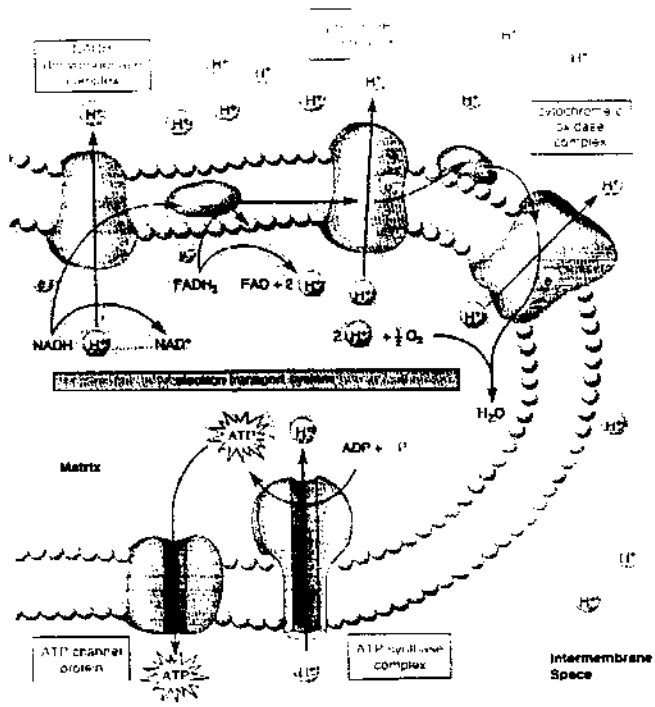
**รูปที่ 2.6** แสดง electron transport system และการเกิด oxidation และ reduction ของ carrier ต่าง ๆ เมื่อเกิดการขนส่ง electron ในระบบ (Mader, 2001)

**Electron transport system** หรือ **electron transport chain** ประกอบด้วย เอนไซม์ และโปรตีนต่าง ๆ ที่ทำหน้าที่เป็น electron carrier เรียงตัวอย่างเป็นระบบที่ **inner membrane หรือ cristae ของ mitochondria** โดย protein carrier ตัวแรกทำหน้าที่รับ electron จาก NADH หรือ $FADH_2$ และส่ง electron ต่อให้กับ carrier ตัวที่สองซึ่งอยู่ถัดไป และเกิดการส่ง electron ต่อกันไปเรื่อย ๆ จนถึงตัวรับ electron ตัวสุดท้ายในระบบคือก๊าซ $O_2$ จากรูปที่ 2. เมื่อ NADH ให้ electron ออกไป เกิด oxidation ได้ $NAD^+$ และ carrier ตัวแรกที่รับ electron จะถูก reduced ดังนั้นปฏิกิริยาการรับและส่ง electron ที่เกิดขึ้นในแต่ละ carrier จึงเป็น reduction ตามด้วย oxidation ใน electron transport system protein carrier ต่าง ๆ มีการจัดเรียงตัวกันโดยให้ carrier ที่อยู่หลังมีความสามารถในการดึง electron ได้สูงกว่า carrier ตัวหน้าที่อยู่ถัดไปเป็นลำดับ ดังนั้น carrier ตัวสุดท้ายในระบบคือ $O_2$ จึงมีความสามารถสูงสุดในการดึง electron หรือเป็น strong oxidizing agent กว่า carrier ตัวอื่น เมื่อเกิดการดึง electron 1 คู่ แต่ละอะตอมของ $O_2$ จะรวมกับ $2\ H^+$ ใน matrix ของ mitochondria เกิดเป็น $H_2O$

รูปที่ 2.6 แสดงให้เห็นว่าเมื่อ electron เริ่มเข้าสู่ electron transport system จะมีพลังงานสูงและพลังงานถูกลดลงไปเรื่อย ๆ เมื่อออกจากระบบ พลังงานที่ถูกปล่อยออกมาระหว่างเกิดการขนส่ง electron จะถูกใช้ในการสังเคราะห์ ATP electron แต่ละคู่ที่ถูกส่งโดย NADH จะก่อให้เกิดการสังเคราะห์ 3 ATP ส่วน electron แต่ละคู่ที่ถูกส่งโดย $FADH_2$ จะเกิดการสังเคราะห์เพียง 2 ATP เรียกกระบวนการสังเคราะห์ ATP โดยใช้พลังงานที่ถูกปล่อยออกระหว่างการถ่ายทอด electron ใน electron transport system ใน mitochondria ว่า **oxidative phosphorylation** (ส่วนที่เกิดใน chloroplast เรียกว่า **photophosphorylation**)

**Oxidative phosphorylation** carrier ต่างๆ ของ electron transport system และโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์ ATP จะจัดเรียงตัวกันอยู่ที่ cristae ของ mitochondria electron transport system ประกอบด้วย 3 protein complex และ 2 protein mobile carrier ซึ่งช่วยขนส่ง electron ระหว่าง protein complex (รูปที่ 2.7) เพื่อเข้าสู่ electron transport system NADH ออกจาก matrix ไปสู่ cristae ส่วน $FADH_2$ อยู่ติดกับ inner membrane ของ mitochondria อยู่แล้ว NADH และ $FADH_2$ ส่ง electron ให้กับ protein complex กลุ่มแรกที่ฝังตัวอยู่ที่ membrane เรียก NADH dehydrogenase ซึ่งรับและส่ง electron ต่อเป็นทอด ๆ ผ่าน respiratory protein ให้ protein complex อีกกลุ่มหนึ่งเรียก cytochrome b, $c_1$ complex โดยมี cytochromce c oxidase complex เป็นโปรตีนกลุ่มสุดท้ายที่รับ electron มา 4 electron และ reduce ก๊าซ $O_2$ เกิดเป็น 2 โมเลกุลของน้ำ ดังสมการ

$$O_2 + 4H^+ + 4e^- \longrightarrow 2H_2O$$




**รูปที่ 2. 7** การจัดเรียงตัวของเอนไซม์ และ carrier protein complex ต่าง ๆ ที่ inner membrane ของ mitochondria และการสังเคราะห์ ATP โดยวิธี chemiosmosis ใน electron transport chain (Mader, 2001)

พลังงานที่ถูกปล่อยออกระหว่างที่มีการถ่ายทอด electron จะถูก carrier protein ของ electron transport system ใช้ ในการ pump proton ($H^+$) ออกจาก matrix สู่ intermembrane space ของ mitochondria จากรูปที่ 2..7 ทั้ง 3 protein complex NADH dehydrogenase complex. cytochrome b, $c_1$ complex และ cytochrome c oxidase complex ต่างสามารถ pump proton เข้าสู่ intermembrane space electron ที่ส่งโดย **NADH** เมื่อเข้าสู่ electron transport chain จะ **activate proton pump 3 channels** และ ส่วน **$FADH_2$** ซึ่งเข้าสู่ระบบการถ่ายทอด electron ถัดมา จะ **activate proton pump 2 channel** ดังนั้น ระบบการส่งต่อ electron ก่อให้เกิดการ pump H ออกจาก matrix สู่ intermembrane space ของ mitochondria ทำให้ matrix มีความเข้มข้นของ H ต่ำ และ intermembrane space มีความเข้มข้นของ $H^+$ สูง เมื่อความแตกต่างของความเข้มข้นของ $H^+$ และ ประจุ ระหว่าง matrix และ intermembrane space เพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ จะเกิดการแพร่กลับของ $H^+$ เข้าสู่ matrix ซึ่งมีความเข้มข้นของ $H^+$ ต่ำกว่า โดย $H^+$ สามารถไหลกลับได้ทางเดียวผ่าน channel protein เรียก **ATP synthase** ซึ่งการไหลกลับของ $H^+$จะกระตุ้นเอนไซม์ **ATP synthase** ให้รวม ADP และ $PO_4$ ผลักดันให้เกิดการสังเคราะห์ ATP โดยวิธี **chemiosmosis** การสังเคราะห์ ATP

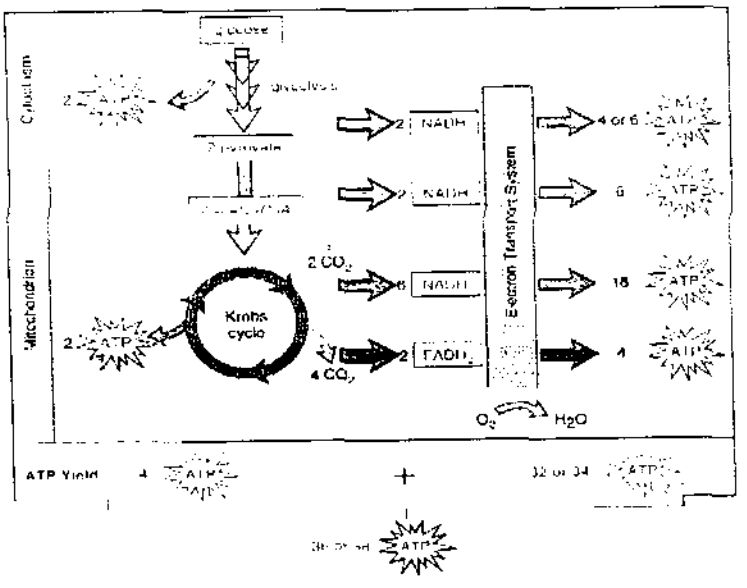
โดยวิธีนี้เกิดจากความแตกต่างระหว่าง electrochemical gadient ซึ่งในกรณีนี้คือ H gradient ATP ที่ถูกสังเคราะห์ขึ้นสามารถออกจาก matrix ได้โดยการแพร่ (diffuse) ผ่าน channel protein

เนื่องจากการ activate 1 proton pump ใน electron transport system ทำให้เกิดการสังเคราะห์ ATP 1 โมเลกุล **NADH 1 โมเลกุลซึ่ง activate 3 proton pump จึงทำให้เกิดการสังเคราะห์ ATP 3 โมเลกุล** และ **$FADH_2$ 1 โมเลกุล ที่ activate เพียง 2 proton pump จึงก่อให้เกิดการสังเคราะห์ ATP 2 โมเลกุล** (ดูรูปที่ 2. 6 และ 2.7 ประกอบ)

เนื่องจาก NADH ที่เกิดจาก glycolysis ในcytoplasm ไม่สามารถผ่านเข้าสู่ membrane ของ mitochondria ได้ ต้องอาศัยสารประกอบอินทรีย์ช่วยลำเลียงคือ glycerol phosphate shuttle ช่วยลำเลียง electron โดย glycerol phosphate shuttle สามารถผ่านออกจาก outer membrane ของ mitochondria เพื่อรับ electron จาก NADH ใน cytoplasm และส่ง electron ต่อให้ FAD ที่อยู่ใน inner membrane ซึ่งเมื่อเข้าสู่ electron transport chain จะทำให้เกิดการสังเคราะห์ 2 ATP ดังนั้น **ในเซลล์ส่วนใหญ่ 1 NADH ที่ได้จาก glycolysis เมื่อถูกลำเลียงเข้าสู่ e transport chain ที่ mitochondria จึงให้แค่ 2 ATP** แทนที่จะเป็น 3ATP แต่ในกรณีของเซลล์ในหัวใจ ตับ และไต ซึ่งมี metabolic rate สูง จะใช้ **malate-aspartate shuttle** ในการรับ electron จาก NADH ใน cytoplasm และก่อให้เกิดการสังเคราะห์ 3 ATP จาก 1 NADH ส่วนเซลล์แบคทีเรียไม่มี mitochondria ดังนั้น NADH ที่ได้จาก glycolysis จึงทำให้เกิดการสังเคราะห์ 3 ATP เช่นกัน

**ปริมาณและประสิทธิภาพของพลังงานจากการสลาย glucose 1 โมเลกุล**

ผลรวมของการสลาย glucose 1 โมเลกุล ภายใต้ aerobic respiration ได้ **36 หรือ 38 ATP** ดังสรุปในรูปที่ 2.8




**รูปที่ 2. 8** แสดงผลรวมของพลังงานที่ได้จากการสลาย glucose 1 โมเลกุลภายใต้ aerobic respiration (Mader, 2001)

**การหาปริมาณ ATP ที่ได้**

การนับปริมาณ ATP ที่ได้จากการสลาย glucose 1 โมเลกุลจะนับจำนวน ผลลพัธ์ของ ATP ที่เกิดจากวิธี substrate level phosphorylation และ chemiosmosis รวมกันทั้งหมดจากกระบวนการ glycolysis, TCA cycle และ oxidative phosphorylation ใน aerobic respiration (รูปที่ 2.8) ดังนี้คือ

| | |
|---|---|
| กระบวนการ glycolysis ได้ | 2 ATP สุทธิ และ 2 NADH |
| Oxidation ของ pyruvate (2 ครั้ง) ได้ | 2 NADH |
| TCA cycle (2 รอบ) ได้ | 2 ATP 6 NADH และ 2 $FADH_2$ |
| Electron transport phosphorylation ได้ | 34 หรือ 32 ATP |

[34 ATPได้จาก (8NADHx 3= 24)+(2NADHจาก glycolysi x3 = 6)+(2 $FADH_2$ x2 = 4)]

[32 ATPได้จาก (8 NADHx 3= 24)+(2NADHจาก glycolysi x2 = 4)+(2 $FADH_2$ x2 = 4)]

**รวม ATP ทั้งหมดเท่ากับ** **38** (34+2+2 ) **หรือ 36** (32+2+2) **ATP**

**การหาประสิทธิภาพ**

พลังงานจากพันธะเคมีของ glucose 1 โมเลกุล = 686 kilocalories (kcal)

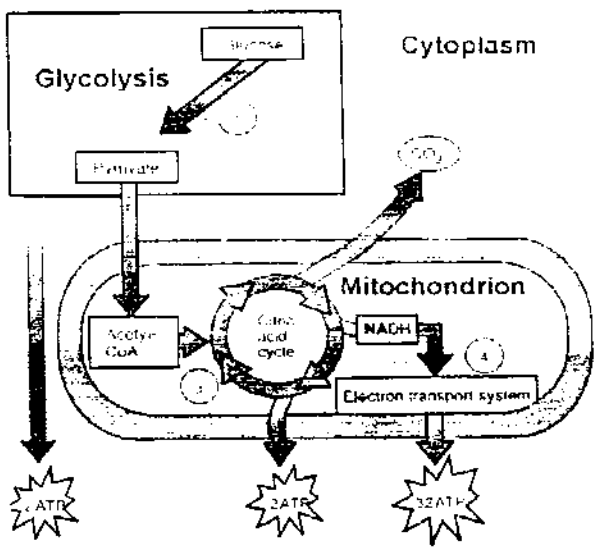
1 ATP มีพลังงาน = 7.3 kcal

การสลาย 1 glucose โดย aerobic respiration ได้ 36 ATP (ในเซลล์ทั่วไป)

พลังงานที่เกิดจากการสลาย 1 glucose = 263 kcal (=36 ATP x7.3 kcal)

ประสิทธิภาพที่เกิด = $\frac{263}{686}$ x100 = 39%

ดังนั้น ประสิทธิภาพของ การสลาย glucose 1 โมเลกุลด้วย aerobic respiration มีค่า ถึง 39%

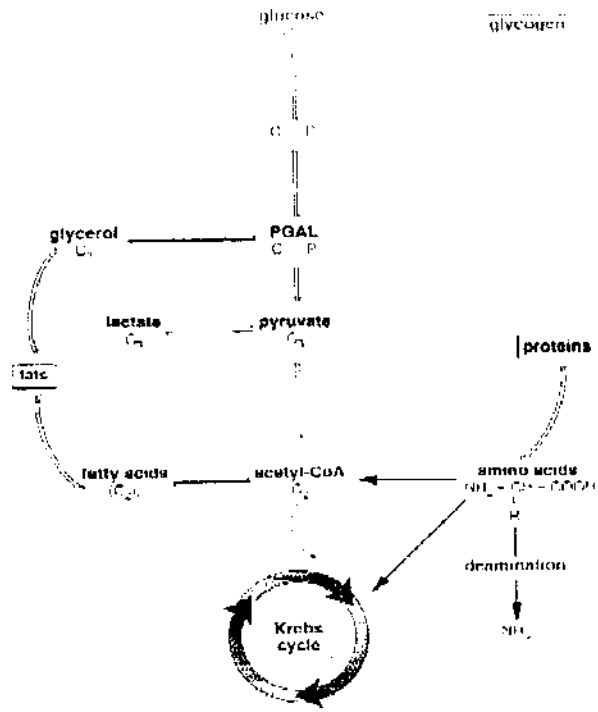



**รูปที่ 2.9** แสดงภาพรวมของการเกิดกระบวนการทั้ง 4 ใน aerobic respiration ที่เกิดภายในเซลล์ eukaryotes (Raven and Johnson, 1995a)

การเก็บเกี่ยวพลังงานจากโปรตีน และไขมัน

สารอินทรีย์อื่นที่ไม่ใช่ glucose สามารถเป็นเชื้อเพลิงถูกเผาผลาญหรือสลายในกระบวนการ aerobic respiration เพื่อให้ได้พลังงานเช่นกัน **อาหารหลักทั้ง 3 หมู่คือ โปรตีน ไขมัน และคาร์โบไฮเดรต ต่างสามารถเข้าสู่ catabolic pathway เพื่อถูกเก็บเกี่ยวพลังงาน** โดยปกติร่างกายจะสลาย glucose ก่อน เพื่อใช้ในการสังเคราะห์ ATP แต่ถ้าระดับ glucose ในเลือดต่ำ ร่างกายจะใช้ glycogen ซึ่งเป็น polysaccaride ประกอบด้วยหน่วยย่อยของ glucose ในกรณีของการอดอาหาร ร่างกายจะใช้ไขมันเป็นแหล่งพลังงาน และโปรตีนจะเป็นแหล่งสุดท้ายที่จะถูกใช้

โมเลกุลที่มีขนาดใหญ่ของโปรตีน และ ไขมัน (fats) จะต้องถูกเปลี่ยนเป็นหน่วยย่อย และเปลี่ยนเป็นสารที่เหมาะสมที่สามารถเข้าสู่ glycolysis หรือ TCA cycle เพื่อถูกเก็บเกี่ยวพลังงานใน oxidative respiration ต่อไป **โปรตีนจะถูกสลายเป็น amino acid** ซึ่งบางส่วนถูกใช้ในการสังเคราะห์โปรตีน และ อาจถูกกำจัด amino group (deamination) ออกทางปัสสาวะ หรือถูกเอนไซม์ใช้เพื่อสังเคราะห์สารอินทรีย์อื่น โดย **carbon skeleton ใน amino acid อาจถูกเปลี่ยนเป็น pyruvic acid acetyl CoA และ เข้าสู่ TCA cycle** หรืออาจถูกเปลี่ยนเป็นกรดอินทรีย์อื่นที่เป็น **intermediate ใน TCA cycle** สำหรับไขมัน จัดเป็นเชื้อเพลิงที่ดีเยี่ยมเนื่องจากในโมเลกุลประกอบด้วย hydrogen อะตอม และ electron ที่มีพลังสูงจำนวนมาก การสลายไขมัน 1 กรัมให้ ATP สูงกว่าการสลายแป้ง (starch) 1 กรัมเกือบ 2 เท่า เช่นเดียวกับโปรตีน **ไขมันต้องถูก *hydrolyzed หรือ oxidized เป็น glycerol และ fatty acid*** **glycerol จะรวมกับ $PO_4$ เปลี่ยนไปเป็น glyceraldehyde 3-phosphate (G3P หรือ PGAL)** ซึ่งเป็น **intermediate ใน glycolysis** ส่วน **fatty acid จะถูกเปลี่ยนเป็น acetyl CoA เข้าสู่ TCA cycle** ดังนั้น อาหารหลักทั้ง 3 กลุ่มโปรตีน ไขมันและ คาร์โบไฮเดรตเมื่อถูกใช้เป็นแหล่งพลังงาน จะสามารถเข้าสู degradative หรือ catabolic pathway เฉพาะแห่ง และ **acetyl CoA ทำหน้าที่เป็นศูนย์รวมของสารที่เกิดจากการสลาย (central catabolism product ) ของโปรตีน ไขมัน และ คาร์โบไฮเดรต ที่เข้าสู่ TCA cycle** เพื่อถูกเผาผลาญให้ได้พลังงานต่อไป (รูปที่ 2.10)




รูปที่ 2. 10 แสดงการเข้าสู่ catabolic pathway ของผลผลิตจากกระบวนการ metabolism ของโปรตีน ไขมัน และ คาร์โบไฮเดรตเพื่อถูกเก็บเกี่ยวพลังงานใน aerobic respiration (Mader, 2001)

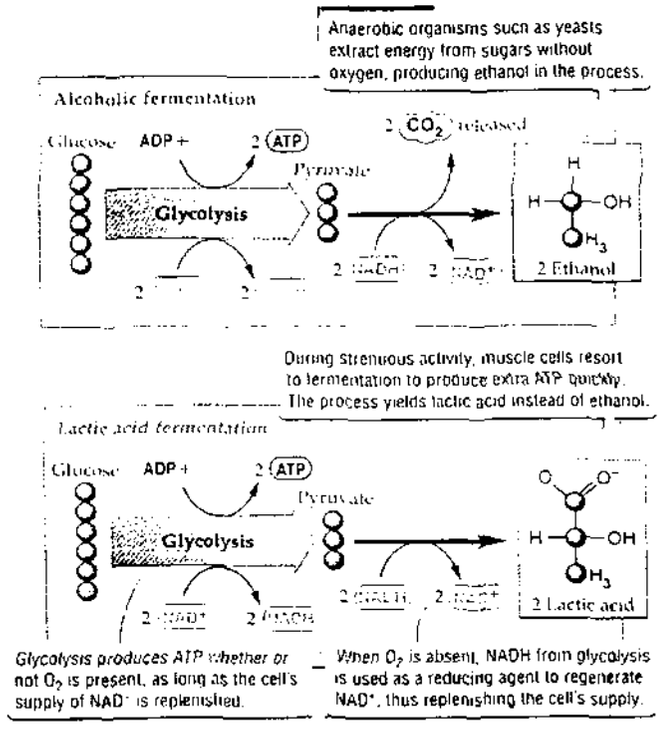
## Fermentation

**Fermentaion** หรือ **การหมัก** เป็นกระบวนการเก็บเกี่ยวพลังงานจากอาหารในสภาพที่ไม่มีก๊าซ $O_2$ โดยมี**สารประกอบอินทรีย์เป็นทั้งผู้ให้ (electron donor) และผู้รับ electron (electron acceptor)** การสังเคราะห์ ATP ใน fermentation เป็นวิธี substrate level phosphorylation ทั้งสิ้น fermentation เป็น anaerobic pathway ที่จุลินทรีย์บางชนิดใช้เพื่อการดำรงชีวิตภายใต้สภาพที่ไม่มีก๊าซ $O_2$ กระบวนการ **fermentation เกิดใน cytoplasm** และมีหลายชนิดขึ้นกับผลผลิตสุดท้ายของกระบวนการว่าเป็นกรดอินทรีย์ แอลกอฮอล์ และหรือก๊าซชนิดต่าง ๆ กระบวนการ fermentation ที่สำคัญมีดังนี้คือ

1 **Alcoholic fermentation หรือ Ethanol fermentation** **pyruvate** ที่เป็นผลผลิตสุดท้ายจากกระบวนการ glycolysis **จะถูกดึง $CO_2$ ออกจากโมเลกุล** เกิดเป็น toxic metabolite คือ acetaldehyde **ก่อนที่จะรับ electron จาก NADH ผลผลิตที่ได้คือ ethanol หรือ ethyl alcohol** (รูปที่ 2.11 A) พบ alcoholic fermentation ในแบคทีเรียบางชนิด เห็ดรา (fungi) ส่วนใหญ่ และใน protozoa ตัวอย่างของ alcoholic fermentation ที่คนรู้จักนำมาใช้ประโยชน์ตั้งแต่โบราณ คือ การใช้ yeast ในการหมักผลไม้เพื่อทำเหล้าและไวน์ต่าง ๆ เอนไซม์ที่ใช้ในปฏิกิริยา

decarboxylation และ reduction คือ pyruvate decarboxylase และ alcohol dehydrogenase ตามลำดับ นอกจากนั้น ปฏิกิริยาการดึง $CO_2$ จาก pyruvate ที่เกิดใน yeast ถูกใช้เป็นประโยชน์ในการทำขนมปังให้ ฟู เมื่อนำ yeast ผสมน้ำตาล กับแป้งทำขนมปัง yeast สามารถใช้ กระบวนการ alcoholic fermentation ได้ก๊าซ $CO_2$ ทำให้ขนมปังฟู ความร้อนจากเตาอบช่วยไล่ก๊าซออกไป เกิดเป็นรูพรุนของเนื้อขนมปังและช่วยให้ขนมปังนิ่ม

2. **Lactic acid fermentation** เป็นกระบวนการ fermentation ที่พบบ่อยมาก **pyruvate สามารถรับ electron โดยตรงจาก NADH เกิดเป็น lactic acid** (รูปที่ 2.11 B) เอนไซม์ที่ใช้ในการ reduce pyruvate เป็น lactate คือ lactate dehydrogenase พบ lactic acid fermentation ในแบคทีเรียบางชนิด เช่น lactic acid bacteria, *Bacillus*, algae (*Chlorella*), protozoa, และแม้แต่ในเซลล์กล้ามเนื้อของสัตว์ ในกรณีที่รับ oxygen ไม่ทัน และจำเป็นต้องใช้ ATP เป็นจำนวนมาก *ในช่วงระยะสั้น เช่นระหว่างการวิ่งแข่งขัน เซลล์กล้ามเนื้อเปลี่ยนจาก aerobic respiration มาใช้* lactic fermentation เพราะเซลล์ต้องการสังเคราะห์ ATP อย่างรวดเร็ว เมื่อ glucose หมด หรือระบบหมุนเวียนของเลือดไม่สามารถนำ lactic acid ออกจากเซลล์กล้ามเนื้อได้ทันกับ lactic acid ที่ถูกสังเคราะห์ขึ้นใหม่ จะเกิดการสะสมของ lactic acid ก่อให้เกิดอาการปวดเมื่อยกล้ามเนื้อ หรือกล้ามเนื้ออ่อนเปลี้ยไม่สามารถหดตัวได้อีกต่อไป




**รูปที่ 2. 11** แสดงการเกิด Alcoholic fermentation (A) และ Lactic acid fermentation (B) (Cain *et al.*, 2000)

ในกระบวนการ fermentation เกิดการสร้าง ATP สุทธิขึ้นเพียง 2 โมเลกุล ซึ่งเกิดจากการสลายหนึ่งโมเลกุลของ glucose ใน glycolysis ส่วนปฏิกิริยาที่เหลือใน pathway เป็นเพียงการรับ electron จาก NADH โดยสารอินทรีย์ และเกิด $NAD^+$ เพื่อที่จะถูกนำกลับไปใช้ใน glycolysis ใหม่อีกรอบ ไม่เกิดการสังเคราะห์ ATP เพิ่มเติมจากการสันดาป pyruvate ต่อไปเหมือนดังกรณีของ aerobic respiration เนื่องจาก การสลายโมเลกุลของ glucose โดยสมบูรณ์จะปล่อยพลังออกมา 686 kcal และ 2 ATP มีค่าเท่ากับ 2x7.3 = 14.6 kcal ดังนั้น ประสิทธิภาพจากการสลายอาหารเพื่อให้พลังงานโดยกระบวนการ fermentation จึงมีค่าเท่ากับ $\frac{14.6}{686} \times 100 = 2.1\%$

**ตารางที่ 2. 3** แสดงสารตั้งต้นและผลผลิตสุดท้ายจากการระบวนการ fermentation (Mader, 2001)

| Fermentation | |
|---|---|
| inputs | outputs |
| glucose | 2 lactate or |
| 2 ATP | 2 alcohol and 2 $CO_2$ |
| 2 ADP + 2 (P) | 4 ATP (net 2 ATP) |

## Anaerobic electron transport หรือ Anaerobic respiration

Anaerobic electron transport เป็นอีกวิถีทางหนึ่งในการสร้างพลังงานของเซลล์ในสภาวะที่ไม่มีก๊าซ $O_2$ โดยใช้สารประกอบอนินทรีย์เป็นตัวรับ electron แทน $O_2$ ในelectron transport system ตัวอย่างของ electron acceptor ใน anaerobic electron transport ได้แก่ nitrate, sulfate, และก๊าซ $CO_2$ เป็นต้น anaerobic electron transport เป็นกระบวนการที่พบในแบคทีเรียบางกลุ่มที่ช่วยให้เกิดการหมุนเวียนของ ธาตุต่าง ๆ ที่จำเป็นต่อสิ่งมีชีวิตในระบบนิเวศน์ เช่นธาตุ nitrogen sulfur และ คาร์บอน เป็นต้น เนื่องจากเซลล์แบคทีเรียไม่มี mitochondria electron ที่ใช้ในการสร้าง ATP จะถูกส่งเข้าสู่ electron transport system ที่ plasma membrane ของเซลล์ และ electron acceptor มักจะเป็นสารประกอบอนินทรีย์ในสิ่งแวดล้อม การถ่ายทอด electron ใน electron transport system ใน prokaryotes จะคล้ายกับ eukaryotes มี proton pump และการสร้าง ATP โดย ATPsynthase เช่นกัน ตัวอย่างแบคทีเรียที่สามารถใช้ anaerobic electron transport ในการสร้างพลังงาน ได้แก่สกุล *Pseudomonas* และ *Bacillus* ที่ใช้ nitrate เป็น electron acceptor ได้ nitrite ซึ่งมีพิษ จึงต้องเปลี่ยน nitrite เป็นก๊าซ nitrogen อีกต่อหนึ่ง หรือ anaerobic bacteria ที่อาศัยอยู่ตาม ดินที่มีน้ำขัง เช่น *Desulfovibrio* สามารถดึง electron จากสารประกอบในดิน ส่งต่อให้ sulfate group เกิดเป็นก๊าซ hydrogen sulfidegas ($H_2S$) ซึ่งมีกลิ่นฉุน และแบคทีเรียพวก methanogens ใช้ก๊าซ

$CO_2$ เป็น electron acceptor เกิด reduction ได้ก๊าซ methane ($CH_4$) เป็นต้น กระบวนการ anaerobic electron transport ให้พลังงานมากกว่าการหมัก แต่น้อยกว่า aerobic respiration ถึงแม้ประสิทธิภาพการสังเคราะห์ ATP จะต่ำกว่า aerobic respiration แต่ก็มีประโยชน์มากเพราะช่วยให้เกิดการสังเคราะห์ ATP โดย electron transport system และเกิด oxidative phosphorylation ได้ในสภาพที่ไม่มี ก๊าซ $O_2$

**Biosynthetic Process**

เซลล์ของสิ่งมีชีวิตอยู่ในสภาวะที่มีการเปลี่ยนแปลงตลอดเวลา มีการสร้างและทำลายองค์ประกอบต่าง ๆ ภายในเซลล์อย่างต่อเนื่อง กระบวนการใน metabolism ที่เกี่ยวข้องกับการสลายสารต่าง ๆ เรียกว่า **catabolism** ส่วนกระบวนการที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์สารต่าง ๆ เรียกว่า **anabolism** catabolism มักเป็น exergonic reaction และ anabolism มักเป็น endergonic reaction ATP ที่เกิดจาก catabolism ช่วยในการสังเคราะห์สารต่างๆ ในกระบวนการ anabolism และสารที่อยู่ในแต่ละ pathway ของ cellular respiration สามารถถูกนำมาใช้ในกระบวนการสังเคราะห์สารต่างๆ ภายในเซลล์ จัดเป็น metabolic pool ของเซลล์ สารใน metabolic pool อาจถูกนำไปใช้ในกระบวนการ catabolism หรือ anabolism โดยสารอาจจะถูกเปลี่ยนแปลงเมื่อถูกนำไปสังเคราะห์เป็นสารอื่น เช่น metabolites บางชนิดใน TCA cycle อาจถูกปลี่ยนเป็น amino acid โดยกระบวนการ transamination โดยการส่ง amino group ให้กับ organic acid ก่อให้เกิด amino acid ตัวใหม่ แต่ละเซลล์มักจะสร้าง macromolecules ที่ซับซ้อนของตนขึ้นเอง ซึ่ง catalyze โดยเอนไซม์ต่างชนิด กระบวนการ biosynthetic เป็น endergonic raction และต้องใช้ ATP

# บทที่ 3
# การสังเคราะห์ด้วยแสง
# (Photosynthesis)

การสังเคราะห์ด้วยแสง (Photosynthesis; Greek, *Photo* = light, *syntheis* = putting together) เป็นกระบวนการที่พืช หรือสิ่งมีชีวิตที่มีรงควัตถุซึ่งสามารถดูดพลังงานแสง เปลี่ยนพลังงานแสงให้เป็นพลังงานเคมีในอาหาร ด้วยการสังเคราะห์ carbohydrate และ ATP จากก๊าซ $CO_2$ และ hydrogen (จากน้ำ หรือแหล่งอื่นที่ให้ hydrogen) การสังเคราะห์ด้วยแสงจัดเป็นกระบวนการเคมีที่สำคัญยิ่ง เพราะเป็นกระบวนการสร้างอาหารจากพลังงานแสงให้กับสิ่งมีชีวิตต่าง ๆ บนโลก ซึ่งได้รับพลังงานจากการสังเคราะห์ด้วยแสงโดยทางตรง หรือทางอ้อม นอกจากนั้น กระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสงยังช่วยรักษาความสมดุลย์ของก๊าซ $CO_2$, $O_2$ และน้ำ ซึ่งจำเป็นต่อการดำรงชีพของสิ่งมีชีวิตทุกชนิด

## Autotrophs และ Heterotrophs

สิ่งมีชีวิตในโลกถูกจำแนกเป็น 2 กลุ่มหลักตามความสามารถในการสังเคราะห์อาหาร ได้ดังนี้คือ

**1. Autotroph (Gr; self-feeder)** หมายถึงสิ่งมีชีวิตกลุ่มที่สามารถสังเคราะห์อาหารเองได้จากสารประกอบอนินทรีย์ โดยไม่ต้องใช้ สารประกอบอินทรีย์จากสิ่งมีชีวิตอื่น พวก autotroph ซึ่งจัดเป็น "ผู้ผลิต" แบ่งเป็น 2 กลุ่มย่อยคือ

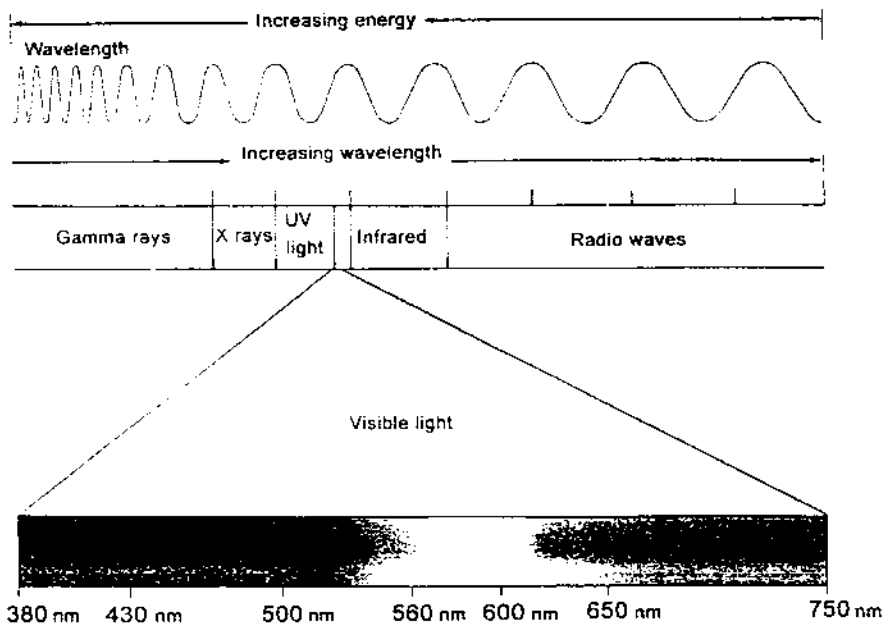
**1.1 Photosynthetic Autotroph** หมายถึงกลุ่มที่สามารถสังเคราะห์ด้วยแสงได้ ได้แก่ พืชทั้งหมด protist บางชนิด (photosynthetic protist) สาหร่าย (algae) และแบคทีเรียบางชนิด (*photosynthetic bacteria*) *เช่น แบคทีเรียสีเขียวแกมม่วง และ แบคทีเรียสีเขียวแกมน้ำเงิน* (cyanobacteria)

**1.2 Chemosynthetic Autotroph** หมายถึงกลุ่มที่ได้พลังงานจากการสลายสารประกอบอนินทรีย์ ได้แก่แบคทีเรียบางชนิดที่ได้พลังงานจากการสลาย $NH_3$ และ $H_2S$ เป็นต้น

**2. Heterotroph** หมายถึงสิ่งมีชีวิตกลุ่มที่ไม่สามารถสร้างอาหารเองได้จากสารประกอบอนินทรีย์ ต้องได้รับอาหารด้วยการบริโภค autotroph, heterotroph ด้วยกัน หรือดูดสารประกอบอินทรีย์จากแหล่งอื่น ได้แก่ สัตว์ รา และแบคทีเรียส่วนใหญ่

## ธรรมชาติของแสง

แสงจัดเป็นพลังงานในรูปของคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า (electromagnetic energy) แสงนอกจากเดินทางในรูปของคลื่นแสง ยังเดินทางในลักษณะของอนุภาคซึ่งมีพลังงาน เรียกว่า **photon** แสงแดดประกอบด้วยแสงสีต่าง ๆ ที่มีความยาวคลื่นหลายขนาดรวมกัน และมีระดับพลังงานไม่เท่ากัน **แสงที่มีความยาวคลื่นสั้นจะมีพลังงานสูงกว่าแสงที่มีความยาวคลื่นยาว** แสงที่ตาคนปกติสามารถมองเห็น (visible light ) อยู่ที่ช่วงความยาวคลื่นระหว่าง 380-750 nm ซึ่งเป็นเพียงช่วงสั้น ๆ ของ electromagnetic spectrum (รูปที่ 3.1) แสงที่ตาคนสามารถมองเห็นได้มี 6 สี เริ่มจากความยาวคลื่นต่ำสุดสู่สูงสุดคือ ม่วง น้ำเงิน เขียว เหลือง แสด แดง ตาคนเราไม่สามารถมองเห็นแสงที่มีความยาวคลื่นยาวกว่าแสงสีแดง ได้แก่ infrared และ radio waves หรือแสงที่มีความยาวคลื่นสั้นกว่าแสงสีม่วง ได้แก่ UV, x-rays, และ gamma rays




**รูปที่ 3.1** Electromagnetic spectrum ของแสง (Raven and Johnson, 1995 a)

## พลังงานของแสงแดดที่ถูกใช้ในการสังเคราะห์ด้วยแสง

ประมาณหนึ่งในสามของพลังงานแสงแดดที่ส่องมายังโลกถูกสะท้อนกลับ และพลังงานที่เหลือส่วนใหญ่ถูกดูดกลืนโดยโลก และสูญเสียในรูปของความร้อน มีเพียง 1 % เท่านั้นที่ถูกนำมาใช้ประโยชน์ในการสังเคราะห์ด้วยแสง แสงที่ส่องมายังใบถูกดูดไว้ 80-85% สะท้อนกลับ 10-15% และ 5% ผ่านเข้าสู่เนื้อเยื่อใบ พลังงานที่ถูกดูดกลืนโดยใบ ส่วนใหญ่สูญเสียโดย

เปลี่ยนเป็นความร้อน ใช้ในการคายน้ำ และอื่น ๆ พลังที่ถูกใช้ในการสังเคราะห์ด้วยแสงมีเพียง 0.5-3.5% เท่านั้น

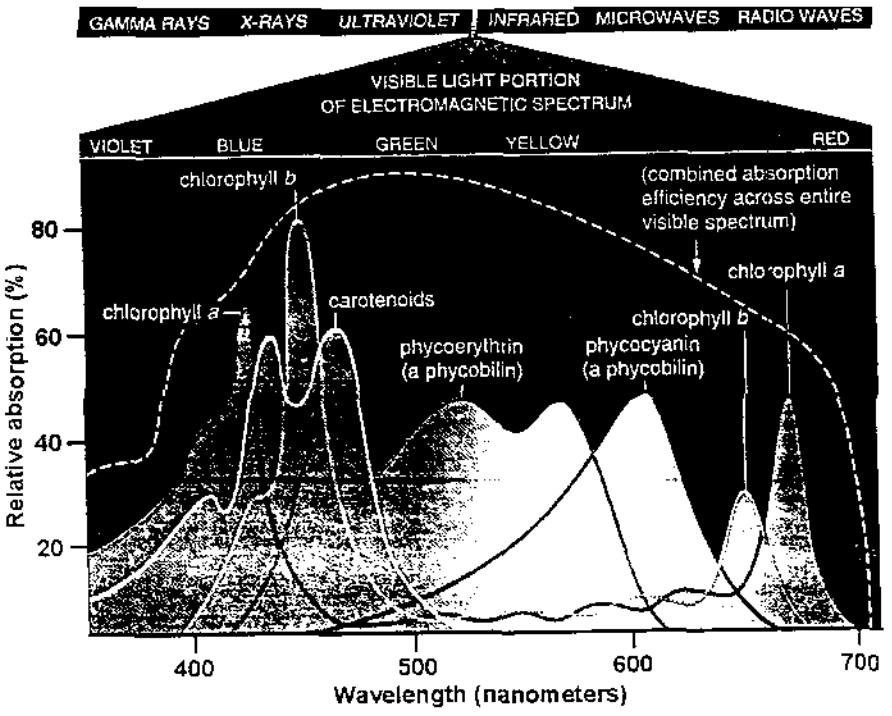
แสงที่ส่องมายังโลกอยู่ในช่วงคลื่นที่ตาสามารถมองเห็นได้ (visible light) เพราะแสงในช่วงคลื่นที่พลังงานสูงถูกกรองโดยชั้น ozone และช่วงคลื่นที่มีพลังงานต่ำถูกกรองโดยชั้น $CO_2$ และไอน้ำก่อนส่องสู่ผิวโลก คลื่นแสงที่ถูกใช้ในการสังเคราะห์ด้วยแสงเป็นเพียงบางส่วนของ visible spectrum แสงที่ความยาวคลื่นอยู่ในช่วงที่ถูกดูดกลืนโดยรงควัตถุเท่านั้น ที่มีประโยชน์ในกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสง โดยทั่วไป คลื่นแสงที่มีประสิทธิภาพในการสังเคราะห์ด้วยแสงมากที่สุดสำหรับพืชส่วนใหญ่คือแสงสีน้ำเงินแกมม่วง และรองลงไปคือแสงสีแดง- ส้ม เนื่องจากตาเราไม่สามารถมองเห็นแสงที่มีช่วงคลื่นที่ถูกดูดกลืน แต่เห็นแสงที่มีช่วงคลื่นที่ถูกสะท้อน (reflected light) เราจึงเห็นใบของพืชส่วนใหญ่มีสีเขียว เนื่องจากแสงสีเขียวถูกดูดกลืนน้อยที่สุดเพื่อการสังเคราะห์ด้วยแสง และสะท้อนเข้าสู่ตา

**<u>การจับ (capture) พลังงานแสงโดยโมเลกุลของรงควัตถุ</u>**

พืชแต่ละชนิดมีความต้องการแสงสีต่าง ๆ เพื่อใช้ในการสังเคราะห์ด้วยแสงต่างกัน ขึ้นกับชนิดของรงควัตถุ (photosynthetic pigments) ในพืช โมเลกุลของ pigment ประกอบด้วยอะตอมของธาตุ ซึ่งมี electron วิ่งอยู่ในวงโคจร (orbit) ต่าง ๆ รอบ nucleus แสงที่มีประโยชน์ในการสังเคราะห์ด้วยแสงต้องมีความยาวคลื่น หรือระดับพลังงานที่เหมาะสม ซึ่งอะตอมของ pigment สามารถดูดกลืน และทำให้ electron เปลี่ยนวงโคจรไประดับที่พลังงานสูงขึ้น pigment แต่ละชนิดมีความสามารถดูดกลืนพลังงานแสงที่ความยาวคลื่นต่างกัน ขึ้นกับระดับพลังงานของโมเลกุล หรือวงโคจรของ electron ภายในอะตอมของ pigment ชนิดนั้น

เมื่อโมเลกุลของ pigment ดูดพลังงานแสง อนุภาค photon ไปกระแทก electron ถ่ายเทพลังงานแก่ electron ทำให้ electron วิ่งไปในวงโคจรที่มีพลังงานสูงขึ้น อยู่ในสภาวะ excited state กลายเป็น **activated pigment** มีพลังงานเพิ่มขึ้นและไม่เสถียร จะคืนสู่วงโคจรเดิมอย่างรวดเร็ว พร้อมกับปล่อยพลังงานที่ดูดไว้เป็นพลังงานความร้อน พลังงานแสง เคมี หรือ ไฟฟ้า ซึ่งอาจถูกนำไปใช้ หรือสูญเสียบ้าง ขณะที่ electron วิ่งกลับสู่วงโคจรเดิม พลังงานที่เหลือแสดงออกในรูปของ fluorescence ในการสังเคราะห์ด้วยแสง excited electron หลุดจากโมเลกุลของ pigment ก่อนกลับสู่วงโคจรเดิม โดยมี electron acceptor เช่น สารประกอบ coenzyme มารับ electron เพื่อนำเข้าสู่ระบบการถ่ายทอด electron แบบลูกโซ่ (electron transport chain)

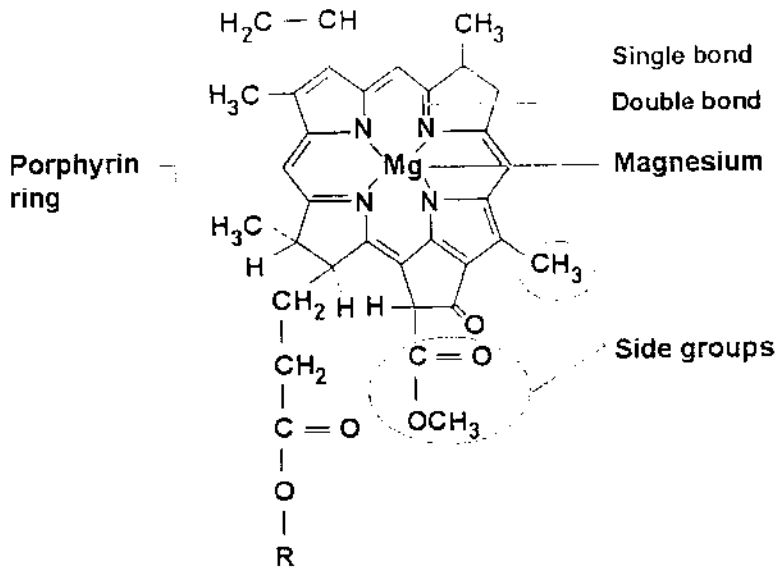
## รงควัตถุที่ทำหน้าที่สังเคราะห์ด้วยแสง




***รูปที่ 3. 2*** *แสดงการดูดกลืนคลื่นแสงที่ความยาวคลื่นต่างกันของรงควัตถุต่าง ๆที่ทำหน้าที่* สังเคราะห์ด้วยแสง (Starr, 1994)

Pigment ที่ทำหน้าที่ในการสังเคราะห์ด้วยแสงซึ่งมีความสามารถในการดูดกลืนแสงช่วงคลื่นต่างกัน (รูปที่ 3.2 ) แบ่งเป็น 3 กลุ่มคือ **chlorophylls, carotenoids** และ **phycobillins** สองกลุ่มแรกเป็น pigment ที่ไม่ละลายน้ำแต่ละลายในตัวทำละลายอินทรีย์ กลุ่มที่สามเป็นรงควัตถุที่สามารถละลายน้ำ

1. **Chlorophylls** เป็น pigment หลักใน chloroplast โมเลกุลของ chlorophyll ประกอบด้วย ส่วนหัวเป็น porphyrin ring (รูปที่ 3.3) ซึ่งมี magnesium atom อยู่กลางโมเลกุล ส่วนหางมี hydrocarbon chain เรียกว่า **phytoll** ส่วน side chains ที่ติดกับ porphyrin ring ของ chlorophyll ชนิดต่าง ๆ จะแตกต่างกัน ทำให้ความสามารถในการดูดกลืนพลังแสงต่างกัน โมเลกุลของ chlorophyll อยู่ในเยื่อ chloroplast โดยส่วนหัวอยู่ด้านที่เป็นโปรตีนส่วนหางซึ่งละลายได้ในไขมันอยู่ด้านไขมันของเยื่อผิว เมื่อ chlorophyll ดูดพลังแสง อนุภาค photon จะกระตุ้นให้ *electron ของ mangnesium อยู่ในสภาวะตื่นตัว (excited state) และ electron* ถูกส่งต่อจากอะตอมของ magnesium ไปยังอะตอมอื่นต่อไป

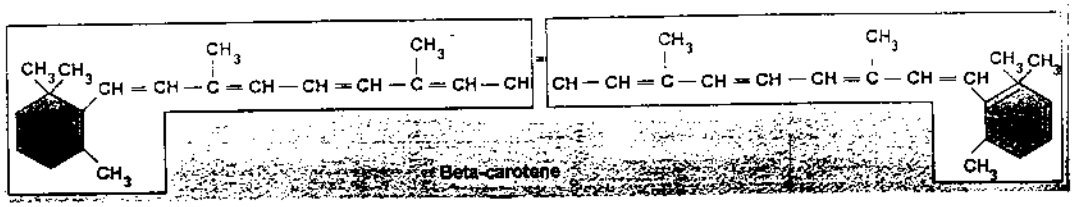



**รูปที่ 3.3** แสดงโครงสร้างของ chlorophyll (Raven and Johnson, 1995 a)

ในปัจจุบัน นักวิทยาศาสตร์พบว่า chlorophyll มี 5 ชนิดคือ chlorophyll a, b, c, d และ e แต่ chlorophyll ที่สำคัญซึ่งพบในพืชบกทุกชนิดคือ chlorophyll a สีเขียวแกมน้ำเงิน (blue-green) และ chlorophyll b สีเขียวแกมเหลือง (yellow-green) chlorophyll a ดูดกลืนแสงสีม่วงแกมน้ำเงิน (blue-violet) และแสงสีแดง ส่วน chlorophyll b ดูดกลืนแสงสีน้ำเงิน และ ส้ม chlorophyll ทั้งสองไม่สามารถดูดแสง หรือสะท้อนแสงที่มีความยาวคลื่นระหว่าง 500-600 nm ซึ่งเป็นแสงสีเขียว จึงทำให้เราเห็นใบพืชส่วนใหญ่เป็นสีเขียว แม้ chlorophyll มีคุณสมบัติที่สามารถดูดแสงเพียงช่วงคลื่นแคบ ๆ ใน spectrum แต่มีประสิทธิภาพในการดูดกลืนสูงเทียบกับรงควัตถุอื่น

2. **Carotenoids** ประกอบด้วย Carbon ring เชื่อมกับ hydrocarbon chain ซึ่งมี single และ double bond สลับกัน (รูปที่ 3.4 ) carotenoids สามารถดูดแสงที่มีพลังงานเป็นช่วงกว้าง คือแสงสีน้ำเงิน ความยาวคลื่นระหว่าง 400-500 nm และ สะท้อนแสงสีเหลือง และส้ม เป็น pigment ที่พบในพืชสีเหลืองหรือส้ม ประสิทธิภาพการดูดกลืนแสงของ carotenoid ไม่สูงนัก พบ carotenoids ที่เยื่อของ chloroplast ติดกับ chlorophyll ทำหน้าที่ดูดพลังงานแสงและ ถ่ายทอดต่อไปให้ chlorophyll a เพื่อใช้ในปฏิกิริยาการสังเคราะห์ด้วยแสง

carotenoids มี 2 ประเภทหลัก คือ carotenes สีส้ม และ carotenol หรือ xanthophylls ซึ่งมีสีเหลือง carotenoids ที่พบมากที่สุดในพืช ได้แก่ beta-carotene ซึ่งเป็นรงควัตถุสีส้มใน carrot carotenoids เป็นรงควัตถุที่เกี่ยวข้องในปฏิกิริยาการสังเคราะห์ด้วยแสงที่พบทั้งในพืช cyanobacteria และแบคทีเรีย




**รูปที่ 3.4** แสดงโครงสร้างของ beta-carotene ใน carrot ( ดัดแปลงจาก Raven and Johnson, 1995 a)

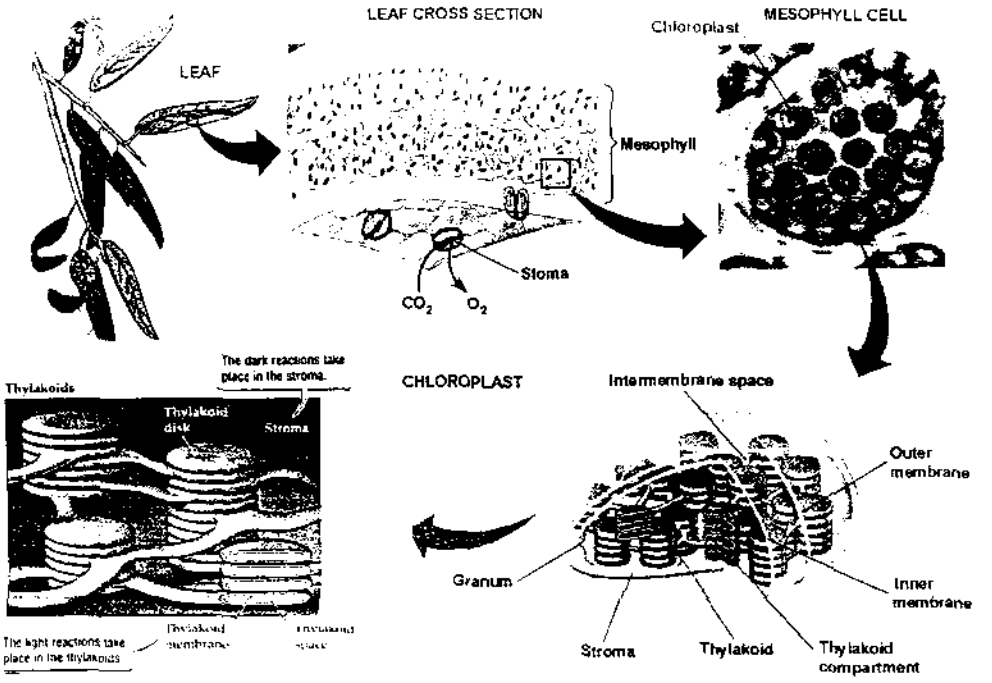
3. **Phycobilins** โครงสร้างประกอบด้วย pyrrole ring 4วง คล้ายกับ chlorophyll แต่เรียงกันเป็นเส้นตรงแทนที่จะเป็นวงแหวน ไม่มี Mg และไม่มี phytol group phycobillins พบมากในสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน (cyanobacteria) และ สาหร่ายสีแดง (red algae) เท่านั้น

phycobillins ประกอบด้วยสาร 2 ประเภทคือ สารสีแดง phycoerythrobilin และสีน้ำเงิน phycocyanobilin ทั้ง 2 ประเภทถ้าอยู่ในเซลล์ของสาหร่ายจะอยู่รวมกับโปรตีนเป็นสารประกอบเชิงซ้อน เรียกว่า **phycoerythrin** และ **phycocyanin**

พืชสีเขียว สาหร่ายทุกชนิด และแบคทีเรียที่สามารถสังเคราะห์ด้วยแสง มี chlorophyll a ทำหน้าที่เป็น**รงควัตถุหลัก (main pigment)** ซึ่งมีบทบาทโดยตรงในกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสง ส่วน chlorophyll b, carotenoids, phycobillins ทำหน้าที่เป็น **accessory pigment** ซึ่งหมายถึง pigment ที่ไม่ได้มีบทบาทโดยตรงในปฏิกิริยาการสังเคราะห์ด้วยแสง แต่เมื่อดูดกลืนแสง จะส่งพลังงานต่อให้ chlorophyll a เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการสังเคราะห์ด้วยแสง เนื่องจาก accessory pigment ต่างชนิด สามารถจับความยาวคลื่นแสงได้ในพิสัยกว้างกว่า และต่างจาก main pigment อันเป็นประโยชน์ต่อการสังเคราะห์ด้วยแสง

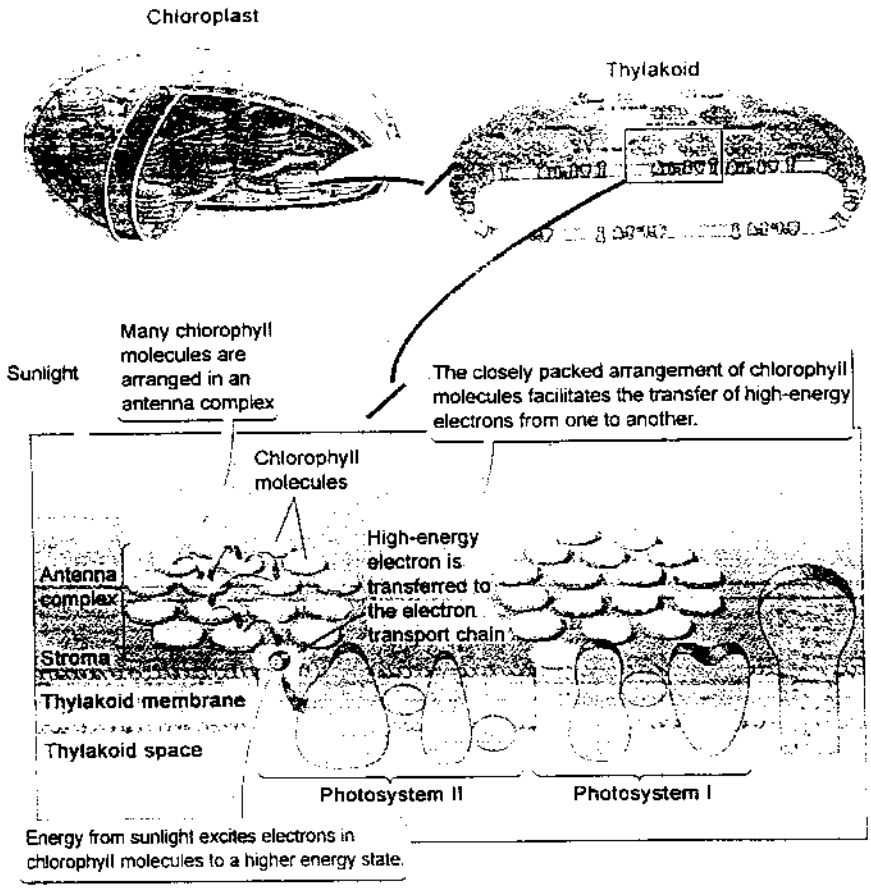
## องค์ประกอบของ Chloroplast

กระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสงเกิดที่ chloroplast ออร์แกนเนลที่เป็น plastid ชนิดหนึ่งภายในเซลล์เนื้อเยื่อของใบ หรือ **mesophyll cell** แต่ละ mesophyll cell มี chloroplast เป็นจำนวนมาก ปากใบ (stomata) เป็นบริเวณที่ $CO_2$ ผ่านเข้าสู่ใบ และบริเวณที่ $O_2$ ออกจากใบ (รูปที่ 3.5)




**รูปที่ 3. 5** ภาพใบไม้ตัดขวาง เพื่อแสดงตำแหน่ง และโครงสร้างของ chloroplast (ดัดแปลงจาก Campbell *et al., 2000)*

Chloroplast (รูปที่3.5) ประกอบด้วยเยื่อหุ้มสองชั้น คือเยื่อหุ้มชั้นนอก (outer membrane) และเยื่อหุ้มชั้นใน (inner membrane) ซึ่งล้อมรอบของเหลวข้นคล้ายวุ้น เรียก **stroma** ภายใน stroma มีเยื่อที่เกิดกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสง (photosynthetic membrane) ลักษณะเป็นถุงแบน เรียก **thylakoid** และ thylakoid หลายถุงเรียงซ้อนกันเป็นตั้ง เรียก **grana (เอกพจน์ = granum)** ส่วนที่ขึด grana เรียก **lamellae** (เอกพจน์ = lamella) พื้นที่ภายในถุงของ thylakoid เรียก **thylakoid compartment** หรือ **thylakoid space** ที่เยื่อ thylakoid (thylakoid membrane) มีโมเลกุลของ chlorophyll และรงควัตถุอื่นที่ใช้ในกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสง chlorophyll ทำหน้าที่จับ (capture) พลังงานจากแสง absorption spectrum ของ chlorophyll คล้ายคลึงกันมากกับ action spectrum ของกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสง ส่วนของ thylakoid membrane และ thylakoid space มีโปรตีนต่าง ๆ (รูปที่ 3.6) ที่ทำหน้าที่เปลี่ยนพลังงานแสงเป็นพลังงานในรูปพันธะเคมีในสารขนส่งพลังงาน (energy carrier) ATP และ NADPH ภายใน stroma มี DNA, RNA, ribosome และ enzyme ต่าง ๆ ที่ใช้ *energy carrier ในการสังเคราะห์น้ำตาลจาก $CO_2$และน้ำ*



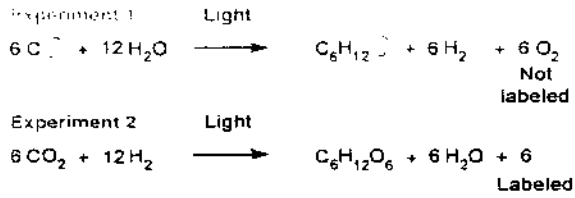

**รูปที่ 3. 6** แสดงการจัดเรียงตัวของรงควัตถุและโปรตีนต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสงที่ thylakoid membrane ของ chloroplast (Cain *et al.*, 2000)

## กระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสง

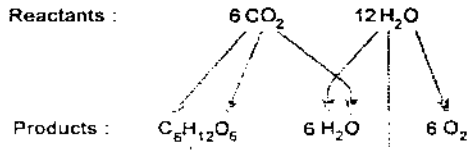
การสังเคราะห์ด้วยแสงเป็นกระบวนการที่พืช หรือสิ่งมีชีวิตอื่นที่สามารถจับพลังงานแสงและใช้ในการสังเคราะห์สารที่มีพลังงานสูง เช่นน้ำตาลจากก๊าซ $CO_2$ ในอากาศ และ hydrogen (จากน้ำ หรือแหล่งอื่นที่ให้ hydrogen) กระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสงประกอบด้วยปฏิกิริยาเคมีต่าง ๆ ที่ซับซ้อนต่อเนื่องกัน แต่สามารถสรุปเป็นสมการง่าย ๆ ดังนี้

$$6CO_2 + 12\,H_2O \longrightarrow C_6H_{12}O_6 + 6H_2O + 6O_2$$

จากการทดลองใช้ isotope ของ oxygen ($^{18}O$) เพื่อติดตามอะตอมของ oxygen ในกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสง นักวิทยาศาสตร์พบว่า ก๊าซ $O_2$ ที่เป็นผลผลิตจากการสังเคราะห์ด้วยแสงมาจากโมเลกุลของน้ำใน reactant ส่วนอะตอมของ oxygen ใน $CO_2$ และ hydrogen อะตอมของน้ำในด้าน reactant จะอยู่ในโมเลกุลของน้ำตาล และน้ำที่ถูกสังเคราะห์ ขึ้นใหม่ (รูปที่ 3.7) ดังนั้น โมเลกุลของน้ำด้านขวาไม่ได้มาจากโมเลกุลของน้ำเริ่มแรก แต่เป็นผลพลอยได้ (by product) ที่เกิดจากกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสง



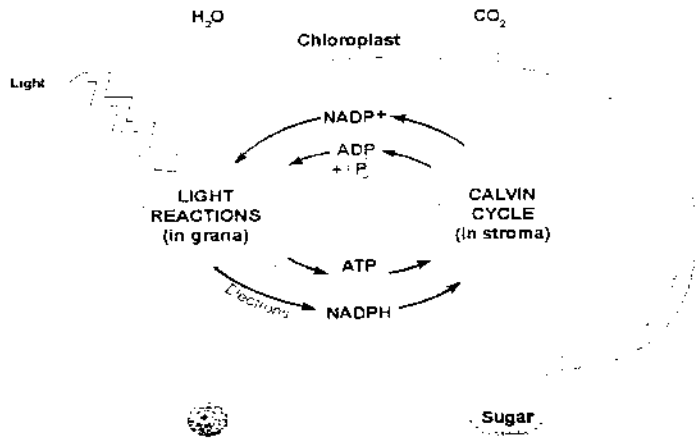

[A] Experiments tracking the oxygen atoms in photosynthesis




[B] Fates of all the atoms in photosynthesis

**รูปที่ 3. 7** แสดงการทดลองที่ติดตาม oxygen atom ในกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสง (A) และ fate ของอะตอมต่าง ๆ ในขบวนการสังเคราะห์ด้วยแสง (B) (Campbell *et al.*, 2000)

กระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสง ประกอบด้วยสองปฏิกิริยาหลักคือ **ปฏิกิริยาที่ใช้แสง (light-dependent reactions)** และ**ปฏิกิริยาที่ไม่ใช้แสง (light- independent reactions or dark reactions)** ใน light-dependent reactions เป็นขั้นตอนที่ chlorophyll ดูดพลังแสง และมีพลังงานสูง พลังนี้บางส่วนถูกใช้ในการแยก (split) น้ำ ได้ก๊าซ $O_2$ และเกิดการสร้าง ATP และ NADPH ส่วน dark reactions ใช้ ATP และ NADPH จาก light-dependent reaction ในการสังเคราะห์ carbodydrate ดังสรุปในรูปที่ 3.8




**รูปที่ 3. 8** สรุปสาระสำคัญที่เกิดขึ้นของ light-dependent reactions และ dark reactions (Calvin cycle) ใน chloroplast (Campbell *et al.*, 2000)

**ปฏิกิริยาที่ใช้แสง (Light-Dependent Reactions)**

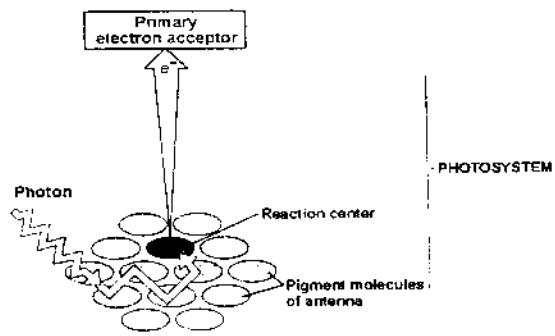
Light-dependent reactions เกิดที่ thylakoid membrane system ใน chloroplast เป็นปฏิกิริยาที่เกิดการสร้าง ATP ได้ต่อเมื่อมีแสงเท่านั้น และต้องมีน้ำ และ chlorophyll ซึ่งดูดพลังงานแสงในช่วงคลื่นที่เหมาะสม ประกอบด้วยเหตุการณ์สำคัญดังนี้คือ

1. มีการดูดพลังงานแสงโดย pigment ที่ thylakoid membrane และทำให้เกิด electron ที่มีพลังงานสูง (excited electron)
2. Excited electron ถูกส่งต่อกันเป็นทอด ๆ โดยสารลำเลียง electron (electron - carrier molecule) ใน electron transport chain ทำให้เกิดการสร้าง ATP และ และ reduce $NADP^+$ เป็น NADPH
3. Pigment ที่ดูดพลังแแสง ได้รับ electron ที่สูญเสียไปกลับคืน และพร้อมที่จะทำงานใหม่อีกรอบ

รายละเอียดของแต่ละเหตุการณ์ใน light-dependent reactions มีดังนี้คือ

**1 การดูดพลังแสงของ chlorophyll และ accessory pigments ใน photosystem**

เพื่อไม่ให้พลังงานแสงที่ถูกจับสูญเสียสู่สิ่งแวดล้อม chlorophyll a, chlorophyll b, carotenoid และ pigments อื่นซึ่งทำหน้าที่สังเคราะห์ด้วยแสง มีการจัดรวมตัวเป็นกลุ่มย่อยใน thylakoid membrane เรียก **antenna complex** แต่ละ thylakoid อาจมีกลุ่มย่อยหลายพันกลุ่ม แต่ละกลุ่มประกอบด้วย pigment 200-300 โมเลกุล และมี chlorophyl a รูปพิเศษหนึ่งโมเลกุลเป็น**ศูนย์ปฏิกิริยากลาง (reaction center)** ทำหน้าที่ส่ง excited electron ให้กับ primary electron acceptor กระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสงเริ่มจากเมื่อ pigment ต่าง ๆ ดูดแสง พลังงานจะถูกส่งต่อไปยัง pigment โมเลกุลข้างเคียงเป็นทอด ๆ จนถึง reaction center ซึ่งรวบรวมพลังงานจาก pigment อื่นทั้งหมด ในกลุ่ม ส่ง excited electron ให้ primary electron acceptor และ excited electron จะถูกส่งผ่านกลุ่มโปรตีนที่เป็น carrier หนึ่งไปยังอีก carrier หนึ่งเป็นลูกโซ่ใน electron transport chain (ETC) ที่บริเวณข้างเคียงใน thylakoid membrane antenna molecule, reaction center และ electron acceptor ประกอบกันเป็นหนึ่ง **photosystem** (รูปที่ 3.9)



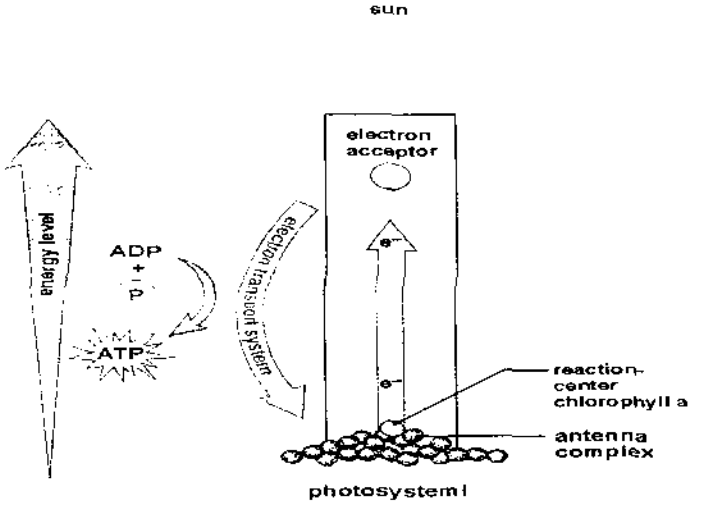

**รูปที่ 3. 9** แสดงส่วนประกอบของ phostosystem (Campbell *et al.*, 2000)

กายใน thylakoid มี photosystem 2 ระบบคือ photosystem I (PSI) และ photosystem II (PSII) *photosystem I (ancient bacterial photosystem)* มี chlorophyll a เป็น reaction center เรียกว่า **P700** เพราะมีคุณสมบัติดูดแสงสีแดงที่ความยาวคลื่น 700 nm ได้ดีที่สุด Photosystem II มี reaction center เรียกว่า **P680** เพราะมีคุณสมบัติดูดแสงสีส้มแดงที่ความยาวคลื่น 680 nm ได้ดีที่สุด ถึงแม้reaction center ทั้งสองต่างเป็น chlorophyll a โมเลกุล แต่อยู่ร่วมกับโปรตีนที่แตกต่างกันใน thylakoid membrane ทำให้การดูดแสงมีความแตกต่างกันเล็กน้อย

**II Electron pathway ในการสร้าง ATP**

การสร้าง ATP ในกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสง เรียก **photophosphorylation** photosystem ทั้ง 2 ประเภทใน thylakoid membrane สามารถใช้ระบบการขนส่ง electron ที่แตกต่างกันเพื่อสร้าง ATP ซึ่งมี 2 วิถีทาง คือ

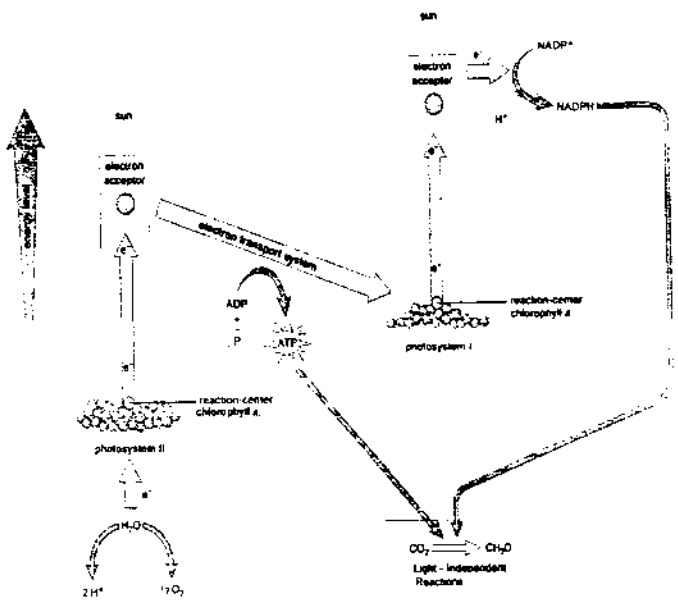
1. **Cyclic Electron Pathway หรือ Cyclic Photophosphorylation** เป็นการถ่ายทอด electron ที่เกี่ยวข้องเฉพาะ PSI excited electron จาก PSI reaction center (P700) ถูกส่งให้ electron acceptor ซึ่งส่ง electron ต่อสู่ระบบการขนส่ง electron (electron transport system) และวกกลับสู่ P700 อีกครั้ง พลังงานซึ่งปลดปล่อยระหว่างที่มีการถ่ายทอด electron ใช้ในการสร้าง ATP จาก ADP และ หมู่ phosphate *(รูปที่ 3. 10 ) cyclic electron pathway เป็น pathway* เก่าแก่ใช้ใน green sulfur bacteria และในพืชหรือหญ้าบางชนิด แต่พืชส่วนใหญ่ใช้ noncyclic photophosphorylation ในการสร้าง ATP ร่วมกับ cyclic photophosphorylation




**รูปที่ 3 .10** แสดงการสร้าง ATP ด้วย cyclic pathway (Mader, 2001)

**2. Noncyclic Electron Pathway หรือ Noncyclic Photophosphorylation** เป็นการถ่ายทอด electron ที่เกี่ยวข้องทั้ง **PSI และ PS II** และมีน้ำเกี่ยวข้องด้วย ขบวนการนี้พบโดย Robin Hill จึงมีชื่อว่า ***Hill's reaction*** *การถ่ายทอด electron* โดยใช้ noncyclic electron pathway

เกิดการสร้างATP, NADPH และมีการแยก หรือ oxidized น้ำ ได้ $H^+$ , electron และ ก๊าซ $O_2$ ดัง แสดงในรูปที่ 3.11




**รูปที่ 3.11** แสดงการสร้าง ATP และ NADPH ด้วย noncyclic electron pathway (Mader, 2001)

Noncyclic electron pathway เริ่มจากพลังงานถูกดูดโดย PS II ทำให้ excited electron จาก reaction center PS II (P680) ถูกส่งต่อเป็นทอด ๆ ให้ electron acceptor ต่าง ๆ ใน electrotransport chain ข้างเคียง electron ที่สูญเสียไปของ P680 ใน PS II ถูกชดเชยโดย electron ที่ได้จากการแตก ตัวโมเลกุลของน้ำ (รูปที่ 3.11) ระหว่างที่ excited electron เข้าสู่ electron transport chain และ เดินทางสู่ PS I เกิดการสังเคราะห์ ATP ด้วยวิธี chemiosmosis electron ที่เดินทางมายัง PSI มี พลังลดลงเรื่อย ๆ ประกอบกับ pigment ที่ PS I ดูดพลังแสง ทำให้เกิด excited electron ซึ่งถูกส่ง ต่อไปยัง reaction center PSI (P700) เกิดระบบการถ่ายทอด electron เป็นครั้งที่สอง P700 ถ่ายทอดพลังงานให้กับ electron acceptor ซึ่ง ส่ง 2 electron ให้กับ $NADP^+$ เป็น NADPH ดังนั้น ใน noncyclic photophosphorylation **พลังงานใน PSII ใช้ในการสร้าง ATP และพลังงานใน PSI ใช้ ในการสร้าง NADPH** ทั้ง ATP และ NADPH ที่ได้จะถูกนำไปใช้ใน light-independent reaction ต่อไป

การที่พืชสร้าง ATP โดยใช้ 2 photosystem เป็นวิวัฒนาการมาจากการใช้ photosystem I ที่ primitive bacteria ใช้สร้าง ATP เพื่อการสังเคราะห์ organic molecules พืชสีเขียว algae เกือบ ทั้งหมด และ cyanobacteria ใช้ระบบ noncyclic photophosphorylation หรือ 2 photosystem ในการ สร้าง ATP ทั้งสิ้น

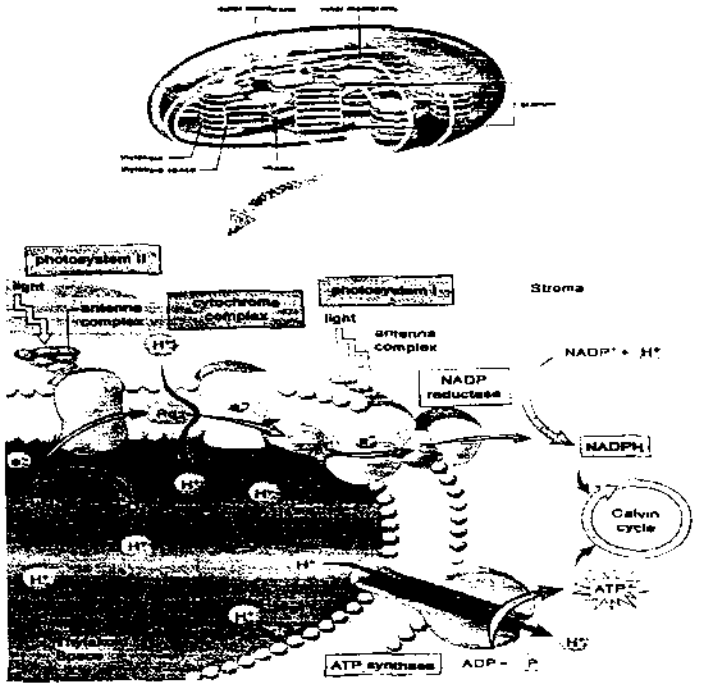
**III การรับ electron ที่สูญเสียไปของ pigment (Pigment Regeneration)**

*P680 หลังจากสูญเสีย e ให้กับ PSI จะขาด electron แต่สามารถดึง electron จาก Z โปรตีน* ซึ่ง ดึง electron จากน้ำอีกต่อหนึ่งโดยใช้ขบวนการ **photolysis** แยกโมเลกุลของน้ำซึ่งสามารถแทนด้วยสมการได้ดังนี้

$$H_2O \longrightarrow 2e^- + 2H^+ + 1/2\ O_2$$

electron ที่ได้จากการแยกน้ำถูกส่งต่อให้ P680 เพื่อ reduced chlrophyll a $2H^+$ ถูกส่งเข้า thylakoid space เพิ่มความเข้มข้นของ proton ใน membrane และเพิ่ม chemiosmotic gradient ส่วน oxygen ที่เกิดสามารถรวมตัวกันได้ก๊าซ $O_2$ เกิดขึ้น ดังนั้นการเกิด noncyclic photophosphorylation 2 ครั้งจะให้ $O_2$ 1 โมเลกุลแก่บรรยากาศโลก

ภาพรวมของการเกิดปฏิกิริยาที่ใช้แสงในกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสง เพื่อสร้าง ATP ด้วยวิธี chemiosmosis และ reduce $NADP^+$ เป็น NADPH ในพืช แสดงไว้ในรูปที่ 3. 12




**รูปที่ 3.12** แสดงรายละเอียดของการสร้าง ATP โดยวิธี chemiosmosis และการเกิด NADPH ใน ปฏิกิริยาที่ใช้แสงของกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสงในพืช ภาพแสดงการจัดเรียงตัวของ carrier protein ที่ thylakoid membrane โดยมี cytochrome complex เป็น กลุ่มโปรตีนที่ทำ *หน้าที่ขนส่ง electron ระหว่าง PSII และ PSI และ enzyme NADP reductase ซึ่งอยู่ติดกับ* protein complex ที่ PSI ทำหน้าที่ reduce $NADP^+$ เป็น NADPH (Mader, 2001)

จากรูปที่ 3. 12 พลังแสงที่ถูกดูดโดย ที่ PS II ทำให้เกิด excited electron ซึ่งควบ (couple) โดยตรงกับการกระตุ้นให้เกิด oxidize หรือการแตกตัว (Photolysis) ของน้ำ $2H^+$ ที่ได้จากการแตกตัวของน้ำยังคงอยู่ใน thylakoid space แต่ electron ถูกโปรตีนส่งให้กับ P680 ที่PSII ซึ่ง

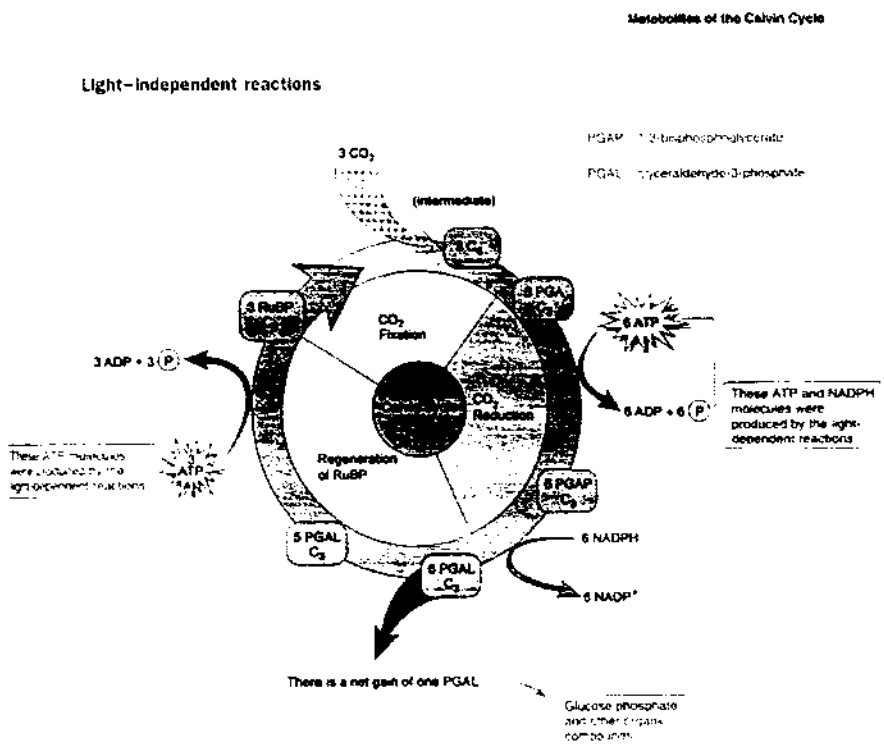
เสีย electron ให้กับ โปรตีนที่ทำหน้าที่รับและส่ง electron (carrier protein) ประเภท ต่าง ๆ ใน electron transport chain ที่ thylakoid membrane ข้างเคียง ขณะที่ electron เคลื่อนที่ผ่าน carrier protein จาก PS II มายัง PSI พลังงานบางส่วนจะถูกใช้ในการปั๊ม proton จาก stroma ผ่านเยื่อเข้าสู่ thylakoid space และเมื่อ plastoquinone (Pq) ซึ่ง เป็น mobile carrier รับและส่ง electron ไปยัง cytochrome complex จะเกิดการส่ง $H^+$ ข้าม membrane เข้ามายัง thylakoid space นอกจากนั้น $H^+$ ใน stroma มี $NADP^+$ มารับ และถูก reduce เป็น NADPH ทั้ง 3 ขั้นตอนดังกล่าว ก่อให้ความเข้มข้นของ $H^+$ ใน thylakoid space สูงกว่าใน stroma และความแตกต่างของปริมาณ $H^+$ระหว่างเยื่อ ($H^+$ gradient) ทำให้เกิดการแพร่กลับของ $H^+$ จาก thylakoid space สู่ stroma ผ่าน ATPase และเกิดแรงผลักดัน (protonmotive force) ให้เกิดการสร้าง ATP ด้วยวิธี chemiosmosis

Electron ที่เดินทางมายัง PSI จะมีพลังงานลดลงเรื่อย ๆ แต่ ยังไม่สูญเสีย พลังงานทั้งหมด ประกอบกับ pigment ใน PSI ดูดพลังแสงไว้แล้ว *electron* จึงได้รับพลังงานกระตุ้นครั้งที่สอง ทำให้เกิด excited electron ซึ่งถูกส่งต่อไปยัง reaction center PSI P700 เกิดระบบการถ่ายทอด electron เป็นครั้งที่ สอง P700 ถ่ายทอดพลังงานให้กับ electron acceptor ซึ่ง ส่ง 2 electron ให้กับ $NADP^+$ เป็น NADPH ผลลัพธ์ที่ได้จากปฏิกิริยาที่ใช้แสงของกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสงในพืช คือ ATP และ NADPH ซึ่งถูกนำไปใช้ต่อในขบวนการสร้าง glucose ต่อไปใน ปฏิกิริยาที่ไม่ใช้แสง

**ปฏิกิริยาที่ไม่ใช้แสง (light- independent reactions หรือ dark reactions)**

Light-independent reaction เป็นปฏิกิริยาที่ไม่จำเป็นต้องใช้แสง สามารถเกิดได้ทั้งที่มีแสงและไม่มีแสง เกิดที่ stroma ของ chloroplast และประกอบด้วยปฏิกิริยาต่าง ๆ ที่เป็นวัฏจักร เรียกว่า **Calvin cycle** โดยตั้งชื่อตามนักวิทยาศาสตร์ผู้ค้นพบซึ่งทำให้ได้รับรางวัลโนเบลในปีค.ศ. 1961 คือ **M. Calvin และ A.A. Benson** บางครั้งจึงเรียกปฏิกิริยาว่า **Calvin-Benson cycle** เอนไซม์ต่าง ๆที่ใช้ในปฏิกิริยา อยู่ในส่วน stroma ของ chloroplast

*เหตุการณ์สำคัญที่เกิดใน light-independent reaction คือพืชใช้พลังงานจาก ATP และ* NADPH ที่ได้จาก light-dependent reaction ในการ reduce $CO_2$ให้เป็น glucose โดยใช้ C, O จากก๊าซ $CO_2$ ในบรรยากาศ และ H จาก น้ำซึ่งส่งผ่านโดย NADPH อาจเรียก**กระบวนการในการนำ $CO_2$ มาเปลี่ยนให้เป็น glucose** ที่เกิดขึ้นนี้ว่า **การตรึง $CO_2$ (carbon fixation)** รูปที่ 3.13 แสดงขั้นตอนต่าง ๆ ใน carbon fixation หรือ Calvin cycle




รูปที่ 3.13 แสดงปฏิกิริยาที่ไม่ใช้แสงใน Calvin cycle (Mader, 2001)

รายละเอียดของการเกิดปฏิกิริยา ใน Calvin cycle (รูปที่ 3.13 ) แบ่งได้เป็น 3 ขั้นตอนคือ

1. **Carbon fixation** ประกอบด้วยปฏิกิริยา เดียวคือ $CO_2$ ในอากาศจับกับสารประกอบคาร์บอน 5 อะตอม **ribulose 1, 5 biphosphate (RuBP)** ได้ผลผลิตเป็นคาร์บอน6 อะตอมที่ไม่สเถียร แตกตัวทันทีเป็น 2 โมเลกุลของ **phosphoglycerate (PGA)** เอนไซม์ที่ใช้คือ **RuBP carboxylase** หรือเรียกง่าย ๆ ว่า **rubisco** เป็นเอนไซม์ที่มีปริมาณสูงถึง 25-50% ของโปรตีนทั้งหมดใน chloroplast สาเหตุที่เอนไซม์มีปริมาณสูง เพราะมีประสิทธิภาพในการทำงานต่ำ

2. **Reduction of carbon dioxide** ประกอบด้วย 2 ปฏิกิริยาเพื่อเปลี่ยน PGA เป็น **PGAL ( Glyceraldehyde -3-phosphate หรือ 3- P phosphoglyceraldehyde )** โดยใช้พลังงานจาก ATP และใช้ NADPH เพื่อ reduce $CO_2$ ต่อไปเป็น carbohydrate ในปฏิกิริยาแรก เกิดการเติม $PO_4$ group ที่ได้จากการสลายของ ATP ให้กับ PGA ได้ PGAP (1, 3- biphosphoglycerate ) ในปฏิกิริยาที่สอง PGAP รับ electron และ $H^+$ จาก NADPH พร้อมกับเสีย $PO_4$ หนึ่ง group เกิดเป็น **PGAL**

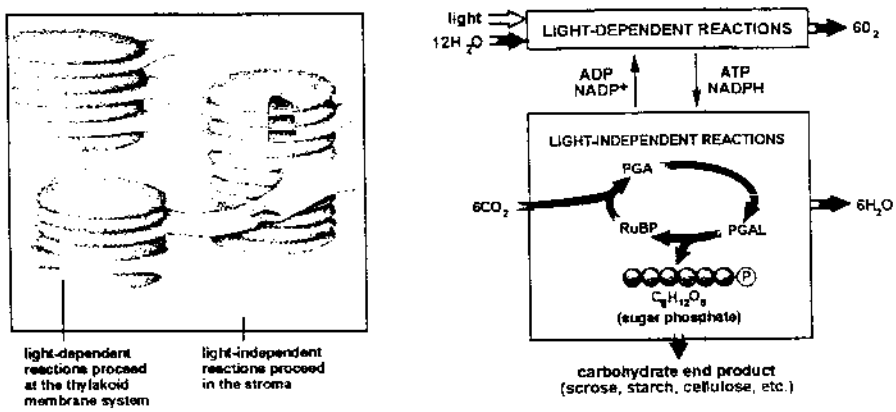
3. **Regeneration of RuBP** ประกอบด้วยปฏิกิริยาที่ซับซ้อน 7 ปฏิกิริยา เพื่อเปลี่ยน PGAL ให้เป็น RuBP โดย 5 โมเลกุลของ PGAL ถูกเปลี่ยนเป็นน้ำตาลที่มีคาร์บอน 5 อะตอม ribulose 5 phosphate (Ru5P) และรับ $PO_4$ group จาก ATP เปลี่ยนเป็น 3 โมเลกุลของ RuBP กลับคืน เพื่อเริ่มวัฏจักรใหม่ได้อีกรอบ

PGAL ที่เหลืออีก 1 molecule จะถูกนำไปรวมกับอีกหลาย ๆ โมเลกุลของ PGAL ซึ่งเป็นผลผลิตจาก Calvin cycle หลาย ๆ รอบ เพื่อสร้างเป็นน้ำตาลที่มีโมเลกุลขนาดเล็ก เช่น glucose

หรือสร้างน้ำตาลที่มีโมเลกุลขนาดใหญ่ขึ้น เช่น starch, cellulose โดยอาศัย glucose เป็น building block

จาก Calvin cycle ที่แสดงในรูปที่ 3. ถ้าเริ่มจาก 3 RuBP รวมกับ 3 $CO_2$ ได้ 6 PGA ซึ่งใช้ 6 ATP และ 6 NADPH ในการเกิด 6 PGAL ซึ่งโมเลกุลส่วนใหญ่ 5 PGAL จะถูกเปลี่ยนเป็น 3 RuBP โดยการใช้ อีก 3 ATP ดังนั้นใน **Calvin cycle มีการใช้ 9 ATP 6 NADPH เพื่อให้เหลือ 1 PGAL ที่ใช้ในการสร้างน้ำตาล** เนื่องจากการสร้าง glucose หนึ่งโมเลกุล จำเป็นต้องใช้ 2 PGAL **ดังนั้น Calvin cycle ต้องเกิด 6 รอบในการสร้าง 1 โมเลกุลของ glucose**

## ภาพรวมของปฏิกิริยาในกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสง




**รูปที่ 3. 14** แสดงภาพรวมและความสัมพันธ์ระหว่าง light-dependent และ light-independent ในกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสง (Starr, 1994)

จากรูปที่ 3. 14 สามารถสรุปภาพรวมของกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสงได้ดังนี้คือ กระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสงในพืช เกิดที่ chloroplast ใน mesophyll cell ของใบ ประกอบด้วยสองปฏิกิริยาหลักคือ light-dependent reaction เกิดที่ thylakoid membrane system และ light-independent reaction เกิดใน stroma ปฏิกิริยาทั้งสองมีความสัมพันธ์กันคือ Light-dependent reaction ใช้พลังแสง และน้ำ ในการสร้าง ATP และ NADPH พร้อมผลพลอยได้คือก๊าซ $O_2$ ทั้ง ATP และ NADPH ที่เป็น energy carrier molecule จะเข้าสู่ stroma และถูกใช้ในการสังเคราะห์ glucose ใน light-independent reaction ADP และ $NADP^+$ ที่ออกจาก light-independent reaction จะกลับคืนสู่ light-dependent reaction เพื่อถูกเปลี่ยนกลับเป็น ATP และ NADPH อีกครั้ง

## Photorespiration

Photorespiration คือกระบวนการที่พืช $C_3$ ใช้ $O_2$ และ สร้าง $CO_2$ ซึ่งกลับกับการทำงานของการสังเคราะห์ด้วยแสงซึ่งใช้ $CO_2$ และให้ก๊าซ $O_2$ photorespiration เกิดในตอนกลางวันที่แดดจ้า ร้อน และแห้ง พืชจะปิดปากใบเพื่อป้องกันการสูญเสียน้ำ ก๊าซ $CO_2$ ผ่านเข้าเซลล์ทางปากใบไม่ได้ ทำให้ความเข้มข้นของ $CO_2$ ในใบต่ำ ในขณะที่ $O_2$ ซึ่งเป็นผลพลอยได้จากกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสงมีความเข้มข้นสูง เมื่อปริมาณของ $O_2$ สูง **RuBP carboxylase** สามารถจับ $O_2$ แทน $CO_2$ โดยใช้ active site ร่วมกับปฏิกิริยาการตรึง carbon เกิดปฏิกิริยาได้เป็นสารประกอบ PGA และ phosphoglycolate PGA ยังคงอยู่ใน Calvin cycle แต่ phosphoglycolate จะทำปฏิกิริยาต่อไปโดยเข้าสู่ glycolate pathway และระหว่างปฏิกิริยาใน pathway มีการปล่อย $CO_2$ ออกสู่สิ่งแวดล้อมภายนอก ปฏิกิริยาที่เริ่มเมื่อเกิด oxidation ของ RuBP โดย RuBP carboxylase เรียกว่า **photorespiration** เพราะเกิดเฉพาะช่วงที่มีแสง (photo) เท่านั้น มีการใช้ $O_2$ และปล่อย $CO_2$ คล้ายกับการหายใจ แต่ต่างจาก cellular respiration ซึ่งเกิดใน mitochondria กระบวนการ photorespiration ลดประสิทธิภาพของกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสง เพราะได้ PGA เพียงหนึ่งโมเลกุล ในขณะที่การเกิด carbon fixation ได้ 2 PGA Photorespiration ยังเป็นปฏิริยาที่สิ้นเปลือง เพราะนอกจากไม่เกิดการสังเคราะห์ ATP หรือ NADPH แล้วยังใช้ ATP และ NADPH พร้อมกับปล่อย $CO_2$ ทิ้ง

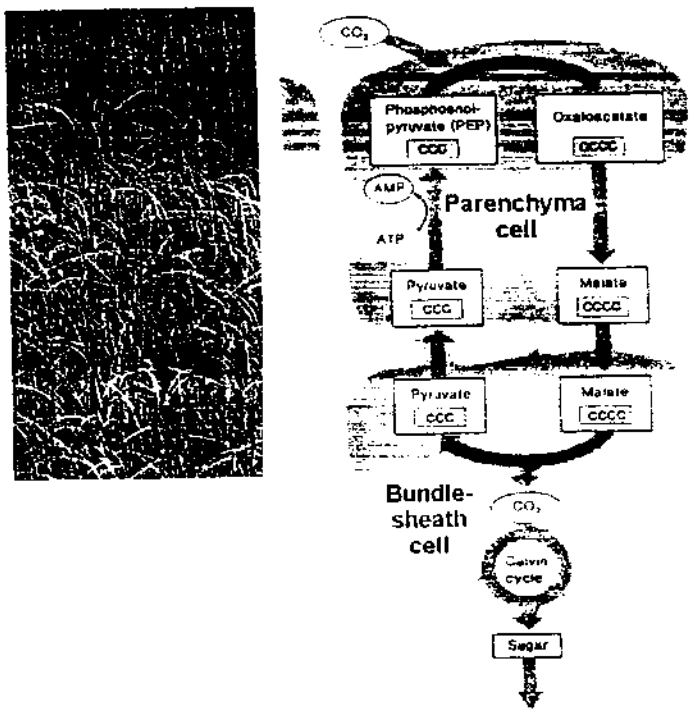
## ***Mode of Photosyntheis***

### $C_3$ Photosynthesis

ในพืชประเภท $C_3$ เช่น kentucky blue grass ถั่ว ยาสูบ ข้าว และพืชเมืองร้อนส่วนใหญ่ เป็นต้น มีการตรึง $CO_2$ ใน mesophyll cell Calvin cycle ในพืชประเภทนี้ให้ **PGAL** ซึ่งเป็นโมเลกุลที่มี 3C (จึงเรียกพืชประเภทนี้ว่า $C_3$ plant) ในระหว่างที่อากาศร้อนจัดๆ $C_3$ อาจจะเสีย C ที่ใช้ในการตรึง C ในปฏิกิริยาสังเคราะห์ด้วยแสง ถึง 25-50% โดยกระบวนการ photorespiration ทั้งนี้เพราะ oxidative activity ของ RuBP carboxylase จะสูงกว่า carbon-fixing activity เมื่ออุณหภูมิสูง ( >28°C ) เมื่ออากาศร้อนจัดตอนกลางวันรูใบปิดเพื่อลดการสูญเสียน้ำ gas $CO_2$ ผ่านเข้าไม่ได้ เกิดการสะสม $O_2$ ขึ้นในใบเนื่องจากเป็น product ของการสังเคราะห์ด้วยแสง $O_2$ ที่เพิ่มขึ้นไปแย่งจับกับ RuBP เกิด photorespiration แทน ในช่วงวันที่ร้อนและแห้ง ครึ่งหนึ่งของคาร์บอนที่ถูกตรึงใน Calvin cyle ในพืช $C_3$ อาจจะถูกปล่อยออกโดย photorespiration แต่พืชเมืองร้อนบางชนิด (tropical environments) มี 2 วิธีในการเพิ่มประสิทธิภาพของการสังเคราะห์ด้วยแสงคือแบบ $C_4$ photosynthesis และ CAM photosynthesis

**$C_4$ photosynthesis**

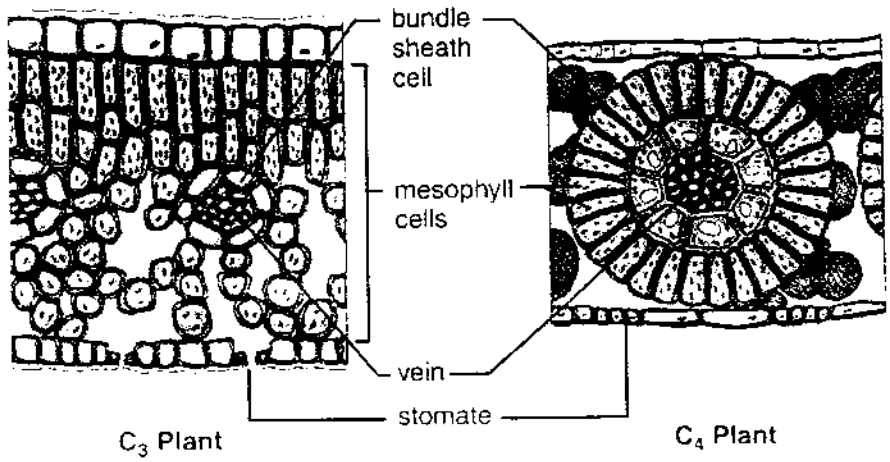
ในพวกพืชประเภท $C_4$ เช่น อ้อย ข้าวโพด ข้าวฟ่าง และพืชในตระกูลหญ้า สามารถที่จะสังเคราะห์ด้วยแสงได้ดีถึงแม้จะมีระดับของ $CO_2$ ต่ำ ซึ่งในปี ค.ศ. **M.D. Hatch และ C.R. Slack** พบว่าภายใน mesophyll cell ของพืช $C_4$ เอนไซม์ Phosphoenolpyruvate carboxylase จะตรึง $CO_2$ กับ Phosphoenolpyruvate (PEP) ซึ่งเป็นโมเลกุลที่มี C 3 อะตอม ได้สารที่มี $C_4$ อะตอมคือ **oxaloacetate** (จึงเรียกพืชประเภทนี้ว่า พืช $C_4$) oxaloacetate ถูกเปลี่ยนต่อเป็น malate หรือ aspartate แล้วแต่ชนิดของพืช แต่ในพืชส่วนใหญ่มักเกิด malate (รูปที่ 3. 15) malate จะถูกขนส่งจาก parenchymal cell ซึ่งเกิด C fixation ไปยัง bundle-sheath cell ซึ่งอยู่ติดกับ mesophyll cell ใกล้กับ veins ก๊าซ $CO_2$ ไม่สามารถผ่านเข้าออก bundle-sheath cell ได้ malate ใน bundle - sheath cell จะเกิดการแตกตัวให้ $CO_2$ และ ได้ pyruvate $CO_2$ จะเข้าสู่ Calvin cycle เกิดการสร้างน้ำตาล ส่วน pyruvate กลับเข้าสู่ parenchymal cell และถูกเปลี่ยนกลับเป็นสารตั้งต้น PEP ด้วยการสลายพันธะพลังงานสูงของ $PO_4$ 2 หมู่ จาก ATP ไปเป็น AMP เรียก ขบวนการที่เกิดขึ้นนี้ว่า **Hatch-slack cycle หรือ C4 cycle**




**รูปที่ 3.15** แสดง C fixation ในพืช C4 (Raven and Johnson, 1995 a)

ถึงแม้ C fixation โดย RuBP เกิดได้ช้ามากในกรณีที่ $CO_2$ น้อย **แต่พืช $C_4$ มีความสามารถในการตรึง C ได้ดีกว่า $C_3$ มาก** พืช $C_4$ สามารถใช้ PEP ในการตรึง $CO_2$ ได้อย่างมีประสิทธิภาพ และ นำ $CO_2$ ที่ได้เก็บสะสมใน bundle sheath cell ทำให้มีความเข้มข้นของ $CO_2$ สูงอยู่ตลอดเวลา และเกิด C fixation โดย Calvin cycle อย่างรวดเร็ว เนื่องจาก $CO_2$ และ $O_2$ แข่งขันกันจับที่ active site เดียวกันของเอนไซม์ เมื่อความเข้มข้นของ $CO_2$ สูง จึงเกิดปฏิกิริยา แบบ carbon fixation เท่านั้น และยับยั้งการเกิด photorespiration **เนื่องจากพืช $C_3$ ไม่มี chloroplast ใน buncle sheath cell จึงมีการตรึง C แบบ $C_3$ pathway เท่านั้น ส่วนพืช$C_4$ใช้ทั้ง 2 pathway คือ Hatch-slack pathway ($C_4$ pathway) และ $C_3$ pathway** (รูปที่ 3. 16)

[A]




[B] $RuBP + CO_2 \xrightarrow{\text{RuBP carboxylase}} 2PGA$ (พืช $C_3$)

$PEP + CO_2 \xrightarrow{\text{PEPCase}} \text{oxaloacetate}$ (พืช $C_4$)

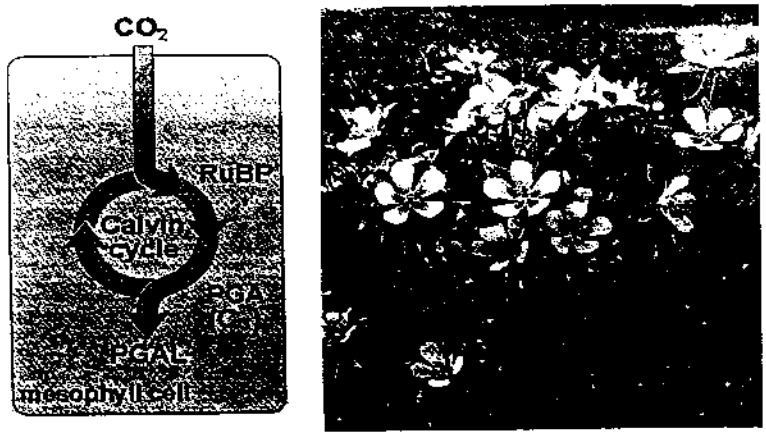
**รูปที่ 3.16** แสดงโครงสร้างของใบ (A) และการตรึง $CO_2$ (B) ที่แตกต่างกันระหว่างพืช $C_3$ และ $C_4$ (Mader, 2001)

**CAM photosynthesis**

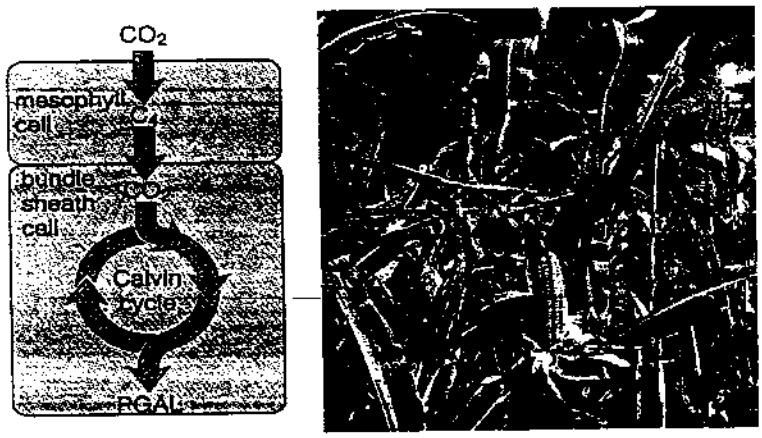
CAM (crassulacean acid metabolism) photosynthesis เป็นอีกวิธีหนึ่งที่พืชใช้ในการเพิ่มประสิทธิภาพของการสังเคราะห์ด้วยแสง การใช้กระบวนการ CAM photosynthesis เป็นการตรึง C ในขณะที่ไม่มีแสง เกิดขึ้นกับพืชที่มีใบหนาอวบน้ำ (succulent plant) การศึกษาเกี่ยวกับ CAM photosynthesis กระทำครั้งแรกใน family Crassulaceae เช่น กระบองเพชร สับปะรด กล้วยไม้

เฟิร์นบางชนิด Spanish moss และ wax plant เป็นต้น การสังเคราะห์ด้วยแสงแบบนี้เป็นการปรับตัวต่อความแตกต่างของอุณหภูมิและความชื้นระหว่างเวลากลางคืนและกลางวันในทะเลทราย **ในเวลากลางคืน** เมื่ออุณหภูมิลดลง และความชื้นสูงขึ้น **ปากใบในพืชพวก CAM จะเปิด** และ $CO_2$ ผ่านเข้าไปในพืช **ส่วนในเวลากลางวันที่ร้อนและแห้ง ปากใบจะปิดเพื่อป้องกันการสูญเสียน้ำซึ่ง** กลับกับพืชส่วนใหญ่ พืช CAMมีการตรึง $CO_2$ จากอากาศข้างนอกในเวลากลางคืน $CO_2$ รวมกับ PEP ได้ OAA เปลี่ยนเป็น malic acid สะสมไว้ใน vacuole ของ mesophyll cell ส่วนในเวลากลางวัน เมื่อรูใบปิด malic acid แตกตัวให้ $CO_2$ เพื่อใช้ใน Calvin cycle ดังนั้น **พืช CAM จึงมีการตรึง C 2 ครั้งเช่นเดียวกับพืช $C_4$ คือมีการใช้ทั้ง $C_3$ และ $C_4$ pathway แต่เกิดคนละเวลา พืช CAM ใช้ $C_4$ pathway ตอนกลางคืน และ $C_3$ pathway ตอนกลางวัน ส่วนพืช$C_4$ ใช้ทั้ง 2 pathway ในเวลาเดียวกันตอนกลางวัน แต่เกิดในเซลล์ที่ต่างกัน** พืชพวก CAM สามารถปรับตัวในที่แห้งแล้งมาก ๆ *เช่นในทะเลทราย ซึ่งถ้าปากใบเปิดตอนกลางวันจะสูญเสียน้ำจนมีชีวิตอยู่ไม่ได้*

การแบ่งการสังคราะห์ด้วยแสงทั้ง 3 ประเภทตามการตรึง $CO_2$ แสดงในรูปที่ 3.17 ซึ่งสรุปได้ดังนี้คือ แบบ $C_3$ photosynthesis พืช $C_3$ ใช้ RuBP carboxylase ตรึง $CO_2$ ของ RuBP โดยใช้$C_3$ pathyway (Calvin cycle) ที่ mesophyll cell แบบ $C_4$ photosynthesis พืช $C_4$ ใช้ PEP carboxylase ในการตรึง $CO_2$ ให้กับ PEP ที่ mesophyll cell ได้ OAA โดย $C_4$ pathway OAA ถูกปั๊มเข้าสู่ bundle shealth cell และเกิด $C_3$ pathway ต่อ ส่วน CAM photosynthesis พืช CAM ตรึง $CO_2$ โดยใช้ $C_4$ *pathway* ตอนกลางคืน เปลี่ยนเป็น malic acid เก็บสะสมใน vaccuole และเกิด $C_3$ pathway ในตอนกลางวัน ความแตกต่างของการสังเคราะห์ด้วยแสงแบบต่าง ๆ ทำให้พืชสามารถจับและใช้พลังงานแสงในสิ่งแวดล้อมที่แตกต่างกันได้ พืชประมาณ 85% เป็น พืช $C_3$ 0.4% เป็นพืช $C_4$ และ 10% เป็นพืช CAM ส่วนที่เหลือเป็นพืชที่ใช้วิธี $C_3$, $C_4$ และ CAM รวมกัน




$CO_2$ fixation in a $C_3$ plant, blue columbine, *Aquilegia caerulea*

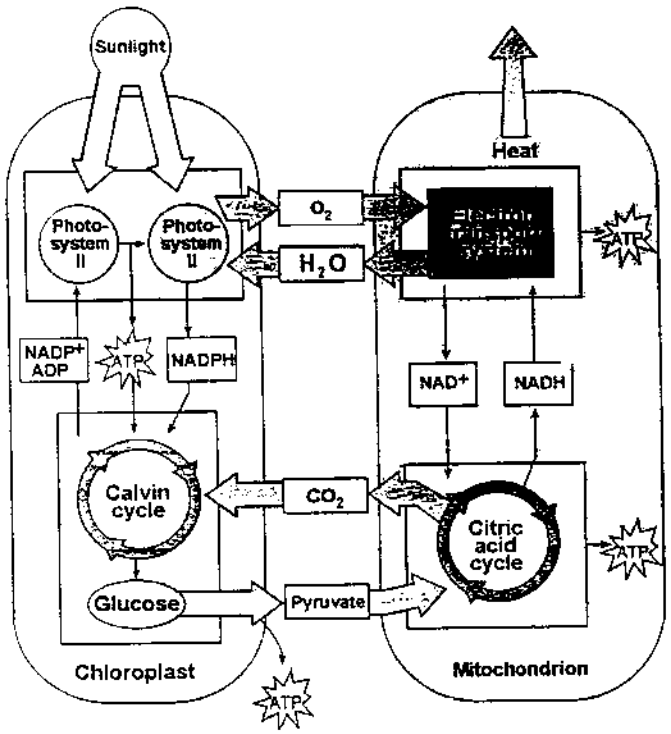



$CO_2$ fixation in a $C_4$ plant, corn, *Zea mays*

$CO_2$ fixation in a CAM plant, pineapple, *Ananas comosus*

**รูปที่ 3.17** แสดงความแตกต่างของ carbon dioxide fixation ในพืชประเภท $C_3$ (A) $C_4$ (B) และ CAM (C) (Mader, 2001)

## ความสัมพันธ์ระหว่าง การสังเคราะห์ด้วยแสง และการหายใจ




**รูปที่ 3.18** แสดงความสัมพันธ์ระหว่างกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสงและกระบวนการหายใจ (Raven and Johnson, 1995a)

การสังเคราะห์ด้วยแสงเป็นกระบวนการสร้างพลังงาน ( main energy -acquiring pathway ) ส่วนการหายใจ เป็นกระบวนการใช้พลังงานจากอาหาร ( main energy-releasing pathways ) การสังเคราะห์ด้วยแสง นำน้ำ, $CO_2$ และใช้พลังงานจากแสงแดดทำให้เกิดการสร้าง glucose สารประกอบอินทรีย์อื่น ๆ ได้ $O_2$ ซึ่งถูกนำไปใช้ในการหายใจ ส่วนการหายใจสลาย glucose ได้พลังงานและปล่อย $CO_2$ และ น้ำออกมา ซึ่งพืชสามารถนำไปใช้ในกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสง ดังนั้นจึงเกิดการไหลเวียนเป็นวงจรของ $O_2$ และ น้ำ ระหว่าง chloroplast และ mitochondria ในเซลล์พืช เช่นเดียวกับการไหลเวียนของ glucose และ $CO_2$ เพราะ glucose ที่ได้จากการสังเคราะห์ด้วยแสงถูกนำไปใช้ในการหายใจใน mitochondria ได้ $CO_2$ ออกมาซึ่ง ถูกนำไปใช้ในการสังเคราะห์ด้วยแสงใน chloroplast แต่ในเซลล์คนเราไม่มี chloroplast จึงต้องอาศัย glucose และ $O_2$ จากแหล่งภายนอกและปล่อย $CO_2$ และ น้ำกลับสู่สิ่งแวดล้อมภายนอก

# เอกสารอ้างอิง


1. Aves, C. J. (1986). **Molecular Cell Biology**. Benjamin/Cummings Publishing: Menlo Park.
2. Cain, M. L., Damman, H., Lue, R.A., and Yoon, C. K. (2000). **Discover Biology**. Sunderland, Massachusetts: Sinauer Associates.
3. Campbell, N. A., Mitchell, L. G., and Reece, J. B. (2000). **Biology: Concepts & connections**. 3rd ed. San Francisco: Addison Wesley Longman.
4. Mader, S.S. (2001). **Biology**. 7th ed. Boston: McGraw –Hill.
5. Postlethwait, J. H., Hopson, J. L., and Veres, R. C. (1991). **Biology: Bringing Science to Life**. Tokyo: Mc Graw-Hill.
6. Postlethwait, J. H., and Hopson, J. L. (1989). **The Nature of Life**. New York: McGraw-Hill.
7. Raven, P. H., and Johnson, G. B. (1995 a). **Understanding Biology**. 3rd ed. Dubuque: WCB Publishers.
8. Raven, P. H. and Johnson, G. B. (1995 b). **Understanding Biology: Student study art notebook**. Debuque : Wm. C. Brown Publishers.
9. Starr, C. (1994). **Biology: Concepts and Applications**. 2nd ed. Belmont: Wadsworth Publishing Company.
10. Wessells, N. K., and Hopson, J. L. (1988). **Biology**. New York: Random Houe.