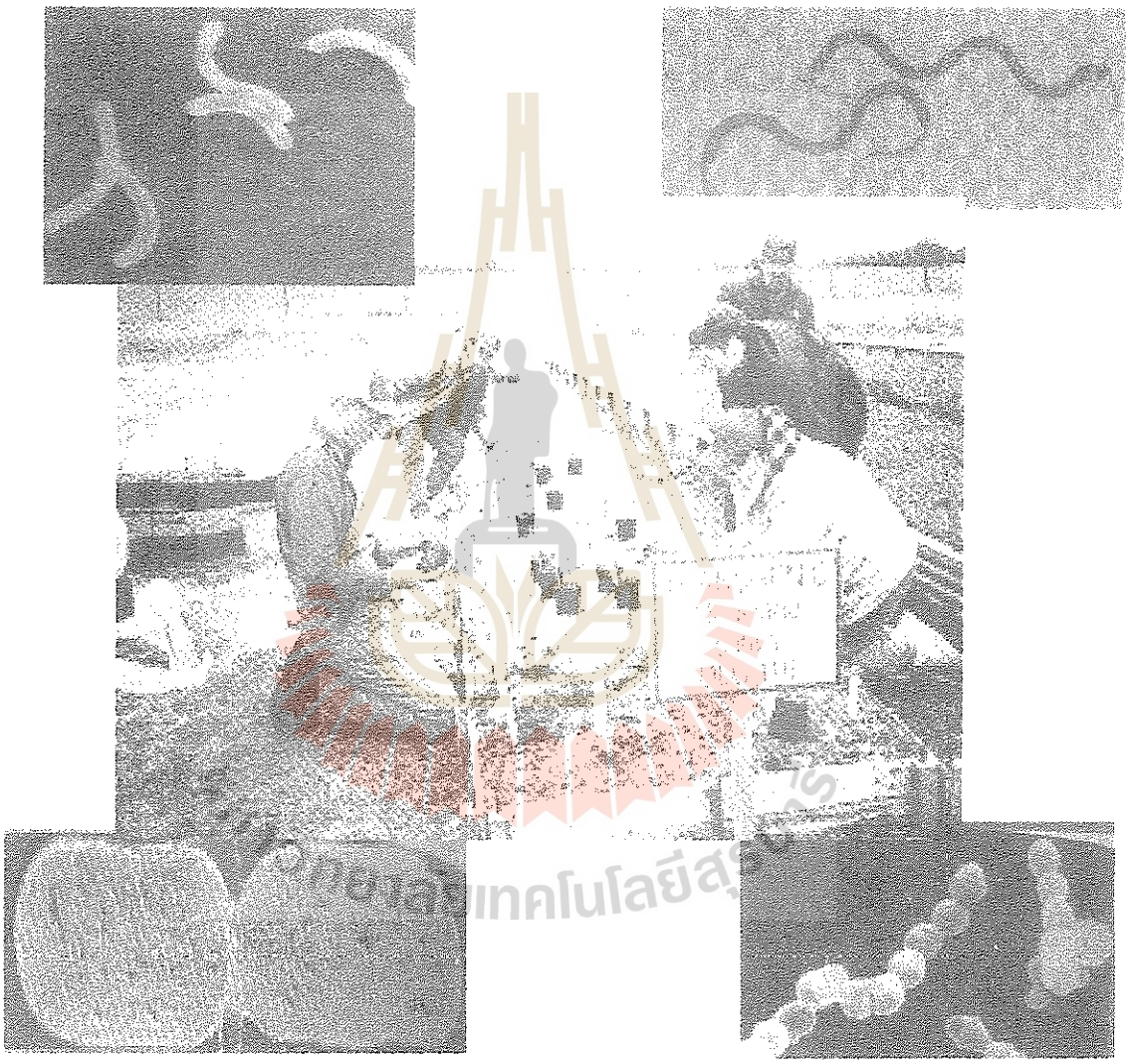
เอกสารคำสอน

วิชาชีววิทยาสิ่งแวดล้อม (503205)

บทบาทของแบคทีเรียในสิ่งแวดล้อม



ผศ.ดร.หนึ่ง เตียอำรุง
สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ
สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

คำนำ

เอกสารคำสอนวิชา ชีววิทยาสิ่งแวดล้อม (503205) เล่มนี้ได้จัดทำขึ้นสำหรับการเรียนการสอนของนักศึกษาระดับปริญญาตรีในสาขาวิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อมที่ผ่านการเรียนการสอนวิชาชีววิทยาพื้นฐานมาแล้ว โดยเนื้อหาวิชาจะมุ่งเน้นในเรื่องบทบาทของจุลินทรีย์โดยเฉพาะแบคทีเรียที่มีต่อสิ่งแวดล้อมตามวัตถุประสงค์ของสาขาวิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม สำนักวิชาวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ดังนั้นเอกสารชุดนี้จึงได้เริ่มพื้นฐานไว้ตั้งแต่ในเรื่องความมีชีวิตในสิ่งแวดล้อม สัณฐานวิทยา และสรีรวิทยาพื้นฐานของแบคทีเรีย บทบาทของแบคทีเรียในวัฏจักรของสาร ในแหล่งน้ำรวมไปถึงการควบคุมและการประยุกต์ใช้แบคทีเรียและจุลินทรีย์ต่าง ๆ ผู้เขียนหวังว่าเอกสารชุดนี้สามารถให้สาระพื้นฐานและแนวคิดของความสัมพันธ์ระหว่างแบคทีเรียนกับสิ่งแวดล้อมขั้นต้นแก่นักศึกษาวิศวกรรมศาสตร์ได้ แต่อย่างไรก็ดีเอกสารชุดนี้อาจเป็นประโยชน์ในการใช้เป็นเอกสารประกอบการค้นคว้าเพิ่มเติมแก่ผู้อ่านกลุ่มอื่นที่มีความสนใจในแนวทางนี้ด้วยเช่นเดียวกัน

หากผู้อ่านพบข้อผิดพลาดหรือมีข้อแนะนำประการใดโปรดแจ้งให้ผู้เขียนทราบและปรับปรุงในคราวต่อไปจักขอบพระคุณยิ่ง

หนึ่ง เตียอำรุง

พฤศจิกายน 2542

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

สารบัญเรื่อง

	หน้า
บทนำ	1
● คุณสมบัติของสิ่งมีชีวิต	1
● ความไม่มีชีวิตกับชีวิต	5
บทที่ 1 เซลล์โครงสร้างของเซลล์	9
● โครงสร้างและหน้าที่พื้นฐานของเซลล์ทั่วไป	9
-ผนังเซลล์ (Cell wall)	10
-เยื่อหุ้มเซลล์ (Plasma membrane)	10
- นิวเคลียส (Nucleus)	12
-ไซโตพลาสซึมและไซโตสคีลีตัน (Cytoplasm and Cytoskeleton)	13
-เอนโดพลาสมิคเรคติคิวลัม (Endoplasmic recticulum)	15
-กอลจิคอมเพลกซ์ (Golgi complex)	16
-ไมโตคอนเดรีย (Mitochondria)	17
-คลอโรพลาสท์ (Choloplast)	17
บทที่ 2 ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับแบคทีเรีย	20
● รูปร่างและขนาดของแบคทีเรีย	22
● โครงสร้างและองค์ประกอบภายในเซลล์แบคทีเรีย	25
บทที่ 3 แหล่งอาหารพลังงานและการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย	41
● น้ำ	41
● แหล่งอาหารคาร์บอนและพลังงาน	42
● แหล่งไนโตรเจน	45
● แหล่งธาตุ	45
● วิตามิน	47
● ปัจจัยภายนอกที่มีผลต่อการเจริญ	47
● การเจริญของแบคทีเรีย	51
บทที่ 4 บทบาทของแบคทีเรียต่อวัฏจักรของสาร	56
● วัฏจักรไนโตรเจน	56
● วัฏจักรคาร์บอน	63
● วัฏจักรฟอสฟอรัส	75

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

หน้า

- วัฏจักรกำมะถัน 77
- วัฏจักรเหล็ก 82

บทที่ 5 บทบาทของจุลินทรีย์และแบคทีเรียในแหล่งน้ำ 89

- เชื้อก่อโรคและปรสิตที่พบในแหล่งน้ำจืดเพื่อการบริโภค 94
- จุลินทรีย์ก่อโรคในแหล่งน้ำที่กำลังมีปัญหามากในปัจจุบัน 97
- การป้องกันและการควบคุมโรคที่มาจากแหล่งน้ำ 98
- ระบบการติดตามจุลินทรีย์บ่งชี้ในสิ่งแวดล้อม 107

บทที่ 6 การบำบัดน้ำเสีย 107

- การกำจัดจุลินทรีย์ก่อโรคในแหล่งน้ำเพื่อการอุปโภคบริโภค 111
- วิธีการบำบัดน้ำเพื่อการอุปโภคบริโภค 113
- การใช้คลอรีนในการบำบัดน้ำ 118
- การบำบัดด้วยวิธีอื่น ๆ 120

บทที่ 7 บทบาทของจุลินทรีย์ต่อการกำจัดมลภาวะในสิ่งแวดล้อม 122

- Bioremediation 123
- ตัวอย่างการประยุกต์ใช้เทคโนโลยี Bioremediation 128
- เทคโนโลยีการใช้ชีววิทยาทดแทนการใช้สารเคมีในระบบเกษตร 130
- วิธีชีวภาพหรือชีววิธี 143

เอกสารอ้างอิง 151

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

สารบัญรูปภาพ

หน้า

รูปที่ 1 แสดงถึงการเรียงลำดับของสิ่งมีชีวิตจากส่วนที่เล็กที่สุดคือ อะตอมของธาตุ ประกอบกันเป็นสิ่งมีชีวิตในโลก 2

รูปที่ 2 แสดงถึงการจำแนกสิ่งมีชีวิตโดยอาศัยหลักการการอ่านลำดับของเบสบนโมเลกุล RNA แสดงความสัมพันธ์โดย phylogenetic tree 3

รูปที่ 3 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างแรง adhesion และ cohesion ในท่อลำเลียงน้ำของพืชที่ก่อให้เกิดแรงดึงน้ำแบบ Capillary 5

รูปที่ 4 แสดงภาพถ่ายของ collagen จากกล้องจุลทัศน์อิเลคตรอนแบบส่องกราดจากเซลล์ของตาในตัวอ่อนของไก่ 10

รูปที่ 5 แสดงตำแหน่งและโครงสร้างของ phospholipid บนเยื่อหุ้มเซลล์ 11

รูปที่ 6 ภาพถ่ายแสดงนิวเคลียสภายในเซลล์โดยกล้องจุลทัศน์อิเลคตรอน (a) ภาพถ่ายแบบส่องผ่าน (b) การแบ่งตัวของเซลล์ที่มีผลทำให้เกิดการแบ่งนิวเคลียส (c) ภาพถ่ายแบบส่องกราดบนผนังหุ้มนิวเคลียสและ (d) ภาพจำลองแสดงรูบนผนังนิวเคลียส 13

รูปที่ 7 ภาพแสดงไซโตสคีลีตันแบบต่าง ๆ 14

รูปที่ 8 แสดงโครงสร้างและความสัมพันธ์ระหว่าง SER, RER และกอลจิคอมเพลซ์ 16

รูปที่ 9 ภาพเปรียบเทียบโครงสร้างของไมโตคอนเดรียและคลอโรพลาสต์ 18

รูปที่ 10 แสดงกระบวนการสังเคราะห์แสงในเซลล์พืช 18

รูปที่ 11 แสดงภาพถ่ายของแบคทีเรีย *Epulopiscium fishelsoni* เมื่อเปรียบเทียบกับเซลล์ของพารามีเซียมทั้งสี่เซลล์ 22

รูปที่ 12 แสดงลักษณะการแบ่งเซลล์แบบต่าง ๆ แบ่งได้ตามระนาบของการแบ่งเซลล์ 23

รูปที่ 13 แสดงลักษณะรูปร่างของเซลล์แบคทีเรียแบบต่าง ๆ ในกลุ่ม pleomorphic 25

รูปที่ 14 แสดงสูตรโครงสร้างทางเคมีของเพพทิโดไกลแคน 26

รูปที่ 15 แสดงภาพจำลองของผนังเซลล์แบคทีเรียที่จัดเรียงรูปเป็นตาข่าย 27

รูปที่ 16 แสดงภาพจำลองของผนังเซลล์แบคทีเรียในกลุ่ม Gram-positive 27

(M = N-acetylmuramic acid และ G = N-acetylglucosamine)

รูปที่ 17 แสดงสูตรโครงสร้างทางเคมีของกรดไทคออิค (รูป a-c) และกรดไทคูโรนิค (รูป d-f) บางจำพวก 29

รูปที่ 18 แสดงสูตรโครงสร้างทางเคมีของมิวรายน์โปรตีน 30

รูปที่ 19 แสดงการจัดเรียงตัวของไลโพโพลีแซคคาไรด์จากแบคทีเรีย *Salmonella typhimurium* 31

หน้า

รูปที่ 20 แสดงแบบจำลองชั้นเพริพลาสซึม (A และ B แสดงถึงโปรตีนหรือเอนไซม์ที่เรียงตัวกันอย่างหลวม ๆ ในชั้นนี้) 32

รูปที่ 21 แสดงสูตรโครงสร้างทางเคมีของซูโดเพพทิโดไกลแคน 33

รูปที่ 22 แสดงแบบจำลองของเยื่อหุ้มเซลล์ใน eubateria 34

รูปที่ 23 แสดงสูตรโครงสร้างทางเคมีของไลปิดบนเยื่อหุ้มเซลล์แบคทีเรีย (a) ไลปิดของ eubacteria ที่ glycerol และกรดไขมันเชื่อมต่อกันด้วยพันธะ ester linkage (b) ไลปิดของ archaeobacteria ที่ glycerol และ aliphatic side chain ต่อกันด้วยพันธะ ether linkagr และ (c) โครงสร้างของ isoprene 34

รูปที่ 24 แสดงภาพถ่ายและภาพสเก็ตซ์ของ internal membrane (a) จากแบคทีเรียกลุ่มที่สังเคราะห์แสงได้ที่ชื่อ *Ectothiorhodospira mobilis* และ (b) จากแบคทีเรียที่ออก-ซิไดซ์แอมโมเนียได้ที่ชื่อ *Nitrococus oceanus* 35

รูปที่ 25 แสดงแบบจำลองของผนังเซลล์แบบ lipid layer ใน archaeobacteria 36

รูปที่ 26 แสดงถุงก๊าซจากภาพถ่ายกล้องจุลทัศน์อิเลคตรอนจาก cyanobacteria ที่ชื่อ *Microcystis aeruginosa* 37

รูปที่ 27 แสดง magnetosome ในแบคทีเรียบางกลุ่ม 38

รูปที่ 28 แสดงภาพถ่ายจากกล้องจุลทัศน์อิเลคตรอนและภาพสเก็ตซ์ของนิวคลีออยด์ในแบคทีเรีย *Sporosarcina ureae* 39

รูปที่ 29 แสดงภาพถ่ายของพลาสมิดจากกล้องจุลทัศน์แบบอิเลคตรอน 40

รูปที่ 30 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทัศน์อิเลคตรอนแสดง septum ของแบคทีเรีย *Pseudomonas aeruginosa* 51

รูปที่ 31 แสดงการนับจำนวนเซลล์แบคทีเรียโดยแผ่นสไลด์แบบ Petroff-Hausser 53

รูปที่ 32 แสดงกราฟการเจริญทั่วไปของแบคทีเรีย 54

รูปที่ 33 แสดงวัฏจักรไนโตรเจนและขั้นตอนต่าง ๆ 57

รูปที่ 34 แสดงวัฏจักรคาร์บอนและขั้นตอนต่าง ๆ 64

รูปที่ 35 แสดงลักษณะการแพร่กระจายตัวของปริมาณคาร์บอน ซึ่งประกอบด้วยสารสามรูปแบบ ณ ค่า C_T คงที่ต่อช่วงค่า pH 66

รูปที่ 36 แสดงหลักการสะสมความร้อนในสภาพเรือนกระจก 67

รูปที่ 37 แสดงการถูกทำลายของชั้นโอโซนโดยคลอรีนอิสระ 70

รูปที่ 38 แสดงวัฏจักรกำมะถัน 77

รูปที่ 39 แสดงโครงสร้างของ 2, 3-dihydroxy-N-benzoyl-glycin 84

รูปที่ 40 แสดงโครงสร้างของ Desferrixamine B. 85

สถาบันเทคโนโลยีสุรนารี

หน้า

รูปที่ 41 แสดงโครงสร้างของ Ferrichromes 85

รูปที่ 42 แสดงภาพตัดขวางของชั้นดินและแหล่งสะสมน้ำ 90

รูปที่ 43 แสดงการแพร่เชื้อจากอุจจาระและสิ่งขับถ่ายจากคนและสัตว์ลงสู่แหล่งน้ำ และกลับสู่คนอีกครั้ง 93

รูปที่ 44 แสดงเซลล์และซีสต์ของ *Giardia lambia* 97

รูปที่ 45 (A) แสดงขั้นตอนสำคัญของปฏิกริยา PCR (B) แสดงลักษณะของชุดดีเอ็นเอที่ถูกเพิ่มจำนวนขึ้นด้วยเทคนิค PCR 105

รูปที่ 46 แสดงภาพและไดอะแกรมของระบบ trickling filter 108

รูปที่ 47 แสดงภาพและไดอะแกรมของระบบ activated sludge aeration tank 108

รูปที่ 48 แสดงลักษณะของแบคทีเรียที่ก่อให้เกิด bulking (A) *Beggiatoa*, (B) *Sphaerotilus* และ (C) *Thiothrix* 109

รูปที่ 49 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารเคมีที่ใช้กำจัดจุลินทรีย์กับเวลา 112

รูปที่ 50 แสดงกลไกการย่อยสลายสารกลุ่มปิโตเลียมไฮโดรคาร์บอนโดนจุลินทรีย์ 124

รูปที่ 51 แสดงกระบวนการย่อยสลายสารกลุ่ม aromatic ring โดยแบคทีเรียกลุ่มจีนัส *Pseudomunads* 125

รูปที่ 52 แสดงสูตรโครงสร้างเคมีของสารกลุ่ม organochlorines 127

รูปที่ 53 แสดงไดอะแกรมการกำจัดสารกลุ่มฮาโลคาร์บอนที่ปนเปื้อนในแหล่งน้ำใต้ดิน 129

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 1 แสดงปริมาณของธาตุต่าง ๆ บนผิวโลกกับธาตุที่เป็นองค์ประกอบในร่างกายมนุษย์ 6

ตารางที่ 2 กลุ่มของแบคทีเรียในพวก eubacteria และ archaea bacteria 21

ตารางที่ 3 แสดงองค์ประกอบทางเคมีของเซลล์แบคทีเรียในเชิงปริมาณและคุณภาพ 41

ตารางที่ 4 สรุปการจำแนกของกลุ่มแบคทีเรียตามลักษณะการใช้แหล่งพลังงานและคาร์บอน 44

ตารางที่ 5 วิตามินและบทบาทที่มีต่อเซลล์ 47

ตารางที่ 6 แสดงแหล่งที่มาและปริมาณของมีเธนที่เกิดทั้งในสภาพชีวภาพและกายภาพ 74

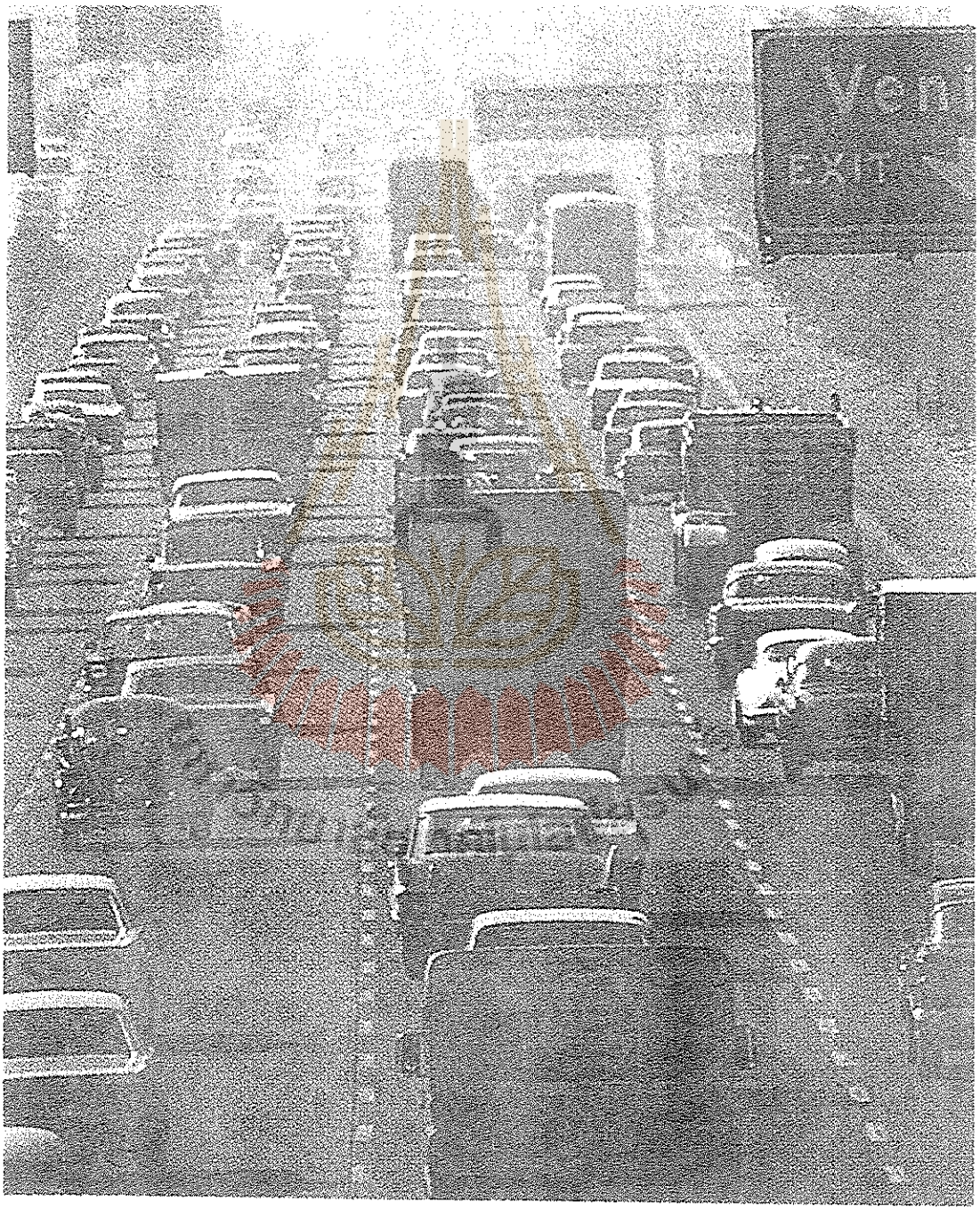
ตารางที่ 7 จำนวนและขนาดของมหาสมุทรในโลก 92

ตารางที่ 8 แสดงถึงชนิดและปริมาณของไอออนที่พบในมหาสมุทร 92

ตารางที่ 9 แสดงมาตราฐานของจำนวนจุลินทรีย์บ่งชี้ในน้ำดื่มและแหล่งน้ำเพื่อสันทนาการ 100

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

บทนำ



บทนำ

ปรัชญาความสัมพันธ์ระหว่างชีวิตและสิ่งแวดล้อม

มนุษย์เมื่อเริ่มจะสนใจในสิ่งใดหรือเริ่มจะค้นคว้าสิ่งใดมักเริ่มต้นจากการจัดจำแนกให้เป็นหมวดหมู่เพื่อประโยชน์ในการเปรียบเทียบและศึกษาเป็นเรื่องๆ ไป เช่นเดียวกันกับการศึกษาความมีชีวิตของสิ่งมีชีวิต ได้ถูกจำแนกออกจากความไม่มีชีวิตซึ่งต่างกันไปก็คือสิ่งมีชีวิตนั้นต้องมีความสามารถนำพลังงานที่สะสมอยู่รอบตัวมาใช้ในการประกอบหรือก่อตัวจากสารชีวอณูให้มาเป็นหน่วยของชีวิตในลำดับขั้นที่สูงขึ้นไป สิ่งมีชีวิตต้องมีการแตกดับหรือตายและต้องมีความสามารถในการสืบต่อและดำรงเผ่าพันธุ์ได้ ดังนั้นศาสตร์ทางชีววิทยาจึงก่อตัวขึ้นเพื่อค้นคว้าความกระจ่างของความมีชีวิต โดยเฉพาะอย่างยิ่งชีววิทยามีความสำคัญมากขึ้นในปัจจุบันอันเนื่องมาจากการที่เราสามารถพบสิ่งมีชิวิตได้ในเกือบทุกระบบนิเวศในโลก ความจำเป็นที่มนุษย์ต้องการมีสุขภาพสมบูรณ์ อายุยืนยาวเอาชนะความเจ็บไข้ได้ป่วย การเพิ่มขึ้นของประชากรที่ไม่เป็นสัดส่วนกับอาหารที่มีอยู่ รวมไปถึงการสร้างสิ่งมีชีวิตแบบใหม่ที่เรียกว่า สิ่งมีชีวิตที่ได้รับการตกแต่งสารพันธุ์กรรม (Gentically modified microorganisms; GMO_s) ดังนั้นก่อนที่จะเข้าสู่เนื้อหารายละเอียดในแง่ของบทบาทต่างๆของสิ่งมีชีวิตในสิ่งแวดล้อมจึงจำเป็นต้องเข้าใจคุณสมบัติสำคัญโดยทั่วไปของสิ่งมีชีวิต และความสัมพันธ์กับสิ่งแวดล้อมในเบื้องต้นเสียก่อน

คุณสมบัติของสิ่งมีชีวิต

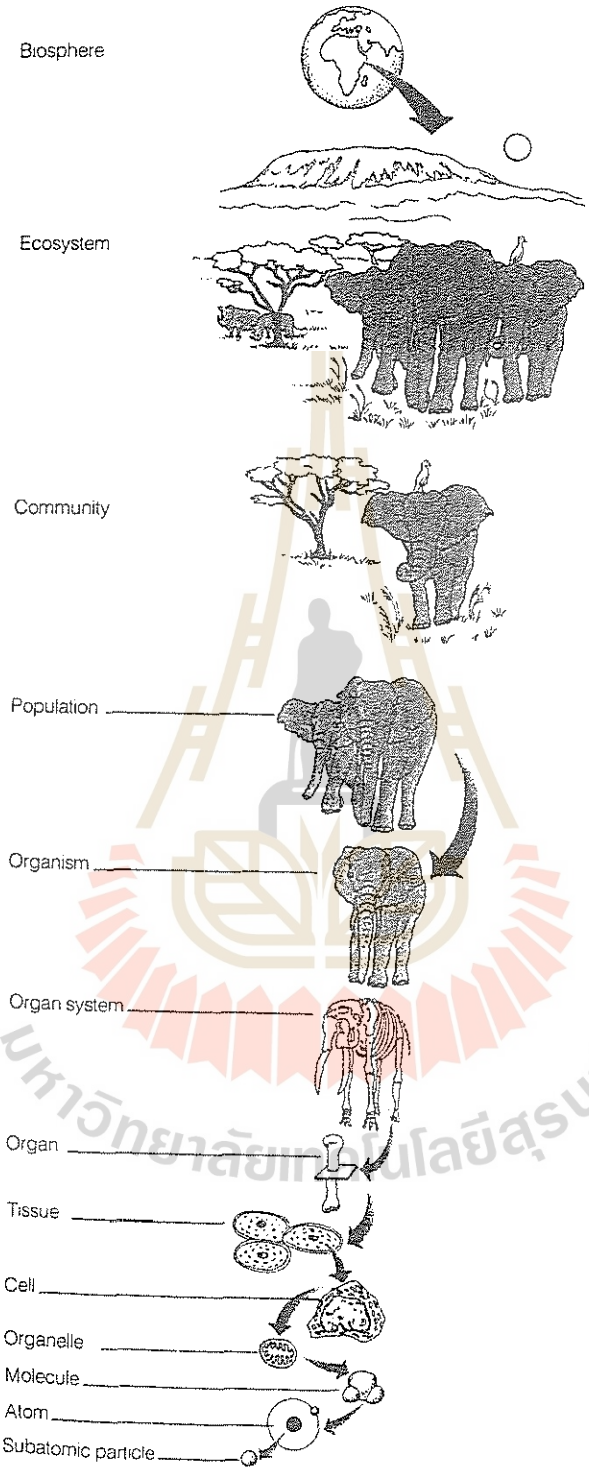
นักวิทยาศาสตร์ได้พยายามรวบรวมคุณสมบัติทั่วไปของความเป็นสิ่งมีชีวิตไว้ 9 ประการ แต่คุณสมบัติทั้งหมดนี้ก็ไม่สามารถครอบคลุมสิ่งมีชีวิตทุกชนิดได้ คุณสมบัติทั้งเก้าข้อนี้จึงเป็นเพียงลักษณะโดยทั่วไปเพื่อให้เข้าใจในชีวิตพื้นฐานเท่านั้น

1. สิ่งมีชีวิตมีการจัดลำดับภายในตัวของมันเอง

สิ่งมีชีวิตมีความสามารถนำพลังงานจากสารอาหารหรือจากสิ่งแวดล้อมมาทำการจัดเรียงองค์ประกอบย่อยให้เป็นหน่วยใหญ่ของชีวิตที่เป็นระบบของตัวมันเองได้ ในการจัดเรียงจากองค์ประกอบย่อยที่เล็กที่สุดตั้งแต่ระดับอะตอม มารวมกันเป็นในระดับอณู หลายๆอณูถูกรวมตัวและจัดเรียงให้เป็นองค์ประกอบของเซลล์ (organelle) และเซลล์ เซลล์แต่ละชนิดก็มีการพัฒนาเลื่อนลำดับให้มาเป็นระบบเนื้อเยื่อ เนื้อเยื่อต่างๆพัฒนาขั้นไปเป็นระบบอวัยวะที่ซับซ้อนให้จนกลายเป็นหนึ่งหน่วยของสิ่งมีชีวิต และเมื่อมีปฏิสัมพันธ์กับสิ่งมีชีวิตอื่นๆในสิ่งแวดล้อม ลำดับของชีวิตก็เปลี่ยน

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

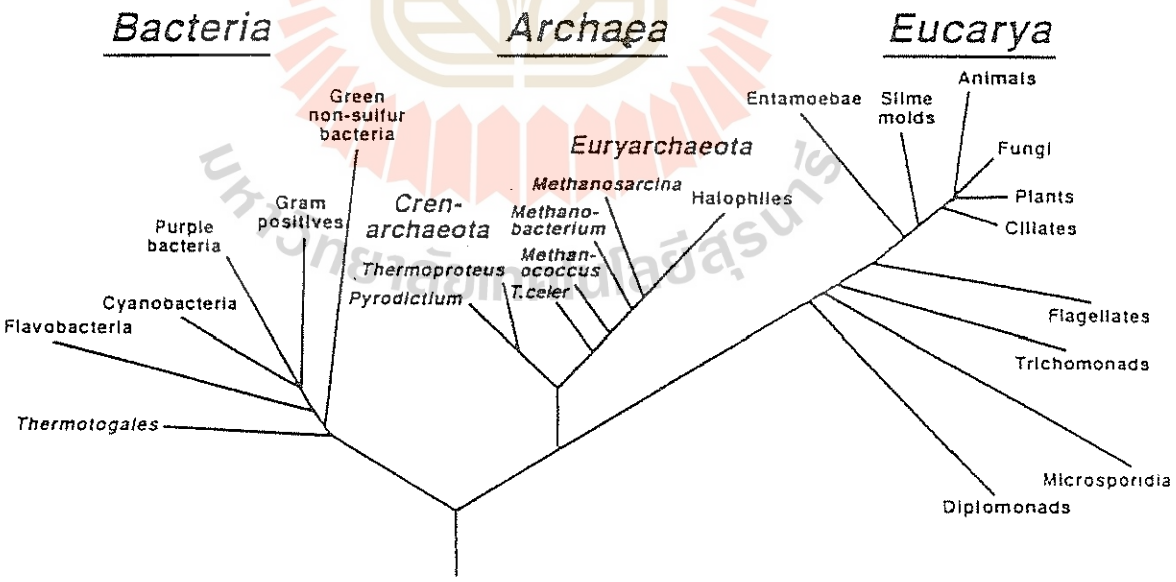
ไปเป็นในระดับการมีชีวิตในรูปของประชากร ชุมชน ระบบนิเวศและโลกในที่สุด (ดังแสดงในรูปที่ 1)



รูปที่ 1 : แสดงถึงการเรียงลำดับของชีวิตจากส่วนที่เล็กที่สุด คือ อะตอมของธาตุประกอบกันเป็นสิ่งมีชีวิตในโลก (ที่มา: J-H-Postlethwait และคณะ 1991)

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

นอกไปจากนี้ความหลากหลายของชีวิตก็เกิดขึ้นมาพร้อมๆกันกับการจัดเรียงองค์ประกอบย่อยของสิ่งมีชีวิตนั้นด้วย แต่เดิมความหลากหลายของสิ่งมีชีวิตได้ถูกจำแนกออกเป็น 5 อาณาจักร (Kingdom) ซึ่งได้แก่ Monera (กลุ่มของแบคทีเรียเป็นส่วนใหญ่), Protista (กลุ่มโปรโตซัว), Fungi (กลุ่มเห็ดรา), Plantae (กลุ่มของพืชเป็นส่วนใหญ่) และ Animalia (กลุ่มที่เป็นสัตว์ชั้นสูง) แต่ในปัจจุบันการจัดจำแนกเพื่อสะท้อนความหลากหลายทางชีวภาพและวิวัฒนาการนั้นได้ใช้วิธีการอ่านลำดับเบสของยีนสายRNA (ribose nucleic acid) ในสิ่งมีชีวิตต่าง ๆ (รายละเอียดจะได้กล่าวในบทต่อ ๆ ไป) จึงทำให้สิ่งมีชีวิตทั้งหลายในปัจจุบันถูกจำแนกได้เป็น 3 กลุ่มใหญ่ ได้แก่ กลุ่ม Bacteria ซึ่งประกอบไปด้วยแบคทีเรียกลุ่มย่อยต่าง ๆ เช่น Thermotogales, Flavobacteria, Cyanobacteria, Purple bacteria, Gram positives และ Green non-sulfer bacteria เป็นต้น ในกลุ่มที่สองชื่อว่า Archaea ซึ่งกลุ่มนี้จัดเป็นแบคทีเรียดั้งเดิมและคาดว่าเป็นบรรพบุรุษของสิ่งมีชีวิตทั่วไปในปัจจุบัน แบคทีเรียกลุ่มนี้มักพบว่ามีแหล่งอาศัยและการใช้อาหารต่างจากสิ่งมีชีวิตทั่วไปในปัจจุบัน กล่าวคือ บางกลุ่มมักอาศัยได้ในอุณหภูมิสูงมาก มีความเป็นกรดอย่างรุนแรง หรือบางกลุ่มสามารถสร้างก๊าซมีเธนจากก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ได้ ซึ่งลักษณะเหล่านี้เป็นลักษณะสิ่งแวดล้อมของโลกเมื่อสมัยหลายล้านปีมาแล้ว กลุ่มสุดท้าย คือ Eucarya หรือที่รู้จักกันในนามของ Eukaryote นั่นเอง สมาชิกของกลุ่มนี้ได้แก่ ราเมือก กลุ่มโปรโตซัว เห็ดรา พืชและสัตว์ทั่วไป การจัดกลุ่มในลักษณะนี้ดังแสดงในรูปที่ 2 ซึ่งเรียกว่า Phylogenetic tree



รูปที่2 : แสดงถึงการจำแนกสิ่งมีชีวิตโดยอาศัยหลักการการอ่านลำดับของเบสบนโมเลกุลRNA แสดงความสัมพันธ์ โดย phylogenetic tree (ที่มา: D. White 1995)

2 .สิ่งมีชีวิตมีความสามารถในการปรับตัว

เนื่องจากปัจจัยทางกายภาพ (Physical factor) ในสิ่งแวดล้อม เช่น สสารต่าง ๆ มีแนวโน้มที่จะเปลี่ยนรูปหรือเปลี่ยนสภาพไปได้ในทุกขณะจึงทำให้สิ่งมีชีวิตที่อาศัยในสิ่งแวดล้อมนั้นๆ ต้องการปรับตัวเองเพื่อให้ดำรงไว้ซึ่งชีวิตได้ท่ามกลางการเปลี่ยนแปลงนั้น ๆ การปรับตัวของสิ่งมีชีวิตโดยหลักการแล้วมักจะปรับตัวในลักษณะของการได้รับมาซึ่งพลังงานที่เกิดจากการเปลี่ยนแปลงของสสาร

3. สิ่งมีชีวิตมีกระบวนการ metabolism

metabolism เป็นกระบวนการสำคัญที่สิ่งมีชีวิตใช้ในการสกัดพลังงานที่สะสมอยู่ในอณูของแหล่งอาหารหรือแหล่งพลังงาน เพื่อการเสริมองค์ประกอบของชีวิตหรือที่เรียกว่า ชีวอณู และในขณะเดียวกันชีวอณูบางชนิดก็ใช้ขบวนการ metabolism ในการได้มาซึ่งพลังงานในการดำรงชีวิต

4. สิ่งมีชีวิตมีความสามารถในการเคลื่อนไหว

การเคลื่อนไหวเป็นอีกคุณสมบัติหนึ่งของชีวิตที่สะท้อนให้เห็นถึงการได้มาซึ่งพลังงาน และการปรับตัวเพื่อหลีกเลี่ยงสิ่งแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมต่อชีวิต

5. สิ่งมีชีวิตมีความสามารถในการตอบสนอง

การตอบสนองนั้นเป็นปฏิสัมพันธ์แบบหนึ่งที่มีไว้เพื่อการอยู่รอด และการปรับตัวในสภาพแวดล้อมนั้น ๆ

จากคุณสมบัติทั้งห้าข้อนี้เมื่อพิจารณาดูจะเห็นได้ว่า เป็นคุณสมบัติของชีวิตที่รองรับกิจกรรมต่าง ๆ ในการดำรงชีวิตในช่วงหนึ่งของวงจรชีวิต และเป็นคุณสมบัติที่ใช้ต่อสู้หรือปกป้องกับการเปลี่ยนแปลงของสภาพแวดล้อมในช่วงเวลานั้น ๆ

6. สิ่งมีชีวิตมีการสืบพันธุ์

เป็นคุณสมบัติเพื่อใช้ดำรงพันธุ์ดั้งเดิมให้อยู่รอดจากการล้มตายในวงจรชีวิตหนึ่ง ๆ เช่น กบ 1 ตัว มีลูกได้มากกว่า 10 ตัว เป็นต้น

7. สิ่งมีชีวิตมีการพัฒนา

เป็นคุณสมบัติในการเพิ่มความซับซ้อนของสิ่งมีชีวิตให้มีมากขึ้น เพื่อรองรับกิจกรรมของชีวิต และการเปลี่ยนแปลงของสิ่งแวดล้อม

8. สิ่งมีชีวิตมีสารพันธุกรรม

เป็นหน่วยทางพันธุกรรมที่ควบคุมลักษณะสำคัญทางกายภาพ เคมี และพฤติกรรมของชีวิต

คุณสมบัติในสามข้อหลังนี้ เป็นคุณสมบัติที่เอื้อต่อการดำรงเผ่าพันธุ์ให้คงอยู่ได้

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

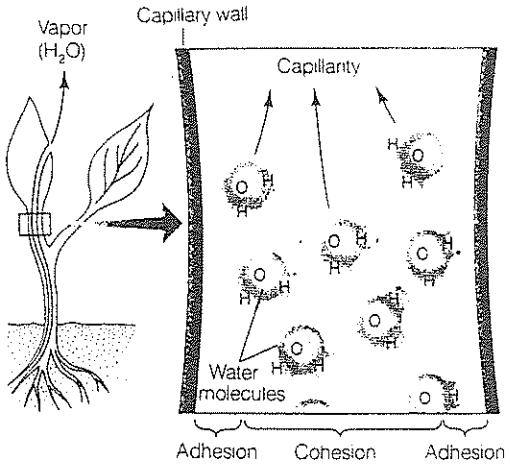
9. สิ่งมีชีวิตมีการวิวัฒนาการ

เป็นคุณสมบัติสุดท้ายที่เกิดจากคุณสมบัติที่กล่าวข้างต้นทั้งหมด เพื่อปรับตัวให้ดำรงชีวิตอยู่ได้อย่างเหมาะสมตลอดไปจนหมดอายุขัยของโลก

ความไม่มีชีวิตกับชีวิต

คงเป็นที่ยอมรับกันในขั้นต้นแล้วว่า สิ่งไม่มีชีวิตโดยเฉพาะน้ำและอาหารเป็นเป็นสิ่งจำเป็นสำหรับชีวิต แต่ความสัมพันธ์นั้นจะมีความลึกซึ้งไปมากกว่าคำว่าจำเป็น ในส่วนของน้ำนั้นน้ำจัดว่าเป็นองค์ประกอบหลักที่มีมากที่สุดในสิ่งมีชีวิตก็ว่าได้ ในหนึ่งโมเลกุลของน้ำประกอบไปด้วยธาตุไฮโดรเจน 2 อะตอม และออกซิเจน 1 อะตอม เมื่อธาตุไฮโดรเจนมีการสร้างพันธะเคมีระหว่างกันเอง หรือในกรณีของออกซิเจนก็ตาม พบว่า พันธะเป็นแบบ covalent แต่ถ้าในแต่ละโมเลกุลของน้ำมีการจับและเรียงตัวกันซึ่งแต่ละโมเลกุลจะจับกันด้วยพันธะไฮโดรเจน ซึ่งเป็นพันธะที่มีการสลายตัวและก่อตัวใหม่ได้ง่าย ประกอบกับแต่ละโมเลกุลของน้ำที่ปลายทั้งสองจะมีประจุบวกและลบ จึงทำให้มีความสำคัญต่อสิ่งมีชีวิตดังต่อไปนี้

1. มีความต้านทานต่อความร้อน หรือกล่าวอีกนัยหนึ่งคือ อุณหภูมิของน้ำจะสูงขึ้นได้แต่ไม่รวดเร็วนัก ซึ่งคุณสมบัตินี้เป็นข้อดีที่เอื้อต่อการรักษาสภาพที่เหมาะสมในกระบวนการ metabolism ของสิ่งมีชีวิต
2. มีลักษณะโมเลกุลที่ก่อให้เกิดการยึดติดกันระหว่างโมเลกุลของน้ำด้วยกันเอง หรือที่เรียกว่า cohesion ประกอบกับเมื่อโมเลกุลของน้ำสัมผัสกับวัตถุใด ๆ ก็จะมีการยึดเกาะหรือที่เรียกว่า adhesion บทบาททั้งสองลักษณะนี้เมื่ออยู่ในสภาพที่เป็นหลอดยาวขนาดเล็ก จะทำให้โมเลกุลของน้ำเคลื่อนที่ต้านแรงโน้มถ่วงโลกได้ หรืออีกนัยหนึ่งเรียกปรากฏการณ์นี้ว่า capillarity ตัวอย่างที่เห็นได้ชัดเจนในท่อลำเลียงน้ำของพืช (ดังแสดงในรูปที่ 3)
3. มีคุณสมบัติเป็น universal solvent ซึ่งสามารถทำละลายกับสารต่าง ๆ ได้มากมาย ซึ่งคุณสมบัตินี้เองเป็นส่วนสำคัญในการนำสารอาหารจำเป็นเข้าสู่เซลล์สิ่งมีชีวิตได้



รูปที่ 3 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างแรง adhesion และ cohesion ในท่อลำเลียงน้ำของพืชที่ก่อให้เกิดแรงดึงน้ำแบบ Capillary (ที่มา: J-H-Postlethwait และคณะ 1991)

ส่วนกรณีของอาหารซึ่งได้แก่ ธาตุต่าง ๆ ที่อยู่บนโลก สิ่งมีชีวิตจะนำโมเลกุลหรืออะตอมของธาตุจากสารอาหารไปใช้เพื่อสร้างเป็นสารสำคัญในการดำรงชีวิต โดยจะนำไปใช้ในรูปที่สร้างเป็นหน่วยย่อยของชีวอณูหรือที่เรียกว่า building block ในที่นี้จะขออนุโลมใช้คำว่า bioelement ซึ่งก็หมายถึงธาตุที่เป็นองค์ประกอบของชีวิตนั่นเอง bioelement แบ่งได้เป็น 3 กลุ่มใหญ่ ได้แก่

1. สารอินทรีย์หรือธาตุที่พบในสารอินทรีย์ต่าง ๆ เช่น คาร์บอน ไฮโดรเจน ออกซิเจน ไนโตรเจน ฟอสฟอรัสและซัลเฟอร์ ซึ่งธาตุเหล่านี้เป็น buiding block ที่สำคัญขององค์ประกอบ โครงสร้างหรือเอนไซม์ในสิ่งมีชีวิตทุกชนิด
2. Monoatomic ions ได้แก่ โซเดียมไอออน, โปตัสเซียมไอออน, แมกนีเซียมไอออน, แคลเซียมไอออนและคลอไรด์ไอออน กลุ่มของสารในกลุ่มนี้มีผลโดยตรงต่อการนำสารอาหารเข้าสู่เซลล์ การรักษาสมดุลของเซลล์ และการควบคุมระบบ metabolism ในสิ่งมีชีวิตทุกชนิด
3. Trace elerment เป็นกลุ่มของธาตุสิ่งมีชีวิตมีความจำเป็นต้องใช้ในการดำรงชีวิตแต่ใช้เพียงปริมาณเล็กน้อย กลุ่มที่พบว่ามีความจำเป็นในสิ่งมีชีวิตทุกชนิด ได้แก่ ธาตุแมงกานีส เหล็ก โคบอลต์ ทองแดงและสังกะสี ในขณะที่โบรอน ซิลิกอน อลูมินั่ม แวลลิเดียม โมลิบดีนั่มและไอโอดีน มีความจำเป็นสำหรับสิ่งมีชีวิตบางชนิดเท่านั้น ธาตุในกลุ่มนี้มักมีความจำเป็นต่อการทำงานของเอนไซม์ต่าง ๆ ภายในเซลล์ เมื่อพิจารณาถึงความสัมพันธ์ระหว่างธาตุที่พบบนผิวโลกกับปริมาณของธาตุต่าง ๆ ที่พบว่ามีความจำเป็นต่อสิ่งมีชีวิต เช่น มนุษย์ จะพอสรุปได้ดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 : แสดงปริมาณของธาตุต่าง ๆ บนผิวโลกกับธาตุที่เป็นองค์ประกอบในร่างกายมนุษย์

ปริมาณธาตุบนผิวโลก		ปริมาณธาตุในร่างกายมนุษย์	
ธาตุ	เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนัก	ธาตุ	เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนัก
ออกซิเจน	49.4	ออกซิเจน	65
คาร์บอน	0.087	คาร์บอน	18
ไฮโดรเจน	0.88	ไฮโดรเจน	10
ไนโตรเจน	0.03	ไนโตรเจน	3
ฟอสฟอรัส	0.12	ฟอสฟอรัส	1.16
โปแตสเซียม	2.4	โปแตสเซียม	0.20
แคลเซียม	3.39	แคลเซียม	2.01
โซเดียม	2.64	โซเดียม	0.109
แมกนิเซียม	1.94	แมกนิเซียม	0.036
ซิลิกอน	25.5	กำมะถัน	0.196

(ที่มา: A.L. Lehninger 1970)

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

จากตารางข้างต้นคำถามที่น่าจะเกิดขึ้นคือ ธาตุบนผิวโลกเข้าสู่ร่างกายคนเราได้อย่างไรทั้ง ๆ ที่เราไม่เคยบริโภคดินหรือหิน? สิ่งหนึ่งที่น่าจะเป็นกุญแจของคำตอบนี้ก็คือ ธาตุเหล่านี้จะไปอยู่ในรูปของสารประกอบอินทรีย์ ซึ่งธาตุเหล่านี้เมื่อมีการเปลี่ยนรูปก็จะมีการปลดปล่อยพลังงาน พลังงานของรูปแบบจึงมีความจำเป็นต่อชีวิต ดังนั้นตัวกลางระหว่างสสารสารอาหารกับชีวิตก็คือพลังงาน ชีวิตจำเป็นต้องใช้พลังงานทั้งในรูปแบบของการสร้างและการสลายสารอาหารเพื่อการดำรงชีพนั่นเอง การเปลี่ยนรูปพลังงานเป็นพฤติกรรมสำคัญที่มีบทบาทต่อสสารและชีวิต จากกฎข้อที่ 2 ของเทอร์โมไดนามิกส์กล่าวไว้ว่า สรรพสิ่งมีแนวโน้มที่จะแตกสลายทุกอณูมุ่งเข้าสู่ความเป็นอิสระปราศจากแรงยึดเหนี่ยวหรือที่เรียกว่า entropy แต่ทำไมสิ่งมีชีวิตจึงดำรงพันธุ์อยู่ท่ามกลางสภาวะ entropy นี้ได้ ประกอบกับกฎข้อที่ 1 ของเทอร์โมไดนามิกส์ที่กล่าวว่าพลังงงานไม่อาจถูกสร้างหรือทำให้สูญหายไปได้ ดังนั้นสิ่งมีชีวิตจึงไม่สามารถใช้พลังงานได้โดยตรง แต่การใช้จะถูกใช้โดยการเปลี่ยนรูปของพลังงานแทน โดยสิ่งมีชีวิตจะนำพลังงานมาใช้ได้ภายใต้สภาวะพิเศษ ณ อุณหภูมิและความดันนั้น ๆ จากนั้นก็จะปล่อยคืนสภาพแวดล้อมในรูปของพลังงานความร้อนซึ่งจะมุ่งเข้าสู่ entropy ได้ง่ายที่สุด ลักษณะของพลังงานที่สิ่งมีชีวิตนำมาใช้จากสิ่งแวดล้อม เราเรียกว่า free energy

> Living organisms create and maintain their essential orderliness at the expense of their environment, which they cause to become more disorderd and random.....นี้จึงเป็นสาเหตุให้เราต้องเข้าใจความสัมพันธ์ระหว่างชีวิตและสิ่งแวดล้อม เพื่อการอยู่ร่วมอย่างยั่งยืน

เมื่อเข้าใจถึงความสัมพันธ์พื้นฐานแล้วก่อนที่จะนำไปสู่การอนุรักษ์และพิทักษ์สิ่งแวดล้อม สิ่งหนึ่งที่ผู้เขียนมีเจตนาคือ การเข้าใจในชีวิตชั้นสูง มนุษย์เรียกตัวเองว่าเป็นสิ่งมีชีวิตชั้นสูงที่อาศัยอยู่ในขั้นสูง ดังนั้นความหมายหรือองค์ประกอบของชีวิตขั้นสูงคงหนีไม่พ้นหลักธรรมที่เรียกว่า เบญจขันธ์ (The five aggregates) อันประกอบไปด้วย

1. รูป (corporeality) หมายถึง รูปธรรมทั้งหมดและพฤติกรรมของสสารและพลังงาน
2. เวทนา (feeling หรือ sensation) เป็นความรู้สึก ทุกข์ สุข หรือเฉยๆ อันเกิดจากประสาททั้ง 5ที่มีต่อรูป
3. สัญญา (perception) หมายถึง ความกำหนดได้ หมายรู้ อันเป็นเหตุให้จำอารมณ์ (object) นั้นได้
4. สังขาร (mental fomation หรือ volitional activities) เป็นการปรุงแต่งความคิดและการแสดงออก ซึ่งเป็นที่มาของกรรม
5. วิญญาณ (conciousness) เป็นความรู้แจ้งอารมณ์ทางประสาททั้ง 5 และรู้อารมณ์ทางใจ

เมื่อพิจารณาให้ดีทั้งห้าองค์ประกอบของชีวิตขั้นสูงให้ดีพบว่าสิ่งเหล่านี้เป็นตัวก่อให้เกิดปัญหาการเบียดเบียนสิ่งมีชีวิตด้วยกันและรวมไปถึงสิ่งแวดล้อมด้วย ดังนั้นความเป็นขั้นสูงต้องใช้ปัญญาเป็นตัวควบคุมสังขาร ปัญญาจะเกิดได้ก็ต่อเมื่อเข้าใจในธรรมชาติ ในธรรมชาติก็หมายถึงภาวะที่ทรงตัวเป็นหลักแน่นอนอยู่โดยธรรมดา เคลื่อนไหวว่องไว ไม่ต่อเนื่องและมีอยู่ในแต่ละขณะ ที่กฎทางธรรมชาติถูกขยายความหรือจำแนกเป็นข้อๆเพื่อง่ายต่อการเข้าใจได้ 3 ข้อ (The three characteristics of existence) ได้แก่ 1.) อนิจจัง (Impermanence) หมายถึง ความไม่เที่ยง ไม่คงที่เกิดแล้วต้องเสื่อม 2.) ทุกข์ (Stress and conflict) เป็นภาวะที่ถูกบีบคั้นอันเกิดจากการเกิดขึ้นและสลายตัว และ 3.) อนัตตา (Soulessness หรือ non-self) เป็นภาวะที่ไม่มีตัวตนที่แท้จริงของมันเอง ซึ่งจะเห็นได้ว่ามีความคล้ายคลึงกับภาวะ entropy อย่างมาก ดังนั้นถ้าสังขารทั้งปวงไม่เที่ยงและเป็นทุกข์ ธรรมชาติทั้งปวงจึงเป็นอนัตตา

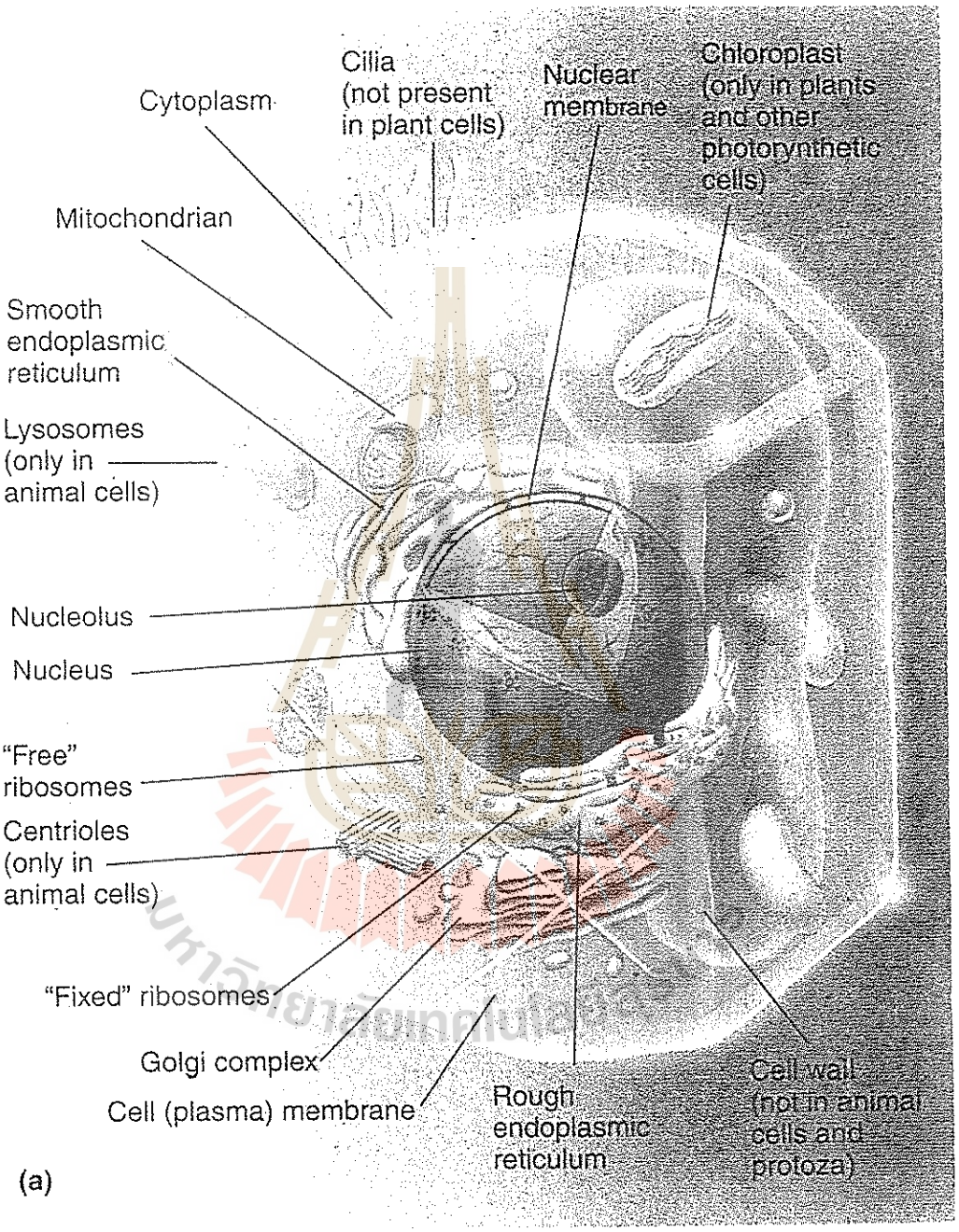
ผู้เขียนหวังว่าในบทต่อๆไปจะทำให้ผู้อ่านเอาชนะความไม่รู้ โดยเฉพาะความไม่รู้ในสัมพันธภาพระหว่างตัวเองกับสิ่งอื่นๆ เพื่อที่จะได้เป็นผู้มีชีวิตขั้นสูงในการอนุรักษ์ ปกป้องสิ่งแวดล้อมในทางที่ถูกต่อไป

คำถามท้ายบท

1. จงใช้ปรัชญาส่วนตัวของท่านจำกัดความคำว่า metabolism
2. ทำไมสิ่งมีชีวิตไม่สามารถใช้ความร้อนเป็นแหล่งพลังงานได้
3. ท่านคิดว่าระบบสิ่งมีชีวิตเป็นระบบปิดหรือระบบเปิด และดำรงอยู่ในสภาพ equilibrium หรือไม่ จงพยายามอภิปราย

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

บทที่ 1 เซลล์โครงสร้างของเซลล์



บทที่ 1 เซลล์และโครงสร้างของเซลล์

การค้นพบและทฤษฎีพื้นฐานของเซลล์

อาจกล่าวได้ว่า Robert Hooke นักวิทยาศาสตร์ชาวอังกฤษเป็นผู้ค้นพบเซลล์ในช่วงปี ค.ศ. 1660 โดยแรงจูงใจที่ทำให้เขาค้นพบ คือ จากการสังเกตุที่ว่าไม้คอร์ก (cork) ซึ่งเป็นของแข็งทำไมจึงลอยน้ำได้อย่างดี เขาได้ลองนำไม้คอร์กมาเฉือนเป็นชิ้นบางๆและส่องด้วยกล้องจุลทัศน์ที่เขาประดิษฐ์ขึ้นเอง พบว่าชิ้นของไม้คอร์กประกอบไปด้วยรูเล็กๆ จำนวนมากเขาจึงตั้งชื่อรูเหล่านี้ว่า cell และในช่วงเวลาเดียวกัน Anton van Leeuwenhoek พ่อค้าผ้าชาวเนเธอร์แลนด์ ซึ่งขณะนั้นอยู่ที่เมือง Delft ก็พบเซลล์ของสิ่งมีชีวิตที่เคลื่อนที่ได้ โดยกล้องจุลทัศน์แบบใช้มือถือที่มีกำลังขยาย 500 เท่า ซึ่งเซลล์นั้นก็คือเซลล์ของ *Euglena* ที่รู้จักกันในปัจจุบันกันนั่นเอง จากนั้นอีก 2 ศตวรรษจึงมีการศึกษากันอย่างจริงจังในเชิงวิทยาศาสตร์และได้ตั้งเป็นทฤษฎีของเซลล์ในที่สุด โดยทฤษฎีของเซลล์ประกอบไปด้วย

1. สิ่งมีชีวิตทุกชนิดประกอบด้วยจำนวนของเซลล์หนึ่งเซลล์หรือมากกว่าขึ้นไป
2. เซลล์เป็นหน่วยที่มีชีวิตพื้นฐานของสิ่งมีชีวิตโดยมีปฏิกริยาเคมีที่เกี่ยวข้องกับความมีชีวิตอยู่ภายในเซลล์เอง
3. ทุกเซลล์เกิดจากเซลล์ที่มีมาก่อน

เซลล์ของสิ่งมีชีวิตมีด้วยกัน 2 ประเภท ได้แก่ เซลล์ของสิ่งมีชีวิตที่เป็น prokaryote (pro = ก่อน; karyote=karyon=nucleus)ได้แก่ สิ่งมีชีวิตในกลุ่มแบคทีเรียรวมไปถึง archaea และ eukaryote (eu = true)ได้แก่ โปรติสท์, เห็ด รา, พืชและสัตว์ ข้อแตกต่างขั้นต้นของเซลล์พวก prokaryote และ eukaryote คือ ในกลุ่มเซลล์ของ prokaryote จะไม่มีเยื่อหุ้มนิวเคลียส (nuclear membrane) ในขณะที่ eukaryote นั้นนิวเคลียสที่ถูกห่อหุ้มด้วยเยื่อหุ้มนิวเคลียส ในลำดับแรกก่อนที่จะเข้าสู่รายละเอียดโครงสร้างของเซลล์แบคทีเรีย จึงจำเป็นต้องรู้โครงสร้างและหน้าที่พื้นฐานของเซลล์ทั่วไปก่อน

โครงสร้างและหน้าที่พื้นฐานของเซลล์ทั่วไป

จากการที่สิ่งมีชีวิตมีพฤติกรรมต่างๆที่แสดงถึงความมีชีวิตนั้น พฤติกรรมเหล่านี้เกิดจากกิจกรรมของเซลล์แต่ละเซลล์ที่ประกอบกันเป็นสิ่งมีชีวิตนั้นๆ กิจกรรมของเซลล์เกิดขึ้นได้จากปฏิสัมพันธระหว่างปัจจัยทางกายภาพและองค์ประกอบภายในเซลล์หรือที่เรียกว่า organelle โดยในหัวข้อนี้จะได้แสดงให้เห็นถึงโครงสร้างและหน้าที่ขององค์ประกอบต่างๆ ในเซลล์อย่างพอสังเขป โดยองค์ประกอบภายในเซลล์ประกอบไปด้วยส่วนต่างๆ และการทำงานต่างๆกันไปดังต่อไปนี้

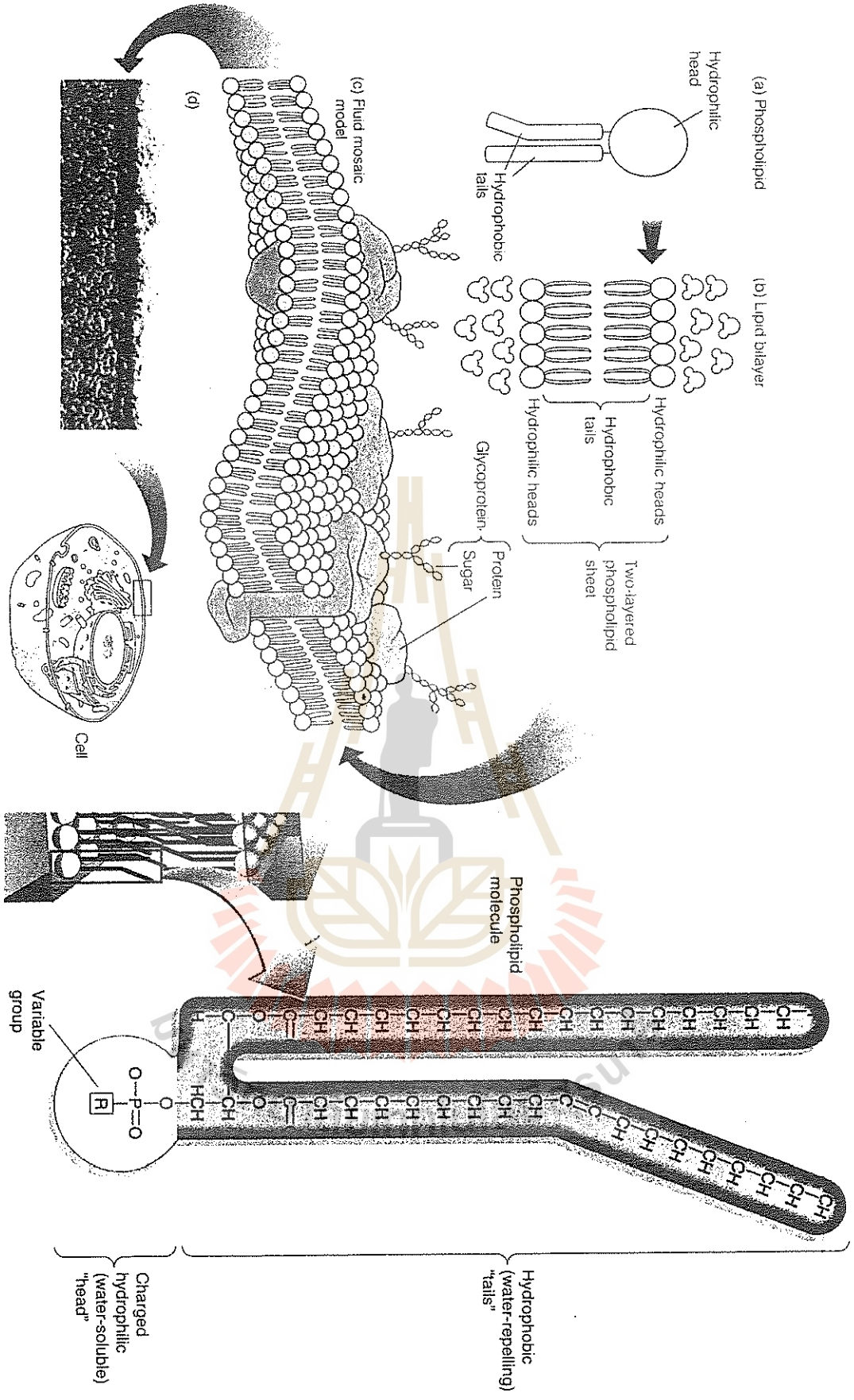
1. **ผนังเซลล์ (Cell wall)**

จัดเป็นโครงสร้างชั้นนอกสุดของเซลล์ในกลุ่มสิ่งมีชีวิตพวกแบคทีเรียเกือบทุกชนิด (ยกเว้นแบคทีเรียพวก Mycoplasma) เห็ด รา สาหร่ายและพืช แต่ไม่พบในสัตว์ โครงสร้างทางเคมีโดยทั่วไปของผนังเซลล์เป็นสารในกลุ่มโพลีแซคคาไรด์ (polysaccharide) ที่ต่อกันด้วยพันธะทางเคมีก่อให้เกิดโครงสร้างที่ค่อนข้างแข็งแรง ซึ่งจะทำหน้าที่รักษารูปร่างของเซลล์และปกป้องโครงสร้างของเซลล์ชั้นถัดไป ผนังเซลล์โดยทั่วไปจะมีรูพรุนซึ่งทำให้น้ำ ก๊าซต่างๆ และของแข็งบางอย่างผ่านเข้าสู่เซลล์ได้ ในขณะที่เซลล์ของสัตว์จะมีส่วนทดแทนผนังเซลล์ที่อยู่นอกสุดของเซลล์โดยจะมีโครงสร้างเป็นลักษณะคล้ายร่างแห (meshwork) หรือตาข่ายซึ่งมีองค์ประกอบทางเคมีเป็นโปรตีนและโพลีแซคคาไรด์ หรือที่เรียกกันว่า collagen (ดังแสดงในรูปที่ 4)

รูปที่ 4 : แสดงภาพถ่ายของ collagen จากกล้องจุลทัศน์อิเลคตรอนแบบส่องกราดจากเซลล์ของตาในตัวอ่อนของไก่ (ที่มา: J.H.Postlethwait 1991)

2. **เยื่อหุ้มเซลล์ (Plasma membrane)**

จัดเป็นผนังบาง ๆ ที่ห่อหุ้มเซลล์มีองค์ประกอบหลักเป็นสารจำพวกกรดไขมันที่เรียกว่าฟอสโฟไลปิด (phospholipid) โดยที่ฟอสโฟไลปิดนี้ประกอบไปด้วยส่วนสำคัญในแต่ละโมเลกุล 2 ส่วนคือ ส่วนหัวและหาง ส่วนหัวของฟอสโฟไลปิดนั้นประกอบไปด้วยหมู่ฟอสเฟตที่มีประจุจะเป็นส่วนที่สัมผัสกับสิ่งแวดล้อมภายนอกเซลล์ซึ่งมักจะเป็นน้ำ บางครั้งจึงเรียกส่วนนี้ว่าเป็น hydrophilic head (hydro = water, philic = loving) ในขณะส่วนหางจะเป็นส่วนที่มีการจัดเรียงตัวให้สัมผัสกับน้ำจากสิ่งแวดล้อมน้อยที่สุดมีโมเลกุลประกอบไปด้วยสายของไลปิดหรือที่เรียกว่า hydrophobic tail (phobic = fearing) นอกจากนี้ในส่วนของเยื่อหุ้มเซลล์นั้นพบว่าโมเลกุลของฟอสโฟไลปิดจะจัดเรียงตัวกันเป็น 2 ชั้น หรือที่เรียกว่า lipid bilayer (ดังแสดงในรูปที่ 5)



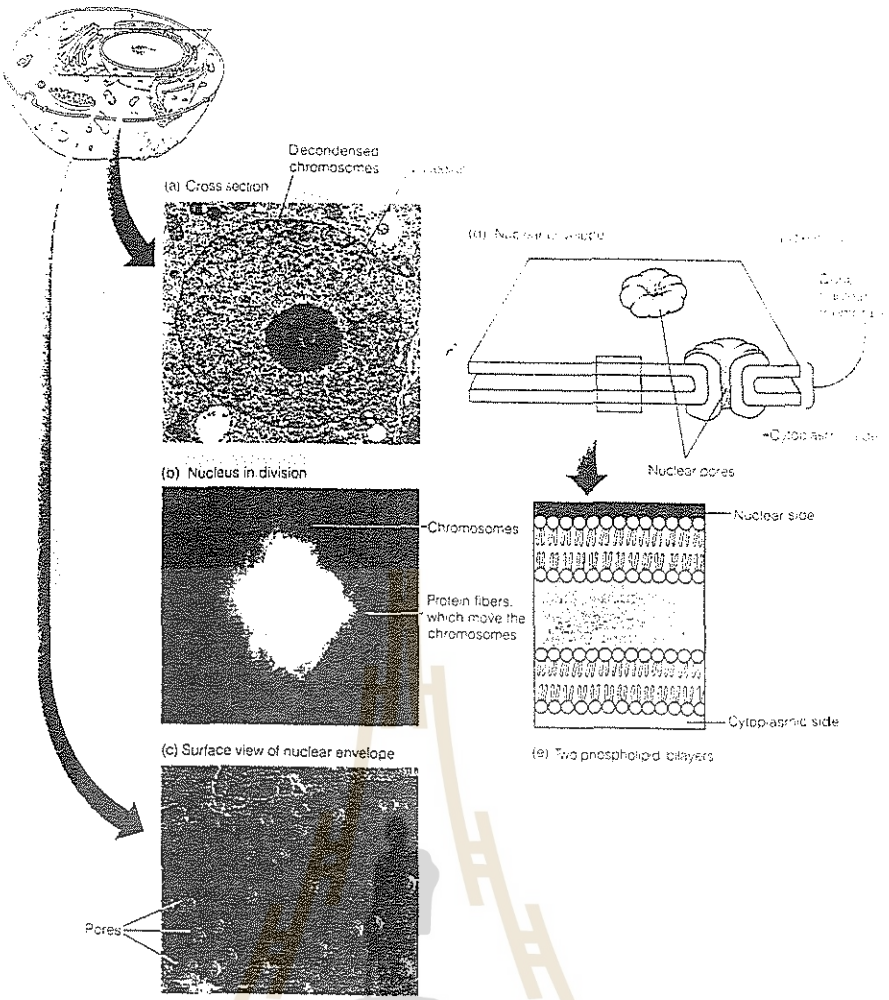
รูปที่ 5 : แสดงตำแหน่งและโครงสร้างของ phospholipid บนเยื่อหุ้มเซลล์ (ที่มา: J.H. Postletheait 1991 และ L. Mckane 1996)

หน้าที่ของเยื่อหุ้มเซลล์ นั้นเปรียบเสมือนด่านที่คัดเลือกสารที่จะผ่านเข้าและออกของเซลล์ นอกไปจากนี้บนส่วนของเยื่อหุ้มเซลล์ ยังมีโปรตีนบางชนิดฝังตัวอยู่อย่างหลวมๆ ทำให้โครงสร้างดูไม่เป็นเนื้อเดียวกันแบบ lipid bilayer เพียงอย่างเดียว จึงมีชื่อแบบจำลองเรียกลักษณะดังกล่าวนี้ว่า fluid mosaic โปรตีนดังกล่าวเหล่านี้ยังช่วยทำหน้าที่ในการคัดเลือกประเภทของสารจำเพาะที่จะเข้าสู่และออกจากเซลล์อีกด้วย นอกไปจากนี้โปรตีนกลุ่มนี้ยังมีความสัมพันธ์กับลักษณะทางพันธุกรรม เช่น ในกลุ่มคนที่หมู่เลือด A, B, AB หรือ O ก็จะมีโปรตีนบน เยื่อหุ้มเซลล์ ต่างกันไปตามกลุ่มของเลือด โดยทั่วไปโครงสร้างทางเคมีของเยื่อหุ้มเซลล์ในสิ่งมีชีวิต eukaryote และ prokaryote มักมีโครงสร้างพื้นฐานที่เหมือนกันยกเว้นแต่ว่าในeukaryote มักพบไลปิดที่เป็นสารกลุ่ม sterols เช่น cholesterol ที่พบได้ในเซลล์ของมนุษย์และสัตว์ในขณะที่พบ ergosterol ในเซลล์ของกลุ่มเห็ดรา

3. **นิวเคลียส (Nucleus)**

นิวเคลียสเปรียบได้เป็นสมองและหัวใจของเซลล์ เพราะเป็นที่เก็บสารพันธุกรรมหรือ ที่รู้จักกันดีในนามของ DNA (deoxyribonucleic acid) ในสิ่งมีชีวิตกลุ่ม eukaryote จะมีเยื่อหุ้มนิวเคลียส ซึ่งเยื่อหุ้มนี้ก็มีการจัดเรียงตัวแบบ lipid bilayer เช่นเดียวกับ เยื่อหุ้มเซลล์ รวมไปถึงมีรูพรุนรอบเยื่อหุ้มจำนวนมากที่เรียกว่า nuclear pore ซึ่งแต่ละรูพรุนนี้จะมีโปรตีนอยู่เป็นกระจุกเพื่อก่อให้เกิดเป็นโครงสร้างที่ควบคุมการผ่านเข้าออกของสารในนิวเคลียสได้ เช่น การผ่านของ RNA (ribonucleic acid) ออกนอกนิวเคลียสภายหลังเกิดกระบวนการถอดรหัสของ DNA (DNA transcription) ในนิวเคลียสแล้ว (ดังแสดงในรูปที่6)

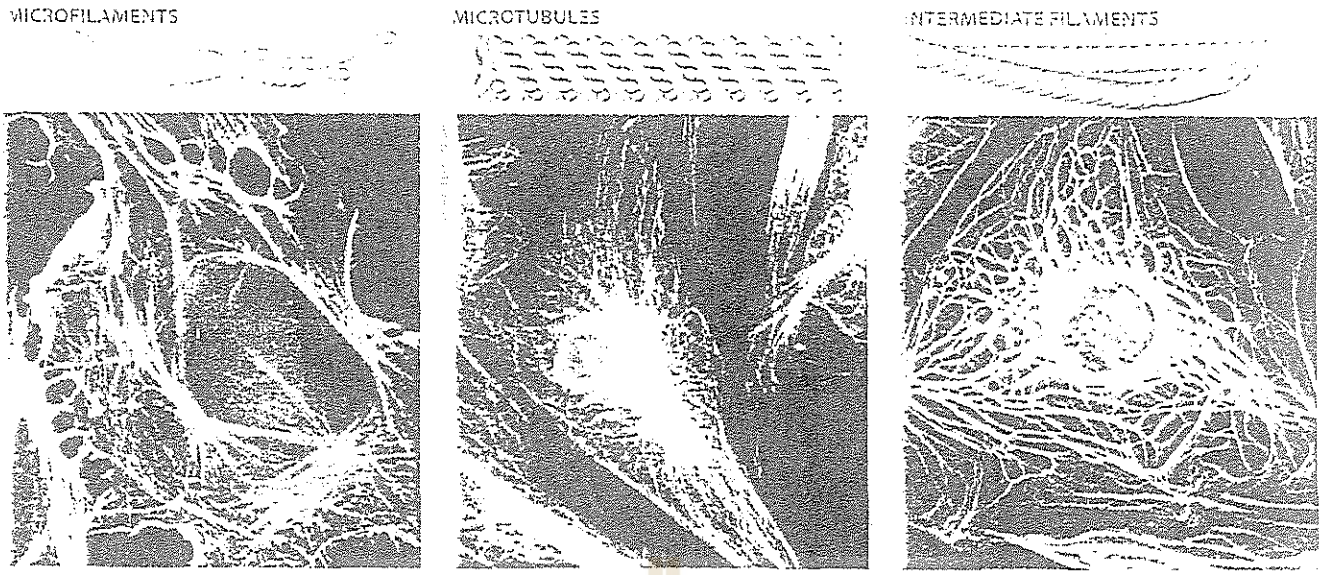
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี



รูปที่ 6: ภาพถ่ายแสดงนิวเคลียสภายในเซลล์โดยกล้องจุลทัศน์อิเลคตรอน (a) ภาพถ่ายแบบส่องผ่าน (b) การแบ่งตัวของเซลล์ที่มีผลทำให้เกิดการแบ่งนิวเคลียส (c) ภาพถ่ายแบบส่องกราดบนผนังหุ้มนิวเคลียสและ (d) ภาพจำลองแสดงรูบนผนังหุ้มนิวเคลียส (ที่มา: J.H. Postlethwait 1991)

4. **ไซโตพลาสซึม และ ไซโตสคีลีตัน (Cytoplasm and Cytoskeleton)**

ไซโตพลาสซึมจัดเป็นส่วนที่เป็นของเหลวภายในเซลล์ที่มีลักษณะเป็นแบบกึ่งของเหลว (semifluid) ซึ่งเป็นที่รวบรวมสารอาหารและสารเคมีสำคัญภายในเซลล์ ในไซโตพลาสซึม เองมีน้ำเป็นองค์ประกอบถึง 70% ประมาณ 15 - 20% ประกอบไปด้วยโปรตีนกว่า 10,000 ชนิด (ประมาณ 10 พันล้านโมเลกุลต่อเซลล์) นอกจากนี้โครงสร้างอีกโครงสร้างหนึ่งในไซโตพลาสซึม ที่มีลักษณะคล้ายตาข่ายใยแมงมุมขึงระหว่าง organelle ต่างๆภายในเซลล์นั้น ๆ เรียกว่าไซโตสคีลีตัน ดังนั้นไซโตสคีลีตันจึงอาจจัดได้ว่าเป็นโครงกระดูกภายในเซลล์ก็ว่าได้ซึ่งจะมีบทบาทในการช่วยทั้งการรักษารูปร่างและกิจกรรมของเซลล์นั้นอีกด้วย ไซโตสคีลีตันสามารถแบ่งได้เป็น 3 ชนิด (ดังแสดงในรูปที่ 7) ดังนี้คือ



รูปที่ 7: ภาพแสดงไซโตสคีลีตันแบบต่าง ๆ (ที่มา: D.E. Engber 1998)

4.1 Microfiaments (หรือ stress fiber)

มีองค์ประกอบหลักเป็นโปรตีนที่ชื่อว่า actin ไซโตสคีลีตันจำพวกนี้จะมีหน้าที่ในการช่วยให้เกิดการเคลื่อนที่ในช่วงขณะของ oranelleต่าง ๆ ภายในเซลล์ actinเองมีคุณสมบัติพิเศษในการรวมตัวกันและแยกตัวกัน จึงทำให้ไซโตสคีลีตันจำพวกนี้สามารถยืดและหดตัวเองได้ จึงส่งผลต่อการควบคุมการเคลื่อนที่ของ organelle ภายในเซลล์นั่นเอง ตัวอย่างเช่น การเคลื่อนตัวของคลอโรพลาสต์ที่ตอบสนองต่อแสงภายในเซลล์ของพืชก็มาจากการทำงานของ microfilament

4.2 Microtubules

โดยทั่วไปมีลักษณะกลางเป็นทรงกระบอก มีเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 20-25 นาโนเมตร มีโปรตีนที่เป็นองค์ประกอบชื่อ tubulin ซึ่งมีลักษณะพิเศษเช่นเดียวกับ actin คือสามารถรวมตัวและแยกตัวจากกันได้ microtubule เป็นไซโตสคีลีตันที่พบว่ามีบทบาทในควบคุมการเคลื่อนไหวของ cilia และ flagella

4.3 Intermediate filament

ประกอบไปด้วยโปรตีนที่ชื่อ kelatin มีขนาดอยู่กึ่งกลางระหว่าง microfilament และ microtubule คือประมาณ 10 นาโนเมตร intermediate filament นี้ไม่มีลักษณะพิเศษของ actin และ tubulin ดังนั้นจึงมีบทบาทสำคัญในการรักษารูปร่างเซลล์เสียเป็นส่วนใหญ่

5. **เอนโดพลาสมิค เรคติคิวลัน (Endoplasmic recticulum; ER)**

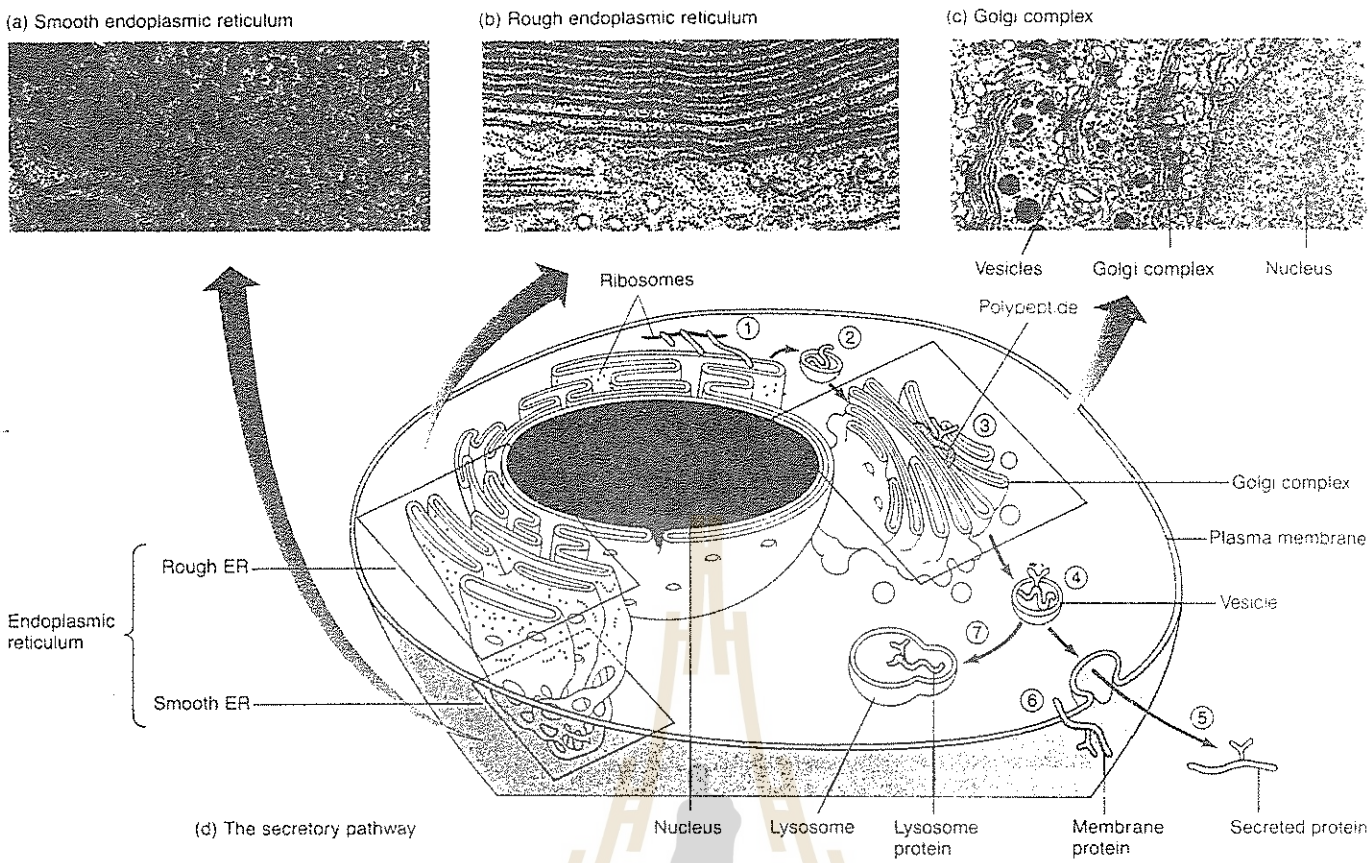
ER เป็นอีกโครงสร้างหนึ่งภายในเซลล์ที่มีลักษณะเป็นเยื่อหุ้มที่เชื่อมต่อกับเยื่อหุ้มนิวเคลียส ไปยังเยื่อหุ้มเซลล์บทบาทสำคัญของ ER จะครอบคลุมกระบวนการสังเคราะห์สารสำคัญ เช่น ไขมันบางชนิด หรือ โปรตีนบางชนิด การขนส่ง การย่อยสลาย และปลดปล่อยโปรตีนและผลิตภัณฑ์บางอย่างของเซลล์ ER แบ่งได้เป็น 2 ประเภทได้แก่

5.1 Smooth ER (SER)

เป็น ER ที่มีการพับไปมาเป็นแผ่นหรือม้วนตัวหลอดมีลักษณะผิวเรียบ มีหน้าที่สำคัญในการทำลายพิษในเซลล์ และควบคุมการสร้างสารประเภทไขมันบางชนิด เช่น จะสามารถเปลี่ยน cholesterol ไปเป็นสารประกอบวิตามินดี ซึ่งมีไขมันเป็นองค์ประกอบหลักโดยอาศัยการทำงานร่วมกับแสงแดดทำให้กระดูกแข็งแรง ตัวอย่างที่เห็นได้ชัดคือ ผู้หญิงชนเผ่าเบดูอิน (Bedouin) ที่อยู่ชริเวณตอนเหนือของทวีปแอฟริกาซึ่งมักจะนุ่งห่มเสื้อผ้าสีดำที่มิดชิด ทำให้ SER ในเซลล์ผิวหนังไม่สามารถสังเคราะห์วิตามินดีจาก cholesterol ได้ จึงพบว่าหญิงของชนกลุ่มนี้มักเป็นโรคกระดูกอ่อน และนอกไปจากนี้ SER ยังมีบทบาทควบคุมการสร้างสารกลุ่มฮอร์โมน เช่น steroid อีกด้วย

5.2 Rough ER (RER)

เป็นERที่มีบทบาทต่อการสร้างโปรตีน โดยเริ่มจากในนิวเคลียสที่มีข้อมูลที่ใช้ในการผลิตโปรตีน (รหัสพันธุกรรมของ DNA)โดยส่งผ่าน RNA ออกมานอกนิวเคลียส จากนั้น RNA นี้จะถูกเข้าจับเกาะโดยโปรตีนขนาดเล็กอีกกลุ่มหนึ่งที่มีรูปร่างคล้ายลูกปัดที่ชื่อว่า ไรโบโซม (ribosome) ไรโบโซมมักจะเกาะอยู่บริเวณ ER จึงทำให้ ER แบบนี้เรียกว่า RER จนกระทั่งเกิดการสร้างโปรตีนขึ้นโดยใช้ข้อมูลบนRNAร่วมกับtRNAและ ribosome ถูกบรรจุใส่โครงสร้างที่คล้ายถุงเล็ก ๆ โดยบทบาทของ ER และนำส่งให้ กอลจิคอมเพลกซ์ต่อไป กลไกการทำงานของ SER, RER และกอลจิคอมเพลกซ์ดังแสดงในรูปที่ 8



รูปที่ 8: แสดงโครงสร้างและความสัมพันธ์ระหว่าง SER,RER และกอลจิคอมเพลกซ์(ที่มา: J.H. Postlethwaitและคณะ 1991)

6. **กอลจิคอมเพลกซ์ (Golgi complex)**

กอลจิคอมเพลกซ์เป็นโครงสร้างที่มีระบบเป็นแบบเยื่อหุ้มเช่นเดียวกับ ER เมื่อโปรตีนที่ถูกสร้างจากบริเวณ RER ถูกบรรจุใส่โครงสร้างคล้ายถุงเล็ก ๆ (sac หรือ vessicle) ก็จะถูกลำเลียงมายังกอลจิคอมเพลกซ์เพื่อทำการปรับแต่งโมเลกุลของโปรตีนให้เหมาะสมกับกิจกรรมต่าง ๆ ที่จำเป็นของเซลล์ จากนั้นโปรตีนในถุงเล็กๆ นี้เองจะหลอมรวมตัวกับเยื่อหุ้มเซลล์ และถูกขนส่งออกสู่ภายนอกเซลล์ต่อไป หรือบางกรณีโปรตีนก็ยังคงอยู่ที่เยื่อหุ้มเซลล์ มีโครงสร้างเป็นโปรตีนที่เกาะตัวอย่างหลวมบนเยื่อหุ้มเซลล์ หรือบางกรณีที่เป็นเอนไซม์ที่ควบคุมการย่อยสลายสารบางชนิดก็จะถูกบรรจุอยู่ในถุงเล็กๆอย่างถาวรล่องลอยต่อไปในไซโตพลาสซึมที่ชื่อว่า lysosome เห็นได้ว่าบทบาทของทั้ง SER, RER และกอลจิคอมเพลกซ์ นั้นมีบทบาทโดยตรงต่อการซ่อมแซมเยื่อหุ้มเซลล์เมื่อเกิดความเสียหายได้อีกด้วย ส่วนในกรณีของพืชที่มีการสร้าง cellulose เพื่อใช้ในการนำมาเป็นโครงสร้างของผนังเซลล์ก็มีกลไกคล้ายกับที่กล่าวข้างต้น แต่ organelle ที่ควบคุมกลไกในพืชนี้เรียกว่า dictyosomes โครงสร้างอีกประเภทหนึ่งที่สัมพันธ์กับ

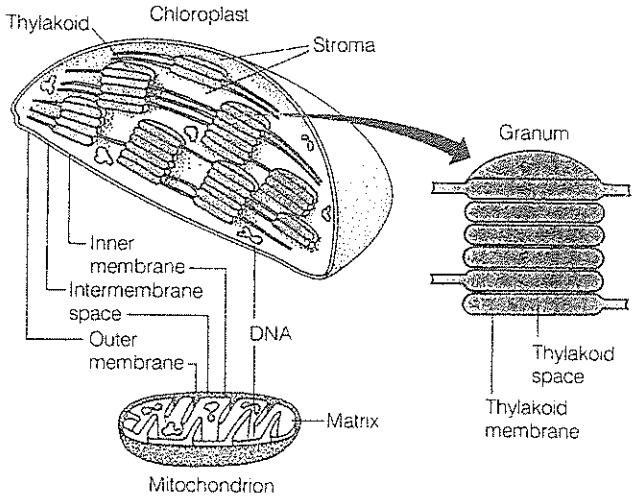
ถุงเล็กๆ ที่สร้างจาก RER และกอลจิคอมเพลกซ์ คือ peroxisomes ซึ่งเป็นถุงที่บรรจุเอนไซม์สำคัญในการย่อยสลายและทำลายสารพิษต่างๆ เช่นพบในตับและไตหน่วยคอยทำลายสารพิษอันเนื่องมาจากการบริโภคแอลกอฮอลเป็นต้น

7. **ไมโตคอนเดรีย(Mitochondria)**

จัดเป็น organelle ที่สำคัญอย่างยิ่งในเซลล์ของกลุ่ม eukaryote เพราะเป็นส่วนที่จัดสรรพลังงานให้แก่กระบวนการและกิจกรรมต่างๆของเซลล์ โครงสร้างโดยทั่วไปของไมโตคอนเดรียจะคล้ายกับนิวเคลียสคือมี lipid bilayer membrane โดยส่วนนอกสุดจะเรียกว่า smooth outer membrane และส่วนถัดเข้ามาเรียก inner membrane ซึ่งมีการจัดเรียงตัวพันไปมา ที่บริเวณ inner membrane นี้เองพบว่ามีเอนไซม์และโปรตีนสำคัญกว่า 60 ชนิดบรรจุอยู่ เอนไซม์และโปรตีนเหล่านี้จะช่วยในการสร้างพลังงานจากกระบวนการหายใจแบบใช้อ๊อกซิเจน นอกไปจากนี้ลักษณะสำคัญอีกประการหนึ่งคือ ไมโตคอนเดรียมี DNA เป็นของตัวเองหรือที่เรียกว่า mitochondrial DNA และยิ่งไปกว่านี้พบว่าไมโตคอนเดรียในสัตว์จะพบว่ามีในเซลล์ไข่ของเพศเมียเท่านั้นจะไม่พบในเซลล์ของสเปิร์มและที่สำคัญไมโตคอนเดรียจะควบคุมการย่อยสลายสารชีวโมเลกุลขนาดเล็กที่มีธาตุคาร์บอนเป็นองค์ประกอบทำให้ได้ผลิตภัณฑ์เป็นก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ น้ำและ adenosinetriphosphate (ATP) (ซึ่งมีพลังงานสะสมอยู่ระหว่างในพันธะฟอสเฟต)

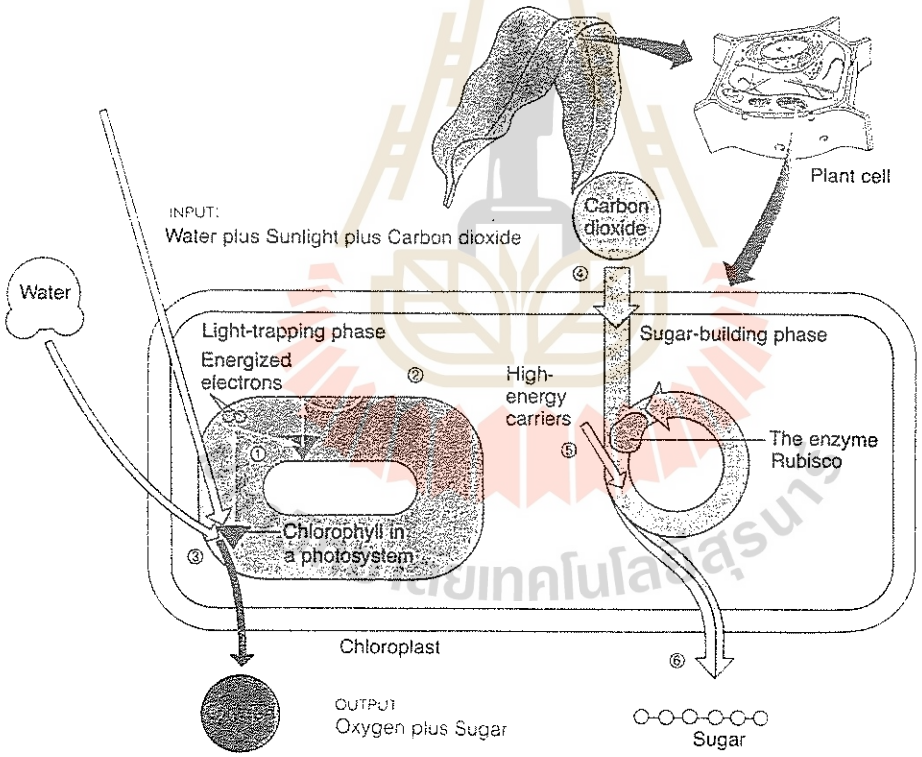
8. **คลอโรพลาสท์(Chloroplast)**

จัดเป็น organelle ที่มีโครงสร้างทำนองเดียวกันกับไมโตคอนเดรีย (ดังแสดงเปรียบเทียบในรูปที่9) แต่พบเฉพาะในเซลล์ของสิ่งมีชีวิตที่มีความสามารถในการสร้างอาหารได้เองบางจำพวก เช่นในพืช เพียงแต่ว่าไมโตคอนเดรียมีบทบาทเด่นชัดในเรื่องของการสร้างพลังงานจากการย่อยสลายสารอาหารและได้พลังงานสะสมไว้ในรูป ATP แต่คลอไรพลาสท์สามารถใช้พลังงานจากแสง ร่วมกับก๊าซคาร์บอนได้ออกไซด์มาสร้างเป็นสารอาหาร เช่น กลูโคสและคาร์ไบโฮเดรตได้ในที่สุด (ดังแสดงในรูป10)



รูปที่ 9 : ภาพเปรียบเทียบโครงสร้างของไมโตคอนเดรียและคลอโรพลาสต์

(ที่มา: J.H. Postlethwaitและคณะ 1991)



รูปที่ 10 : แสดงกระบวนการสังเคราะห์แสงในเซลล์พืช (ที่มา: J.H. Postlethwaitและคณะ 1991)

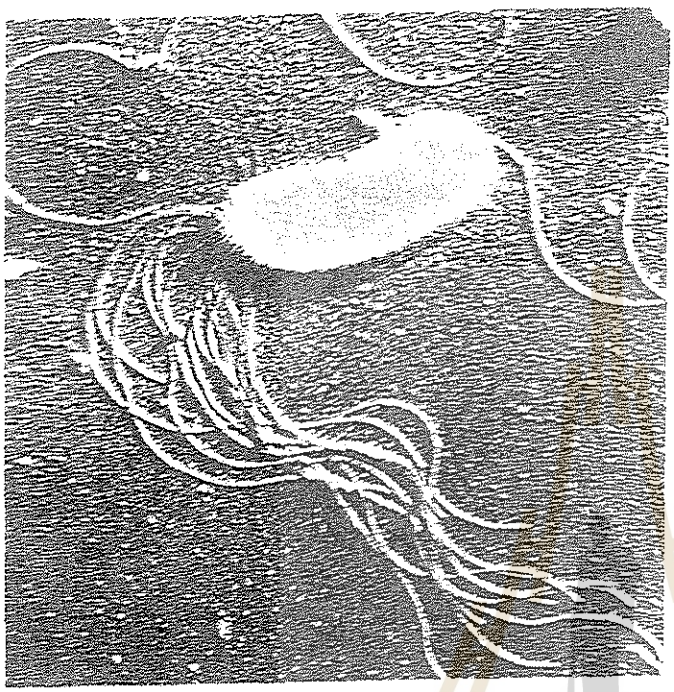
คำถามท้ายบท

1. Organelle ใดที่พบใน eukaryote แต่ไม่พบใน prokaryote

2. ท่านคิดว่า Organelle หรือองค์ประกอบใดของเซลล์น่าจะมีบทบาทมากที่สุดเมื่อท่านนำเซลล์นั้นๆไปวางไว้บนวัตถุที่มีพื้นผิวต่างๆกัน

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

บทที่ 2 ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับแบคทีเรีย



มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

บทที่ 2 ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับแบคทีเรีย

แบคทีเรียเป็นกลุ่มสิ่งมีชีวิตที่ถูกแยกออกจากกันชัดเจนจากกลุ่ม eukaryote โดยมีข้อแตกต่างที่สำคัญคือมีโครงสร้างภายในเซลล์ที่ไม่พบนิวเคลียส, ไมโตคอนเดรีย, คลอโรพลาสท์ และกอลจิคอมเพลกซ์ เป็นต้น จึงทำให้โครงสร้างของเซลล์ของแบคทีเรียไม่มีความซับซ้อนเท่า eukaryote และกิจกรรมต่างๆ ภายในเซลล์ก็ไม่ซับซ้อนเท่า นี่จึงเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้การศึกษาจุลินทรีย์กลุ่มที่เป็นแบคทีเรียเป็นไปอย่างลึกซึ้งและกว้างขวางเพื่อเป็นแบบจำลองในการเข้าใจพฤติกรรมต่างๆ ของมนุษย์หรือสิ่งมีชีวิตชั้นสูงอื่นๆ ประกอบกับประโยชน์ของแบคทีเรียที่มีต่อระบบนิเวศหรือมนุษย์ก็ดีที่มีมากกว่าโทษ จึงประกอบกันเป็นความจำเป็นที่จะต้องทราบถึงความรู้พื้นฐานของสิ่งมีชีวิตกลุ่มนี้เป็นลำดับแรก

แบคทีเรียสามารถแบ่งได้เป็น 2 กลุ่มใหญ่ตามลักษณะการจำแนกลำดับเบสของ RNA ได้แก่ archaebacteria และ eubacteria

1. **Archaebacteria**

เป็นกลุ่มแบคทีเรียที่มักจะมีลักษณะปรากฏที่เด่นอยู่ 3 ประการได้แก่

1.1 Methanogenic archea (Euryarchaeota) เป็นกลุ่มแบคทีเรียมีลักษณะเป็น obligate anaerobe คือไม่สามารถที่เจริญในสภาพที่มีอ๊อกซิเจนได้ และในกลุ่มนี้มักจะได้พลังงานจากการรีดิวซ์ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ไปเป็นมีเธน หรือสามารถเปลี่ยนอะซิเตทไปเป็นก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์และมีเธนได้

1.2 Extreme halophilic archaea (Euryarchaeota) เป็นกลุ่มแบคทีเรียที่เจริญได้ในสภาพที่มีความเข้มข้นของเกลือสูง (อย่างน้อยในปริมาณ 3-5 โมลาร์) แบคทีเรียที่มีลักษณะดังกล่าวนี้มักพบว่ามีโมเลกุลที่ควบคุมการปั๊มไอออนของโปรตอนและคลอไรด์เข้าออกเซลล์ที่ชื่อว่า bacteriorhodopsin และ halorhodopsin ตามลำดับ

1.3 Extreme thermophilic archaea (Crenarchaeota) เป็นกลุ่มแบคทีเรียที่มักจะเจริญได้ดีในที่อุณหภูมิสูงตั้งแต่ 55 - 100°ซ และมักจะอาศัยธาตุกำมะถันร่วมในการเจริญ (เป็นตัวรับหรือให้อิเลคตรอนเพื่อให้ได้มาซึ่งพลังงานจากกระบวนการรีดอกซ์) นอกจากนี้แบคทีเรียในกลุ่มนี้บางตัวยังมีคุณสมบัติที่เป็น thermoacidophile อีกด้วย กล่าวคือ สามารถเจริญได้ในที่มีความเป็นกรดต่ำในอุณหภูมิสูงได้ เช่น แบคทีเรียใน จีนัส *Sulfobolus* สามารถมีชีวิตได้ในสิ่งแวดล้อมที่มีค่า pHเท่ากับ 1 ที่อุณหภูมิ 90°ซ ในบ่อน้ำพุร้อนได้

2. **Eubacteria**

เป็นแบคทีเรียอีกกลุ่มที่สามารถพบได้ในสิ่งแวดล้อมปกติทั่วไป ซึ่งอยู่คนละสายวิวัฒนาการกับ archaebacteria และมีบทบาทในการเป็นผู้ย่อยสลายในระบบนิเวศเป็นส่วนใหญ่ยกเว้นในกลุ่มของ cyanobacteria ที่มีความสามารถในการสังเคราะห์แสงได้

ตัวอย่างของกลุ่มแบคทีเรียที่เป็น eubacteria และ archaebacteria ดังสรุปในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 : กลุ่มของแบคทีเรียในพวก eubacteria และ archaea bacteria (ที่มา : D.A.Hodson 1989)

Bacteria and their subdivisions
Purple bacteria
- α subdivision
  - Purple nonsulfur bacteria (*Rhodobacter, Rhodopseudomonas*) rhizobacteria, agrobacteria, rickettsiae, *Nitrobacter*, *Thiobacillus* (some), *Azospirillum*, *Caulobacter*
- β subdivision
  - *Rhodocyclus* (some), *Thiobacillus* (some), *Alcaligenes*, *Bordetella*, *Spirillum*, *Nitrosovibrio*, *Neisseria*
- γ subdivision
  - Enterics (*Acinetobacter*, *Erwinia*, *Escherichia*, *Klebsiella*, *Salmonella*, *Serratia*, *Shigella*, *Yersinia*), vibrios, fluorescent psedomonads, purple sulfur bacteria, *Legionella* (some), *Azotobacter*, *Beggiatoa*, *Thiobacillus* (some), *Photobacterium*, *Xanthomonas*
- δ subdivision
  - Sulfur and sulfate reducers (*Desulfovibrio*, myxobacteria, bdellovibrios

Gram-positive eubacteria
- A. High (G + C) species
  - *Actinomyces*, *Streptomyces*, *Actinoplanes*, *Arthrobacter*, *Micrococcus*, *Bifidobacterium*, *Frankia*, *Mycobacterium*, *Corynebacterium*
- B. Low (G + C) species
  - *Clostridium*, *Bacillus*, *Staphylococcus*, *Streptococcus*, mycoplasmas, lactic acid bacteria
- C. Photosynthetic species
  - *Heliobacterium*
- D. Species with gram-negative walls
  - *Megasphaera*, *Sporomusa*

Cyanobacteria and chloroplasts
- *Oscillatoria*, *Nostoc*, *Synechococcus*, *Prochloron*, *Anabaena*, *Anacystis*, *Calothrix*

Spirochaetes and relatives
- A. Spirochaetes
  - *Spirochaeta*, *Treponema*, *Borrelia*
- B. Leptospiras
  - *Leptospira*, *Leptonema*

Green sulfur bacteria
- *Chlorobium*, *Chloroherpeton*

Bacteroides, flavobacteria and relatives
- A. Bacteroides group
  - *Bacteroides*, *Fusobacterium*
- B. Flavobacterium group
  - *Flavobacterium*, *Cytophaga*, *Saprospira*, *Flexibacter*

Planctomyces and relatives
- A. Planctomyces group
  - *Planctomyces*, *Pasteuria*
- B. Thermophiles
  - *Isocystis pallida*

Chlamydiae
- *Chlamydia psittaci*, *C. trachomatis*

Radio-resistant micrococci and relatives
- A. Deinococcus group
  - *Deinococcus radiodurans*
- B. Thermophiles
  - *Thermus aquaticus*

Green nonsulfur bacteria and relatives
- A. Chloroflexus group
  - *Chloroflexus*, *Herpetosiphon*
- B. Thermomicrobium group
  - *Thermomicrobium roseum*

Archaea subdivisions
Extreme halophiles
- *Halobacterium*, *Halococcus morrhuae*

Methanobacter group
- *Methanobacterium*, *Methanobrevibacter*, *Methanosphaera stadtmaniae*, *Methanothermus fervidus*

Methanococcus group
- *Methanococcus*

"Methanosarcina" group
- *Methanosarcina barkeri*, *Methanococcoides methylutens*, *Methanotrhix soehngenii*

Methospirillum group
- *Methanospirillum hungatei*, *Methanomicrobium*, *Methanogenium*, *Methanoplanus limicola*

Thermoplasma group
- *Thermolasma acidophilum*

Thermococcus group
- *Thermococcus celer*

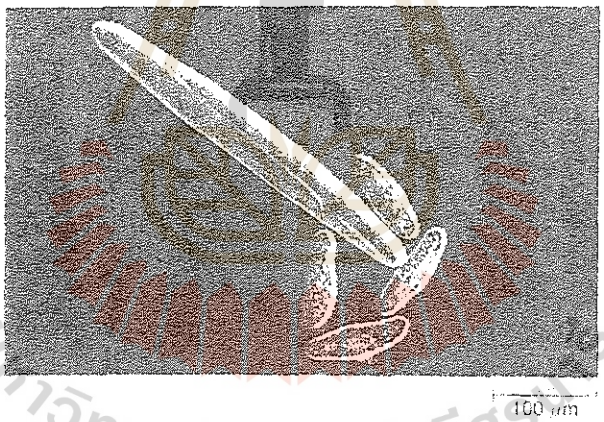
Extreme thermophiles
- *Sulfolobus*, *Thermoproteus tenax*, *Desulfurococcus mobilis*, *Pyodictium occultum*

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

รูปร่างและขนาดของแบคทีเรีย

โดยทั่วไปเซลล์ของสิ่งมีชีวิตกลุ่ม prokaryote จะมีขนาดเล็กกว่าเซลล์ของ eukaryote โดยมีขนาดเทียบได้ประมาณกับขนาดของไมโตคอนเดรีย คือมีความยาวโดยเฉลี่ยประมาณ 2 ไมครอน และเส้นผ่าศูนย์กลางโดยประมาณ 0.5 ไมครอน จากการที่เซลล์ของ prokaryote ที่มีขนาดเล็กนี้เองส่งผลให้สัดส่วนระหว่างพื้นที่ผิวต่อปริมาตรของเซลล์มีค่าสูงกว่าสัดส่วนของเซลล์ eukaryote ซึ่งจะส่งผลดีต่อเซลล์ prokaryote ในแง่ของการสัมผัสสารอาหารในสิ่งแวดล้อมได้มากขึ้น ดังนั้นประสิทธิภาพในการนำสารอาหารจากสิ่งแวดล้อมเข้าสู่เซลล์ หรือการขับถ่ายของเสียออกจากเซลล์จึงมีประสิทธิภาพดีกว่าโดยไม่ต้องพึ่งพาอาศัยการไหลเวียนของไซโตพลาสซึมในเซลล์เป็นตัวช่วย หรือใช้ระบบของ ER เป็นตัวช่วย และนอกไปจากนี้การที่เซลล์มีขนาดเล็กยังส่งเสริมให้การเพิ่มจำนวนเซลล์เป็นไปได้ง่ายและเร็วขึ้นอีกด้วย

อย่างไรก็ตามมีการค้นพบเมื่อเร็วๆนี้ว่าแบคทีเรีย *Epulopiscium fishelsoni* เป็นแบคทีเรียที่มีขนาดใหญ่ที่สุด คือมีความยาวของเซลล์ถึง 500 ไมครอน และความกว้างประมาณ 40ไมครอน (ดังแสดงในรูปที่ 11) ที่แยกได้จากระบบทางเดินอาหารของปลาในเขตอบอุ่นบางชนิด แต่ยังเป็นที่สงสัยกันอยู่ว่าแบคทีเรียตัวนี้สามารถเอาชนะข้อจำกัดอันเนื่องมาจากขนาดของตัวมันเองได้อย่างไร



รูปที่ 11 : แสดงภาพถ่ายของแบคทีเรีย *Epulopiscium fishelsoni* เมื่อเปรียบเทียบกับเซลล์ของพารามีเซี่ยมทั้งสี่เซลล์ (ที่มา : D. Lim และคณะ 1998)

แบคทีเรียส่วนใหญ่มีรูปร่างคงที่ ซึ่งมีอยู่ 3 ลักษณะ ได้แก่ ทรงกลม (cocci) รูปแท่ง (bacilli) และเกลียว (spiral)

1. Cocci (เอกพจน์ = coccus = berry)

เป็นลักษณะทรงกลมคล้ายลูกปัดมีเส้นผ่าศูนย์กลางอยู่ในช่วง 0.4 - 2 ไมครอน การจัดเรียงตัวของแบคทีเรียแบบ cocci นี้สามารถแบ่งได้เป็น 5 ประเภทตามระนาบของการแบ่งเซลล์ (ดังแสดงในรูปที่ 12)ได้แก่

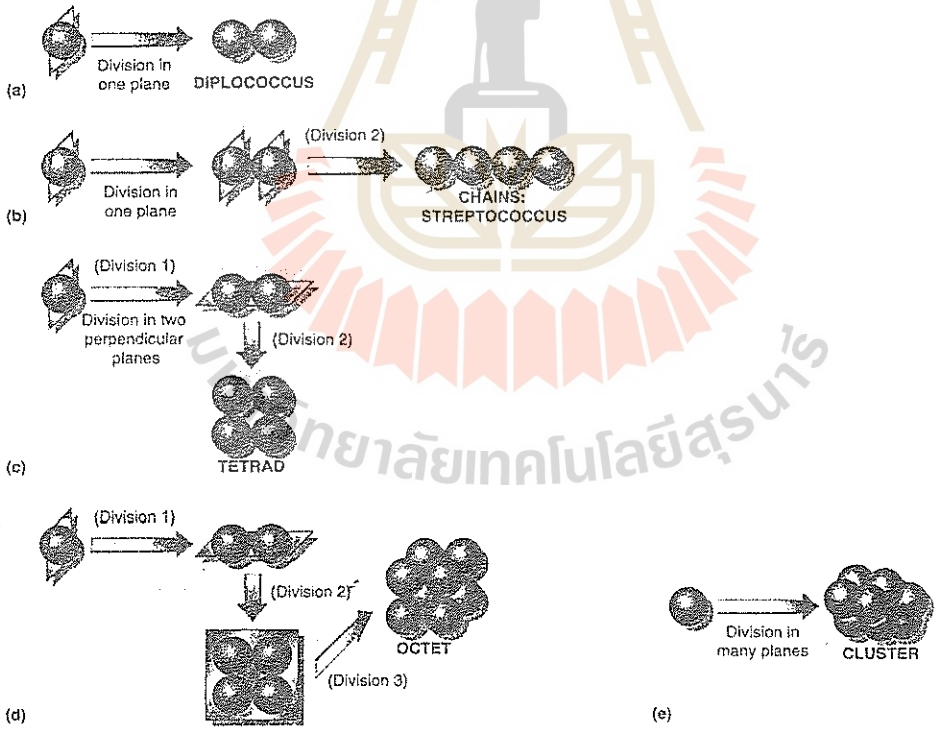
1.1 Diplococcus มีลักษณะการแบ่งเซลล์ในระนาบเดียวได้เป็น 2 เซลล์ติดกันเป็นคู่ๆไป เช่น แบคทีเรียในจีนัส *Neisseria gonorrhoeae* ที่ก่อให้เกิดโรค gonorrhea (รูปที่ 12a)

1.2 Streptococcus มีลักษณะการแบ่งเซลล์ในระบบเดียวเช่นเดียวกับแบบ diplococus แต่เมื่อเซลล์ที่แบ่งตัวแล้วจะจัดเรียงตัวอยู่ต่อกันเป็นลูกโซ่ เช่น แบคทีเรียในจีนัส *Streptococcus* (รูปที่ 12b)

1.3 Tetracocci (Tetrad) การแบ่งเซลล์จะแบ่งใน 2 ระนาบ จากนั้นเมื่อมีการแบ่งเซลล์เสร็จเซลล์จะมีการเรียงตัวเป็นลักษณะสี่เหลี่ยม ตัวอย่างเช่น แบคทีเรียในจีนัส *Pediococcus* (รูปที่ 12c)

1.4 Octet (Sarcinae) การแบ่งเซลล์จะเกิดขึ้นทั้ง 3 แกนหรือระนาบ ทำให้ได้กลุ่มเซลล์คล้ายลูกเต๋า เช่น แบคทีเรียในจีนัส *Sarcinae* (รูปที่ 12d)

1.5 Cluster (Staphylococci ; staphyl เป็นภาษากรีกแปลว่า พวงองุ่น) การจัดเรียงตัวแบบนี้เกิดขึ้นจาก การแบ่งเซลล์ที่อาจไม่พร้อมกันในหลายๆระนาบ ตัวอย่างของแบคทีเรียกลุ่มนี้ เช่นแบคทีเรียในจีนัส *Staphylococcus* (รูปที่ 12e)



รูปที่ 12 : แสดงลักษณะการแบ่งเซลล์แบบต่าง ๆ แบ่งได้ตามระนาบของการแบ่งเซลล์
(ที่มา : D. Lim และคณะ 1998)

2. **Bacilli** (เอกพจน์ = bacillus = stick)

มีลักษณะของเซลล์เป็นแท่งมีความยาวประมาณ 1-10 ไมครอน แบคทีเรียบางกลุ่มที่มีรูปร่างของเซลล์แบบนี้อาจมีความยาวของเซลล์ไม่มากบางครั้งจึงจนทำให้มีรูปร่างคล้าย cocci เรียกลักษณะนี้ว่า coccobacilli บางกลุ่มอาจมีรูปร่างเป็นแท่งแต่โค้งงอ ซึ่งเรียกลักษณะนี้ว่า vibrios เช่นแบคทีเรียในจีนัส *Vibrio cholerae* ที่ก่อให้เกิดอหิวาตกโรค

3. **Spiral** (เอกพจน์ = Spirillum)

มีลักษณะเป็นเกลียวสามารถแบ่งได้เป็น 2 ประเภทคือ

3.1 Spirilla มีรูปร่างเป็นเกลียวแต่โครงสร้างค่อนข้างแข็ง

3.2 Spirochetes มีรูปร่างคล้าย Spirilla แต่โครงสร้างมีความยืดหยุ่นมากกว่า

นอกจากนี้ยังมีลักษณะของเซลล์แบบอื่น ๆ ที่ไม่เข้าข่ายลักษณะทั้งสามที่ได้กล่าวมาแล้วข้างต้น ลักษณะที่แยกไปนี้เรียกว่า pleomorphic (pleo = more ; morph = from) ดังแสดงไว้ในรูปที่ 13 ตัวอย่างเช่น

ก. มีลักษณะเป็นสาย (filament) เช่นแบคทีเรียในกลุ่มจีนัส *Streptomyces* (รูปที่ 13a)

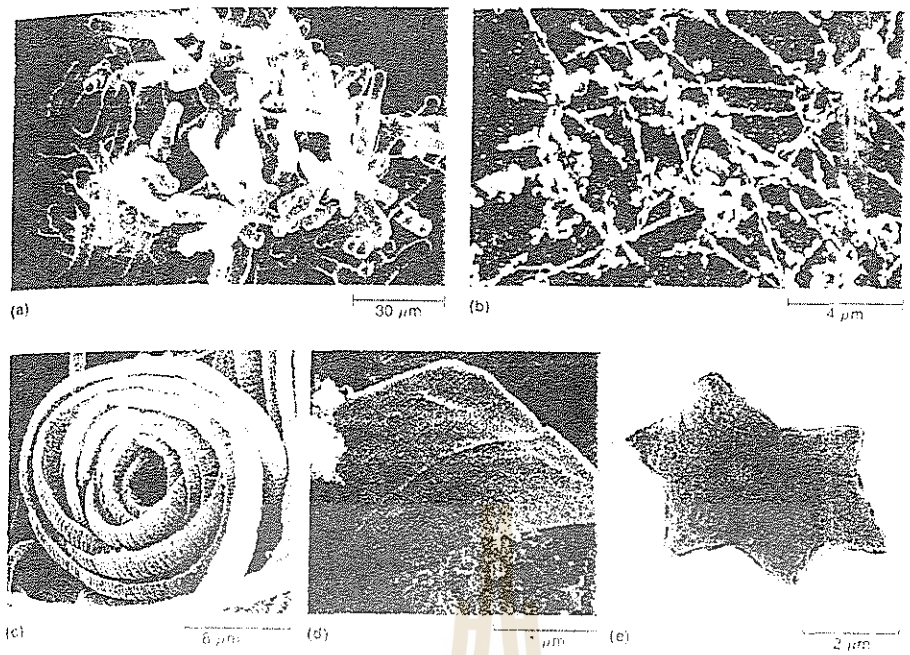
ข. มีลักษณะไม่แน่นอนอันเนื่องจากไม่มี cell wall เช่นแบคทีเรียในจีนัส *Mycoplasma* (รูปที่ 13b)

ค. มีรูปร่างคล้ายดาว (Star-shaped) เช่นแบคทีเรียในกลุ่มจีนัส *Stella* (รูปที่ 13c)

ง. มีรูปร่างสี่เหลี่ยม (Square bacterium) เช่น แบคทีเรียในจีนัส *Arcula* (arca ภาษาละตินแปลว่า กล่อง) ซึ่งค้นพบครั้งแรกในทะเลแดง (รูปที่ 13d)

จ. มีรูปร่างที่ซับซ้อนประกอบไปด้วยหลาย ๆ trichome (คือแต่ละเซลล์) มาเรียงตัวกัน เช่นแบคทีเรียในจีนัส *Simonsiella muelleri* (รูปที่ 13e)

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี



รูปที่ 13 : แสดงลักษณะรูปร่างของเซลล์แบคทีเรียแบบต่าง ๆ ในกลุ่ม pleomorphic

(ที่มา : D. Lim และคณะ 1998)

โครงสร้างและองค์ประกอบภายในเซลล์แบคทีเรีย

จากข้อมูลทางโครงสร้างและองค์ประกอบของเซลล์แบคทีเรียมักได้มาจากการศึกษากลุ่มของ eubacteria มากกว่า archaea bacteria เนื่องจากไม่ซับซ้อนและง่ายต่อการเพาะเลี้ยงมากกว่า แต่อย่างไรก็ตามข้อแตกต่างระหว่างแบคทีเรียทั้งสองกลุ่มนี้ที่ได้มีการศึกษากันอย่างชัดเจน นอกจากนี้ยังจะได้กล่าวถึงองค์ประกอบสำคัญอื่น ๆ ที่จะเป็นพื้นฐานในการเข้าใจพฤติกรรมและธรรมชาติของแบคทีเรียต่อไป

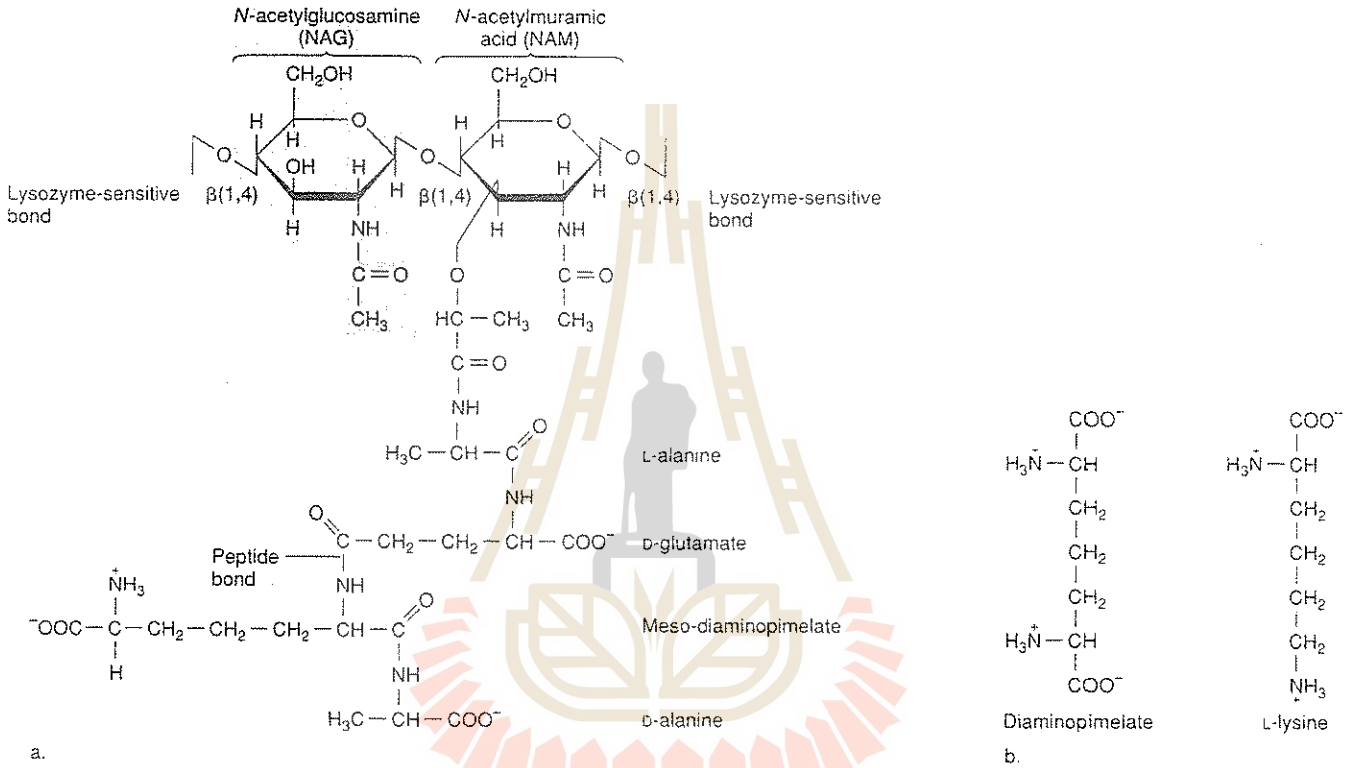
1. ผนังเซลล์ (Cell wall)

จัดเป็นองค์ประกอบภายนอกสุดของเซลล์แบคทีเรียเกือบทุกชนิด โดยมีบทบาททางกายภาพทั่วไปคือ จะคอยปกป้องแรงเต่ง (turgor pressure) ที่เกิดขึ้นจากกิจกรรมต่าง ๆ ภายในเซลล์ไม่ดันให้เซลล์แตกหรือเสียหาย ซึ่งในแบคทีเรียบางชนิดมีผนังเซลล์ที่แข็งแรงสามารถต้านทานแรงดันภายในเซลล์ได้ถึง 25 บรรยากาศ (375 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว)

1.1 ผนังเซลล์ของ eubacteria

มีองค์ประกอบหลักทางเคมีที่ชื่อ เพพทิโดไกลแคน (peptidoglycan) บางครั้งเรียก murein หรือ mucopeptide เพพทิโดไกลแคนนี้เป็นสารที่พบใน prokaryote เท่านั้นประกอบด้วยกรดอะมิโนและน้ำตาล น้ำตาลที่เป็นองค์ประกอบหลักของเพพทิโดไกล-

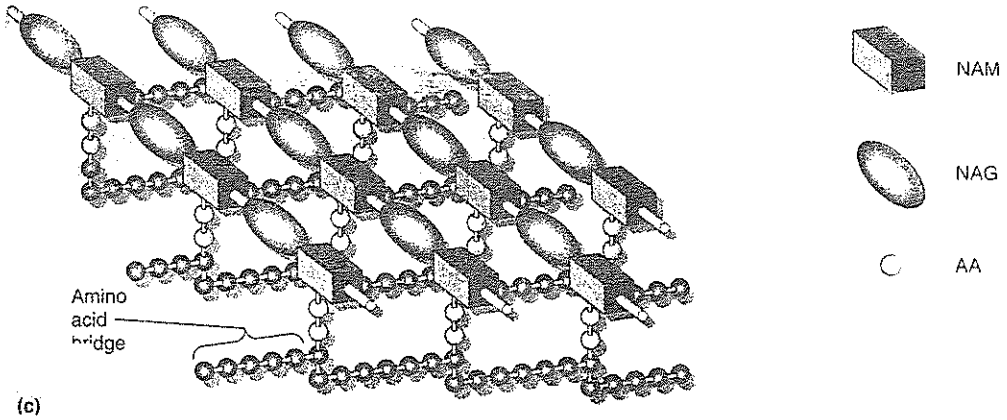
แคนได้แก่ N-acetylglucosamine (NAG) และ N-acetylmuramic acid (NAM) ซึ่งโมเลกุลของน้ำตาลทั้งสองจับกันอยู่ด้วยพันธะ β-1,4 glycosidic โดยที่ในส่วนของ NAM นั้นจะเป็นสารสำคัญที่พบใน peptidoglycan เท่านั้นจะไม่พบที่อื่นอีกเลยในธรรมชาติ และที่โมเลกุลของ NAM บนผนังเซลล์จะมีโมเลกุลของกรดอะมิโนอีก 4 โมเลกุล (tetra peptide) เข้าจับเกาะ ซึ่งโดยทั่วไปได้แก่ L-alanine, D-glutamate, meso-diaminopimelate และ D-alanine โครงสร้างทางเคมีดังแสดงในรูปที่ 14



รูปที่ 14 แสดงสูตรโครงสร้างทางเคมีของเพพทิโดไกลแคน (ที่มา : D. Lim และคณะ 1998)

จากโครงสร้างของผนังเซลล์พบว่า tetrapeptide จะเกิดการเชื่อมระหว่าง (cross link) สายของ NAM และ NAG ที่ต่อกันเป็นสายยาวทำให้เกิดโครงสร้างคล้ายกับตาข่ายห่อหุ้มผนังเซลล์ขึ้น ดังแสดงในรูปที่ 15 ดังนั้นเมื่อมีการใช้ lysozyme (พบได้ในน้ำตาหรือไข่ขาว) ในการกำจัดแบคทีเรีย lysozyme ก็เป็นเอนไซม์ที่มีบทบาทในการทำลายผนังเซลล์โดยเฉพาะการย่อยสลายพันธะ glycoidic นั่นเอง หรือนอกจากนี้การใช้สารปฏิชีวนะบางชนิดที่ใช้ยับยั้งการเจริญหรือทำลายแบคทีเรียได้ เช่น penicillin, vancomycin และ bacitracin ก็เนื่องจากสารปฏิชีวนะเหล่านี้ไปยับยั้งกระบวนการสร้างเพพทิโดไกลแคนเช่นเดียวกัน

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี



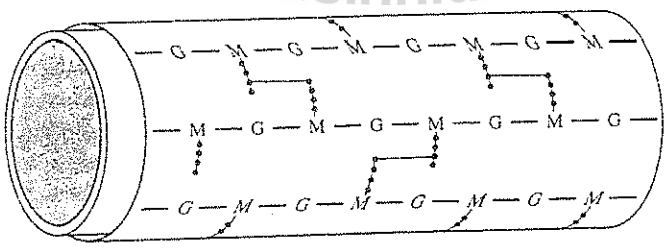
รูปที่ 15 แสดงภาพจำลองของผนังเซลล์แบคทีเรียที่จัดเรียงรูปเป็นตาข่าย

(ที่มา : L. Mckane และ J. Kandel 1996)

ในกลุ่มของ eubacteria เองสามารถแบ่งได้เป็น 2 ประเภทตามลักษณะโครงสร้างทางเคมีและการเรียงตัวในผนังเซลล์ ซึ่งส่งผลให้จำแนกออกจากกันได้เมื่อมีการย้อมสีแบบที่เรียกว่า Gram's staining (ถูกค้นพบเป็นครั้งแรกในปี ค.ศ. 1884 โดยนักวิทยาศาสตร์ชื่อ Hans Christian Gram) กลุ่มของแบคทีเรียที่ย้อมสีด้วยเทคนิคนี้แล้วติดสีน้ำเงินจะเรียกว่า Gram-positive bacteria หรือที่เรียกแบคทีเรียแกรมบวก ในขณะที่ถ้าติดสีแดงจะเรียกว่า Gram-negative bacteria หรือที่เรียกว่าแบคทีเรียแกรมลบ

ก. ผนังเซลล์ของแบคทีเรียแกรมบวก (Gram-positive bacteria)

โดยทั่วไปมีความหนาประมาณ 15-30 นาโนเมตร มีองค์ประกอบทางเคมีหลักเป็นเพพทิโดไกลแคน โดยมี amino acid bridge เชื่อมต่อระหว่าง tetrapeptide ดังแสดงในรูปที่ 16



รูปที่ 16 แสดงภาพจำลองของผนังเซลล์แบคทีเรียในกลุ่ม **Gram-positive (M = N-acetylmuramic acid และ G = N-acetylglucosamine (ที่มา : D. White 1995)**

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

นอกนั้นอาจมีสารจำพวกพอลีเมอร์อื่น ๆ เป็นองค์ประกอบต่าง ๆกันไป แปรผันตามจีนัสและชนิดของแบคทีเรียในกลุ่มนี้ ตัวอย่างพอลีเมอร์เหล่านี้ได้แก่

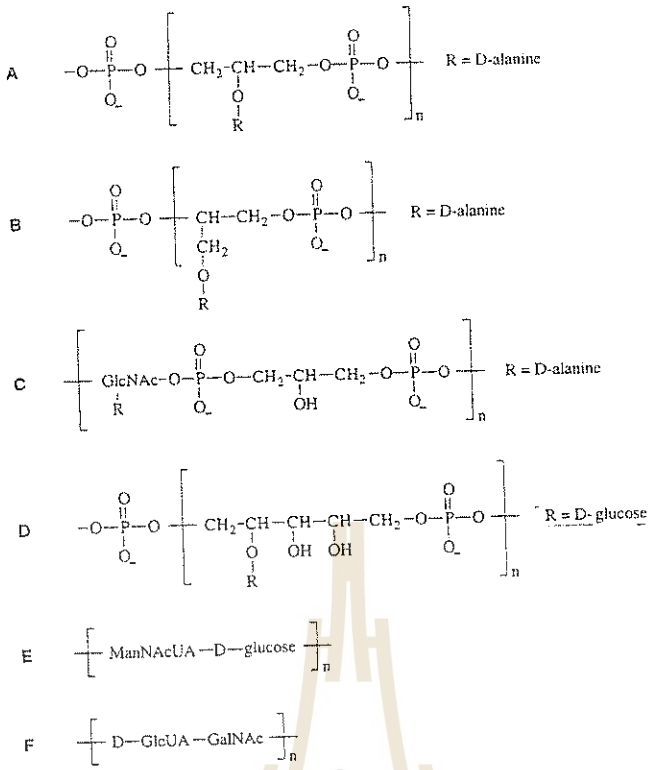
ก.1 กรดไทคออิค (Teichoic acid) มีหน่วยย่อยเป็น ribotol phosphate หรือ glycerol phosphate ตัวอย่างสูตรโครงสร้างทางเคมีดังแสดงในรูปที่ 17 (a-c)

ก.2 กรดไทคูโรนิค (Teichuronic acid) จัดเป็น acid polysaccharide ที่ประกอบไปด้วย uronic acid เช่น NAM จับกับ D-glucoronic acid ดังแสดงในสูตรโครงสร้างทางเคมีในรูปที่ 17 (d-f)

ก.3 Neutral polysaccharides มักพบในแบคทีเรียกลุ่มจีนัส *Streptococcus* และ *Lactobacillus*

ก.4 กรดไลโพไทโคอิค (Lipoteichoic acid ; LTA) มีลักษณะเป็นพอลีเมอร์สายตรงที่หน่วยย่อยของ glycerol phosphate ต่อกันด้วยพันธะ phosphodiester และจับกับส่วนที่เป็น lipid จะเกาะกับส่วนที่เป็นเยื่อหุ้มเซลล์ ในขณะที่ส่วนของ glycerol phosphate จะเป็นส่วนที่ยื่นออกไปจากผนังเซลล์ หน้าที่ของ LTA นี้ยังไม่ทราบชัดเจน แต่บทบาทจะคล้ายกับโปรตีนชนิดหนึ่งที่ชื่อ adhesin ที่ใช้ในการเข้าจับระหว่างเนื้อเยื่อของเซลล์เจ้าบ้าน (host tissue) กับแบคทีเรีย

ก.5 กรดมายคอลิค (Mycolic acid) เป็นพอลีเมอร์ที่พบในแบคทีเรียจีนัส *Mycobacterium* ซึ่งเป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดโรควัณโรคด้วย เมื่อนำแบคทีเรียจีนัสนี้มาทำการย้อมสีตรวจสอบโดยสี basic fuschin พบว่าสีไม่สามารถถูกกำจัดออกไปได้โดยใช้ acid alchol (เช่นกรดเกลือในแอลกอฮอล์) เนื่องจากผนังเซลล์มีกรดมากมายคอลิคที่มีคุณสมบัติเป็นไขมันที่หนาจึงทำให้บางครั้งเรียกแบคทีเรียในกลุ่มนี้ว่า acid-fast นอกจากนี้กรดมายคอลิคมีลักษณะเป็น hydrophobic ซึ่งก่อให้เกิดอุปสรรคในการนำอาหารเข้าสู่เซลล์ของแบคทีเรียในกลุ่มนี้ จึงเป็นสาเหตุให้แบคทีเรียในจีนัส *Mycobacterium* บางสายพันธุ์มีอัตราการเจริญช้ากว่าแบคทีเรียทั่วไป เช่น *M. leprae* ที่ทำให้เกิดโรค leprocy จะมีการเจริญแบ่งตัวทุก ๆ 11 วัน เป็นต้น

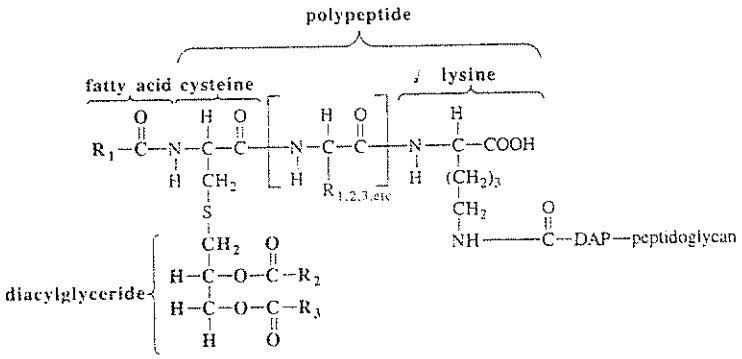


รูปที่ 17 แสดงสูตรโครงสร้างทางเคมีของกรดไทคออิค (รูป a-c) และกรดไทคูโรนิค (รูป d-f) บางจำพวก (ที่มา : D. White 1995)

ข. ผนังเซลล์ของแบคทีเรียแกรมลบ (Gram negative bactria)

ผนังเซลล์ของแบคทีเรียกลุ่มนี้มีความซับซ้อนกว่ากลุ่มแบคทีเรียแกรมบวกเนื่องจากมีอีกโครงสร้างหนึ่งที่อยู่ถัดออกไปจากผนังเซลล์ และมีส่วนของเพพทิโดไกลแคนที่บางกว่าแบคทีเรียแกรมบวก ที่เรียกว่า outer membrane ซึ่งประกอบไปด้วย

ข.1 โปรตีนและไลโพโปรตีน จะมีการจัดเรียงตัวแบบฝังตัวลงบนส่วนที่เป็น outer membrane โปรตีนและไลโพโปรตีนนี้มีบทบาทช่วยการนำเข้าของสารเข้าเซลล์โดยเฉพาะสารที่มีขนาดโมเลกุลใหญ่ประมาณ 800 คาลตัน ไลโพโปรตีนที่สำคัญได้แก่ มิวรายน์ไลโพโปรตีน (murein lipprotein) ซึ่งเป็นโปรตีนที่มีขนาดเล็กมี lipid จัดอยู่ที่ปลายโมเลกุลของกรดอะมิโน เช่น lysine (ดังแสดงในรูปที่ 18) มิวรายน์ไลโพโปรตีนนี้จะมีหน้าที่สำคัญคือช่วยในการยึดติดระหว่าง outer membrane และผิวเซลล์อื่น ส่วนกลุ่มของโปรตีนอื่นๆที่มีความสำคัญได้แก่โปรตีนที่ชื่อ พอริน (porin) โครงสร้างของพอรินนั้นมีลักษณะเป็นท่อกลวงที่ฝังตัวตัวบน outer membrane มีบทบาทต่อการนำสารเข้าและออกเซลล์โดยโมเลกุลของสารที่สามารถแพร่ผ่านพอรินมักจะมีขนาดเล็กกว่า 600 คาลตัน นอกจากนี้พอรินยังสามารถแบ่งออกได้เป็นอีกหลายประเภท เช่น ในแบคทีเรีย *Escherichia coli* มีพอริน 3 ประเภทได้แก่ OmpF, OmpC, และ PhoE



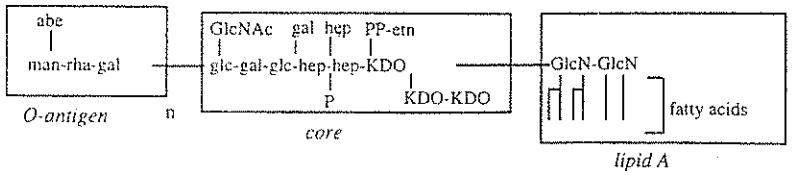
รูปที่ 18 แสดงสูตรโครงสร้างทางเคมีของมิวรายน์โปรตีน (ที่มา : D. White 1995)

ข.2 ไลโพโพลีแซคคาไรด์ (Lipopolysacccharide: LPS) มีปริมาณมากถึง 40% ของพื้นที่ผิวทั้งหมดของแบคทีเรียในกลุ่มนี้ LPS ประกอบไปด้วยองค์ประกอบหลัก 3 ชนิด (ดังแสดงในรูปที่ 19)ได้แก่

ข.2.1 O-antigen มีโครงสร้างทางเคมี เป็นสารกลุ่มโพลีแซคคาไรด์ ซึ่งมีชนิดและสัดส่วนหลากหลายกันออกไปตามชนิดของแบคทีเรีย บางครั้งเรียกว่า O-antigen ว่า repeating oligosaccharide หรือ somatic antigen ซึ่งประกอบไปด้วยลำดับของ monosaccharide มากกว่า 40 โมเลกุลขึ้นไป บทบาทของ O-antigen นี้จะมีความสำคัญในการสร้าง antibody ในสัตว์มีกระดูกสันหลังที่ถูกแบคทีเรียกลุ่มนี้เข้ารุกรานและมีบทบาทช่วยในการก่อโรคด้วย

ข.2.2 Core polysaccharide เป็นส่วนที่ต่อกับ O-antigen และส่วนถัดเข้าไปของ outer membrane ที่เรียกว่า lipid A โดยโมเลกุลของ core polysaccharide ในส่วนที่จับกันlipid A จะเป็น 3-deoxy-D-manno-octulosonate (KDO) ในส่วนของ O-antigen และ core polysaccharide ก็ดี พบว่ามีบทบาทต่อการต้านทานสารปฏิชีวนะและสารในกลุ่มที่เป็น hydrophobic เช่น น้ำดี (bile salt), สีย้อมบางชนิด (eosin และ methylene blue เป็นองค์ประกอบ) ซึ่งโดยปกติ bile salt, eosin หรือ methylene blue ก็ดีจะยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียแกรมบวก ดังนั้นในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้คัดเลือกเฉพาะ *E. coli* ที่ชื่อ EMB (มี eosin และ methylene blue) จึงนิยมนำมาใช้ในการตรวจสอบการปนเปื้อนจากแบคทีเรียในกลุ่ม coliform และ *E. coli* ในน้ำดื่ม เนื่องจากแบคทีเรียแกรมบวกไม่สามารถเจริญได้นั่นเอง

ข.2.3 Lipid A จะมีบทบาทในการก่อให้เกิดพิษ ได้แก่ endotoxin เช่นอาการเป็นไข้หรือโรคทางเดินอาหารต่างๆจากแบคทีเรียในกลุ่ม *E. coli* และ *Salmonlla* lipid A ประกอบไปด้วยกรดไขมัน 4 โมเลกุลเรียงตัวกันโดยต่อจากโมเลกุลของ glucosamine



รูปที่ 19 แสดงการจัดเรียงตัวของไลโพโพลีแซคคาไรด์จากแบคทีเรีย *Salmonella typhimurium* (ที่มา : D. White 1995)

ในกลุ่มของแบคทีเรียแกรมลบพบว่าในระหว่างชั้นของ outer membrane และเยื่อหุ้มเซลล์มีองค์ประกอบอีกประเภทหนึ่งที่ขั้นกลางไว้ชื่อว่า เพริพลาสซึม (periplasm) (ดังแสดงในรูปที่ 20) มีลักษณะคล้ายเป็นชั้นของเหลวขึ้นอยู่ประกอบไปด้วยโปรตีน, oligosaccharide, เกลือและ peptidoglycan โครงสร้างส่วนนี้มีบทบาทต่อกระบวนการ oxidation และ reduction ของเซลล์และยังเป็นส่วนที่ควบคุมแรงดันออสโมติก (osmotic pressure) และการขับโปรตีนออกสู่นอกเซลล์ เป็นต้น เพริพลาสซึมประกอบไปด้วย

ก. Oligosaccharide ซึ่งมี บทบาทการควบคุมแรงดันออสโมติกในเซลล์

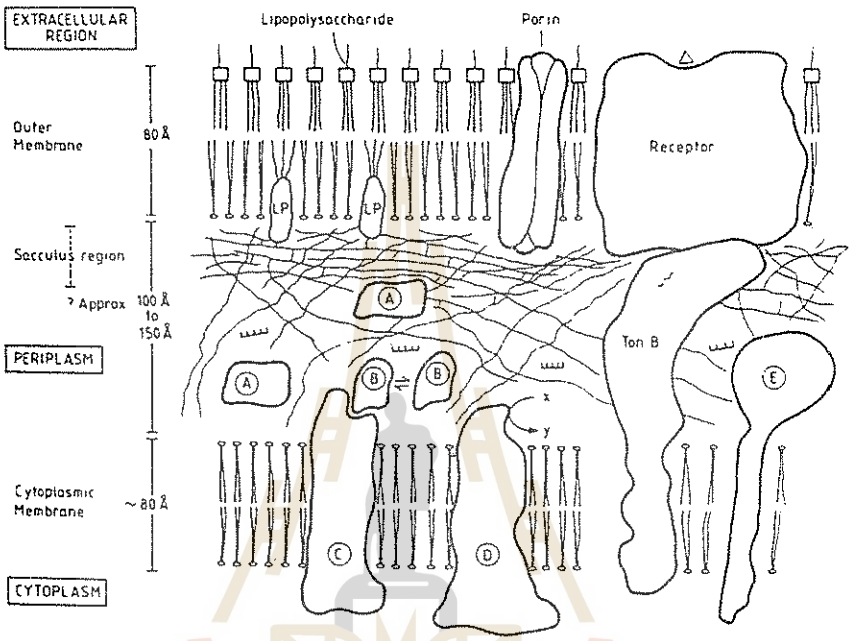
ข. Solute binding proteins มีบทบาทในการขนส่งน้ำตาลหรือกรดอะมิโนจากบริเวณ outer membrane เข้าสู่เซลล์

ค. Cytochromes เช่น cytochrome C ที่มีความสามารถในการออกซิไดซ์สารที่มีธาตุคาร์บอนเป็นองค์ประกอบ หรือสารอนินทรีย์แล้วส่งถ่ายอิเลคตอนไปยังระบบ electron transport chain บนเยื่อหุ้มเซลล์ได้ บางครั้งเรียกว่ากระบวนการนี้ว่า periplasmic oxidation

ง. Hydrolytic enzymes เป็นกลุ่มเอนไซม์ที่ย่อยสลายสารอาหารให้มีขนาดเล็กลงก่อนที่จะถูกนำส่งเข้าสู่เซลล์ ตัวอย่าง เช่น เอนไซม์อะไมเลส (amylase) ที่จะทำหน้าที่ย่อย oligosaccharide ให้ได้เป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว ก่อนที่จะนำเข้าสู่เซลล์ต่อไป

จ. Detoxifying agent อาจเป็นเอนไซม์บางกลุ่ม เช่น เอนไซม์ β - lactamase ที่ใช้ย่อยสลายโมเลกุลของสารปฏิชีวนะ penicillin เป็นต้น

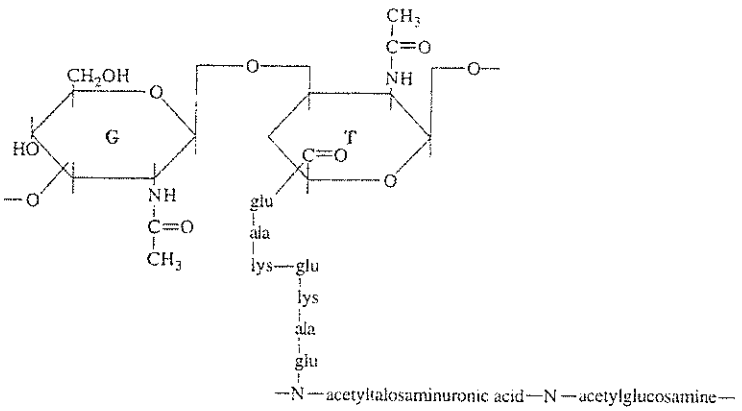
ฉ. Ton B protein มีบทบาทในการนำสารที่ไม่สามารถเข้าสู่เซลล์โดยพอรินได้ ดังนั้น จึงนำสารเข้าสู่เซลล์ได้โดยอาศัยระบบการขนส่งที่ใช้โมเลกุลของโปนตีนแบบพิเศษในการรับสารนั้น ๆ เข้าสู่เซลล์ที่เรียกว่า receptor ซึ่งโมเลกุลที่มีขนาดใหญ่กว่า 600 คาลตันสามารถเข้าสู่เซลล์โดยบทบาทของ Ton B protein ได้ เช่น วิตามิน B_{12}, ซิเดอร์โรฟอร์ (เกี่ยวกับการนำธาตุเหล็กเข้าสู่เซลล์ ดังรายละเอียดในบทที่ 4) เป็นต้น



รูปที่ 20 แสดงแบบจำลองของชั้นเพริพลาสซึม (A และ B แสดงถึงโปรตีนหรือเอนไซม์ที่เรียงตัวกันอย่างหลวม ๆ ในชั้นนี้ (ที่มา : D. White 1995)

1.2 ผนังเซลล์ของ archaeobacteria

ผนังเซลล์ของ archaeobacteria มีลักษณะโครงสร้างต่างไปจากของกลุ่ม eubacteria คือ ไม่พบว่ามีเพพทิโดไกลแคน แต่จะมีองค์ประกอบที่เรียกว่าซูโดเพพทิโดไกลแคน (pseudopeptidoglycan)หรือโพลีแซคคาไรด์หรือโปรตีนอื่นๆแทน บางครั้งเรียกซูโดเพพทิ-โดไกลแคนว่าซูโดมิวรายน์ (pseudomurein) ดังแสดงสูตรโครงสร้างทางเคมีในรูปที่ 21 โดยโครงสร้างจะต่างจากเพพทิโดไกลแคน คือ จะมี N- acetyltalosaminuronic acid แทนที่ NAG พันธะที่เชื่อมต่อระหว่าง glycan เป็นพันธะแบบ β, 1-3 และในส่วนของกรดอะมิโนจะไม่มี D - amino acid เช่นในแบคทีเรียจีนัส *Halobacteria* ที่เจริญได้สภาพแวดล้อมที่มีความเข้มข้นเกลือสูง ถึง 8-36% มีผนังเซลล์ที่มี glyeoprotein เป็นองค์ประกอบหลัก ซึ่งแบคทีเรียในกลุ่มนี้มีแนวโน้มที่จะควบคุมแรงดันออสโมติกโดยการขับน้ำออกจากเซลล์ได้เอง ดังนั้นจึงไม่มีความจำเป็นที่จะต้องมีผนังเซลล์ที่แข็งแรงเหมือนเพพทิโดไกลแคน



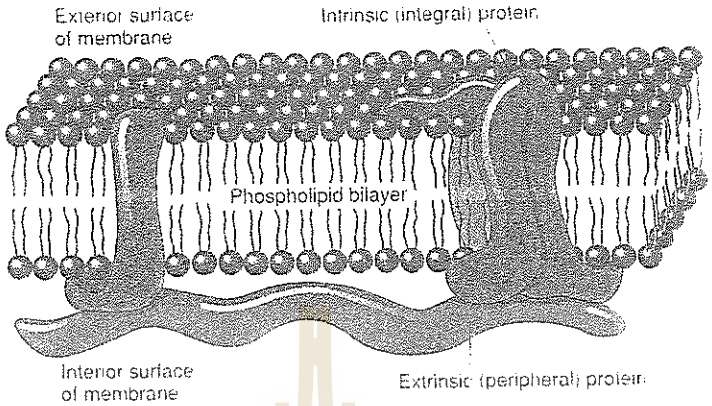
รูปที่ 21 แสดงสูตรโครงสร้างทางเคมีของซูโดเพพทิโดไกลแคน (ที่มา : D. White 1995)

2. เยื่อหุ้มเซลล์ (Plasma membrane หรือ Cell membrane)

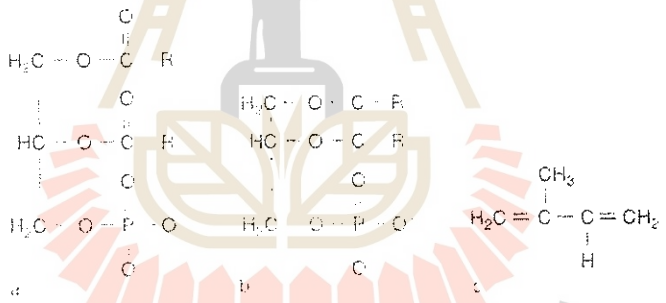
บทบาทของเยื่อหุ้มเซลล์ในแบคทีเรียนั้นพบว่ามีความสำคัญที่ช่วยการดำรงชีวิตอย่างมาก ไม่ว่าจะเป็นกลไกในเชิงชีวเคมีระดับเซลล์ การขนถ่ายสารอาหาร ระบบการขนถ่ายอิเลคตรอน การสังเคราะห์แสง การเคลื่อนที่ การสังเคราะห์ ATP การสังเคราะห์ไลปิด การสังเคราะห์ผนังเซลล์ การปลดปล่อยโปรตีนรวมไปถึงการตอบสนองต่อสิ่งแวดล้อม

2.1 เยื่อหุ้มเซลล์ของ eubacteria (Eubacterial cell membrane)

โครงสร้างและองค์ประกอบหลักเป็นตามแบบจำลองที่เรียก fluid mosaic โดยโปรตีนที่พบว่าอยู่บนเยื่อหุ้มเซลล์จะมีบทบาทมากในการดำรงชีวิต โปรตีนเหล่านี้สามารถแบ่งได้เป็น 2 ประเภทได้แก่ integral protein พบประมาณ 70 - 80% ของโปรตีนบนเยื้อหุ้มเซลล์ทั้งหมด ซึ่งเป็นโปรตีนที่ฝังตัวและเกาะอยู่กับส่วนของ phospholipid โดยปฏิกริยาเคมีแบบไม่มีขั้วหรือที่เรียกว่า nonpolar interaction โปรตีนชนิดนี้สามารถถูกกำจัดได้โดยการใช้ detergent หรือ ตัวทำละลายต่างๆที่ไม่มีขั้ว อีกประเภทคือ peripheral protein เป็นโปรตีนที่เกาะอยู่ที่ผิวของเยื่อหุ้มเซลล์โดยจับตัวแบบพันธะไอออนนิกหรือ ionic interaction ซึ่งสามารถถูกกำจัดได้โดยการใช้สารละลายที่มีเกลือเป็นองค์ประกอบแบบจำลองของเยื่อหุ้มเซลล์ที่แสดงลักษณะของโปรตีนทั้งสองชนิด ดังแสดงในรูปที่ 22



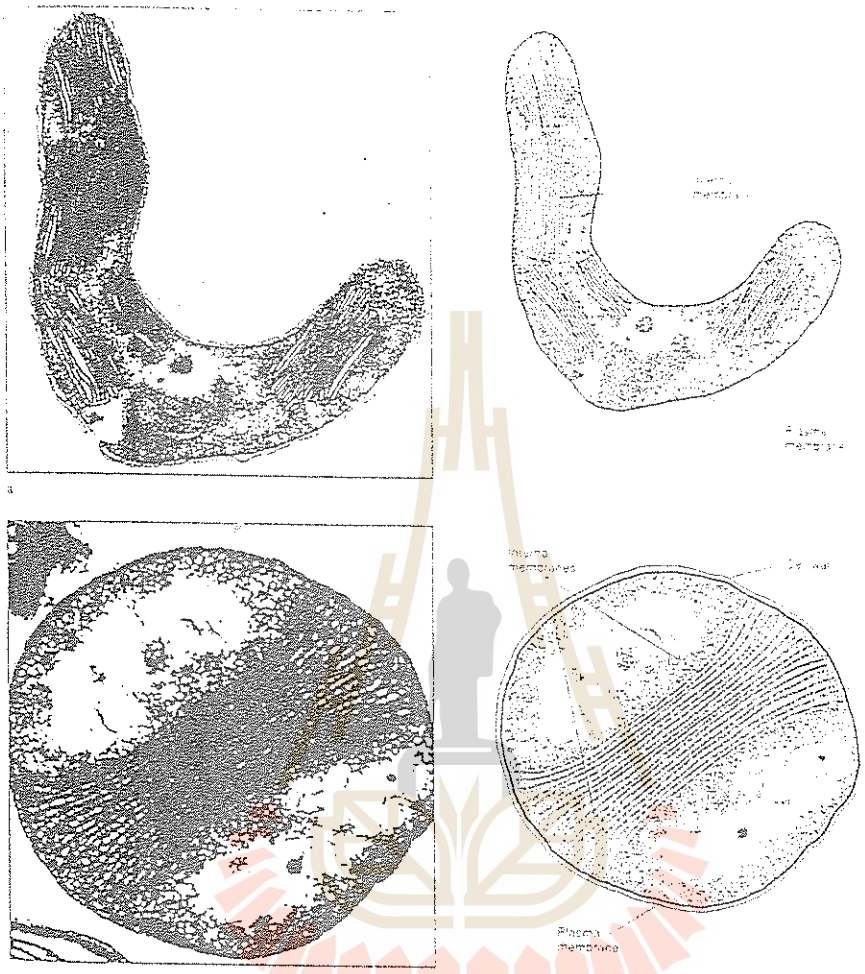
รูปที่ 22 แสดงแบบจำลองของเยื่อหุ้มเซลล์ใน eubateria (ที่มา : D. Lim และคณะ 1998)



รูปที่ 23 แสดงสูตรโครงสร้างทางเคมีของไลปิดบนเยื่อหุ้มเซลล์แบคทีเรีย (a) ไลปิดของ eubacteria ที่ glycerol และกรดไขมันเชื่อมต่อกันด้วยพันธะ ester linkage (b) ไลปิดของ archaeobacteria ที่ glycerol และ aliphatic side chain ต่อกันด้วยพันธะ ether linkage และ (c) โครงสร้างของ isoprene (ที่มา : D. Lim และคณะ 1998)

ในส่วนของไลปิดบนเยื่อหุ้มเซลล์ โดยเฉพาะส่วนของ glycerol และกรดไขมันจะจับกันด้วยพันธะเอสเตอร์หรือที่เรียกว่า ester linkage (ดังแสดงในรูปที่ 23-a) แบคทีเรียบางกลุ่มเช่นแบคทีเรียที่สามารถสังเคราะห์แสงได้ หรือ แบคทีเรียที่สามารถออกซิไดซ์แอมโมเนีย ไนไตรท์ และมีเธน พบว่ามักมีโครงสร้างพิเศษที่เรียกว่า internal membrane ซึ่งเป็นที่บรรจุรงควัตถุสำคัญในการสังเคราะห์แสง เช่น bacteriochlorophyll หรือ เป็นบริเวณ

ที่มีการสร้างไฮโดรเจนอิออนเพื่อใช้ในการสร้าง ATP ด้วย (ดังแสดงตัวอย่างโครงสร้างของ internal membrane ในรูปที่ 24)

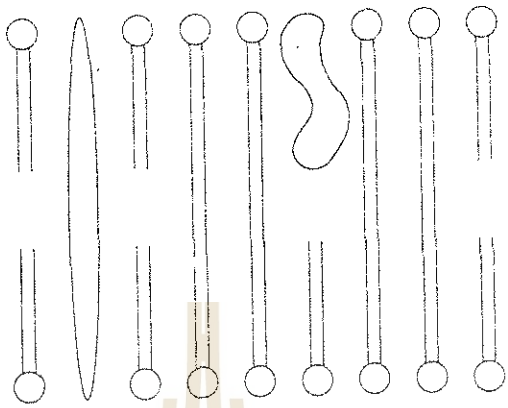


รูปที่ 24 แสดงภาพถ่ายและภาพสเก็ตช์ของ internal membrane (a) จากแบคทีเรียกลุ่มที่สังเคราะห์แสงได้ที่ชื่อ *Ectothiorhodospira mobilis* และ (b) จากแบคทีเรียกลุ่มที่ออกซิไดซ์แอมโมเนียได้ที่ชื่อ *Nitrococcus oceanus* (ที่มา : D. Lim และคณะ 1998)

2.2 เยื่อหุ้มเซลล์ของ archaea bacteria(Archaeal cell membrane)

ในส่วนที่เป็นไลปิดบนผนังเซลล์ของแบคทีเรียกลุ่มนี้จัดว่าแตกต่างไปจาก eubacteria คือ ไลปิดส่วนใหญ่จะมีองค์ประกอบเป็น isopranoid alcohols โดยมีโมเลกุลของคาร์บอนยาวถึง 20-40 อะตอม โมเลกุลของ glycerol และส่วนที่เป็นสาย isoprene จะเชื่อมกันด้วยพันธะ อีเทอร์หรือที่เรียกว่า ether linkage ซึ่งพบว่า ether linkage มีความคงทนกว่า ester linkage (ดังแสดงสูตรโครงสร้างในรูปที่ 23b และ c) ในสภาวะที่มีความเป็นกรดต่ำและ

อุณหภูมิสูง ใน archae bacteria บางจำพวกที่เป็น thermoacidophilic จะมีเยื่อหุ้มเซลล์บางส่วนต่างไปเป็นแบบ monolayer (ดังแสดงในรูปที่ 25) ซึ่งส่งผลให้ทนต่อความร้อนมากกว่าปกติ



รูปที่ 25 แสดงแบบจำลองของผนังเซลล์แบบ lipid layer ใน archaeobacteria
(ที่มา : D. White 1995)

3. โซโตพลาสซึม (Cytoplasm)

ในส่วนของไซโตพลาสซึมในแบคทีเรียนั้นมักจะรวมอธิบายเอาองค์ประกอบทุกชนิดที่อยู่ในเซลล์เข้าไว้ด้วยกัน องค์ประกอบโดยรวมของไซโตพลาสซึมจะมีโปรตีนในบริมาณที่ค่อนข้างสูงคือ 100 - 300 มิลลิกรัม ต่อ มิลลิลิตร ในไซโตพลาสซึมของแบคทีเรียสามารถจำแนกส่วนประกอบสำคัญหลักเป็น 2 ส่วนได้แก่

3.1 Intracytoplasmic membrane

เป็นโครงสร้างที่คล้ายเยื่อหุ้มที่เรียงตัวพับไปมาภายในไซโตพลาสซึม มีบทบาทในการควบคุมบทบาททางสรีรวิทยาต่างๆของเซลล์ และมักจะเชื่อมต่อกับเยื่อหุ้มเซลล์ บทบาทของโครงสร้างนี้ได้แก่

3.1.1 ใช้ในการอ๊อกซิไดซ์ก๊าซมีเธน มักพบในกลุ่มแบคทีเรียจำพวก methanotroph ซึ่งใช้ก๊าซมีเธนเป็นแหล่งอาหารคาร์บอน

3.1.2 ใช้ในการสร้างพลังงานที่ในรูป ATP เพื่อการตรึงก๊าซไนโตรเจนจากบรรยากาศ เช่น แบคทีเรีย *Azotobacter vinelandii*

3.1.3 ใช้ในการอ๊อซิไดซ์แอมโมเนียและไนไตรท์เพื่อให้ได้มาซึ่งอิเลคตรอน ตัวอย่างเช่นในแบคทีเรียกลุ่ม Nitrificrs เช่น *Nitrosomonas, Nitrobacter* และ *Nitrococcus*

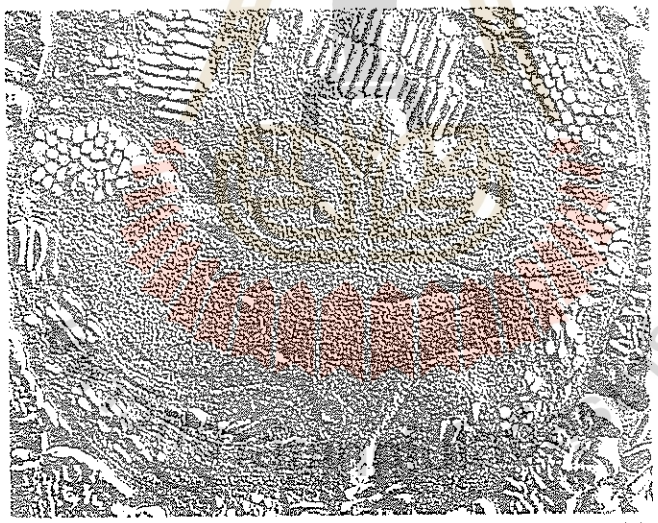
3.1.4 ใช้ในการสังเคราะห์แสง โดยใช้แสงเป็นแหล่งพลังงานในการเจริญอาจมีโครงสร้างเป็นถุงแบน หรือมีลักษณะเป็นหลอดพับไปมา ดังพบได้ในกลุ่ม Photosynthetic bacteria และ cyanobacteria

3.2 Inclusion bodies

เป็นกลุ่มโครงสร้างอีกลักษณะหนึ่งที่จัดว่าเป็น oragnelle แบบพิเศษในไซโตพลาสซึม ซึ่งต่างไปจากใน eukaryote คือโครงสร้างเหล่านี้จะไม่มีเยื่อหุ้มที่เป็น lipid bilayer protein ดังนั้นจึงนิยมใช้คำว่า inclusion bodies มากกว่า organelles องค์ประกอบในกลุ่มของ inclusion bodies แบ่งได้ดังนี้

3.2.1 ถุงก๊าซ (Gas vesicles)

เป็นโครงสร้างที่มีลักษณะกลวงอาจมีความยาวถึง 200 นาโนเมตรถูกห่อหุ้มด้วยโปรตีน มีความหนาประมาณ 2 นาโนเมตร มักพบในแบคทีเรียที่อาศัยอยู่ตามแหล่งน้ำ เช่น cyanobacteria, photosynthetic bacteria บางชนิดเป็นต้น ภายในโครงสร้างนี้จะบรรจุไว้เพียงก๊าซที่มีปริมาณสมดุลกับก๊าซที่ละลายในไซโตพลาสซึม โครงสร้างนี้จะช่วยทำให้แบคทีเรียมีความสามารถลอยอยู่บนผิวน้ำได้ เพื่อให้ได้รับปริมาณแสงแดดที่พอเพียงต่อกิจกรรมของเซลล์ (ดังแสดงในรูปที่ 26)



รูปที่ 26 แสดงถุงก๊าซจากภาพถ่ายกล้องจุลทัศน์อิเลคตรอนจาก cyanobacteria ที่ชื่อ *Microcystis aeruginosa* (ที่มา : D. Lim และคณะ 1998)

3.2.2 คาร์บอกซิโซม (Carboxysomes)

เป็นโครงสร้างที่พบในแบคทีเรียกลุ่มที่สามารถใช้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เป็นแหล่งอาหารคาร์บอนได้ เป็นโครงสร้างที่มีขนาดใหญ่ประมาณ 100 นาโนเมตร บทบาทที่สำคัญคือเป็นที่บรรจุเอนไซม์ Ribulose-biphosphate carboxylase

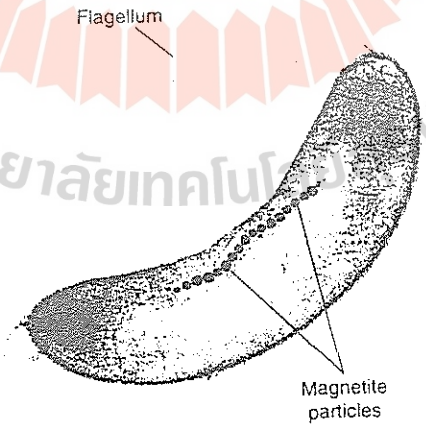
(RuBP carboxylase) ที่อยู่ในกระบวนการเมตาโบลิซึมที่เรียกว่า Cavin cycle ใช้ในการตรึงคาร์บอนไดอ๊อกไซด์จากบรรยากาศได้

3.2.3 คลอโรโซม (Chlorosomes)

เป็นโครงสร้างที่มักพบว่าอยู่บริเวณด้านล่างลงมาของเยื่อหุ้มเซลล์ในแบคทีเรียบางชนิด เช่น แบคทีเรียในกลุ่ม Green sulfer photosynthetic bacteria ในจีนัส *Chlorobium* คลอโรโซมจะถูกห่อหุ้มด้วยเยื่อบาง ๆ ที่ประกอบไปด้วย galactolipid และโปรตีนบางชนิด บทบาทที่สำคัญคือเป็นแหล่งรวบรวมรงควัตถุที่ใช้ในการสังเคราะห์แสง (ในขณะที่กระบวนการสังเคราะห์แสงเกิดขึ้นที่เยื่อหุ้มเซลล์)

3.2.4 กรานูลและโกลบูล (Granules and globules)

มักเป็นโครงสร้างที่ใช้เก็บสารสำคัญบางชนิด เช่น สารกลุ่มไขมันที่พบมากได้แก่ poly-β-hydroxybutyric acid (PHB) ซึ่งจะเป็นแหล่งอาหารคาร์บอนและแหล่งพลังงานสำรองให้กับเซลล์ แบคทีเรียบางกลุ่มอาจมีการเก็บ glycogen หรือ polyphosphate (มักเรียกโครงสร้างที่เก็บ polyphosphate ว่า volutin granule) รวมไปถึงบางจำพวกสามารถเก็บแร่กำมะถันไว้ได้ด้วยที่เรียกว่า elemental sulfer globules เป็นต้น นอกจากนี้แบคทีเรียบางชนิดที่อาศัยอยู่พื้นผิวใต้ทะเลจะมีโครงสร้างที่บรรจุเก็บสารประกอบ magnetite (Fe_3O_4) ที่เรียกว่า magnetosome (ดังแสดงในรูปที่ 27) เพื่อใช้ตอบสนองต่อกระแสแม่เหล็กโลกอีกด้วย เช่นแบคทีเรียจีนัส *Aquaspirillum magnetotacticum* เป็นต้น



รูปที่ 27 แสดง magnetosome ในแบคทีเรียบางกลุ่ม (ที่มา : D. Lim และคณะ 1998)

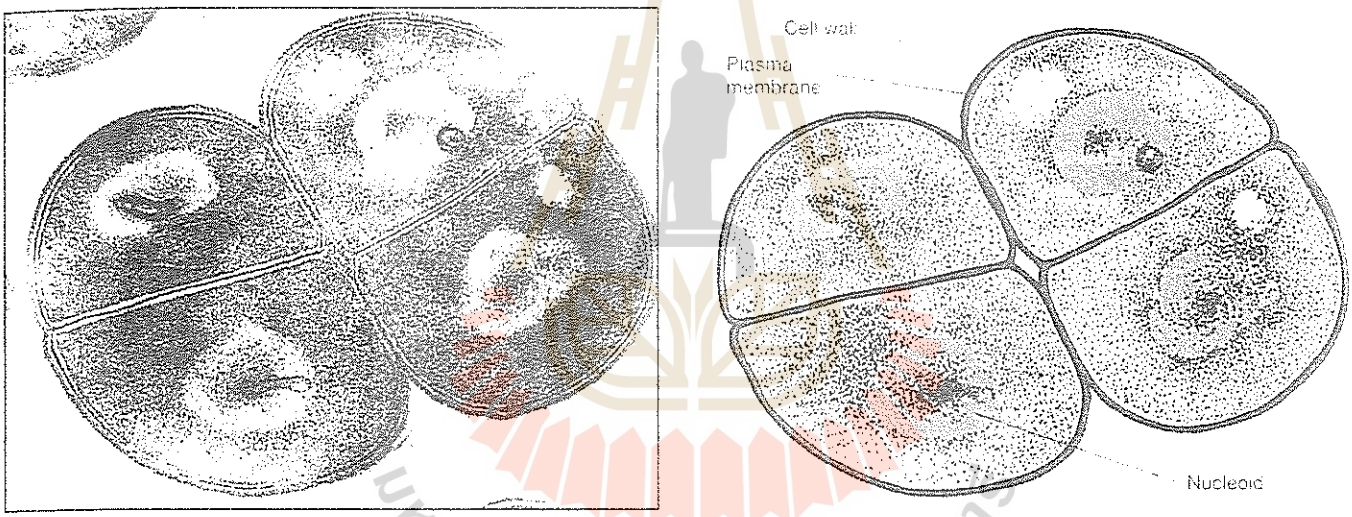
3.2.5 ไรโบโซม (Ribosomes)

เป็นโครงสร้างที่ประกอบด้วยโปรตีนที่ชื่อ ribonucleoprotein มีขนาดในช่วง 22-30 นาโนเมตร ประกอบไปด้วยโปรตีนที่แตกต่างกันไปกว่า 50 ชนิดคิด

เป็นร้อยละ 40% ของทั้งหมด และ RNA ที่ต่างกันไป 3 แบบคือ 23S, 16S และ 5S คิดเป็นร้อยละ 60% ของทั้งหมด โดยปกติไรโบโซมมีขนาด 70 svedberg unit (70S) ในขณะที่ eukaryote จะมีไรโบโซมขนาด 80S ไรโบโซมมีบทบาทสำคัญในกระบวนการการสังเคราะห์โปรตีนโดยเฉพาะในช่วงการแปลรหัสจาก RNA (RNA translation)

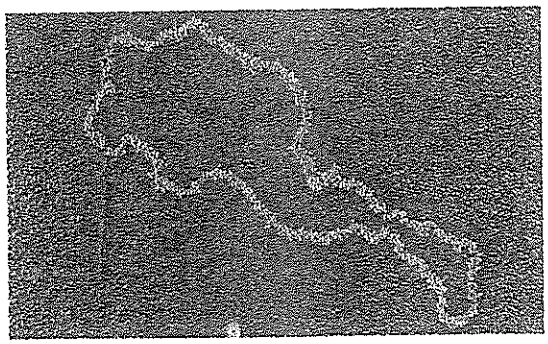
3.2.6 นิวคลีออยด์ (Nucleoid)

จัดเป็นโครงสร้างหรือเป็นบริเวณที่เรียก bacterial chromosome ที่มีบทบาทต่อการสังเคราะห์ DNA และ RNA (ดังแสดงในรูปที่ 28) ตัวอย่างเช่น ใน *E. coli* มีการวัดความยาวของสาย DNA ซึ่งพบว่ายาวกว่าขนาดของเซลล์ถึง 550 เท่า แต่ DNA กลับอยู่ในรูปของ nucleoid ได้โดยหมุนรอบตัวเอง และการพับไปมาของสาย DNA เองซึ่งโปรตีนบางชนิดใน *E. coli* จะมีบทบาทต่อการพับเก็บสาย DNA เช่น HU protein เป็นต้น



รูปที่ 28 แสดงภาพถ่ายจากกล้องจุลทัศน์อิเลคตรอนและภาพสเก็ตช์ของนิวคลีออยด์ใน แบคทีเรีย **Sporosarcina ureae** (ที่มา : D. Lim และคณะ 1998)

นอกจาก DNA ที่อยู่ในรูปของ nucleoid แล้วยังมีแบคทีเรียอีกหลายชนิดที่พบว่ามี DNA ชุดพิเศษที่มีขนาดเล็กเป็นวงกลมปลายปิดเส้นคู่ ที่เรียกว่า พลาสมิด (plasmid) ล่องลอยอยู่ในไซโตพลาสซึม มีระบบการเพิ่มจำนวนตัวเองโดยไม่ขึ้นกับระบบการเพิ่มจำนวนของ DNA ชุดใหญ่ในเซลล์ มียีนส์สำคัญจำนวนไม่มาก เช่นยีนที่ควบคุมการสลายสารปฏิชีวนะต่าง ๆ และยังมีคุณสมบัติในการเคลื่อนย้ายตัวเองจากเซลล์หนึ่ง ๆ ไปยังแบคทีเรียตัวอื่น ๆ ได้ ปัจจุบันนิยมใช้พลาสมิดเป็นเสมือนเครื่องมือในการวิจัยเชิงพันธุวิศวกรรมอีกด้วย รูปแสดงโครงสร้างของพลาสมิดดังแสดงในรูปที่ 29



(b)

รูปที่ 29 แสดงภาพถ่ายของพลาสมิดจากกล้องจุลทัศน์แบบอิเลคตรอน (พลาสมิดชื่อ pSC101 ที่มา : D. Lim และคณะ 1998)

คำถามท้ายบท

1. เมื่อทำการตรวจสอบองค์ประกอบทางเคมีของแบคทีเรีย A และ B ได้ผลตามตารางข้างล่างนี้

	Amount (mg/g. cell)	
Chemical compoment	Bac A	Bac B
Teichoic acid	12	0.15 (0.12)
Lipoteichoic acid	9	1.2 (0.9)
Mycolic acid	2	0.01 (0.02)
N-acetylglucosamine	12	5 (8.6)
N-acetylmuramic acid	18	7 (12.5)
N-actyltalosaminuronic acid		
Glycerol phospate	12	22 (34.1)

จงตอบคำถามต่อไปนี้

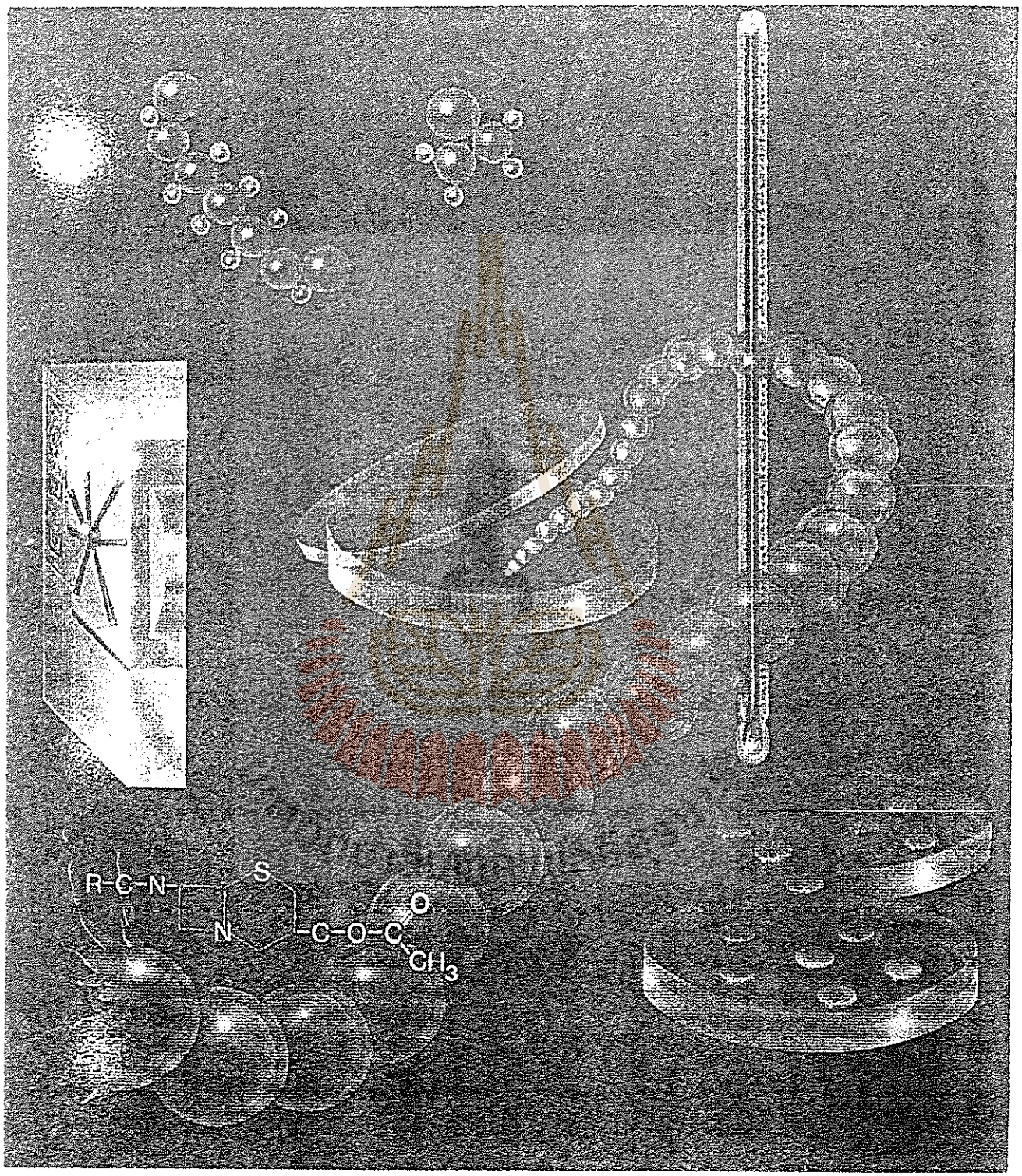
ก. ท่านคิดว่าแบคทีเรียตัวใดเป็นกลุ่ม Archaebacteria พร้อมระบุเหตุผล

ข. ถ้าทำการย้อมสีแบบ Gram ท่านคิดว่าแบคทีเรีย A จะติดสีใดจงระบุเหตุผลและอธิบายกลไกการติดสีใน เซลล์

2. เมื่อนำแบคทีเรีย B มาเลี้ยงในอาหารสูตร ก และ ข พบว่าองค์ประกอบของเซลล์ในอาหารสูตร ก ให้ผลใกล้เคียงกับตารางข้างต้น แต่จากอาหารสูตร ข. พบว่าองค์ประกอบทางเคมีของเซลล์เปลี่ยนไปตามตัวเลขที่ระบุในวงเล็บ จงตั้งสมมุติฐานและอภิปราย

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

บทที่ 3 แหล่งอาหารพลังงานและการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย



บทที่ 3 แหล่งอาหาร พลังงาน และการเจริญของแบคทีเรีย

หลักการนำอาหารมาใช้เพื่อการดำรงชีวิตของแบคทีเรียนั้นมิได้ต่างไปจากสิ่งมีชีวิตอื่น ๆ กล่าวคือเป็นการนำสารอาหารที่มีอยู่ในสิ่งแวดล้อมเข้าสู่เซลล์ สารอาหารบางส่วนก็จะถูกนำไปเปลี่ยนเป็นชีวอณูที่เป็น building-block เพื่อเป็นโครงสร้างและการเจริญของเซลล์ ในขณะเดียวกันก็ได้มาซึ่งพลังงานในการดำรงชีวิตให้เป็นปกติต่อไป องค์ประกอบทางเคมีของเซลล์แบคทีเรียทั่วไป ดังแสดงสรุปในตารางที่ 3

ตารางที่ 3 : แสดงองค์ประกอบทางเคมีของเซลล์แบคทีเรียในเชิงปริมาณและคุณภาพ (ที่มา : D. Lim 1998)

องค์ประกอบ	เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักเซลล์	จำนวนชนิดของโมเลกุลที่พบ
น้ำ	70	1
สารอนินทรีย์	1	20
น้ำตาล	3	200
กรดอะมิโน	0.4	100
นิวคลีโอไทด์	0.4	200
ไขมัน	2	50
สารโมเลกุลขนาดเล็กต่าง ๆ	0.2	~200
สารโมเลกุลขนาดใหญ่ เช่น โปรตีน คาร์โบไฮเดรต DNA และ โพลีแซคคาไรด์	22	~5,000

จากตารางที่ 3 ซึ่งแสดงองค์ประกอบทางเคมีของเซลล์แบคทีเรียนั้นแสดงให้เห็นว่ากลุ่มของธาตุและสารประกอบที่แบคทีเรียจะนำจากสิ่งแวดล้อมมาใช้เพื่อการดำรงชีพและการเจริญสามารถจำแนกออกเป็นกลุ่มได้แก่ น้ำ แหล่งธาตุคาร์บอน ไนโตรเจน แร่ธาตุ วิตามิน รวมไปถึงพลังงานในรูปของพลังงานเคมีและแสงอาทิตย์ ดังนั้นลำดับต่อไปจะได้กล่าวถึงความสำคัญของกลุ่มสารสำคัญเหล่านี้

1. น้ำ

เนื่องจากน้ำมีคุณสมบัติที่เป็น universal solvent สามารถทำละลายสารอาหารต่าง ๆ ในสิ่งแวดล้อม ประกอบกันเป็นตัวละลายของสารสำคัญภายในเซลล์ ดังนั้นน้ำจึงมีความสำคัญต่อกระบวนการ metabolism ในแบคทีเรียเป็นอย่างมาก ดังตัวอย่างเช่น แบคทีเรียบางชนิดที่ก่อให้เกิดโรคในคนซึ่งมักจะอาศัยอยู่ในระบบเนื้อเยื่อของระบบสืบพันธุ์ที่มีน้ำเป็นองค์ประกอบหลักได้แก่ *Treponema pallidium* ที่ทำให้เกิดโรคซิฟิลิส (syphilis) และ *Neisseria gonorrhoeae* ที่ทำให้เกิด

โรคโกโนเรีย (gonorrhea) พบว่าจะตายทันทีถ้าอยู่ในสภาพที่ขาดน้ำในเวลาเพียง 20 วินาที แม้น้ำจะมีความสำคัญอย่างยิ่งยวดต่อการดำรงชีวิตของสิ่งมีชีวิตทั่วไป แต่ในกรณีของจุลินทรีย์ซึ่งรวมไปถึงแบคทีเรียอีกหลายชนิดพบว่าจะยังสามารถดำรงชีวิตอยู่ได้ แต่กระบวนการ metabolism จะหยุดลงเพียงชั่วขณะนั้นและจะกลับมาเจริญอีกครั้งเมื่อได้รับความชื้น ดังนั้นหลักการนี้จึงได้มีการนำเทคนิคการทำให้แห้งหรือที่เรียกว่า desiccation ไปยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ในการถนอมอาหาร หรือแม้แต่การเก็บรักษาสายพันธุ์จุลินทรีย์ให้ดำรงชีวิตอยู่ได้นานกว่าปกติ ปัจจัยหนึ่งที่มีผลกระทบต่อการที่เซลล์จะนำน้ำมาใช้คือความเข้มข้นของสารที่ทำละลายอยู่ในน้ำนั้น ดังนั้นถ้าตัวถูกละลายอยู่ในปริมาณสูงต่อ1 หน่วยปริมาตรของน้ำก็จะทำให้ปริมาณของน้ำที่เซลล์จะนำไปใช้ได้ลดลง ค่าที่ใช้บอกถึงปริมาณน้ำที่เซลล์น่าจะนำไปใช้ได้ เรียกว่า Water activity (a_w) ค่า a_w นี้จะลดลงเมื่อปริมาณของตัวถูกละลายอยู่ในน้ำปริมาณสูง เช่นถ้าสารละลายโซเดียมคลอไรด์มีความเข้มข้น 30 กรัมต่อ 100 มิลลิลิตรจะมีค่า a_w = 0.8 ในขณะที่น้ำทะเลมีปริมาณเกลือ 3.5 กรัมต่อ 100 มิลลิลิตรมีค่า a_w = 0.98 หรือใน maple syrup มีปริมาณซูโครส 140 g ต่อ 100 มิลลิลิตรมีค่า a_w = 0.90 เป็นต้น จุลินทรีย์ส่วนใหญ่ต้องการค่า a_w ในช่วง 0.9 ขึ้นไป เช่น *Bacillus* ต้องการ a_w = 0.9, *Staphylococcus* ต้องการ a_w = 0.85 ในขณะที่ยีสต์ *Saccharomyces* ต้องการ a_w = 0.6 เป็นต้น ดังนั้นกลุ่มแบคทีเรียโดยเฉพาะกลุ่มที่อาศัยอยู่ในทะเลสามารถเจริญได้ในสภาพที่มีค่า osmolarity สูงจะเรียกลักษณะของกลุ่มนี้ว่าเป็น osmotolerant

2. แหล่งอาหารคาร์บอนและพลังงาน

2.1 แหล่งพลังงาน (Energy Source)

จุลินทรีย์และแบคทีเรียทุกชนิดต้องการพลังงานเพื่อชีวิต ซึ่งแหล่งของพลังงานที่แบคทีเรียสามารถนำมาใช้ได้แบ่งเป็น 2 ลักษณะได้แก่

2.1.1 พลังงานจากแสงอาทิตย์

กลุ่มแบคทีเรียที่สามารถนำพลังงานจากแสงอาทิตย์มาเปลี่ยนรูปให้เป็นพลังงานเคมีสะสมอยู่ในพันธะทางเคมีของชีวอณูที่เป็นคาร์โบไฮเดรต รวมเรียกว่า phototrophs ตัวอย่างเช่น แบคทีเรียกลุ่มที่เป็น cyanobacteria และ photosynthetic bacteria บางจำพวกเช่นในสกุล *Rhodospirillaceae, Chromatiaceae, Chlorobiaceae* และ *Chloroflexaceae* เป็นต้น

2.1.2 พลังงานจากสสาร

แท้จริงแล้วแบคทีเรียส่วนใหญ่แล้วไม่มีความสามารถที่จะใช้พลังงานจากแสงอาทิตย์ได้โดยตรง แต่จะใช้พลังงานจากสสารโดยผ่านกระบวนการ oxidation ของสสารนั้น ๆ เพื่อให้พลังงานที่แฝงอยู่ในสสารถูกปลดปล่อยออกมา กลุ่มแบคทีเรียนี้เรียกว่า chemotrophs เมื่อแบ่งตามชนิดของสสารแล้วทำให้สามารถแบ่งชนิดของกลุ่มแบคทีเรียจำพวกนี้ได้ 2 ประเภท คือ

2.1.2.1 Chemoorganotrophs

เป็นกลุ่มแบคทีเรียที่มีความสามารถในการได้รับพลังงานจากสสารจำวกสารอินทรีย์โดยปฏิกิริยา oxidation เช่น คาร์โบไฮเดรต กรดอินทรีย์และโปรตีนต่าง ๆ เป็นต้น

2.1.2.2 Chemolithotrophs

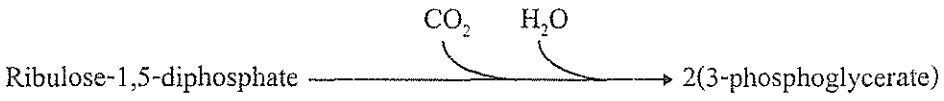
เป็นกลุ่มแบคทีเรียที่ได้รับพลังงานจากสสารโดยปฏิกริยา oxidation จากสารกลุ่มอนินทรีย์ เช่น ไฮโดรเจนซัลไฟด์ (H_2S), ก๊าซไฮโดรเจน (H_2), ไนไตรท์ (NO^-_2), แอมโมเนียม (NH_3) และเฟอรัสไอออน (Fe^{2+}) โดยแบคทีเรียกลุ่มนี้ถูกพบเป็นครั้งแรกโดยนักจุลชีววิทยาชาวรัสเซีย ปลายปี ค.ศ. 1800 ที่ชื่อ Sergi Winogradsky ที่พบว่าแบคทีเรียในกลุ่มจีนัส *Beggiatoa* ในสิ่งแวดล้อมที่มีซัลไฟด์เป็นจำนวนมากสามารถอ๊อกซิไดซ์ H_2S ให้กลายเป็นธาตุกำมะถัน (S°) และซัลเฟต (SO_4^{2-}) ได้ในที่สุด

2.2 แหล่งคาร์บอน (carbon source)

นอกไปจากแหล่งของพลังงานที่แบคทีเรียมีความจำเป็นที่จะต้องใช่ในการดำรงชีพแล้ว คาร์บอนยังเป็นธาตุอีกชนิดหนึ่งที่แบคทีเรียมีความจำเป็นต้องนำมาใช้เป็นส่วนของโครงสร้างของเซลล์ และองค์ประกอบในชีวอณูต่าง ๆ ในกระบวนการ metabolism แหล่งของธาตุคาร์บอนที่แบคทีเรียสามารถนำไปใช้ได้สามารถแบ่งได้เป็น 2 ประเภทคือ ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ และสารประกอบคาร์บอนอินทรีย์ต่าง ๆ ดังนั้นทำให้จำแนกกลุ่มแบคทีเรียตามการใช้คาร์บอนจากแหล่งทั้งสองประเภทนี้ เป็นดังนี้

2.2.1 Autotrophs (self-nourishing)

เป็นกลุ่มแบคทีเรียที่ใช้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เป็นแหล่งอาหารคาร์บอน เพื่อใช้ในการสังเคราะห์เป็นสารอินทรีย์คาร์บอนต่าง ๆได้ โดยผ่านกระบวนการที่เรียกว่าการตรึงคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2-fixation) กระบวนการนี้ถูกค้นพบครั้งแรกในช่วงปี ค.ศ. 1940-1950 โดยนักเคมีที่ชื่อ Melvin Calvin แห่งมหาวิทยาลัยแคลิฟอร์เนีย ณ Berkley และได้รับรางวัลโนเบิลไปในปี ค.ศ. 1961 โดยการค้นพบในสาหร่ายเซลล์เดียวกลุ่ม eukaryote ที่ชื่อ *Chlorella* ซึ่งพบว่าสารที่ชื่อ Ribulose-1,5-diphosphate (RuDP) เป็นสารที่มีบทบาทในการจับตัวกับก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในปฏิกริยาเคมีแบบ carboxylation โดยการทำงานของเอนไซม์ Ribulose diphosphate carboxylase ดังแสดงในสมการ



Ribulose diphosphate carboxylase

นอกจากนี้ถ้ากลุ่มแบคทีเรีย autotroph ที่ใช้แสงเป็นแหล่งพลังงานจะรวมเรียกว่า photoautotrophs ในขณะที่ถ้าแบคทีเรียกลุ่ม autotroph นี้ใช้สารเคมีเป็นแหล่งพลังงานจะเรียกว่า Chemoautotrophs

2.2.2 Heterotrophs

เป็นกลุ่มแบคทีเรียที่ไม่มีความสามารถในการนำก๊าซคาร์บอนไดออกไซม์มาใช้เป็นแหล่งอาหารคาร์บอนได้แต่สามารถใช้สารคาร์บอนอินทรีย์ได้ ดังนั้นกลุ่มแบคทีเรียที่สามารถอ๊อกซิไดซ์สารเคมีเพื่อเป็นแหล่งพลังงานและต้องการคาร์บอนอินทรีย์เพื่อเป็นแหล่งอาหารคาร์บอนก็จะถูกเรียกว่า Chemoheterotrophs หรือในกรณีของกลุ่มแบคทีเรียในสกุล Methylomonadaceae ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่สามารถอ๊อกซิไดซ์ก๊าซมีเธน (methane-oxidizing bacteria) จึงสามารถใช้ก๊าซมีเธนเป็นทั้งแหล่งอาหารและแหล่งพลังงานได้ ทำให้เรียกกลุ่มแบคทีเรียนี้ว่า Methylotrophs ตัวอย่างอื่น ๆ ในลักษณะเดียวกันนี้ที่เกี่ยวข้องในแง่การใช้แหล่งพลังงานและคาร์บอนสามารถสรุปได้ในตารางที่ 4

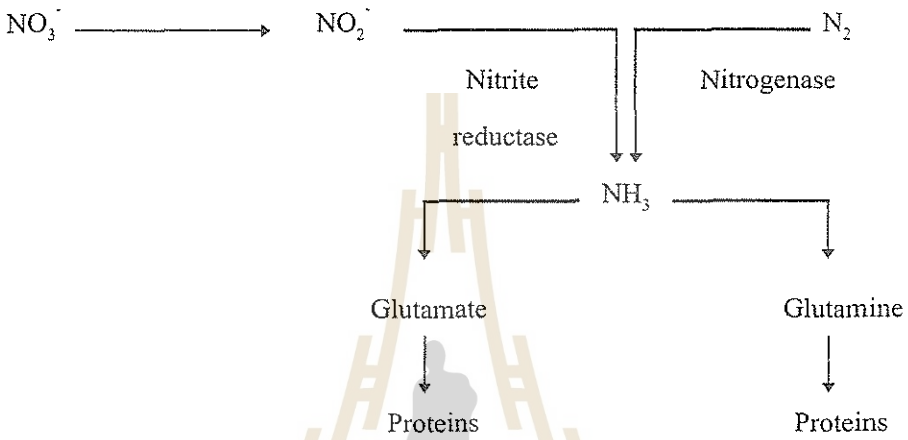
ตารางที่ 4 : สรุปการจำแนกกลุ่มของแบคทีเรียตามลักษณะการใช้แหล่งพลังงานและคาร์บอน (ที่มา : D. Lim 1998, L. Mckane และ J. Kandel 1996)

กลุ่ม	แหล่งคาร์บอน	แหล่งพลังงาน	ตัวอย่างแบคทีเรีย
Autotroph	ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์	-	
Heterotroph	สารอินทรีย์คาร์บอน	-	
Chemotroph	-	สารเคมี	
Chemlithotroph	-	สารอนินทรีย์	
Chemoorganotroph	-	สารอินทรีย์	
Phototroph	-	แสง	
Chemoautotroph (Lithoautotroph)	ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์	สารเคมี	Sulfer-, iron- และ NH_3 oxidizing bacteria
Photoautotroph	ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์	แสง	cyanobacteria
Chemohetetroph	สารอินทรีย์	สารเคมี	แบคทีเรียส่วนใหญ่
Photoheterotroph	สารอินทรีย์	แสง	photosynthetic bacteria
Methylotroph	มีเธน	มีเธน	สกุล Methylomonadaceae

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

3. แหล่งอาหารไนโตรเจน (Nitrogen source)

ไนโตรเจนเป็นธาตุที่เป็นองค์ประกอบในชีวอณูสำคัญต่าง ๆ ของแบคทีเรีย เช่น โปรตีน DNA โคเอนไซม์ ผนังเซลล์ เป็นต้น แบคทีเรียมีความสามารถที่จะนำไนโตรเจนมาใช้ได้ทั้งในรูปของก๊าซ (N_2) สารอินทรีย์ และอนินทรีย์ไนโตรเจน แหล่งอาหารไนโตรเจนหลักที่แบคทีเรียมักนำมาใช้ได้มักอยู่ในรูปไนเตรท (NO_3^-), แอมโมเนีย, กรดอะมิโน, พิวรีน (purines) และไพริมีดีน (pyrimidines) มาใช้เป็นสารตั้งต้นเพื่อสร้างเป็นกรดอะมิโนและโปรตีนในที่สุด โดยบทบาทของเอนไซม์ nitrogenase และ nitrite reductase ดังแสดงในแผนภูมิข้างล่างนี้



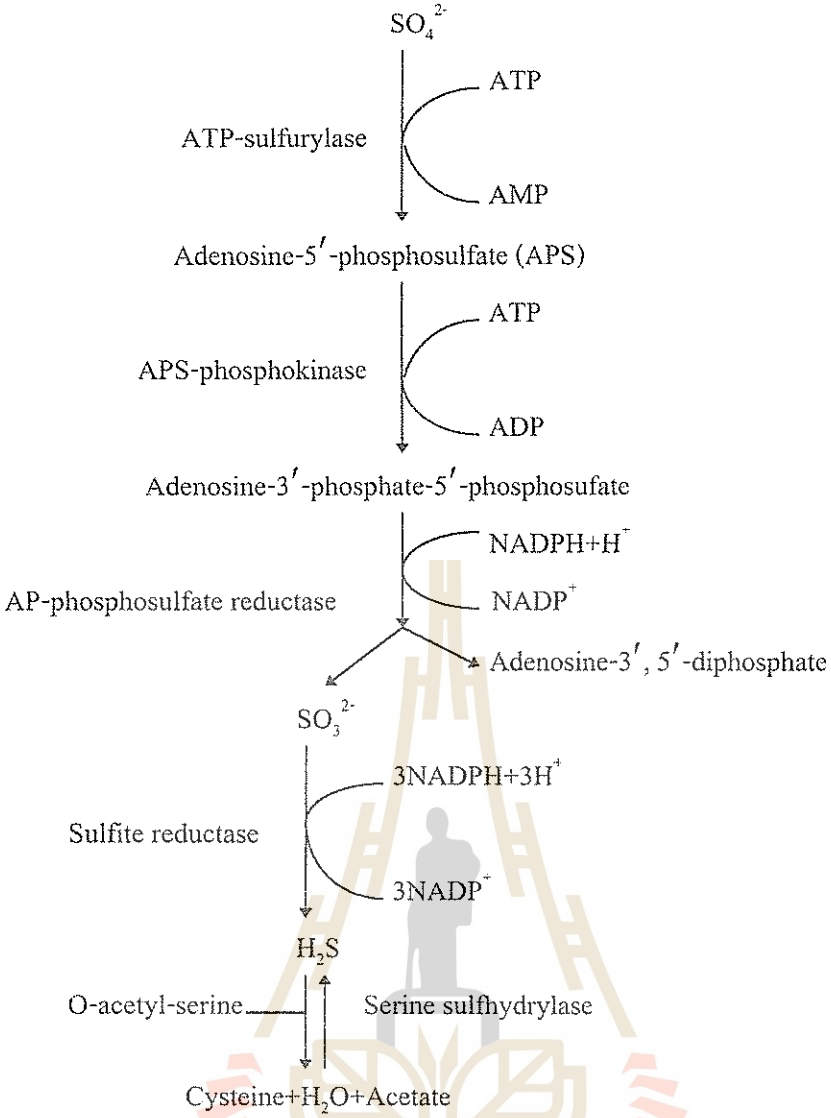
4. แหล่งแร่ธาตุ (Mineral and trace elements source)

4.1 ฟอสฟอรัส

เป็นธาตุสำคัญที่เป็นส่วนประกอบใน DNA, เยื่อหุ้มเซลล์, โคเอนไซม์ รวมไปถึงสารต่าง ๆ ที่มีบทบาทในการจัดเก็บพลังงานแก่เซลล์ แต่ธาตุฟอสฟอรัสส่วนใหญ่มักอยู่ในรูปเกลือที่ละลายน้ำไม่ได้ ดังนั้นแบคทีเรียหรือจุลินทรีย์มักจะใช้ฟอสฟอรัสได้โดยปลดปล่อยกรดอินทรีย์ทำให้ฟอสฟอรัสอยู่ในรูปที่สามารถละลายน้ำได้ เซลล์จึงจะนำมาใช้ได้ต่อไป หรือฟอสฟอรัสที่อยู่ในรูปสารอินทรีย์จะถูกนำมาใช้ได้โดยเอนไซม์ phosphatase

4.2 กำมะถัน

เป็นธาตุสำคัญที่เป็นองค์ประกอบในกรดอะมิโน cysteine และ metheionine, tRNA และ โคเอนไซม์บางชนิด กำมะถันที่อยู่ในรูปสารอินทรีย์เช่น SO_4^{2-} จะถูกแบคทีเรียนำมาใช้ได้ เช่น กระบวนการ reduction ของ SO_4^{2-} ให้ได้เป็นซัลไฟต์ (SO_3^{2-}) และ H_2S ในที่สุด จากนั้น H_2S จะถูกรวมกับ o-acetyl-serine ได้เป็นกรดอะมิโน cysteine ดังแสดงสรุปในแผนภูมิข้างล่างนี้



4.3 แร่ธาตุอื่น ๆ

นอกเหนือไปจากธาตุคาร์บอน, ไนโตรเจน, อ็อกซิเจน, ไฮโดรเจน, ฟอสฟอรัสและกำมะถัน ที่พบว่าแบคทีเรียมีความจำเป็นที่ต้องนำมาใช้เป็นปริมาณค่อนข้างมากแล้ว ยังมีธาตุอื่น ๆ ที่แบคทีเรียต้องการและจำเป็นแต่จัดว่าต้องการในปริมาณรองลงมา (น้อยกว่า 1% ของน้ำหนักแห้งเซลล์) อาทิเช่น โปตัสเซียม (จำเป็นสำหรับเป็น cofactor ในการทำงานของเอนไซม์บางชนิด), แมกนีเซียม (จำเป็นสำหรับการรักษาความเสถียรของไรโบโซม เยื่อหุ้มเซลล์, DNA และยังเป็นองค์ประกอบสำคัญในคลอโรฟิลล์), แคลเซียม (มีบทบาทในการทนต่อความร้อนของ endospore และเป็น cofactor ของเอนไซม์บางชนิด) และเหล็ก (เป็นองค์ประกอบสำคัญของ cytochrome ซึ่งมีบทบาทโดยตรงต่อการขนถ่ายอิเลคตรอนและยังเป็น cofactor ของเอนไซม์บางชนิดอีกด้วย)

5. Growth factors

growth factors จัดเป็นสารอินทรีย์ที่จุลินทรีย์ต้องการในการเจริญ โดยที่ growth factors ส่วนใหญ่จะเป็นกรดอะมิโน, วิตามิน, พิวรีนและไพริมีดีน ซึ่งสารเหล่านี้ จุลินทรีย์บางกลุ่มไม่สามารถสังเคราะห์ขึ้นมาเพื่อใช้เองได้จากสิ่งแวดล้อมจำเป็นต้องมีการเติมใส่ลงไป ถ้าจำเป็นใส่ growth factors เพื่อต้องการเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์กลุ่มนี้มักถูกเรียกว่า fastidious microbes จุลินทรีย์บางกลุ่มที่สามารถสังเคราะห์ growth factor ขึ้นเองได้โดยไม่จำเป็นต้องมีการนำมาให้เป็นพิเศษ ตัวอย่างของวิตามินที่เป็น growth factor และบทบาทที่มีต่อเซลล์ดังสรุปในตารางที่ 5

ตารางที่ 5 วิตามินและบทบาทที่มีต่อเซลล์ (ที่มา : D. Lim 1998)

ชนิดวิตามิน	บทบาทที่มีในเซลล์
p-Aminobenzoic acid	Transfer of one-carbon units
Biotin	Carboxylation
Cyanocobalamin (B_{12})	การเคลื่อนย้ายหมู่ -H และ $-CH_3$
Folic acid	Transfer of one-carbon units
Niacin	กระบวนการขนย้ายอิเลคตรอนและdehydrogenation
Pantothenic acid	Activation of acetyl groups
Pyridoxine (B_6)	Transamination, decarboxylation racemization of amino acids
Riboflavin (B_2)	กระบวนการขนย้ายอิเลคตรอนและdehydrogenation
Thiamine (B_1)	Group transfers ; Oxidation and decarboxylation of keto acids
Vitamin K	กระบวนการขนย้ายอิเลคตรอน

6. ปัจจัยภายนอกที่มีผลต่อการเจริญ

นอกเหนือไปจากแหล่งอาหารที่แบคทีเรียจำเป็นต้องใช้เพื่อการเจริญแล้ว ปัจจัยทางกายภาพต่าง ๆ ก็มีความสำคัญต่อการเจริญไม่แพ้กันเช่น อุณหภูมิ, ค่า pH, ก๊าซต่าง ๆ , ความดัน เป็นต้น

6.1 อุณหภูมิ

โดยทั่วไป ณ อุณหภูมิที่ทำให้การเจริญของเซลล์เป็นไปอย่างสมบรูณ์จะเรียกว่า optimum temperature แต่อย่างไรก็ตามจะยังมีช่วงของอุณหภูมิที่สูงหรือต่ำกว่า optimum temperature ที่ยังทำให้เซลล์มีชีวิตอยู่ได้ซึ่งช่วงของอุณหภูมิในลักษณะนี้เรียกว่า cardinal temperatures จากหลักการนี้เองทำให้จำแนกแบคทีเรียออกได้เป็น 4 กลุ่มตามช่วงของอุณหภูมิได้แก่

6.1.1 Psychrophiles เป็นกลุ่มแบคทีเรียที่เจริญได้ดีที่สุดในช่วงอุณหภูมิประมาณ 10°-20°ซ โดยช่วงอุณหภูมิที่สามารถดำรงชีวิตอยู่ได้จะอยู่ในช่วง -10°ถึง 25°ซ

แบคทีเรียกลุ่มนี้มักพบใต้ทะเลลึกหรือบริเวณทวีปอาร์คติก และ แอนตาร์คติก รวมไปถึงในอาหารแช่แข็งด้วย ตัวอย่างแบคทีเรียกลุ่มนี้ได้แก่ แบคทีเรียในจีนัส *Bacillus globisporus*, *Micrococcus cryophilus, Pseudomonas* sp. และ *Vibrio marinus* เป็นต้น มักพบว่าเยื่อหุ้มเซลล์ของแบคทีเรียกลุ่มนี้มีกรดไขมันไม่อิ่มตัว (unsatturated fatty acid) ในปริมาณสูง ดังนั้นจึงทำให้ลักษณะของเยื่อหุ้มเซลล์ยังคงรักษาสภาพกึ่งของแข็งไว้ได้แม้จะอยู่ในสภาพแวดล้อมที่มีอุณหภูมิจะต่ำ

6.1.2 Mesophies เป็นกลุ่มแบคทีเรียที่เจริญได้ดีที่สุดในช่วงอุณหภูมิประมาณ 20°-40°ซ โดยช่วงอุณหภูมิในการดำรงชีพอยู่ได้จะอยู่ในช่วง 10°-45°ซ เป็นกลุ่มแบคทีเรียที่มักพบทั่วไป เช่น พวกที่ทำให้เกิดโรคในร่างกายของสัตว์เลือดอุ่น ตัวอย่างแบคทีเรียกลุ่มนี้ได้แก่ *N. gonorrheae, E. coli, Lactobacillus lactis* และ *V. cholerae* เป็นต้น

6.1.3 Thermophiles เป็นกลุ่มแบคทีเรียที่เจริญได้ดีที่สุดในช่วงอุณหภูมิ 40°-70°ซ โดยมีช่วงอุณหภูมิที่สามารถดำรงชีพอยู่ได้ในช่วง 30°-80°ซ แบคทีเรียกลุ่มนี้มักพบในแหล่งน้ำพุร้อน ดินในแถบร้อนชื้น กองปุ๋ยหมัก เป็นต้น โดยปกติสิ่งมีชีวิตที่สังเคราะห์แสงได้หรือ eukaryote มักไม่สามารถเจริญที่อุณหภูมิสูงแบบนี้ได้เนื่องจากส่วนที่เป็น internal membrane หรือ vesicle มักไม่ทนต่อความร้อน ตัวอย่างแบคทีเรียในกลุ่มที่ทนความร้อนได้แก่ *Thermus aquaticus* (เจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 80°ซ), *Methanobacterium thermoautotrophicum*

6.1.4 Extreme thermophiles เป็นกลุ่มแบคทีเรียที่สามารถเจริญได้ตั้งแต่อุณหภูมิที่สูงกว่า 80°ซ ขึ้นไป มักเป็นกลุ่ม archaebacteria เช่น *Pyrodictium occulatum* และ *Pyrococcus woesei* ที่สามารถเจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 110°ซ และ 104.8°ซ ตามลำดับ

6.2 ค่า pH

ค่า pH เป็นค่าที่ใช้วัดความเป็นกรด-ด่าง โดยแสดงด้วยช่วงตั้งแต่ 0-14 ซึ่งหมายถึงความเข้มข้นของไฮโดเจนอิออน (H^+) ในสารละลายนั้น ๆ ดังนั้นที่ค่าความเป็นกรดมากจะมีความเข้มข้นของ H^+ มาก เช่น สารละลายที่มีความเข้มข้นของ H^+ เป็น 0.01 (10^{-2} M) ก็จะมีค่า pH = 2 เป็นต้น ในกรณีแบคทีเรียที่ตอบสนองต่อค่า pH นั้นก็จะเป็นไปในทำนองเดียวกับอุณหภูมิโดยเฉพาะ pH จะมีผลต่อการทำงานของเอนไซม์ในแบคทีเรีย กลุ่มของแบคทีเรียที่ตอบสนองต่อค่า pH ในช่วงต่าง ๆ สามารถแบ่งได้เป็น 3 ประเภทคือ

6.2.1 Neutrophiles

ได้แก่กลุ่มแบคทีเรียที่เจริญได้ดีที่สุดในช่วงค่า pH 6-8 และไม่สามารถมีชีวิตอยู่ได้ถ้าค่า pH ต่ำกว่า 4 หรือสูงกว่า 9

6.2.2 Acidoplies

ได้แก่กลุ่มแบคทีเรียที่สามารถเจริญได้ดีในสภาพที่เป็นกรด เช่นในช่วงค่า pH ที่ต่ำกว่า 5.5 แบคทีเรียกลุ่มนี้มักใช้ H^+ ช่วยในการรักษาสภาพของเยื่อหุ้มเซลล์แต่ไม่มีการนำ H^+ เข้าสู่เซลล์ ดังนั้นค่า pH ในเซลล์ของแบคทีเรียกลุ่มนี้จึงอยู่ในช่วงที่เป็นกลาง กลไกที่รักษาสภาพดังกล่าวนี้แบคทีเรียทำโดยอาศัยกลไกในการขับ H^+ ออกจากเซลล์หรือสร้างผนังเมือกหนาห่อหุ้มเซลล์ไว้ ตัวอย่างแบคทีเรียในกลุ่มนี้ได้แก่ *Thiobacillus thiooxidans, Sulfobolus acidocaldarius* และ *Helicobacter pylori* เป็นต้น

6.2.3 Alkalophiles

ได้แก่กลุ่มแบคทีเรียที่สามารถเจริญได้ดีในช่วงค่า pH 8.5-11.5 โดยจะรักษาสภาพในเซลล์ให้เป็นกลางด้วยการแลกเปลี่ยน Na^+ ในเซลล์แทนที่ H^+ และนอกไปจากนี้พบว่า ผนังเซลล์ของแบคทีเรียกลุ่มนี้มีกรดอะมิโนและโปรตีนที่มีความเสถียรสูงที่ความเป็นด่างด้วย ตัวอย่างแบคทีเรียกลุ่มนี้ได้แก่ *Bacillus alcalophilus* และ *Microcystis aeruginosa* เป็นต้น

6.3 ก๊าซต่าง ๆ

ในกลุ่มก๊าซในบรรยากาศที่มีบทบาทโดยตรงต่อการเจริญของแบคทีเรียก็คืออ๊อกซิเจน ซึ่งมีอยู่ประมาณ 20% แต่อย่างไรก็ดีมีแบคทีเรียหรือจุลินทรีย์บางกลุ่มที่อ๊อกซิเจนมีความเป็นพิษต่อเซลล์ของมัน ดังนั้นจึงมีการจำแนกของจุลินทรีย์ตามความต้องการใช้อ๊อกซิเจนไว้ 5 ประเภทคือ

6.3.1 Aerobic bacteria

เป็นกลุ่มที่มีความต้องการอ๊อกซิเจนในกระบวนการ metabolism เพื่อการเจริญ

6.3.2 Microaerophilic bacteria

เป็นกลุ่มที่จะเจริญได้ดีที่สุดถ้ามีปริมาณอ๊อกซิเจนน้อยกว่าในบรรยากาศ ตัวอย่างเช่น อ๊อกซิเจนจะยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ nitrogenase ที่ใช้ในการตรึงไนโตรเจนของแบคทีเรียบางชนิด หรือสภาพในทางเดินอาหารของคนก็เหมาะต่อการเจริญของแบคทีเรียกลุ่มนี้

6.3.3 Facultative anaerobic bacteria

เป็นกลุ่มที่สามารถเจริญได้ทั้งในสภาพที่มีและไม่มีอ๊อกซิเจน เช่นในสภาพที่มีอ๊อกซิเจนแบคทีเรียกลุ่มนี้จะใช้กระบวนการหายใจ (respiration) ตามปกติ แต่ในสภาพ

ที่ไม่มีอ๊อกซิเจนกระบวนการ metabolism จะเปลี่ยนใช้กระบวนการหมัก (fermentation) แทน

6.3.4 Anaerobic bacteria

เป็นกลุ่มของแบคทีเรียที่สามารถเจริญได้ดีที่สุดในสภาพที่ไม่มีอ๊อกซิเจน แต่ยังจะมีบางชนิดที่แม้ว่าสภาพแวดล้อมนั้น ๆ จะมีอ๊อกซิเจนอยู่แต่ไม่ทำให้ถึงตายเพียงแค่หยุดกระบวนการ metabolism ไว้ชั่วขณะ กลุ่มที่ดำรงชีวิตในสภาพแบบนี้เรียกว่า aerotolerant

6.3.5 Obligate anaerobes

เป็นกลุ่มแบคทีเรียที่ไม่สามารถสัมผัสกับอ๊อกซิเจนได้เลยแม้ในปริมาณเพียงเล็กน้อยก็ตาม สาเหตุที่อ๊อกซิเจนมีความเป็นพิษต่อแบคทีเรียบางกลุ่มก็เพราะ โดยปกติทั่วไปไม่ว่าแบคทีเรียในกลุ่ม aerobic, microaerophilic และ facultative anaerobic มักจะมีเอนไซม์ที่เปลี่ยนสารกลุ่มที่มีอ๊อกซิเจนเป็นองค์ประกอบให้เป็นสารอื่นได้ โดยสารกลุ่มที่มีอ๊อกซิเจนที่มีความเป็นพิษได้แก่ อนุมูลอิสระของซูเปอร์ออกไซด์ (superoxide free radical ; O_2^- และ peroxide (O_2^{2-}) ซึ่งมีความเป็นพิษและมักเกิดในรูปไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ (H_2O_2) และอนุมูลอิสระของหมู่ไฮดรอกซิล (hydroxyl free radical ; OH●) สารประกอบที่มีอ๊อกซิเจนเป็นองค์ประกอบเหล่านี้ จะก่อให้เกิดปฏิกริยาอ๊อกซิเดชั่นอย่างรุนแรงแก่เซลล์และทำให้เซลล์ตายในที่สุด กลุ่มของเอนไซม์ที่สามารถเปลี่ยนความเป็นพิษของสารเหล่านี้ดังแสดงในสมการ

$$2O_2^- + 2H^+ \xrightarrow{\text{superoxide dismutase (SOD)}} O_2 + H_2O_2$$

$$2H_2O_2 \xrightarrow{\text{Catalase}} 2H_2O + O_2$$

$$H_2O_2 + NADH + H^+ \xrightarrow{\text{Peroxidase}} 2H_2O + NAD^+$$

ส่วนแบคทีเรียในกลุ่มที่เป็น aerotolerant anaerobe จะมีเอนไซม์ superoxide dismutase แต่จะขาดกลุ่มเอนไซม์ Catalase ที่ย่อยสลาย H_2O_2 ส่วนที่เป็นกลุ่ม obligate anaerobe นั้นจะไม่มีทั้งเอนไซม์ superoxide dismutase และ catalase นอกจากก๊าซอ๊อกซิเจนที่มีผลกระทบต่อแบคทีเรียเกือบทุกชนิดแล้ว ก๊าซคาร์บอนไดออกไซม์ยังเป็นก๊าซอีกชนิดหนึ่งที่มีความจำเป็นต่อแบคทีเรียบางจำพวก อาทิเช่นกลุ่มที่ก่อให้เกิดโรคคือ *Mycobacterium* และ *Neisseria* ซึ่งเป็น aerobic bacteria จะเจริญได้ต้องมีก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ด้วย (ในปริมาณ 5%) บางครั้งเรียกกลุ่มแบคทีเรียที่ต้อง

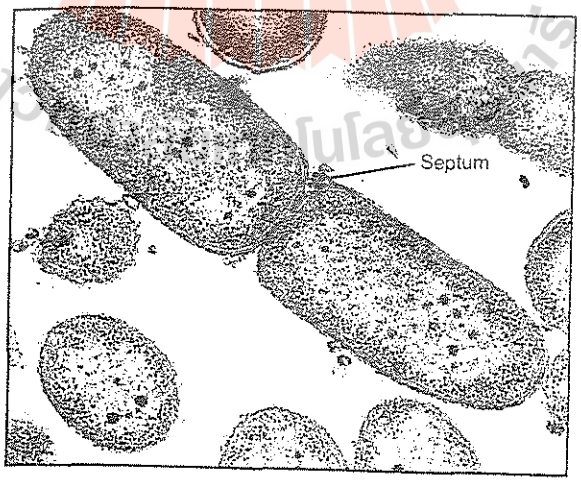
การก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในปริมาณที่มากกว่าที่ปรากฏในบรรกาศเพื่อการเจริญนี้ว่า capnophiles

6.4 ความดัน

ในสภาพแวดล้อมที่ปรากฏให้เห็นว่าความดันมีผลต่อการเจริญของแบคทีเรียได้แก่ ในบริเวณใต้ทะเลลึกที่มีความดันสูงกว่าปกติ (บางแห่งมีความดันมากกว่า 1,000 atm) กลุ่มแบคทีเรียที่จำเป็นต้องอาศัยสภาพที่มีความดันสูง ในการเจริญเท่านั้นเราเรียกว่า barophilic แบคทีเรียในกลุ่มนี้พบว่าจะมีการปรับตัวขององค์ประกอบไขมันที่เยื่อหุ้มเซลล์ที่จะยังถูกคงรักษาสภาพกึ่งของแข็งของเหลวไว้ได้ และมีลำดับของกรดอะมิโนที่พิเศษออกไปทำให้ได้โครงสร้างของโปรตีน หรือเอนไซม์ที่มีความทนทานและสามารถทำงานได้ที่สภาพที่มีความดันสูง

การเจริญของแบคทีเรีย (Bacterial growth)

การเจริญหมายถึงการเพิ่มจำนวนของเซลล์ซึ่งรวมไปถึงการเพิ่มจำนวนขององค์ประกอบต่าง ๆ ของเซลล์ในสิ่งมีชีวิตนั้น ๆ ด้วย เช่น กรดนิวคลีอิค, โปรตีน เป็นต้น ดังนั้นกรณีของแบคทีเรีย การเจริญหรือการเพิ่มจำนวนของเซลล์มักจะเกิดโดยกระบวนการที่เรียกว่า binary fission โดยเริ่มจากการที่ปริมาตรของไซโตพลาสซึมถูกสร้างมากขึ้น มีการสังเคราะห์ไรโบโซมและเอนไซม์ขึ้นมาเพิ่มรวมไปถึงการเพิ่มจำนวนชุดของ DNA ช่วงนี้เซลล์จะมีขนาดเซลล์ที่ใหญ่ขึ้นกว่าเดิมประมาณ 2 เท่า จากนั้นจะมีการพัฒนาส่วนของผนังเซลล์ และเยื่อหุ้มเซลล์มากั้น (septum) เพื่อที่จะทำให้เซลล์แยกออกจากกัน จนได้เป็นเซลล์ใหม่ที่เหมือนกับเซลล์ตั้งต้นในที่สุด (ภาพแสดง septum ดังแสดงในรูปที่ 30)



รูปที่ 31 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทัศน์อิเลคตรอนแสดง septum ของแบคทีเรีย *Pseudomonas aeruginosa* (ที่มา : D. Lim 1998)

เวลาที่นับเริ่มจากเซลล์ตั้งต้นเริ่มแบ่งตัวจนกระทั่งได้เซลล์ใหม่นี้เราเรียกว่า generation time หรือ doubling time ค่า generation time นี้ขึ้นอยู่กับชนิดของแบคทีเรียและสภาพที่ใช้ในการเจริญ ค่าของ generation time (GT) สามารถอธิบายได้โดยสมการทางคณิตศาสตร์ต่อไปนี้

$$GT = t\text{-}t_o / (\log_2 N - \log_2 N_o)$$

โดยที่ GT คือค่า generation time, N และ N_o หมายถึง ความเข้มข้นของเซลล์ ณ เวลา t และ t_o ตามลำดับ ดังนั้นเมื่อพิจารณาด้วยค่า log ฐาน 10 สมการจะได้เป็น

$$GT = 0.301(t - t_o)/(\log_{10} N - \log_{10} N_o)$$

ตัวอย่างการคำนวณ เช่น ที่เวลาเริ่มต้นมีเซลล์ตั้งต้น 1,000 เซลล์ต่อมิลลิลิตร เมื่อเวลาผ่านไป 7 ชั่วโมงพบว่ามีเซลล์ 10 ล้านเซลล์ต่อมิลลิลิตร ดังนั้นแบคทีเรียนี้มีค่า GT เป็น

$$\begin{aligned} GT &= 0.301(t - t_o)/(\log_{10} N - \log_{10} N_o) \\ &= 0.301(7\text{-}0)/(\log_{10} 10^7 - \log_{10} 10^3) \\ &= 0.301(7)/(7\text{-}3) \\ &= 2.107/4 \\ &= 0.527 = \text{ชั่วโมง (หรือ 31.6 นาที)} \end{aligned}$$

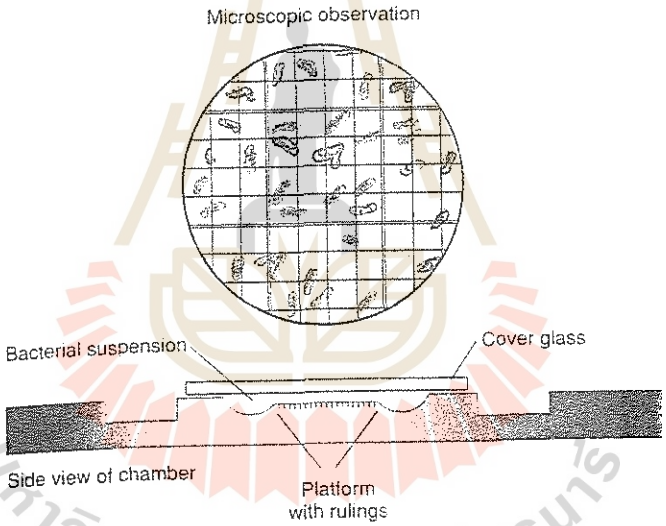
หรือในกรณีที่ต้องการหาค่าจำนวนเซลล์ตั้งต้นหรือสุดท้ายของการแบ่งตัวแบบ binary fission นี้สามารถคำนวณได้โดยอาศัยสูตร $B_f = B_i \times 2^n$ โดยที่ B_f คือจำนวนแบคทีเรียสุดท้ายหลังจาก binary fission, B_i คือจำนวนแบคทีเรียตั้งต้น และ n หมายถึงจำนวน generation (สูตรนี้พัฒนามาจากการที่เซลล์แบ่งตัวแบบ binary คือจาก 1 เป็น 2 เซลล์เป็น $4(2^2)$ เป็น $8(2^3)$ ไปเรื่อย ๆ จนถึง 2^n) ดังนั้นถ้า *E.coli* มีค่า GT เป็น 30 นาที เพราะฉะนั้นใน 1 ชั่วโมงจะแบ่งตัวได้ 2 รุ่น (generation) ดังนั้นในเวลา 1 วัน *E. coli* จะมีจำนวนเป็น 2^{48} เซลล์หรือ 281, 474, 976, 710, 656 เซลล์นั่นเอง

การวัดการเจริญของแบคทีเรีย (Bacterial growth measurement)

การวัดหรือตรวจสอบการเจริญของแบคทีเรียนั้น สามารถวัดได้ 2 ลักษณะ คือ การวัดจำนวนหรือน้ำหนักเซลล์ทั้งหมด ณ เวลานั้น ๆ กับการวัดจำนวนเซลล์ที่ยังมีชีวิตอยู่ ณ เวลานั้น ๆ หรืออาจแบ่งได้อีกลักษณะหนึ่ง เช่น การวัดด้วยวิธีการทางกายภาพ (physical method) เช่น นับจำนวนเซลล์โดยตรงภายใต้กล้องจุลทัศน์ (direct count) การวัดความขุ่นของเซลล์ในอาหารเหลวหรือสารละลาย (turbidity method) การวัดปริมาณเซลล์ที่ตกตะกอน (gravimetric method) เป็นต้น อีกลักษณะหนึ่ง คือ การวัดทางชีวภาพ (biological method) ซึ่งมักจะเป็นวิธีที่ตรวจวัดเฉพาะเซลล์ที่มีชีวิตอยู่ เช่น เทคนิค plate count, drop count, membrane filter และ most probable number (MPN) เป็นต้น ซึ่งจะกล่าวในรายละเอียดเฉพาะบางวิธีการที่ควรทราบ ดังต่อไปนี้

1. การตรวจนับโดยใช้กล้องจุลทัศน์ (Direct microscopie count)

เป็นการตรวจนับโดยใช้ปริมาตรของสารแขวนลอยเซลล์ (cell suspension) ในปริมาณที่น้อยอันเนื่องมาจากต้องใช้หยอดลงบนแผ่นสไลด์พิเศษที่เรียกว่า hemacytometer หรือ Petroff-Hausser chamber จากนั้นจึงนับภายใต้กล้องจุลทัศน์โดยสไลด์ชนิดนี้จะแบ่งช่องเป็นกรอบสี่เหลี่ยมจตุรัสที่ทราบขนาดพื้นที่แน่นอนไว้ 25 กรอบ และปริมาตรรวม 0.02 ลูกบาศก์มิลลิเมตร ในแต่ละกรอบจะถูกแบ่งไว้อีก 16 กรอบเล็ก วิธีการตรวจนับจะทำโดยการนับจุลินทรีย์ที่ปรากฏในกรอบใหญ่หลายๆ กรอบ และหาค่าเฉลี่ย ตัวอย่างดังแสดงในรูปที่ 32 ใน 1 กรอบใหญ่นับจำนวนเซลล์ได้ 12 เซลล์ ดังนั้นพื้นที่ทั้งหมดจะมีจำนวนเซลล์เท่ากับ 12x25 กรอบใหญ่ (แต่ละกรอบมีพื้นที่ 0.04 ตารางมิลลิเมตร) ดังนั้นใน 1 ตารางมิลลิเมตรมีจำนวนเซลล์ = 300 เซลล์ และแต่ละกรอบมีความลึก 0.02 มิลลิเมตร ประกอบกับมีความกว้างและยาวเท่ากับ 50 มิลลิเมตร (0.02x50 = 1 มิลลิเมตร) ดังนั้นใน 1 ลูกบาศก์มิลลิเมตรจะมีจำนวนเซลล์เป็น 300x50 = $1.5x10^4$ เซลล์ ดังนั้นใน 1 มิลลิลิตรจะมีเซลล์เป็น $1.5x10^7$ เซลล์นั่นเอง แม้วิธีนี้จะง่ายทำได้สะดวกแต่ก็มีข้อจำกัดคือไม่สามารถจำแนกเซลล์ที่ตายแล้วกับเซลล์ที่ยังมีชีวิตออกจากกันได้



รูปที่ 31 แสดงการนับจำนวนเซลล์แบคทีเรียโดยแผ่นสไลด์แบบ Petroff-Hausser (ที่มา : D. Lim 1998)

2. การตรวจนับเซลล์แบคทีเรียที่มีชีวิตบนอาหารเลี้ยงเชื้อ (Bacterial viable count on agar media)

สามารถทำการตรวจนับได้หลายวิธีอาทิเช่น (รายละเอียดให้ดูในคู่มือปฏิบัติการวิชานี้)

2.1 Spread และ pour plate

2.2 Membrane filtration

2.3 Most probable number (MPN)

3. การตรวจวัดโดยดูจากความขุ่นของเซลล์ (Turbidimetric measurement)

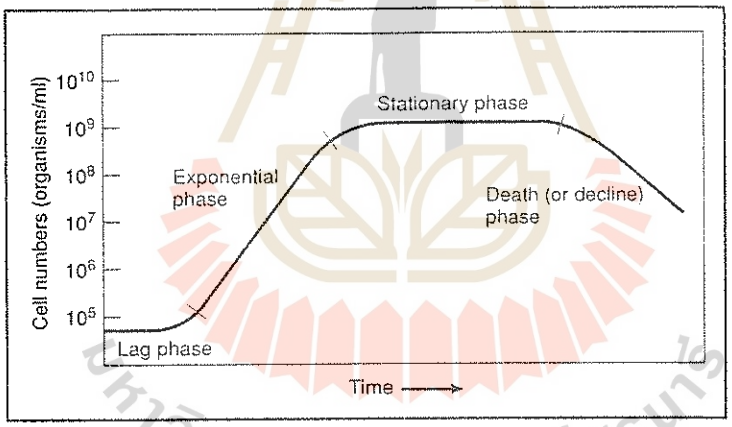
วิธีนี้จัดเป็นวัดการเจริญของแบคทีเรียวิธีหนึ่งที่อาศัยหลักการที่ว่าแต่ละเซลล์ของแบคทีเรียเปรียบเสมือนอนุภาคที่ละลายอยู่ในสารละลาย เมื่อมีแสงมาตกกระทบจะทำให้ค่าการดูดกลืนแสงเปลี่ยนไป ดังนั้นจำนวนเซลล์ของแบคทีเรียจะเป็นสัดส่วนโดยตรงกับปริมาณของแสงที่กระจายออกไปหลังจากโดนเซลล์ ค่าความขุ่นนี้วัดโดยค่าที่เรียกว่าการดูดกลืนแสง (absorbance;A) หรือที่เรียกว่า optical density (OD) โดยใช้เครื่องมือที่เรียกว่า spectrophotometer หรือ photometer ค่าดูดกลืนแสง (A) จะแสดงด้วยค่า log ของอัตราส่วนระหว่างความเข้มของแสงที่ตกกระทบสารละลายนั้น (I_o) กับความเข้มแสงเมื่อผ่านวัตถุหรืออนุภาค หรือเซลล์นั้นแล้ว (I) ดังนั้น

$$A = \log (I_o/I)$$

อย่างไรก็ตามวิธีนี้มีข้อจำกัดคือ ความขุ่นที่อ่านได้จะรวมเอาค่าการดูดกลืนแสงของทั้งเซลล์ที่มีชีวิตอยู่และตายแล้ว

กราฟแสดงการเจริญของแบคทีเรีย (Bacterial growth curve)

ในช่วงอายุของแบคทีเรียที่มีการเจริญหรือจำนวนประชากรในขณะที่มีการเจริญ เมื่อนำมาแสดงด้วยกราฟความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนเซลล์และเวลาพบว่าโดยทั่วไปจะประกอบไปด้วย 4 ลักษณะ (ดังแสดงในรูปที่ 32) ดังต่อไปนี้



รูปที่ 32 แสดงกราฟการเจริญทั่วไปของแบคทีเรีย (ที่มา : D. Lim 1998)

1. Lag phase

เป็นช่วงที่แต่ละเซลล์ของแบคทีเรียจะทำการสังเคราะห์สารสำคัญต่าง ๆ เพื่อใช้ในการแบ่งเซลล์หรือการเจริญ สารสำคัญเหล่านี้ได้แก่ เอนไซม์และ DNA ดังนั้นในระยะนี้จะยังไม่มีการเพิ่มจำนวนของเซลล์ ระยะเวลาของ lag phase นี้ขึ้นอยู่กับความสมบูรณ์ของสภาพแวดล้อมที่มีต่อแบคทีเรียนั้น ๆ

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

2. Exponential phase (logarithmic)

เป็นช่วงที่เซลล์เริ่มมีการแบ่งตัวและเพิ่มจำนวนอย่างรวดเร็วหลังจากสังเคราะห์สารสำคัญต่าง ๆ ไว้พร้อมแล้วในช่วง lag phase โดยอัตราของการแบ่งตัวนี้จะเกิดขึ้นในอัตราที่คงที่ ดังนั้นจึงนิยมใช้ช่วงเวลาของการเจริญ ในระยะนี้หาค่า generation time ได้โดยนำค่าระหว่างเวลาและจำนวนเซลล์มาสร้างกราฟแบบ semilog ซึ่งจะได้ลักษณะกราฟเป็นเส้นตรง

3. Stationary phase

เมื่อเซลล์มีการเจริญและการแบ่งตัวไปได้ในระยะหนึ่ง อาหารในสภาพแวดล้อมก็ถูกใช้และหมดลงประกอบกับการรับสารพิษออกจากเซลล์ที่มีมากขึ้นเรื่อย ๆ ส่งผลให้จำนวนประชากรเริ่มแบ่งตัวช้าลง จนในที่สุดไม่มีการเพิ่มและลดจำนวนของเซลล์จึงทำให้เห็นกราฟในช่วงนี้ไม่มีความชัน หรืออาจกล่าวได้อีกนัยหนึ่งว่าอัตราการเกิดของแบคทีเรียช่วงนี้มีค่าเท่ากับอัตราการตายนั่นเอง

4. Death phase (decline)

เป็นช่วงระยะที่อัตราการตายมีสูงกว่าอัตราการแบ่งตัว สาเหตุของการตายส่วนใหญ่มาจากสารอาหารที่หมดลง กรดอินทรีย์ที่ถูกปล่อยจากกระบวนการ metabolism ขณะที่เซลล์มีการเจริญทำให้ค่า pH ต่ำลง รวมไปถึงการปลดปล่อยเอนไซม์ที่ควบคุมการย่อยสลายตัวเอง (autolysis) เช่น N-acetylmuramyl-L-alanine amidase ซึ่งจะย่อยสลายผนังเซลล์โดยเฉพาะพันธะระหว่าง NAM และ L-alanine

คำถามท้ายบท

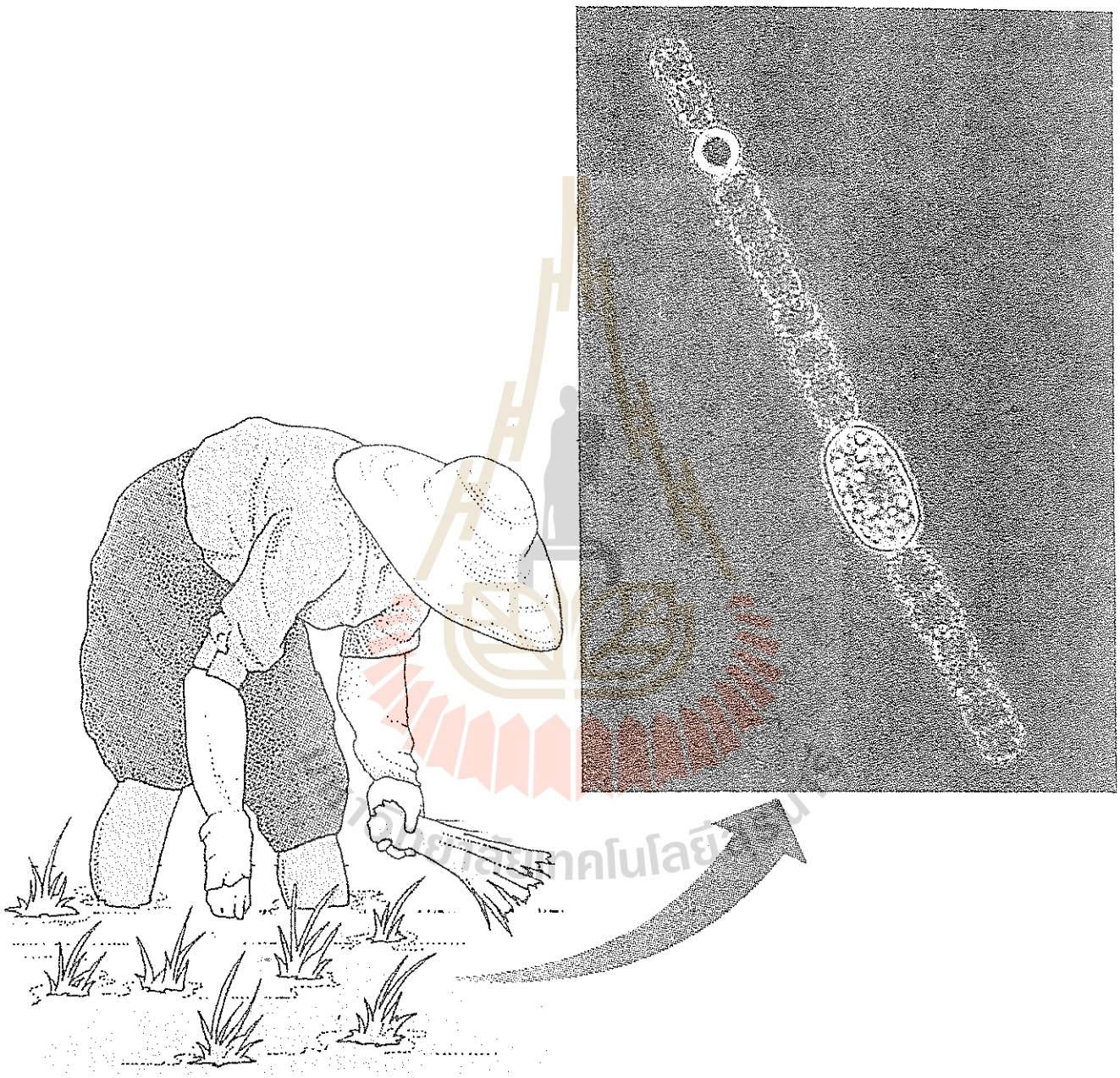
1. Biphasic growth คืออะไร เกิดขึ้นอย่างไร
2. จงอธิบายข้อจำกัดของวิธีที่ใช้วัดการเจริญของแบคทีเรียดังต่อไปนี้

ก. Direct microscopic count	ข. Viable count
ค. Membrane filtration	ง. MPN
จ. Tusbidimetric	ฉ. Dry weight
ช. Cell activity	

3. จงออกแบบการทดลองเพื่อยืนยันว่าแบคทีเรีย A เป็นกลุ่ม thermophilic ไม่ใช่ thermotolerant

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

บทที่ 4 บทบาทของแบคทีเรียต่อวัฏจักรของสาร



บทที่ 4 บทบาทของแบคทีเรียต่อวัฏจักรของสาร

ชีวิตที่ดำรงอยู่ได้อย่างต่อเนื่องและยั่งยืนบนโลกทุกวันนี้ส่วนหนึ่งที่สำคัญเกิดจากการที่สสารที่เป็นแหล่งอาหารและพลังงานเกิดการเปลี่ยนรูปเพื่อปลดปล่อยเป็นพลังงาน และบางส่วนกลับกลายมาเป็นสสารตัวเดิม เพื่อเป็นแหล่งอาหารและพลังงานแก่สิ่งมีชีวิตอย่างเป็นวงจรมานานนับหลายล้านปี ลักษณะของการที่สสารสามารถมีการเปลี่ยนรูปไปมาเป็นวงจรหรือวัฏจักรนี้ กลุ่มสิ่งมีชีวิตที่มีบทบาทในการควบคุมให้ครบวงจร หรือรักษาสมดุลของสารเหล่านี้ ได้แก่ จุลินทรีย์ โดยเฉพาะบทบาทในการย่อยสลายสารอินทรีย์ให้กลายเป็นสารอนินทรีย์ หรือแร่ธาตุ ดังรายละเอียดของแต่ละวัฏจักรของสารจะได้กล่าวต่อไป

วัฏจักรไนโตรเจน (Nitrogen cycle)

ไนโตรเจนมีความสำคัญต่อสิ่งมีชีวิตโดยเฉพาะอย่างยิ่งเป็นธาตุที่เป็นองค์ประกอบของโปรตีนและกรดนิวคลีอิค ก๊าซไนโตรเจนจัดเป็นแหล่งของไนโตรเจนและเป็นก๊าซที่พบมากที่สุดในบรรยากาศของโลกคือประมาณ 79% แต่สิ่งมีชีวิตส่วนใหญ่ไม่สามารถที่จะนำก๊าซไนโตรเจนมาเปลี่ยนเป็นโปรตีนหรือกรดนิวคลีอิคได้โดยตรง ถ้าไม่ถูกเปลี่ยนเป็นแอมโมเนียเสียก่อน ที่เป็นเช่นนี้เพราะก๊าซไนโตรเจนมีความเสถียร โดยแต่ละอะตอมจับกันแบบพันธะสามหรือ triple bond ดังนั้นการที่จะทำลายความเสถียรแล้วนำแต่ละอะตอมไปใช้ให้เกิดประโยชน์สูงสุดต้องใช้พลังงานในการสลาย triple bond อย่างมหาศาล เช่น พลังงานจากกระแสไฟฟ้า อุณหภูมิที่สูงกว่า 300°C ร่วมกับความดัน เป็นต้น

แบคทีเรียกับวัฏจักรไนโตรเจน

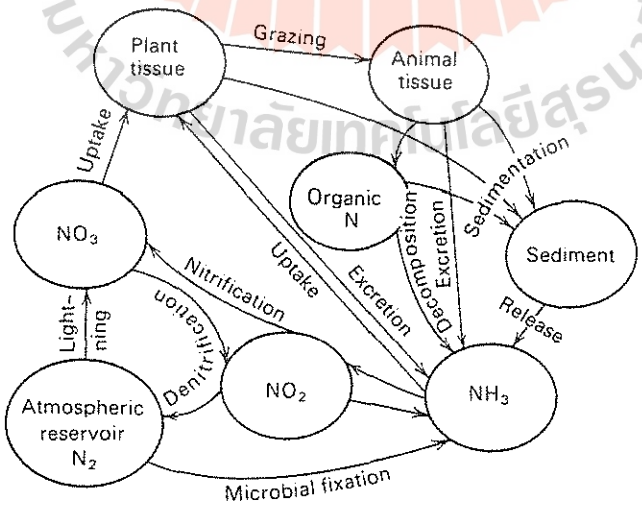
ถ้าพิจารณาดูจากวัฏจักรไนโตรเจนแล้วอาจแบ่งได้ 5 กระบวนการย่อยที่เกิดขึ้นในวัฏจักร ได้แก่

1. Nitrogen fixation
2. Nitrogen assimilation
3. Nitrogen mineralization
4. Nitrification
5. Denitrification

ดังนั้นก่อนที่จะดูถึงบทบาทของแบคทีเรียในกระบวนการทั้งห้านี้ ลองมาทำความเข้าใจดูภาพรวมของวัฏจักรไนโตรเจนเสียก่อนว่าทำไมจึงเรียกว่าเป็นวัฏจักร (ดังแสดงในรูปที่ 34) ถ้าเริ่มจากก๊าซไนโตรเจน คือก๊าซไนโตรเจนในบรรยากาศโลกจะถูกเปลี่ยนให้ไปเป็นองค์ประกอบในสิ่งมีชีวิตต่าง ๆ ไม่ว่าจะเป็นโปรตีนในพืช หรือในรูปของสารอินทรีย์โดยกระบวนการที่เรียกว่า การ

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ตรึงไนโตรเจน (Nitrogen fixation) ขั้นตอนนี้แบคทีเรียจะทำอย่างไรกับอะตอมของไนโตรเจนที่ยึดเกาะกันอยู่อย่างหนาแน่น เพื่อให้เปลี่ยนเป็นแอมโมเนียแล้วนำไปสร้างต่อเป็นโปรตีนในสิ่งมีชีวิตอื่นได้ ? จากนั้นโปรตีนที่สะสมอยู่ในพืชก็ดี หรือไนโตรเจนในรูปของสารอินทรีย์ก็ดีก็จะถูกนำไปใช้เป็นอาหารของสิ่งมีชีวิตที่เป็นสัตว์ เพื่อใช้ในการเจริญและการดำรงชีวิตต่อไป และแน่นอนว่าในขณะที่พลโลกที่เป็นสัตว์เหล่านี้จะต้องมีการขับถ่ายของเสียออกมาในรูปปัสสาวะที่มียูเรีย (มีไนโตรเจนเป็นธาตุองค์ประกอบหลัก) ก็จะถูกย่อยสลายให้อยู่ในรูปแอมโมเนียโดยกระบวนการ hydrolysis หรือถ้าของเสียนั้นอยู่ในรูปของแข็งก็จะถูกย่อยสลายโดยกรรมวิธีทางชีวภาพให้เป็นแอมโมเนีย หรือถ้าพลโลกเหล่านี้หมดอายุขัยก็จะถูกย่อยสลายด้วยเอนไซม์กลุ่ม Proteinase จากโปรตีนให้เป็นแอมโมเนีย โดยกระบวนการนี้เรียกว่า Ammonification แอมโมเนียในขั้นตอนนี้ไม่ใช่เกิดมาเพียงจากพลโลกที่เป็นสัตว์เท่านั้น บางส่วนยังได้มาจากแอมโมเนียที่เกิดจากกระบวนการตรึงไนโตรเจนที่พืชเอาไปใช้ไม่ทัน หรือเกิดจากการที่แบคทีเรียทั้งหลายในสิ่งแวดล้อมตายลงและถูกย่อยสลายด้วย ถ้าไม่มีการเปลี่ยนแปลงต่อไปแอมโมเนียคงล้นโลก แต่แท้จริงแล้วยังมีแบคทีเรียอีกกลุ่มหนึ่งที่พบได้ตามธรรมชาติที่สามารถเปลี่ยนหรือใช้แอมโมเนียไปเป็นไนไตรท์และไนเตรทตามลำดับซึ่งขบวนการนี้เรียกว่า Nitrification ไนเตรทนี้เองที่มีคุณค่ามหาศาล กล่าวคือจะเป็นปุ๋ยที่ดีสำหรับพรรณไม้ต่าง ๆ เพื่อใช้ในการเจริญเติบโตเพื่อจะใช้เป็นอาหารของพลโลกอื่น ๆ ต่อไป แต่ในขณะเดียวกันไนเตรทบางส่วนจะถูกเปลี่ยนให้กลับกลายเป็นก๊าซไนโตรเจนคืนสู่บรรยากาศ โดยกระบวนการที่เรียกว่า Denitrification และแน่นอนสาเหตุที่ต้องเปลี่ยนรูปไนเตรทไปเป็นก๊าซไนโตรเจนก็ดี หรือถูกพืชเอาไปใช้ก็ดีก็เพื่อรักษาสมดุลให้ไนโตรเจนเป็นวัฏจักรสืบไป และถ้าไนเตรทมีมากเกินแล้วไหลลงไปปนเปื้อนน้ำใต้ดินที่มนุษย์ใช้บริโภคแล้วก็จะก่ออันตรายถึงชีวิตด้วย



รูปที่ 33 แสดงวัฏจักรไนโตรเจนและขั้นตอนต่าง ๆ (ที่มา : E. B. Welch 1992)

1. Nitrogen fixation

ในแต่ละปีพบว่าการตรึงไนโตรเจนจากบรรยากาศเกิดขึ้นในปริมาณโดยเฉลี่ย 150 ล้านเมตริกตัน แต่ 90% ของทั้งหมดนี้ได้มาจากกระบวนการตรึงไนโตรเจนแบบชีวภาพ (Biological nitrogen fixation) รูปแบบปฏิกริยาการเปลี่ยนก๊าซไนโตรเจนไปเป็นแอมโมเนีย คือปฏิกริยาแบบ reduction ซึ่งถ้าเกิดขึ้นโดยแบคทีเรียแล้วจะใช้พลังงานเพียงน้อยนิดประมาณ 12-24 ATP เมื่อเทียบกับวิธีทางกายภาพอื่น ๆ กลุ่มของแบคทีเรียที่มีความสามารถเฉพาะตัวนี้ได้แก่ แบคทีเรียบางกลุ่มและไซยาโนแบคทีเรีย กลุ่มของแบคทีเรียพวกนี้สามารถจำแนกได้ 2 พวกใหญ่ ๆ คือ

ก. พวกที่ตรึงไนโตรเจนได้เมื่ออยู่ตามลำพัง (Nonsymbiotic nitrogen-fixing bacteria) ตัวอย่างของแบคทีเรียกลุ่มนี้ ได้แก่ *Azotobacter, Beijerinkia, Klebsiella, Clostridium* เป็นต้น

ข. พวกที่อาศัยร่วมกับสิ่งมีชีวิตอื่น (Symbiotic nitrogen-fixing bacteria) แบคทีเรียกลุ่มนี้มักจะอาศัยอยู่กับสิ่งมีชีวิตที่เป็นพืชแล้วจึงตรึงไนโตรเจนได้ดี แบคทีเรียที่สำคัญได้แก่ *Rhizobium* ซึ่งอาศัยอยู่ปมรากของพืชตระกูลถั่ว ทำให้รากถั่วเกิดปม (Nodule), *Frankia* ซึ่งจัดเป็นแบคทีเรียในกลุ่ม Actinomycetes จะอยู่กับรากต้นสน หรือแหนแดง (*Azolla*) และปรง (cycad) ก็มีพวกไซยาโนแบคทีเรียที่รูปร่างคล้ายสร้อยคอที่ชื่อว่า *Anabaena* ร่วมอาศัยอยู่ในช่องว่างของเนื้อเยื่อในใบแหนแดงและรากของต้นปรง ตามลำดับ และช่วยตรึงไนโตรเจนให้อีกด้วย แบคทีเรียกลุ่มที่ตรึงไนโตรเจนนี้ได้จะมีเอนไซม์สำคัญที่ใช้ในการตรึงไนโตรเจนคือ Nitrogenase ที่มีองค์ประกอบ iron sulfide และ molybdo-iron เป็นสำคัญ องค์ประกอบทั้งสองนี้จะอ่อนไหวมากถ้าโดนอ๊อกซิเจน Nitrogenase สามารถ reduce พันธะที่เรียกว่า triple bonded ได้แต่ต้องอาศัย Mg^{2+} และ ATP เข้าร่วมในการทำงาน เอนไซม์เองจะถูกสร้างมาจากการทำงานของยีนส์กลุ่มที่ชื่อว่า *nif* genes

2. Nitrogen assimilation

เป็นอีกกระบวนการหนึ่งที่แบคทีเรียบางกลุ่ม รวมไปถึงพืชสามารถนำ NH_4^- ที่เกิดจากการย่อยสลาย หรือนำเอา NO_3^- ที่เกิดจากกระบวนการ nitrification มาเสริมสร้างเป็นโปรตีน หรือใช้ในการเจริญเติบโตต่อไปโดยมีลักษณะการใช้ร่วมกับธาตุคาร์บอนในสัดส่วนที่มีคาร์บอน 100 หน่วยเซลล์มักจะต้องการไนโตรเจนประมาณ 10 หน่วยควบคู่กันไป ดังนั้นอัตราระหว่างปริมาณคาร์บอนต่อไนโตรเจนที่เหมาะสมคือค่า C/N radio จะมีค่าประมาณ 10

3. Nitrogen mineralization (Ammonification)

เป็นกระบวนการที่เปลี่ยนจากไนโตรเจนในรูปของสารประกอบอินทรีย์ไปเป็นแบบอนินทรีย์ กระบวนการนี้เกิดขึ้นโดยแบคทีเรียเช่นเดียวกัน เช่น จากโปรตีนถูกเปลี่ยนไปเป็น NH_4^+ (โปรตีน ⟶ กรดอะมิโน ⟶ deamination ⟶ NH_4) ในธรรมชาติที่เป็นแหล่งน้ำพบว่า NH_4^+ จะพบมากในสภาพที่เป็นกรดหรือกลาง แต่ถ้ามี pH สูงขึ้น NH_4^+ จะกลายเป็น NH_3 หลุดลอยออกไปในบรรยากาศ ($NH_4^+ \longrightarrow NH_3 + H^+$)

4. Nitrification

เป็นอีกกระบวนการที่มีการเปลี่ยนแอมโมเนียมไปเป็นไนเตรทซึ่งก็เกิดโดยแบคทีเรียอีกเช่นกัน กระบวนการนี้ประกอบไปด้วย 2 ขั้นตอนคือ

4.1 $NH_4^+ \longrightarrow NO_2^-$ ซึ่งเกิดจากแบคทีเรียในกลุ่ม *Nitrosomonas* เช่น *N. europae*, *N. oligocarbogenes* ที่จะ oxidize แอมโมเนียให้กลายเป็นไนไตรท์โดยผ่านการเกิด hydroxylamine (NH_2OH) ซึ่งเป็น intermediate ของปฏิกริยาก่อน

$$NH_4^+ + O_2 \longrightarrow 2NH_2OH + 2H^+$$

$$NH_4^+ + 1.5O_2 \longrightarrow NO_2^- + 2H^+ + H_2O + 275\ KJ$$

นอกจากนี้แบคทีเรียกลุ่มอื่นที่สามารถทำแบบนี้ได้ ได้แก่ *Nitrosospira*, *Nitrococcus* และ *Nitrosolobus* เป็นต้น

4.2 $NO_2^- \longrightarrow NO_3^-$ เกิดขึ้นจากแบคทีเรียอีกเช่นกันในกลุ่ม Nitrobacter เช่น *N. agilis, N. winogradski* ปฏิกริยานี้ที่เกิดจากปฏิกริยาประเภท oxization เช่นเดียวกัน

$$NO_2\text{-} + 0.5O_2 \longrightarrow NO_3^- + 75\ KJ$$

นอกจากนี้แบคทีเรียกลุ่มอื่น ๆ ทีมีบทบาทในทำนองนี้ได้แก่ *Nitrospira* และ *Nitrococcus*

การเกิด oxidation ของ NH_4^+ ไปเป็น NO_2^- จนเปลี่ยนไปเป็น NO_3^- ในที่สุดเป็นปฏิกริยาที่ก่อให้เกิดพลังงาน แบคทีเรียจะใช้พลังงานเหล่านี้เพื่อเสาะแสวงหาแหล่งอาหารคาร์บอนโดยเฉพาะก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ หรือสารกลุ่ม bicarbonate หรือ carbonate กระบวนการนี้จะเกิดขึ้นได้ดีในสภาพที่มีอ๊อกซิเจนที่มีค่า pH เป็นด่าง เพื่อที่จะไปช่วยในการปรับค่า pH ของสภาพแวดล้อมให้เป็นกลางอันเกิดมาจากไฮโดรเจนอิออน โดยทฤษฎีแล้วมักต้องการอ๊อกซิเจนประมาณ 4.6 mg O_2/1 mg NH_4^+-N เพื่อที่จะ oxidize ให้ได้ NO_3^- แต่ถ้าในสภาพแวดล้อมที่เป็นกรดอาจก่อให้เกิดสภาพน้ำเสียได้ ในบ่อกำจัดน้ำเสียโดยทั่วไปอัตราการเจริญของแบคทีเรียพวก *Nitrobacter* จะสูงกว่าพวก *Nitrosomonas* ดังนั้นอัตราการเปลี่ยน NH_4^+ สูงจึงจะเหมาะกับกระบวนการ nitrification นอกจากนี้ยังมีปัจจัยอื่น ๆ ที่มีผลกระทบต่อกระบวนการ nitrification ในบ่อบำบัดน้ำเสียอีกได้แก่ pH, อุณหภูมิ และสารพิษต่าง ๆ

ปัจจัยที่มีผลต่อการควบคุมกระบวนการ nitrification ในบ่อบำบัด

1. ความเข้มข้นของแอมโมเนียและไนไตรท์ (Ammonia/nitrite concentration)

ขึ้นอยู่กับการเจริญของ *Nitrospira* และ *Nitrococcus* ดังแสดงในสมการ

$$\mu = \frac{[NH_4^+]}{K_s + [NH_4^+]}$$

; μ = specific growth rate (day^{-1})

$[NH_4^+]$ = ammonium concentration (mg/l)

K_s = half saturation constant (ammonium substrate : mg/l)

2. ระดับของอ๊อกซิเจน (Oxygen level)

ค่าความเข้มข้นของออกซิเจนที่ละลายอยู่ในสภาพแวดล้อมที่เป็นน้ำจะเป็นปัจจัยที่สำคัญในการควบคุมกระบวนการ Nitrification ปัจจัยหนึ่งโดยต้องคำนึงถึงค่า half saturation canstant ของอ๊อกซิเจน (K_0) คือประมาณ 1.3 mg/l ดังแสดงได้จากสมการ

$$\mu = \mu_{max} \frac{[NH_4^+]}{K_s + [NH_4^+]} \frac{[DO]}{K_0 + [DO]}$$

; μmax = maximum specfic growth rate

ดังนั้นกระบวนการ Nitrification จะเกิดได้ดีในสภาพที่บ่อบำบัดมีการให้ก๊าซอ๊อกซิเจนในปริมาณมากซึ่งไม่ควรน้อยกว่า 2 mg/l

$$NH_3 + 2O_2 \longrightarrow NO_3^- + H^- + H_2O$$

ดังนั้นจะเห็นได้ว่าถ้าต้องการจะ oxidize NH_3^- 1 mg ต้องใช้อ๊อกซิเจน 4.6 mg

3. อุณหภูมิ

จะมีผลต่อการเจริญของแบคทีเรียกลุ่มนี้โดยอุณหภูมิที่เหมาะต่อการเจริญจะอยู่ในช่วง 30 °ซ

4. pH

ค่า pH ที่เหมาะสมต่อแบคทีเรียกลุ่มนี้อยู่ระหว่าง 7.5-8.5 ดังนั้นการควบคุมค่า pH ในบ่อบำบัดจึงต้องคำนึงถึงการทำให้ค่า pH เป็นกลางหรือเป็นด่างเล็กน้อย เพื่อที่จะทำให้สมดุลกับสภาพที่ค่อนข้างเป็นกรดอันเกิดจากปฏิกริยา Nitrification การแก้ปัญหานี้โดยทั่วไปมักทำโดยให้อากาศเพิ่มเพื่อลดปริมาณก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่เกิดขึ้นในบ่อบำบัด

5. สารพิษต่าง ๆ

สารพิษต่าง ๆ ในบ่อบำบัดมักไปยับยั้งการเจริญหรือฆ่าแบคทีเรียกลุ่มนี้ หรือสารอินทรีย์ทั่วไปที่มีผลคือ ไปทำให้ปริมาณอ๊อกซิเจนในสภาพแวดล้อมลดลงเพราะแบคทีเรียกลุ่มอื่นที่เป็น heterotroph จะแย่งใช้สารอินทรีย์ และมีการใช้อ๊อกซิเจนในกระบวนการ metabolism ด้วย จึงทำให้ปริมาณอ๊อกซิเจนลดลงจึงมีผลโดยตรงต่อแบคทีเรียที่ต้องดูแลกระบวนการ Nitrification สารพิษที่มีผลร้ายแรงโดยตรงต่อแบคทีเรียที่เป็น nitrifiers เหล่านี้ ได้แก่ cyanide, thiourea, ปรอท, นิเกิล, aniline และโลหะหนักต่าง ๆ เป็นต้น

5. Denitrification

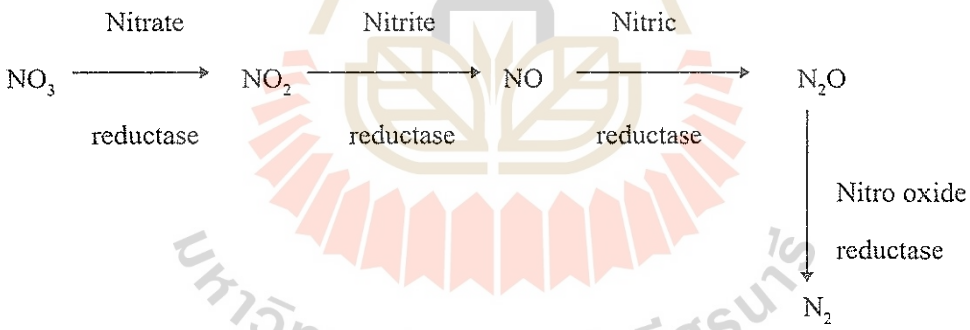
กระบวนการนี้ก็ไม่พ้นหน้าที่ของแบคทีเรียอีกเช่นกัน โดยรูปแบบของปฏิกริยาทั้งหมดเป็นแบบ reduction โดยสามารถแบ่งเป็น 2 ส่วนใหญ่ ๆ ได้ดังนี้

5.1 Assimilatory nitrate reduction

ขั้นตอนนี้ NO_3^- ที่เกิดขึ้นจะถูกเปลี่ยนไปเป็น NH_3 โดยบทบาทของแบคทีเรียและบรรดาพืชทั้งหลายขั้นตอนนี้จะมีการใช้ enzyme หลายชนิดจาก NH_3 ก็จะถูกนำไปสร้างเป็นโปรตีนและกรดนิวคลีอิคต่อไป การ reduce NO_3^- มักเกิดจาการทำงานของ enzymes กลุ่ม nitrate reductase ที่เป็น soluble enzyme ซึ่งอ๊อกซิเจนจะไม่มีผลกระทบต่อปฏิกริยานี้ แต่แอมโมเนียมในปริมาณสูงจะยับยั้ง nitrate reductase ของปฏิกริยานี้ กลุ่มของแบคทีเรียที่พบว่ามีบทบาทในขั้นตอนนี้คือแบคทีเรียที่ชื่อ *Pseudomonas aeruginosa*

5.2 Dissimilatory nitrate reduction (denitrification)

ขั้นตอนนี้จัดว่าเกิดขึ้นในสภาพที่ไร้อ๊อกซิเจนโดยที่ NO_3^- จะทำหน้าที่เป็นตัวรับอิเลคตรอน NO_3^- จะถูก reduce ไปเป็น nitrous oxide (N_2O) และก๊าซไนโตรเจน ตามลำดับ ดังสามารถสรุปได้ดังสมการ เอนไซม์ Nitrate reductase ของปฏิกริยานี้จะพบในส่วนของเยื่อหุ้มเซลล์หรือที่เรียกว่า membrane boundซึ่งจะมีความไวต่ออ๊อกซิเจน



กลุ่มของแบคทีเรียที่มีบทบาทในขั้นตอนนี้คือ *Pseudomonas, Bacillus, Spirillum, Hyphomicrobium, Agrobacterium, Acinetobacter, Propionibacterium, Corynebacrium, Cytophaga, Thiobacillus* และ *Alcaligenes* แต่กลุ่มที่พบโดยทั่วไปคือ *Pseudomonas* เช่น *P. fluorescens, P. aeruginosa, P. denitrificans* และ *Alcaligenes* ที่มักพบมากในดิน น้ำ และน้ำทิ้ง

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมโดยไนโตรเจน

แน่นอนว่าถ้าเกิดความไม่สมดุลในวัฏจักรแล้วย่อมก่อให้เกิดผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม ตัวอย่างที่จะพบได้ก็คือในเรื่องของการบำบัดของเสียซึ่งอาจจะมีการปลดปล่อยแอมโมเนียม หรือไนเตรทสู่แหล่งน้ำในปริมาณที่มากเกินสมดุล ดังจะก่อให้เกิดปัญหาได้หลายประการดังต่อไปนี้

1. สารพิษ

ตัวอย่างแรกก็คือ un-ionized ammonia (NH_3) จะทำให้เกิดอันตรายโดยตรงกับปลาที่ค่า pH เป็นกลางแอมโมเนีย 99% จะอยู่ในรูป NH_4^+ แต่ที่ค่า pH สูงกว่า 9 แล้วพบว่าความเข้มข้นของ NH_3 จะเพิ่มขึ้นดังแสดงในสมการ

$$NH_4^+OH^- \rightleftharpoons NH_3 + H_2O$$

ดังนั้นสิ่งที่ต้องคำนึงถึงคือค่า pH ในบ่อบำบัดที่ไม่ควรจะเป็นด่างมากจนเกินไป และการเจริญของสาหร่ายซึ่งถ้าเจริญมากจะทำให้ค่า pH สูงขึ้นด้วย

2. ปริมาณแอมโมเนีย

ปริมาณแอมโมเนียมากจะมีส่วนทำให้อ๊อกซิเจนลดลง (ถ้าจะ oxidize แอมโมเนีย 1 mg ต้องใช้อ๊อกซิเจนเท่าไหร่?) ซึ่งแน่นอนถ้าอ๊อกซิเจนในน้ำลดลง จะเกิดอะไรขึ้น !?!

3. การเกิด Eutrophication

ปริมาณของไนโตรเจนที่ปลดปล่อยลงสู่แหล่งน้ำรองรับจะเป็นอาหารที่ดีสำหรับพวกสาหร่ายทั้งหลาย ดังนั้นจะก่อให้เกิดความต้องการอ๊อกซิเจนสูงในตอนกลางคืนซึ่งจะส่งผลกระทบอย่างมหาศาล

4. การเกิด Chloramines

Chloramine เกิดจากการรวมตัวของคลอรีนกับแอมโมเนีย หรือสารอินทรีย์ไนโตรเจนจะก่อให้เกิดการฆ่าสิ่งมีชีวิตในสิ่งแวดล้อม

5. การเกิดการกัดกร่อน (Corrosion)

แอมโมเนียที่ความเข้มข้นมากกว่า 1 mg/l อาจก่อให้เกิดการกัดกร่อนต่อทองแดงได้

6. ผลกระทบต่อสาธารณสุข

ไนเตรทอาจก่อให้เกิดอาการผิดปกติที่เรียกว่า methemoglobinemia ในเด็กหรือประชากรผู้ใหญ่บางกลุ่มได้ เช่น กลุ่มประชากร Navajo, Eskimo และคนที่ขาด enzyme glucose-6-phospate dehydrogenase หรือ methemoglobin reductase บางครั้งเรียกอาการแบบนี้ว่า "blue babies" คือเกิดจากการเปลี่ยนไนเตรทไปเป็นไนไตรท์ในลำไส้เล็กโดยกิจกรรมของแบคทีเรีย จะทำให้ hemoglobin เปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเพราะเกิดปฏิกริยา oxidation กับ Fe^{2+} ในเลือดโดยไนไตรท์ ดังแสดงในปฏิกริยา

$$\text{Hemoglobin } (Fe^{2+}) + O_2 \longrightarrow \text{Oxyhemoglibin (red pigment)}$$

$$\text{Hemoglobin } (Fe^{2+}) + NO_2^- \longrightarrow \text{Methemoglobin } (Fe^{3+}) \text{ (brown pigment)}$$

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

methemoglobin จะขาดความสามารถในการจับกับโมเลกุลของอ๊อกซิเจนจึงทำให้ร่างกายได้รับอันตราย เช่น หายใจไม่ทันหรือขาดใจตายนั่นเอง โดยเฉพาะอย่างยิ่งในเด็กจะค่อนข้างไวต่อ methemoglobin เพราะในกระเพาะอาหารของเด็กจะมีค่า pH ค่อนข้างสูงกว่าผู้ใหญ่ จึงทำให้เหมาะต่อการ reduuce ไนเตรทไปเป็นไนไตรท์โดยแบคทีเรียได้ง่ายกว่า การใช้วิตามิน C จะสามารถช่วยรักษาระดับของ methemoglobin ให้ต่ำลง หรือ enzyme methemoglobin reductase จะช่วยรักษาระดับของ methemoglobin ให้อยู่ที่ปริมาณ 1-2% ของ hemoglobin ทั้งหมดในผู้ใหญ่ได้ นอกจากนี้ไนไตรท์ยังสามารถรวมกับ secondary amines ในอาหารแล้วก่อตัวเป็นสารชื่อ nitrosamine ซึ่งเป็นสารกลุ่มก่อให้เกิดการกลายพันธุ์ (mutagen) และสารก่อมะเร็ง (carcinogen) อีกด้วย (ดังแสดงในสมการ)

(nitrosamine)

R และ R′ เป็น alkyl และ aryl group ตามลำดับ

ดังนั้นองค์การ WHO ได้กำหนดความปลอดภัยของน้ำที่ใช้บริโภคไว้ว่าห้ามมี NO_3-N เกิน 10 mg/l

วัฏจักรคาร์บอน

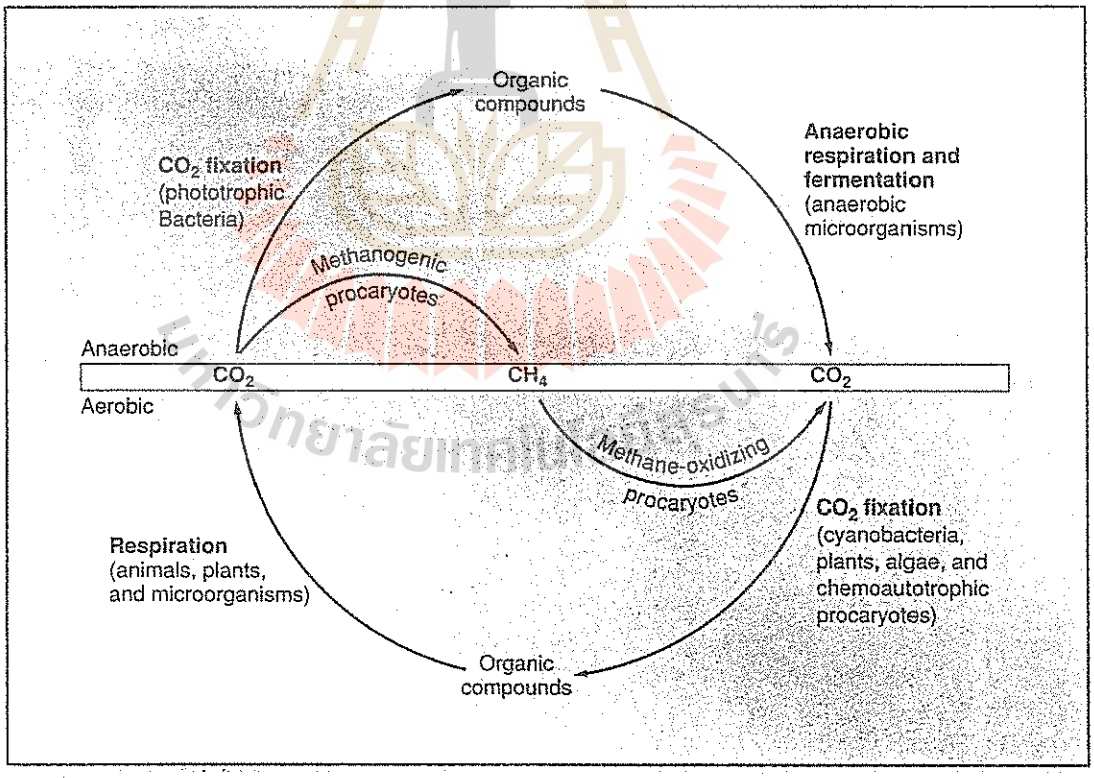
ธาตุคาร์บอนจัดเป็นธาตุที่พบมากที่สุดในสิ่งมีชีวิต และเป็นสารที่เป็น building block สำคัญของสารประกอบอินทรีย์ทั่วไป โดยพบว่าธาตุคาร์บอนมีปริมาณในสิ่งมีชีวิตมากถึง 40-50% ของน้ำหนักแห้งของเนื้อเยื่อในสิ่งมีชีวิต อย่างไรก็ตามธาตุคาร์บอนบนผิวโลกส่วนใหญ่มักอยู่ในรูปของถ่านหิน, พีท (peat), น้ำมันและก๊าซธรรมชาติ อีกส่วนหนึ่งพบได้ในซากของสิ่งมีชีวิต ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ และในรูปของไบคาร์บอเนตและคาร์บอเนต (bicarbonate และ carbonate) การหมุนเวียนเปลี่ยนรูปของธาตุคาร์บอนที่เป็นวัฏจักรนั้นเกิดขึ้นได้ด้วยบทบาทของสิ่งมีชีวิต 3 กลุ่มได้แก่ ผู้ผลิต (producer), ผู้บริโภค (consumer) และผู้ย่อยสลาย (decomposer) ประกอบกับสารคาร์บอนอินทรีย์จัดเป็นแหล่งอาหารและพลังงานของสิ่งมีชีวิต ดังนั้นวัฏจักรนี้จะเกิดขึ้นอย่างใกล้ชิดกับสายใยอาหาร (food web) และการไหลเวียนของพลังงานในระบบนิเวศ ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์จัดเป็นแหล่งคาร์บอนที่สำคัญซึ่งไม่เพียงแต่เป็นวัตถุดิบสำคัญในกระบวนการสังเคราะห์แสงแล้ว ยังจัดเป็นของเสียสำคัญที่ได้จากกระบวนการหายใจอีกด้วย ไม่ว่าก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่เกิดจากการย่อยสลายสารอินทรีย์หรือเผาไหม้จากเชื้อเพลิงก็ดีจะมีลักษณะที่เฉื่อย (inert) ไม่มีสีและกลิ่นในปริมาณ 0.032% ของบรรยากาศโลก เมื่อพิจารณาในขั้นต้นอาจกล่าวได้

ว่าก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์นี้มีแนวโน้มจะลดลงอันเนื่องมาจากสิ่งมีชีวิตกลุ่ม autotroph ที่จำเป็นต้องใช้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เป็นแหล่งอาหารคาร์บอนและพลังงาน

ถ้าเริ่มพิจารณาการเป็นวัฏจักรของธาตุคาร์บอนโดยเริ่มจากก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ จะพบว่าไม่เพียงแต่สิ่งมีชีวิตในกลุ่ม autotroph ที่สามารถนำคาร์บอนไดออกไซด์ไปใช้ได้เท่านั้นยังมีสิ่งมีชีวิตกลุ่มที่เป็น chemolithotroph และ chemoarganotroph ที่สามารถนำคาร์บอนไดออกไซด์มาใช้ได้อีกด้วย และนอกจากนี้ในสภาพที่ไม่มีอ๊อกซิเจน ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ยังถูก reduce ให้กลายเป็นก๊าซมีเธนโดย archaebacteria พวก methanogen ได้อีกด้วย เมื่อก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ถูกตรึงโดยสิ่งมีชีวิตกลุ่มดังกล่าวนี้ก็จะถูกเปลี่ยนกลายเป็นองค์ประกอบของเซลล์ สามารถกลับคืนสู่บรรยากาศอีกครั้งได้ 3 รูปแบบ

1. จากกระบวนการหายใจของสิ่งมีชีวิตทั่วไป
2. จากการที่ผู้บริโภคกินผู้ผลิตซึ่งสารประกอบคาร์บอนอินทรีย์ในผู้ผลิตจะถูก oxidize ต่อให้ผู้บริโภคและได้เป็นก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในที่สุด
3. จากบทบาทของผู้ย่อยสลาย

จากทั้งสามขั้นตอนจะทำให้เห็นการไหลเวียนของธาตุคาร์บอนเป็นวัฏจักรได้ดังแสดงในรูปที่ 34



รูปที่ 35 แสดงวัฏจักรคาร์บอนและขั้นตอนต่าง ๆ (ที่มา : D. Lim 1998)

การที่ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์จะเข้าสู่วัฏจักรของคาร์บอนได้นั้น ปัจจัยทางกายภาพที่มีบทบาทในการส่งเสริมคือ การแพร่โดยเฉพาะการแพร่จากบรรยากาศสู่แหล่งน้ำ ซึ่งปรากฏการณ์นี้สามารถอธิบายได้โดย Henry's Law นอกจากนี้ปัจจัยทางกายภาพอื่น ๆ ที่มีผลต่อการแพร่ได้แก่ pH, อุณหภูมิ และปริมาณรวมคาร์บอน (total C content ; C_T โดย $C_T = CO_2 + HCO_3^- + CO_3^{2-}$)

ปริมาณของคาร์บอนไดออกไซด์ในแหล่งน้ำในสภาพสมดุลกับบรรยากาศสามารถอธิบายได้โดย Henry's Law คือ

$$CO_2 = Pco_2 \times K_H$$

โดยปริมาณของ CO_2 มีหน่วยเป็น $mol.l^{-1}$, Pco_2 คือค่า partial pressure ในบรรยากาศ (atm) และ K_H เป็นค่าคงที่ของ Henry's Law ($10^{-1.37}$ ที่ 25 °ซ มีหน่วยเป็น $mol\ l^{-1}\ atm^{-1}$) ดังนั้นสภาพธรรมชาติอาจพบแหล่งน้ำที่มีก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์อิ่มตัวได้ เช่น ทะเลสาบในฤดูหนาวที่มีน้ำแข็งปกคลุมผิวหน้า มีอัตราการสังเคราะห์แสงน้อย ดังนั้นก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์สามารถทำปฏิกริยากับน้ำได้เป็นกรดคาร์บอนิก (carbonic acid ; H_2CO_3) ดังแสดงในสมการ

$$CO_2 + H_2O \longrightarrow H_2CO_3^*$$

โดย $H_2CO_3^*$ เป็นปริมาณรวมของส่วนที่เป็นคาร์บอนไดออกไซด์และกรดคาร์บอนิกที่อยู่ในสภาวะของเหลวซึ่งในสภาพความเป็นจริงแล้วกรดคาร์บอนิกจะมีเพียงประมาณ 1% ดังนั้นส่วนของคาร์บอนไดออกไซด์ที่เป็นของเหลวอิสระอาจคำนวนได้ในรูปของ $H_2CO_3^*$ นั่นเอง เมื่อ $H_2CO_3^*$ ที่อยู่ในสถานะของเหลวอาจแสดงโดยสมการข้างล่างนี้

$$H_2CO_3^* \longrightarrow H^+ + HCO_3^-$$

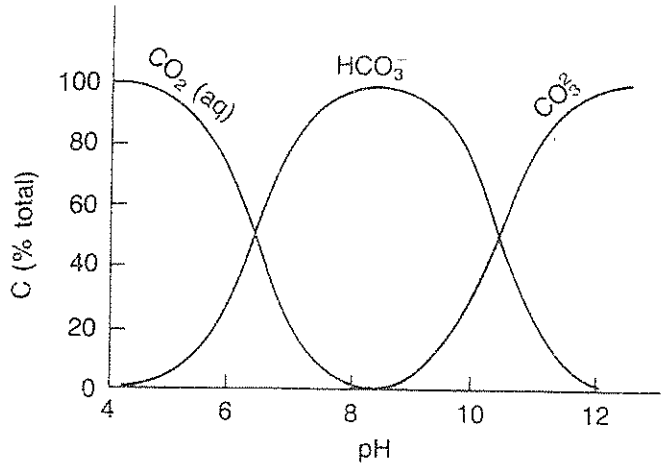
$$HCO_3^- \longrightarrow H^+ + CO_3^{2-}$$

ปฏิกริยาข้างต้นนี้ความสัมพันธ์กับค่า pH และอุณหภูมิ ดังแสดงในสมการข้างล่างและแสดงความสมดุลของปริมาณรวมคาร์บอน ในรูปที่ 36

$$K_1 = \frac{[H^+][HCO_3^-]}{[H_2CO_3^*]}$$

$$K_2 = \frac{[H_+][CO_3^{2-}]}{[HCO_3^-]}$$

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี



รูปที่ 35 แสดงลักษณะการแพร่กระจายตัวของปริมาณคาร์บอน ซึ่งประกอบด้วยสารสามรูปแบบ ณ ค่า C_T คงที่ ต่อช่วงค่า pH (ที่มา : D.W. Cornell และ D.W. Hawker, 1992)

โดยค่า K_1 มีค่าเท่ากับ $10^{-6.3}$ $mol.l^{-1}$ และ K_2 มีค่าเท่ากับ $10^{-10.3}$ $mol.l^{-1}$ ที่อุณหภูมิ 25°ซ เมื่อพิจารณาประกอบสมการข้างต้นและจากรูปที่ 36 จะเห็นได้ชัดเจนว่าที่ค่า pH 6.3 ครึ่งหนึ่งของปริมาณคาร์บอนจะเป็น H_2CO_3* และอีกครึ่งหนึ่งจะเป็น HCO_3^- เมื่อค่า pH สูงเป็น 10.3 นอกไปจากนี้กระบวนการสังเคราะห์แสงและกระบวนการหายใจยังเป็นอีกปัจจัยที่มีผลต่อสมดุลของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในวัฏจักรคาร์บอน เช่นในสภาพแหล่งน้ำที่มีสาหร่ายเจริญ ปริมาณของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่ลดลงอาจแสดงได้ดังสมการข้างล่างนี้

$$H_2CO_3 \longrightarrow CO_2 + H_2O$$

$$HCO_3^- \longrightarrow CO_2 + OH^-$$

ในสมการแรกอาจอธิบายได้ว่าเมื่อสาหร่ายมีการใช้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในอัตราที่เร็วกว่าการแพร่จากบรรยากาศ ปริมาณ H^+ จะลดลงจึงส่งผลให้ค่า pH ในสภาพแวดล้อมนั้นเป็นด่าง หรืออาจอธิบายได้ว่ากระบวนการสังเคราะห์แสงจะเป็นส่วนที่ลดปริมาณของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ดังนั้น HCO_3^- และค่า C_T ก็จะลดลงลงตามเมื่อค่า pH เป็นด่าง และสภาพ pH เป็นด่างนี้เอง ปริมาณของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ก็จะลดลง ซึ่งทั้งสองลักษณะนี้จะไปยับยั้งกระบวนการสังเคราะห์แสงในที่สุด ทำให้วัฏจักรของคาร์บอนเป็นไปอย่างสมดุล จึงอาจกล่าวได้ว่ากระบวนการสังเคราะห์แสงจัดเป็น self-limiting process

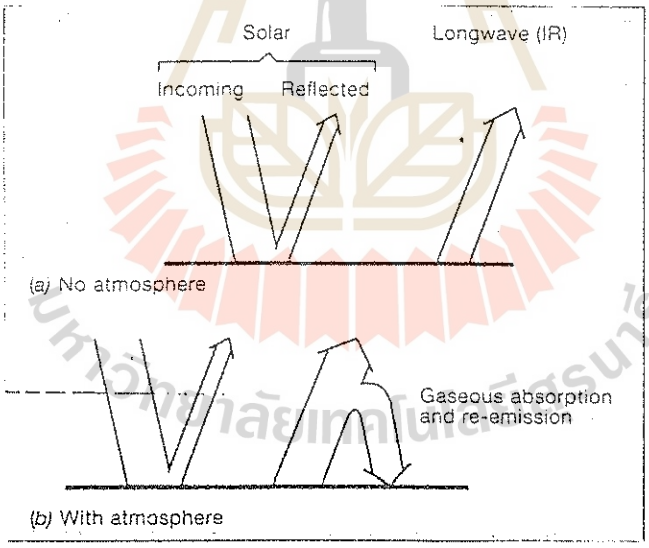
<u>สมดุลของวัฏจักรคาร์บอนและปฏิกริยาเรือนกระจก</u>

ปฏิกริยาเรือนกระจก (greenhouse effect) และการสูญเสียชั้นโอโซน (Ozone depletion)

คือการที่โลกจะมีอุณหภูมิสูงขึ้นเรื่อย ๆ อันจะมีผลต่อความเป็นอยู่ของมนุษย์ นอกจากนั้นมนุษย์และสิ่งมีชีวิตทั้งหลายบนโลกกำลังเสี่ยงต่อการถูกทำลายจากรังสีอุลตราไวโอเลต ที่ผ่านจากดวงอาทิตย์ทะเลเข้าสู่บรรยากาศของโลกโดยปราศจากการดูดซับของชั้นโอโซน ทั้งนี้เพราะเกิดจากการสูญเสียชั้นโอโซนที่ห่อหุ้มโลกไว้ จากวิกฤตการณ์ที่กล่าวมานี้เป็นผลมาจากการพัฒนาบนโลกของเรา การเผาผลาญเชื้อเพลิงที่ทำให้เกิดก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ การใช้สารเคมีในผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมต่าง ๆ เป็นต้น

ปฏิกริยาเรือนกระจกคืออะไร

ปฏิกริยาเรือนกระจก คือภาวะการณ์ที่เพิ่มขึ้นของก๊าซต่าง ๆ ที่ห่อหุ้มโลก (Greenhouse Gases) มีปริมาณมากเกินไปจนทำให้การถ่ายเทความร้อนที่โลกระบายออกได้ไม่สะดวกเท่าที่ควร จึงทำให้โลกร้อนขึ้นเรื่อย ๆ ทั้งนี้เพราะก๊าซกลุ่มต่าง ๆ ที่ห่อหุ้มโลกจะทำหน้าที่เสมือนฉากหรือหลังคาที่กั้นการระบายความร้อน จึงเหมือนกับว่าเราอยู่ภายในห้องกระจก (Green house) ที่ปลูกสร้างไว้เพื่อปลูกพืชของประเทศในเขตหนาวหรือในเขตร้อนซึ่งเรือนกระจกนี้จะสามารถควบคุมอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับพืชได้ทำให้ประเทศหนาวสามารถปลูกพืชเมืองร้อนได้ และทำนองเดียวกันในประเทศร้อนก็สามารถปลูกพืชเมืองหนาวได้ ดังรูปที่ 36



รูปที่ 36 แสดงหลักการสะสมความร้อนในสภาพเรือนกระจก (ที่มา : M.D. Morgan และคณะ 1993)

โดยปกติเมื่อโลกได้รับความร้อนจากดวงอาทิตย์ โลกก็จะระบายความร้อนออกไปสู่บรรยากาศที่ห่อหุ้มโลกไว้ในบรรยากาศก็มีกลุ่มก๊าซต่าง ๆ ที่ห่อหุ้มโลกไว้เช่นกัน อันได้แก่ ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์, ก๊าซมีเธน (CH_4), ไนตรัสออกไซด์ (N_2O), โอโซน (O_3) และสารคลอไรฟลูออโรคาร์บอน (CFCs) กลุ่มก๊าซต่าง ๆเหล่านี้ที่มีอัตราการเพิ่มขึ้นมากเรื่อย ๆ ในแต่ละปีทั้งนี้อัน

เนื่องมาจากการใช้เชื้อเพลิงประเภทฟืน ถ่านหิน น้ำมันและก๊าซธรรมชาติ รวมทั้งการตัดไม้ทำลายป่าและการเผาป่า ซึ่งเป็นการเพิ่มปริมาณก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ให้มากขึ้น ก๊าซมีเธนอันเกิดจากการหมักหรือการสลายตัวทางธรรมชาติของสารอินทรีย์มีปริมาณสูงขึ้น นอกจากนั้นพวกสาร CFCs ที่มาจากการพัฒนาอุตสาหกรรม

ก๊าซที่มีผลต่อการเกิดปฏิกริยาเรือนกระจกจะเห็นได้ว่าปริมาณก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์มีมากที่สุด แต่ไม่ได้หมายความว่าคาร์บอนไดออกไซด์เป็นตัวการเพียงอย่างเดียวแต่จะประกอบด้วยก๊าซตัวการอื่น ๆ ด้วยที่มีปริมาณน้อยแต่อายุที่มีอยู่ในบรรยากาศนาน เช่น ไนตรัสออกไซด์ และ CFCs

ดังนั้นจึงอาจกล่าวได้ว่าจากการที่โลกร้อนขึ้นเรื่อย ๆ นั้นมาจากปรากฏการณ์ของปฏิกริยาเรือนกระจกที่มีกลุ่มก๊าซต่าง ๆ คอยป้องกันการระบายความร้อนออกจากโลก โดยเหตุดังนี้จึงเกิดผลกระทบโดยตรงกับโลกโดยจะทำให้น้ำแข็งที่ขั้วโลกละลายและการขยายตัวของน้ำทะเลเพิ่มระดับสูงขึ้น จนอาจท่วมแผ่นดินบริเวณปากแม่น้ำสายต่าง ๆ ที่อยู่ริมทะเลและพื้นที่ที่ลุ่มต่ำได้แก่ บริเวณปากแม่น้ำคงคา ประเทศบังคลาเทศ โดยระดับน้ำทะเลจะสูงขึ้น 20-140 ซม. ถ้าอุณหภูมิของโลกสูงขึ้น 1.5-4.5 °ซ ตั้งแต่ปี ค.ศ. 2025-2075 ตราบใดที่ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ยังคงเพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ นอกจากนั้นบริเวณอื่นที่อาจถูกน้ำท่วมได้ เช่น หมู่เกาะในมหาสมุทรแปซิฟิกตอนใต้ หมู่เกาะมัลดีฟ เมืองเวนิส ประเทศอิตาลี ทวีปอัฟริกาตอนเหนือ ที่ราบลุ่มปากแม่น้ำมิสซีสซิปปี และกรุงเทพมหานคร

นอกจากการเพิ่มของอุณหภูมิโลกแล้วก็ยังจะทำให้เกิดผลกระทบอีกหลาย ๆ อย่างที่เกี่ยวกับการดำรงชีวิตของมนุษย์และสิ่งมีชีวิตต่าง ๆ อาทิเช่น เกิดการเปลี่ยนแปลงวัฏจักรของน้ำ เช่น บางแห่งมีฝนตกมากขึ้น บางแห่งมีฝนตกน้อยลง เขตทะเลทรายกว้างออกไปมีผลเสียหายต่อเกษตรกรรม อุณหภูมิในเขตอบอุ่นหรือหนาวสูงขึ้น นอกจากนี้การเพิ่มขึ้นของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ยังมีผลโดยตรงต่อการเจริญเติบโตของพวกวัชพืชมีมากขึ้น

การสูญเสียชั้นโอโซนคืออะไร

ชั้นโอโซน โอโซนเป็นส่วนประกอบของบรรยากาศส่วนหนึ่งที่ปกคลุมผิวโลกซึ่งมีลักษณะชั้นบาง ๆ บริเวณที่พบโอโซนจะผันแปรระหว่างช่วงความสูงจากระดับน้ำทะเลขึ้นไปจนถึงความสูงเหนือพื้นโลกประมาณ 60 กิโลเมตร โอโซนในบรรยากาศส่วนใหญ่จะอยู่ในชั้นสตาร์โตสเฟียร์ซึ่งพบประมาณ 85-90% ส่วนที่เหลือประมาณ 10% จะกระจายอยู่ในชั้นโทรโปสเฟียร์และเมโซสเฟียร์ โอโซนจะถูกสร้างขึ้นในชั้นสตาร์โตสเฟียร์ซึ่งมีระดับความสูง 20-25 กิโลเมตร ปริมาณความเข้มข้นของโอโซนในชั้นสตาร์โตสเฟียร์นั้นจะมีเพียง 10 ส่วนในล้านส่วน ซึ่งเป็นปริมาณที่น้อยมาก แต่ก็มีความสำคัญต่อสิ่งมีชีวิตต่าง ๆ บนโลก

การเกิดโอโซน โอโซนเป็นก๊าซที่มีลักษณะโมเลกุลแบบง่าย ๆ ประกอบด้วยอ๊อกซิเจน 3 อะตอม โอโซนสามารถเกิดขึ้นได้ 2 กรณีคือ

การเกิดโอโซน โอโซนเป็นก๊าซที่มีลักษณะโมเลกุลแบบง่าย ๆ ประกอบด้วยอ๊อกซิเจน 3 อะตอม โอโซนสามารถเกิดขึ้นได้ 2 กรณีคือ

1. เกิดตามธรรมชาติ ซึ่งเกิดปฏิกริยาการรวมตัวกันระหว่างโมเลกุลของก๊าซอ๊อกซิเจนกับอะตอมของอ๊อกซิเจน โดยรังสีอุลตราไวโอเลตเป็นตัวเร่งปฏิกริยาทำให้เกิดพลังงานที่จะดึงเอาโมเลกุลของก๊าซออกซิเจนให้แตกตัวเป็นออกซิเจนอะตอม 2 อะตอม และเมื่ออะตอมของออกซิเจน 1 อะตอมพบกับโมเลกุลของออกซิเจนก็จะเกิดปฏิกริยารวมตัวกันดังสมการต่อไปนี้

$$O_2 \longrightarrow O+O$$

$$O+ O_2 \longrightarrow O_3$$

โอโซนที่เกิดขึ้นนี้สามารถดูดกลืนรังสีอุลตราไวโอเลตแล้วแตกตัวกลายเป็นก๊าซออกซิเจนและรวมตัวกับอะตอมจนกลายเป็นโอโซนได้อีก โดยรังสีอุลตรไวโอเลตเป็นตัวเร่งปฏิกริยาซึ่งจะเกิดขึ้นอย่างนี้อยู่เรื่อย ๆ โดยไม่มีที่สิ้นสุดแบบปฏิกริยาแบบลูกโซ่ นอกจากนี้โอโซนยังสามารถเกิดขึ้นเองได้ในอากาศจากการเกิดพายุฝนฟ้าคะนองหรือจากฟ้าแลบได้อีกด้วย กระบวนการเกิดปฏิกริยาดังกล่าวมานี้เรียกว่า photo-chemical process ซึ่งปฏิกริยาทำให้เกิดก๊าซโอโซนเกิดขึ้นและสลายตัวพร้อม ๆ กัน และในที่สุดปฏิกริยาของโอโซนก็จะอยู่ในสภาวะสมดุลโดยมีอัตราการเกิดเท่ากับอัตราการสลายตัว

2. เกิดจากการกระทำของมนุษย์ การเตรียมก๊าซโอโซนที่สะดวกที่สุดคือ ใช้ประกายไฟฟ้าชนิด silent electrical discharge กระทำกับอากาศหรือกับออกซิเจน ซึ่งออกซิเจนบางส่วนเท่านั้นที่จะกลายเป็นโอโซน ใช้ในการกำจัดน้ำเสีย และฆ่าเชื้อโรค เป็นต้น

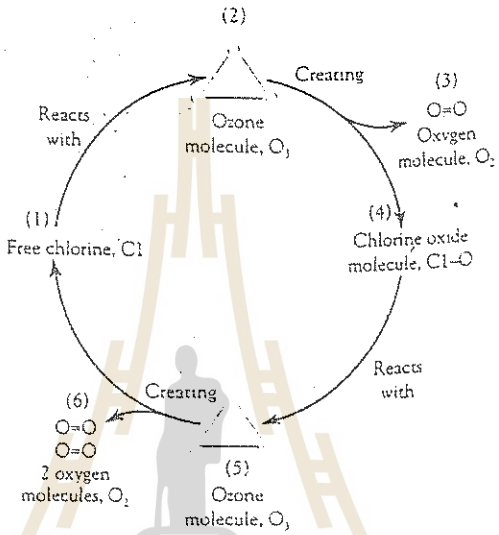
ความสำคัญของชั้นโอโซน

1. ชั้นโอโซนจะทำหน้าที่เป็นตัวกรองแสงอุลตราไวโอเลตจากดวงอาทิตย์ โดยที่มันสามารถจะดูดซับแสงอุลตาไวโอเลตที่เรียกว่า UV-B ซึ่งมีความยาวคลื่นในระหว่าง 280-320 นาโนเมตรได้ประมาณ 70-90% รังสี UV-B นี้มีอันตรายร้ายแรงต่อสิ่งมีชีวิต โดยที่เพียงแค่ปริมาณของรังสีในระดับต่ำที่ผ่านเข้ามายังพื้นโลกสามารถทำอันตรายต่อสายตา ทำให้เกิดมะเร็งที่ผิวหนังและสามารถทำให้เกิดผลกระทบอย่างร้ายแรงต่อผลผลิตของพืช สาหร่ายทะเลซึ่งรวมถึงปลาด้วย

2. ควบคุมอุณหภูมิของโลกและบรรยากาศเช่นเดียวกับพวกกรีนเฮ้าส์ก๊าซ เช่น ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ โดยที่ชั้นโทรโปสเฟียร์สามารถจะดูดแสงอินฟราเรด ซึ่งสะท้อนจากผิวโลกและจากชั้นสตาโตสเฟียร์ได้ จึงทำให้อุณหภูมิของชั้นโทรโปสเฟียร์นี้สูงขึ้น ซึ่งผลจากการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิของชั้นนี้จะมีผลต่อสภาพภูมิอากาศของโลก และถ้าระดับโอโซนในชั้นสตาโตสเฟียร์ลดลง จะมีผลให้อุณหภูมิในชั้นนี้ลดลงเนื่องจากปริมาณแสงอุลตราไวโลเลตถูกดูดซับไว้ได้น้อยลง ทำให้แสงอุลตราไวโอเลตแผ่มายังผิวโลกได้มากขึ้นจึงทำให้โลกร้อนขึ้น

ปัญหาที่เกิดขึ้นกับชั้นโอโซน

สารประกอบเคมีบางชนิดซึ่งเกิดจากกิจกรรมต่าง ๆ ของมนุษย์ได้ถูกปลดปล่อยให้เข้าสู่ชั้นบรรยากาศสูงในรูปของสารที่มีเสถียรภาพและไม่ละลายน้ำ เช่น ไนตรัสออกไซด์, เมธิลคลอไรด์, มีเทน, คาร์บอนเตตราคลอไรด์และสารประกอบคลอโรฟลูออไรด์คาร์บอน (CFCs) พวกสารประกอบเหล่านี้ถูกเรียกว่าพวก trace gases ซึ่งหมายถึงพวกก๊าซที่เจือปนอยู่ในบรรยากาศเพียงเล็กน้อยแต่จะมีผลกระทบต่อการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิของอากาศ โดยที่รังสี UV จะสลายสาร CFCs ให้ได้เป็นธาตุคลอรีน ฟลูโอรีนและคาร์บอน ภายใต้สภาพดังกล่าวนี้ที่บรรยากาศชั้นสตาโตสเฟียร์ธาตุคลอรีนจะเข้าทำลายโอโซนและเปลี่ยนจากโอโซนเป็นออกซิเจน ดังแสดงในรูปที่ 37



รูปที่ 37 แสดงการถูกทำลายของชั้นโอโซนโดยคลอรีนอิสระ (ที่มา : M.D. Morgan และคณะ 1993)

โดยมีกลไกดังต่อไปนี้ คลอรีนจะเข้าทำปฏิบัติกับโอโซน โดยดึงเอา 1 อะตอมของออกซิเจนออกมาให้ได้เป็นก๊าซออกซิเจนและคลอรีนออกไซด์ จากนั้นคลอรีนออกไซด์จะทำปฏิกิริยากับโมเลกุลของโอโซนอื่น ๆ ได้ผลลัพธ์ออกมาเป็นก๊าซออกซิเจน ดังนั้นทุก ๆ 2 โมเลกุลของโอโซนที่ถูกทำลายโดยคลอรีนจะก่อให้เกิดโมเลกุลของออกซิเจน 3 โมเลกุล ก๊าซเหล่านี้จะทำปฏิกิริยากับสารเคมีอื่น ๆ ภายใต้อิทธิพลของรังสี UV แล้วเกิดเป็นอนุมูลของสารที่ว่องไวในการทำปฏิกิริยา และอนุมูลเหล่านี้ก็จะไปเร่งปฏิกิริยาแตกตัวของโอโซนอย่างรวดเร็ว จึงทำให้ปริมาณของโอโซนในบรรยากาศเกิดการเปลี่ยนแปลงสารเคมีพวกคลอโรฟลูออโรคาร์บอนซึ่งรู้จักกันในนามของฟรีออนนั้นสามารถจะอยู่ในบรรยากาศได้เป็นเวลานาน สารพวกนี้จะถูกใช้เป็นสารผลักดัน (propellant) ในสเปรย์กระป๋อง และเครื่องทำความเย็นต่าง ๆ โดยสารส่วนใหญ่ที่ถูกนำมาใช้ ได้แก่ CFC11 และ CFC12 สาร CFCs นี้ไม่ได้เกิดขึ้นตามธรรชาติแต่จะถูกผลิตขึ้นมาจากโรงงานอุตสาหกรรมและถ้า CFCs จากโรงงานอุตสาหรรมยังคงถูกปลดปล่อยให้เข้าสู่ชั้นบรรยากาศอย่างต่อเนื่องเรื่อยไปเช่นนี้ ปริมาณของโอโซนในชั้นบรรยากาศสูงๆ เช่น ในชั้นสตาร์โตสเฟียร์จะลดลง เนื่องจาก CFCs ซึ่ง

แตกตัวในชั้นสตาร์โตสเฟียร์ โดยการกระตุ้นของรังสีจากดวงอาทิตย์จะเกิดเป็นคลอรีนอะตอมอิสระซึ่งจะมีความว่องไวสามารถจับกับโมเลกุลของโอโซนทำให้โอโซนเกิดการแตกตัวเนื่องจากโอโซนก็เป็นกรีนเฮ้าส์ก๊าซตัวหนึ่ง ดังนั้นการเปลี่ยนแปลงของระดับโอโซนในบรรยากาศชั้นโทรโปสเฟียร์จะมีผลกระทบของอุณหภูมิที่พื้นผิวโลกและอุณหภูมิในชั้นบรรยากาศ และจะยิ่งมีผลกระทบมากขึ้นถ้าการเปลี่ยนแปลงของโอโซนเกิดขึ้นในชั้นสตาร์โตสเฟียร์ เนื่องจากโอโซนในชั้นนี้สามารถดูดซับรังสีจากดวงอาทิตย์ได้ จากการทำนายผลกระทบของอุณหภูมิของ โลกโดยใช้แบบจำลองทางวิทยาศาสตร์ได้แสดงว่าอุณหภูมิของโลกจะสูงขึ้นประมาณ 3°ซ โดยอุณหภูมิที่สูงขึ้น 1.5°ซ นั้นมาจากการเพิ่มปริมาณของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในบรรยากาศและอุณหภูมิ 1.5 °ซ ที่เหลือมาจากการเพิ่มปริมาณ trace gases ต่าง ๆ รวมกัน นักวิทยาศาสตร์ได้คาดคะเนว่าอุณหภูมิของโลกจะเพิ่มขึ้น 15°ซ ในปี ค.ศ. 2030 นั้นแม้ว่าจะดูว่าเป็นเพียงตัวเลขน้อย ๆ แต่ก็สามารถจะทำให้เกิดผลกระทบต่าง ๆ ได้อย่างมากมายต่อสิ่งมีชีวิตบนโลก

สาร CFC : ตัวการทำให้เกิดช่องว่างในบรรยากาศชั้นโอโซน

The United Nation's World Meteorological Organization (WMO) ได้รายงานว่าช่องว่างในบรรยากาศชั้นโอโซนบริเวณแถบขั้วโลกใต้ (Antarctic) เกิดการขยายตัวใหญ่กว่าที่เคยเป็นมาซึ่งลดลงกว่าร้อยละ 25 โดยข้อมูลที่ได้รับจากสถานีตรวจวัดปริมาณโอโซนในบรรยากาศของ WMO พบว่า ระดับโอโซนในระดับที่ต่ำกว่า 200 หน่วยจากระดับปกติ 310 หน่วย และช่วงเวลาของการลดลงของโอโซนในครั้งนี้เร็วกว่าที่เกิดขึ้นในช่วงปี ค.ศ. 1980 ประมาณ 3 สัปดาห์ และเร็วกว่าปีที่ผ่านมาหลายวันระบบการตรวจวัดดังกล่านี้ได้ใช้สถานที่ของสถานีตรวจวัดอากาศในแถบขั้วโลกใต้ซึ่งทำการสำรวจโดยประเทศสมาชิกของ WMO อาทิ อาร์เจนตินา ฟินแลนด์ เยอรมัน ญี่ปุ่น สหราชอาณาจักร และสหรัฐอเมริกา จากผลการสำรวจของสถานี German Neuman ยังพบอีกว่าปริมาณโอโซนบริเวณความสูงระหว่าง 10 และ 12 ไมล์นั้นมีปริมาณลดลงกว่าร้อยละ 50 ระดับโอโซนในแถบขั้วโลกใต้นี้จะลดลงทุกปีในช่วงเดือนกันยายน และตุลาคมนับตั้งแต่ปี ค.ศ. 1970 เป็นต้นมา และเป็นที่คาดกันว่าพื้นที่ที่ถูกปกคลุมด้วยชั้นบรรยากาศปราศจากโอโซนในปีนี้อาจจะเพิ่มมากขึ้นกว่า 9.7 ล้านตารางไมล์ของปีที่แล้ว จากพิธีสาร Montreal protocol จำนวน 125 ประเทศ และมีความเป็นไปได้อย่างมากที่ผู้เชี่ยวชาญจะเสนอให้มีการเลิกใช้สาร methyl bromide เนื่องจากเป็นสารที่มีศักยภาพการทำลายโอโซนในบรรยากาศสูงกว่าสาร bromine เองถึง 30 เท่า ส่วนแนวทางการป้องกันการทำลายโอโซนในบรรยากาศจากทวีปเอเชียนั้น เนื่องจากทวีปเอเชียได้มีการขยายตัวเศรษฐกิจอย่างรวดเร็วและอาจจะกลายเป็นกลุ่มประเทศผู้ผลิตสารทำลายโอโซนที่ใหญ่ที่สุดในอนาคต จากการคาดการขององค์การสหประชาชาติพบว่าในปี ค.ศ. 2025 กลุ่มประเทศในแถบเอเชียแปซิฟิกจะปล่อยก๊าซที่เป็นต้นเหตุของปรากฏการณ์เรือนกระจกถึงร้อยละ 32 ปริมาณทั้งหมดจากการคำนึงถึงคุณภาพสิ่งแวดล้อมของโลก โดยประเทศต่าง ๆ ในทวีปยุโรป และสำหรับ

อเมริกาได้เพิ่มมาตรการป้องกันสิ่งแวดล้อมในกระบวนการผลิตอันเป็นการเพิ่มต้นทุนการผลิต แต่ประเทศ ในแถบทวีปเอเชียยังหลีกเลี่ยงการรับผิดชอบต่อสิ่งแวดล้อม ซึ่งเป็นการลดต้นทุนการผลิตเพื่อก่อให้เกิดการได้เปรียบการแข่งขันด้านการค้า ดังนั้นนักธุรกิจชาวอเมริกาจึงได้เริ่มต้นนำวิทยาการและเทคโนโลยีด้านการป้องกันสิ่งแวดล้อมสู่ประเทศในแถบทวีปเอเชีย โดยภายใต้ความร่วมมือของ The U.S./Asia Environment Partnership act (AEP) ได้มีการเปิดสำนักงานของ AEP ขึ้นที่ประเทศสิงคโปร์และฮ่องกงและอาจจะเปิดเพิ่มขึ้นที่ประเทศไทย มาเลเซีย อินโดนีเซีย ฟิลิปปินส์ เกาหลีใต้ อินเดีย และไต้หวัน โดยโครงการดังกล่าวนี้ได้ผ่านการพิจารณาจากคณะบริหาร ของประธานาธิบดีคลินตันเรียบร้อยแล้วโดย AEP จะได้รับงบประมาณ 100 ล้านเหรียญสหรัฐฯ สำหรับการเริ่มต้น ดำเนินการในระยะ 5 ปีแรกของโครงการ โดยระยะเวลาของโครงการมีทั้งหมด 10 ปี การดำเนินงานในระยะเริ่มแรก ส่วนใหญ่จะเป็นการแลกเปลี่ยนข้อมูลข่าวสาร และจัดหาคู่ค้าระหว่างเอเชียและอเมริกันที่มีความต้องการดำเนินธุรกิจ ในเทคโนโลยีเดียวกันเป็นที่คาดกันว่าโครงการนี้นอกจากช่วยรักษาสิ่งแวดล้อมและลดปริมาณการใช้สารทำลายโอโซนให้กับประเทศในทวีปเอเชียแล้วยังช่วยพัฒนาเศรษฐกิจให้กับประชาคมโลกอีกด้วย

ระดับของปริมาณโอโซนในขั้วโลกใต้ (Antarctic) ลดลง

จากรายงานของ National Oceanic & Atmospheric Administration (NOAA) และ NASA กล่าวว่าความเข้มข้นของโอโซนในชั้นบรรยากาศเหนือขั้วโลกใต้มีปริมาณลดลง จากการใช้บัลลูนในการตรวจวัดดังกล่าว นักวิจัยของ NOAA พบว่าความเข้มข้นของโอโซนเหนือขั้วโลกใต้มีประมาณ 90 dobson units (DU) เมื่อวันที่ 6 และ 12 ตุลาคม พ.ศ. 2536 ที่ผ่านมาซึ่งเป็นครั้งแรกที่ปริมาณโอโซนมีปริมาณต่ำกว่า 100 DU จากสถิติในสถานที่ต่าง ๆ ทั่วโลก David J. Hofmann นักวิทยาศาสตร์อาวุโสของ NOAA ยังได้รายงานว่าจากการตรวจวัดนักวิทยาศาสตร์ยังพบว่า ไม่มีโอโซนในระยะความสูงระหว่าง 8.5 ไมล์ และ 12 ไมล์ และยังพบระยะที่สูงกว่า 12.5 ไมล์ แม้จะมีโอโซนอยู่บ้างแต่ก็อยู่ในระยะที่โอโซนถูกทำลาย รายงานของ NOAA นี้ได้รับการยืนยันและสอดคล้องกับข้อมูลของ NASA ที่ทำโดย Ozone Mapping Spectrometer จากดาวเทียม Meteor 3 ของรัสเซีย ซึ่งข้อมูลจากดาวเทียมแสดงให้เห็นว่าเมื่อวันที่ 21 กันยายน 2536 ที่ผ่านมาช่องว่างที่ปราศจากโอโซนมีประมาณ 9 ล้านตารางไมล์ ซึ่งช่องว่างนี้มีความกว้างไม่ต่างจากปีที่แล้วมากนัก

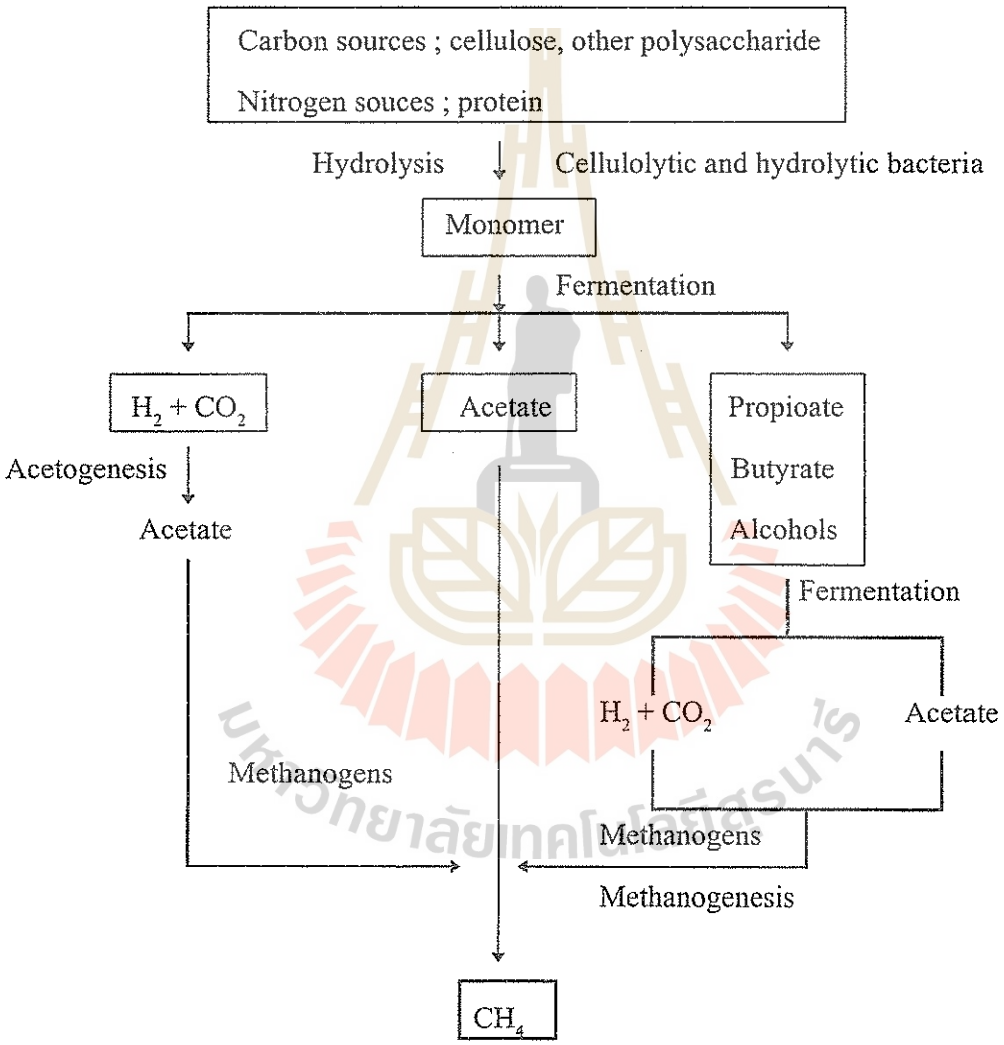
มีเธนและปฏิกริยาเรือนกระจก

แม้ว่ามีเธนจัดว่าเป็นองค์ประกอบรองในวัฏจักรคาร์บอนแต่ก็มีความสำคัญ โดยเฉพาะเป็นก๊าซอีกชนิดหนึ่งที่ก่อให้เกิดปฏิกริยาเรือนกระจก ก๊าซมีเธนถูกสร้างขึ้นได้จากกระบวนการของสิ่งมีชีวิตและการกระทำของมนุษย์เช่น การเผาไหม้ การสูญเสียออกมาจากท่อส่งก๊าซ การทำเหมืองแร่ถ่านหิน และยวดยานพาหนะ แต่ก๊าซมีเธนที่ถูกสร้างมาจากกระบวนการในสิ่งมีชีวิตนั้นมักมา

จากจุลินทรีย์ที่มีกระบวนการ metabolism เป็นแบบไม่ใช้ออกซิเจนเป็นส่วนใหญ่ กลุ่มจุลินทรีย์หรือแบคทีเรียที่สร้างมีเธนได้มักเป็นกลุ่ม archaebaeteria ที่เรียกว่า methanogen โดยแบคทีเรียกลุ่มนี้จะใช้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เป็นตัวรับอิเลคตรอนตัวสุดท้ายในกระบวนการหายใจแบบไม่ใช้ออกซิเจน ซึ่งปฏิกริยาจะเป็นแบบ reduction โดยใช้ H_2 เป็นตัวให้อิเลคตรอน ดังแสดงในสมการและแผนภูมิ ข้างล่างนี้

$$4H_2 + CO_2 \longrightarrow CH_4 + 2H_2O \quad \triangle G^{0'} = -130.7 \text{ KJ/reaction}$$

นอกจากนี้แหล่งอาหารคาร์บอนอื่น ๆ ที่สามารถเปลี่ยนให้กลายเป็นมีเธนได้แก่ เมธานอล (CH_3OH), ฟอร์เมต ($HCOO^-$), methylmercaptan (CH_3SH), อะซิเตท (CH_3COO^-) และ methylamine



สภาพแวดล้อมที่เอื้อต่อการกระจายหรือเป็นแหล่งอาศัยของ methanogen ได้แก่ สภาพที่มีออกซิเจนน้อย เช่น พื้นที่ที่มีน้ำท่วมขังได้แก่ swamp หรือแม้แต่ในกะเพาะวัว (rumen) ดังจะแสดงสรุปความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณของก๊าซมีเธนกับสภาพแวดล้อมในตารางที่ 6 ซึ่งจาก

ตารางที่ 6 จะเห็นได้ว่าจากฟาร์มที่มีการเลี้ยงวัวจะเป็นแหล่งผลิตก๊าซมีเธนที่ใหญ่ที่สุด ตัวอย่างแบคทีเรียกลุ่ม methanogen ที่พบใน rumen ได้แก่ *Methanobrevibacter ruminantium* และ *Methanomicrobium mobile* ซึ่งจะ reduce ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์หรือฟอร์เมตด้วย H_2 ให้กลายเป็นมีเธนในที่สุด

ตารางที่ 6 แสดงแหล่งที่มาและปริมาณของมีเธนที่เกิดทั้งในสภาพชีวภาพและกายภาพ (ที่มา : W. Seiler 1984)

แหล่ง	ค่าเฉลี่ยของก๊าซมีเธนต่อปี (Tg CH_4/year ; Tg = 10^{12} g)
ทางชีวภาพ	
1. กะเพาะวัว	85
2. ทุ่งนา	45
3. Swamps	35
4. ปลวก	3.5
5. มหาสมุทรและทะเลสาบ	4
6. อื่น ๆ	7
ทางกายภาพ	
1. การเผาผลาญต่าง ๆ	75
2. การวิ่งไหลของท่อก๊าซ	24
3. เหมืองถ่านหิน	30
4. ยวดยานพาหนะ	1
5. ภูเขาไฟ	0.5
รวม	
ทางชีวภาพ	180 (58%)
ทางกายภาพ	130 (42%)

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

วัฏจักรฟอสฟอรัส

ฟอสฟอรัสมักปรากฏในเซลล์ของสิ่งมีชีวิตในรูปของสารประกอบอินทรีย์เชิงซ้อนหรือในรูปของไอออนเช่น ในโมเลกุลของกรดนิวคลีอิค, ATP, ฟอสโฟอีนอลไพรูเวต (phosphoenolpyruvate), อะซิทิลฟอสเฟต (acetylphosphate) และฟอสโฟไลปิด เป็นต้น แต่ธาตุฟอสฟอรัสบนผิวโลกส่วนใหญ่มักพบว่าจะอยู่กับหินหรือในรูปแร่ธาตุต่าง เช่น อยู่ในรูปสารประกอบกับแคลเซียมที่ไม่สามารถละลายน้ำได้หรือกับธาตุอื่น ๆ ได้แก่ เหล็ก แมกนิเซียมและอลูมิเนียม เป็นต้น ตัวอย่างของความสัมพันธ์ที่เห็นได้ชัดคือร่างกายคนมีองค์ประกอบของฟอสฟอรัสโดยประมาณ 500 กรัม ซึ่งส่วนใหญ่พบในรูปแคลเซียมฟอสเฟตในกระดูกและฟัน

แม้ว่าฟอสฟอรัสจะพบได้ทั่วไปในสิ่งแวดล้อมแต่การที่สิ่งมีชีวิตจะนำมาใช้ได้โดยเฉพาะอย่างยิ่งจากแหล่งที่เป็น insoluble salt ในสิ่งแวดล้อมทำได้ไม่ง่ายนัก กลุ่มสิ่งมีชีวิตที่เป็นจุลินทรีย์บางชนิดจะมีบทบาทที่สามารถทำให้ฟอสฟอรัสที่อยู่ในรูป insoluble salt ละลายหลุดออกมาได้และตัวมันเองก็นำมาใช้ในกระบวนการ metabolism และเป็นแหล่งฟอสฟอรัสแก่สิ่งมีชีวิตอื่นต่อไป จุลินทรีย์บางกลุ่มนี้มักจะมีการปลดปล่อยกรดอินทรีย์ในขณะที่มีกระบวนการ metabolism มาย่อยสลายฟอสฟอรัสที่อยู่ในรูป insoluble salt ให้ออกมาในรูปฟอสเฟตที่ละลายน้ำได้ ดังนั้นเมื่อสิ่งชีวิตเหล่านี้ตายทับทมกันจึงเป็นการทำให้วัฏจักรของฟอสฟอรัสครบวงจรอีกครั้งหนึ่ง

เพื่อให้เข้าใจวัฏจักรของฟอสฟอรัสได้ดีขึ้นสามารถแบ่งปฏิกริยาสำคัญในวัฏจักรของฟอสฟอรัสได้ดังนี้

1. Mineralization

เป็นการย่อยสลายสารประกอบอินทรีย์ฟอสฟอรัสต่าง ๆ เช่น ไฟติน (phytin), อิโนซิทอล (inositol), กรดนิวคลีอิคและฟอสโฟไลปิด เป็นต้น โดยเอนไซม์ฟอสฟาเทส (phosphatase) จากจุลินทรีย์ให้กลายเป็นออโทรฟอสเฟต (orthrophosphate)

2. Assimilation

ส่วนที่เป็นออโทรฟอสเฟตบางส่วนที่ละลายน้ำจะถูกจุลินทรีย์นำเข้าสู่เซลล์ เพื่อไปใช้ในกิจกรรมต่าง ๆ ต่อไป

3. Precipitation

เป็นอีกกระบวนการหนึ่งที่ออโทรฟอสเฟตจากกระบวนการ mineralization จะตกตะกอนรวมกับโลหะต่าง ๆ ที่อยู่ในรูปอิออน เช่น Ca^{2+}, Mg^{2+}, Fe^{3+} และ Al^{3+} เป็นต้น ทำให้ได้สารประกอบอินทรีย์ฟอสเฟตที่ไม่ละลายน้ำได้แก่ ไฮดรอกซีแอพาไทต์ (hydroxyapatite ; $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$), วิเวียไนต์ (vivianite ; $Fe_3(PO_4)_2.8H_2O$) และวาริซไซต์ (variscite ; $AlPO_4.2H_2O$) เป็นต้น

4. Solubilizaton of insoluble phosphate

จากสารประกอบอินทรีย์ฟอสเฟตที่เกิดขึ้นในกระบวนการ precipitation ฟอสฟอรัสจะถูกปลดปล่อยออกมาได้อีกครั้งหนึ่งโดยการที่จุลินทรีย์ปล่อยกรดอินทรีย์ออกมาย่อยสลาย เช่น กรดซัคซินิค (succinic acid) หรือกรดอ๊อกซาลิค (oxalic acid) เป็นต้น หรืออาจเกิดจากกรดที่เกิดขึ้นในธรรมชาติ เช่น กรดไนตริค (nitric acid) กรดคาร์บอนิค (carbonic acid) เป็นต้น

เนื่องจากฟอสฟอรัสจัดเป็นปัจจัยสำคัญที่มีผลกระทบโดยตรงต่อสิ่งแวดล้อมโดยเฉพาะในแหล่งน้ำซึ่งเป็นสาเหตุที่ทำให้น้ำเสียหรือเกิดสภาพ eutrophication ปกติในน้ำเสียมักพบว่ามีปริมาณของฟอสฟอรัสรวมประมาณ 10-20 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งส่วนใหญ่มาจากการปลดปล่อยสารที่เป็น detergent หรือกลุ่มผงซักฟอกที่ใช้ธาตุฟอสฟอรัสในการผลิตในรูป phosphate builder ดังนั้นลักษณะของสารประกอบฟอสฟอรัสที่พบมักอยู่ในรูปออโทรฟอสเฟต, โพลีฟอสเฟตและสารประกอบอินทรีย์ฟอสฟอรัส วิธีการที่ใช้ในการบำบัดและกำจัดฟอสฟอรัสในแหล่งน้ำได้แก่

1. การตกตะกอนด้านวิธีทางเคมี (Chemical precipitation)

มักใช้ในตัว sludge หลังจากการบำบัดด้วยชีววิธี โดยมีหลักการคือทำให้ฟอสเฟตทำปฏิกริยากับโลหะที่มีประจุบวกแล้วได้เป็นสารเชิงซ้อนที่ไม่ละลายน้ำแล้วตกตะกอนลงมา เช่น แคลเซียม, เหล็ก, อลูมิเนียมหรือ Alum (เกลือของอลูมิเนียมหรือเหล็ก) ดังตัวอย่างแสดงในปฏิกริยาข้างล่างนี้

$$Al^{3+} + PO_4^{3-} \longrightarrow AlPO_4$$

$$FeCl_3 + PO_4^{3-} \longrightarrow FePO_4 + 3Cl^- \text{ เป็นต้น}$$

2. การใช้จุลินทรีย์ที่ใช้ฟอสฟอรัส (Phosphate assimilation by microbes)

วิธีนี้พบว่าประสิทธิภาพต่ำในการกำจัดฟอสเฟตพบว่าสามารถกำจัดปริมาณฟอสฟอรัสทั้งหมดได้เพียง 10-25% เท่านั้น

3. การใช้จุลินทรีย์ร่วมกับการตกตะกอนทางเคมี (Microbe mediate chemical precipitation)

วิธีนี้มักใช้กับตัวบำบัดที่มีการให้อากาศเพื่อก่อให้เกิดจำนวนของจุลินทรีย์สูงขึ้น ดังนั้นปริมาณของการสร้างกรดอินทรีย์จึงมีมากขึ้น ทำให้การละลายของฟอสเฟตที่อยู่ในรูปที่ไม่ละลายน้ำอยู่เดิมมีความสูงขึ้น ดังนั้นเมื่อการเพิ่มค่า pH อีกครั้งหนึ่งจะทำให้ฟอสเฟตที่ละลายออกมาตกตะกอนรวมอยู่กับ sludge เช่น อาจอยู่ในรูปของแคลเซียมฟอสเฟตบน biofilm ได้ นอกจากนี้บางครั้งอาจมีการคัดเลือกประเภทของแบคทีเรียที่มีความสามารถในการเก็บฟอสเฟตเข้าไว้ในเซลล์ที่มีมากกว่าปกติในรูปของโพลีฟอสเฟต บางครั้งอาจเรียกแบคทีเรียกลุ่มนี้ว่า polyphosphate bacteria คือจะมีการนำฟอสเฟตเข้าสู่เซลล์ได้มากกว่าความต้องการจริง ๆ ดังนั้นจึงอาจพบได้ว่าบางครั้งปริมาณของธาตุฟอสฟอรัสที่

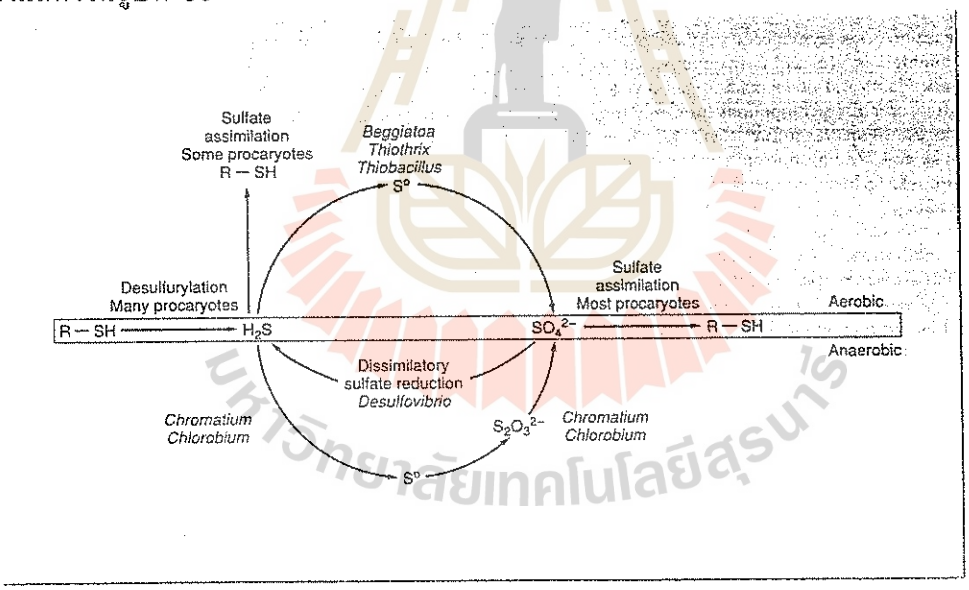
กว่าความต้องการจริง ๆ ดังนั้นจึงอาจพบได้ว่าบางครั้งปริมาณของธาตุฟอสฟอรัสที่สะสมในแบคทีเรียให้มีปริมาณสูงถึง 1-3% ของน้ำหนักเซลล์แห้ง โดยธาตุฟอสฟอรัสนี้จะถูกสะสมใน inclusion body ที่เรียกว่า volutin granule โดยอาศัยการทำงานร่วมของเอนไซม์ ดังแสดงในสมการ

$$(\text{Polyphosphate})_n + \text{AMP} \xrightarrow{\text{Polyphosphate AMP phosphotransferase}} (\text{Polyphosphate})_{n-1} + \text{ADP}$$

ตัวอย่างของแบคทีเรียที่เป็น polyphosphate bacteria ได้แก่ *Acenetobacter, Pseudomonas, Aerobacter, Moraxella* และ *Beggiatoa* เป็นต้น

วัฏจักรกำมะถัน

แหล่งที่พบธาตุกำมะถันหรือซัลเฟอร์ (sulfer) ในโลกมักอยู่ในรูปน้ำมันดิบ หรืออยู่ในรูปแร่ธาตุ โดยในสภาพธรรมชาติทั่วไปกำมะถันพบได้ 3 ลักษณะได้แก่ S^0 (elemental sulfer ; common oxidation state = 0), S^{2-} (inorganic sulfides, sulthydryl ; R-SH ; common oxidation state = -2) และ SO_4^{2-} (sulfate ; common oxidation state = +6) ดังนั้นวัฏจักรของกำมะถันที่เกิดขึ้นจากการเปลี่ยนรูปหรือลักษณะของธาตุจะเกิดได้ทั้ง 3 ลักษณะขึ้นอยู่กับสภาพที่มีและปราศจากอ๊อกซิเจน ดังแสดงในรูปที่ 38



รูปที่ 38 แสดงวัฏจักรกำมะถัน (ที่มา : D. Lim และคณะ 1998)

นอกไปจากนี้แหล่งที่จัดว่าเป็นแหล่งใหญ่ที่สุดของซัลเฟตคือมหาสมุทรโดยจะอยู่ในรูปของสารอินทรีย์ซัลเฟต เช่น แคลเซียมซัลเฟต (ยิบซั่ม) หรือบางครั้งอาจอยู่รวมกับธาตุโลหะอื่น ๆ เช่น pyrite (FeS_2), chalcopyrite ($CuFeS_2$) เป็นต้น กำมะถันจัดเป็นธาตุที่สำคัญต่อสิ่งมีชีวิตโดยเฉพาะการที่เป็นองค์ประกอบสำคัญของกรดอะมิโน เช่น cystein, cystine และ methionine รวมไปถึงองค์ประกอบสำคัญของ coenzyme เช่น thaiamine, biotin และ coenzyme A เป็นต้น

จุลินทรีย์และวัฏจักรกำมะถัน

โดยปกติ S^0 และ S^{2-} มักจะถูกใช้เป็นแหล่งพลังงานของสิ่งมีชีวิตพวก Chemolithotroph เช่นแบคทีเรียในจีนัส *Beggiatoa* และ *Thiothrix* ที่มักพบว่าอาศัยอยู่ในสภาพแวดล้อมที่มีกำมะถันมาก แบคทีเรียกลุ่มนี้จะใช้ไฮโดรเจนซัลไฟด์ (H_2S) เป็นแหล่งของอิเลคตรอนในกระบวนการ metabolism โดยจะอ๊อกซิไดซ์ H_2S ให้กลายเป็น S^0 ซึ่งอาจเก็บสะสมไว้ในเซลล์หรือถูกออกซิไดซ์ต่อไปเป็น SO_4^{2-} ในขณะที่แบคทีเรียกลุ่มจีนัส *Thiobacillus thiooxidans* ซึ่งเป็นกลุ่มที่เป็น acidophile มักพบเช่นเดียวกันในบริเวณเหมืองแร่ถ่านหิน แบคทีเรียกลุ่มนี้จะสามารถอ๊อซิไดซ์ S^0 และ S^{2-} ให้กลายเป็น SO_4^{2-} ได้ดังแสดงในปฏิกริยาข้างล่างนี้

$$FeS_2 + H_2SO_4 + 1/2O_2 \longrightarrow FeSO_4 + 2S^0 + 2H_2O$$

$$2S^0 + H_2O + 3O_2 \longrightarrow 2H_2SO_4$$

จะเห็นได้ว่าจากปฏิกริยาข้างต้นกรดซัลฟูริก (H_2SO_4) จะถูกผลิตส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมข้างเคียงได้ ซึ่งมักจะพบเห็นเป็นบริเวณสีเหลืองทั่วไป (ชาวเหมืองในประเทศสหรัฐอเมริกามักเรียกลักษณะนี้ว่า "yellow boy")

นอกจากนี้ SO_4^{2-} อาจเกิดขึ้นได้โดยกระบวนการ anaerobic oxidation ของ S^{2-} และ thiosulfate ($S_2O_3^-$) โดย purple และ green phototrophic bacteria กลุ่มแบคทีเรียสังเคราะห์แสงเหล่านี้จะใช้ H_2S หรือ S^0 แทนน้ำในกระบวนการตรึงคาร์บอนไดออกไซด์ ตัวอย่างได้แก่ *Chromatium* และ *Chlorobium* ดังนั้น SO_4^{2-} ที่เกิดจากกระบวนการ aerobic หรือ anaerobic oxidation ก็คืออาจจะถูกเซลล์นำไปใช้ในการเสริมสร้างโปรตีนได้ หรือนำไปใช้ในการ reduce ให้เป็น H_2S ได้ กระบวนการที่ SO_4^{2-} ถูก reduce ให้กลายไปเป็น H_2S ได้เรียกว่า dissimilatory sulfate reduction (คือการย่อยสลายกรดอะมิโนให้กลายเป็น H_2S นั่นเอง) ตัวอย่างของแบคทีเรียที่มีความสามารถทำนองนี้คือ *Desulfovibrio* ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่เป็น obigate anaerobe พบในสิ่งแวดล้อมที่เป็นแหล่งน้ำ *Desulfovibrio* จะใช้ SO_4^{2-} เป็นตัวรับอิเลคตรอนตัวสุดท้ายในกระบวนการ metabolism ในส่วนของ S^{2-} ที่เกิดขึ้นภายหลังจากการ reduce SO_4^{2-} หรือการย่อยสลายกรดอะมิโนจะทำปฏิกริยากับโลหะเกิดเป็นโลหะซัลไฟด์ที่ไม่ละลายน้ำ (insolabe metal sulfides) สะสมไว้ในวัฏจักรต่อไป

ดังนั้นเพื่อให้สามารถเข้าใจวัฏจักรของกำมะถันได้ดียิ่งขึ้นจะได้จำแนกปฏิกริยาสำคัญในวัฏจักรดังต่อไปนี้

1. Mineralization of organic sulfer

1.1 ในสภาพที่มีอ๊อกซิเจน

แบคทีเรียจะทำการย่อยสลายสารอินทรีย์กำมะถันให้ได้เป็น SO_4^{2-} โดยอาศัยเอนไซม์ sulfatase ในการทำลาย sulfate ester ดังแสดงในสมการ

sulfatase

$$R\text{-}O\text{-}SO_3^- + H_2O \longrightarrow R\text{-}OH + H^+ + SO_4^{2-}$$

1.2 ในสภาพที่ไม่มีอ๊อกซิเจน

แบคทีเรียจะทำการย่อยสลายกรดอะมิโนที่มีกำมะถันเป็นองค์ประกอบให้อยู่ในรูปสารอินทรีย์กำมะถันหรือเมอร์แคบแทน (mercaptan)

2. Assimilation (uptake)

ในสภาพที่มีอ๊อกซิเจนแบคทีเรียจะเก็บและใช้กำมะถันในรูปที่ถูก oxidize แล้ว ในขณะที่สภาพที่ไม่มีอ๊อกซิเจนจะเก็บและใช้ในรูปที่ถูก reduce เช่น H_2S

3. Oxidation reaction

เกิดจากบทบาทของแบคทีเรียกลุ่มที่ชื่อ Sulfer oxidizing bacteria (SOB)

3.1 H_2S Oxidation เกิดได้ทั้งแบบ aerobic oxidation โดยแบคทีเรีย *Thiobacillus thioparus* ($H_2S + O_2 \longrightarrow S^0 + H_2O$) และแบบ anaerobic oxidation โดย *T. dentrificans*

3.2 Oxidation of S^0 กลุ่มแบคทีเรียที่มีบทบาทมักเป็นกลุ่มที่เป็น aerobic, แกรมลบไม่สร้าง spore คือ *T. thioxidans* ซึ่งสามารถออกซิไดซ์ S^0 และ thiosulfate ได้เป็นกรดซัลฟูริก ดังแสดงในสมการ

$$2S + 3O_2 + H_2O \longrightarrow 2H_2SO_4$$

หรือ $$Na_2S_2O_3 + 2O_2 + 2H_2O \longrightarrow Na_2SO_4 + H_2SO_4$$

4. Sulfate reduction

4.1 Assimilatory sulfate reduction

เป็นกระบวนการย่อยสลายสารอินทรีย์หรือกรดอะมิโนที่มีธาตุกำมะถันเป็นองค์ประกอบภายใต้สภาพที่ไม่มีอ๊อกซิเจน หรือที่เรียกว่า anaerobic decomposition ให้ได้เป็น H_2S ในที่สุดแบคทีเรียจีนัสที่มีบทบาทได้แก่กลุ่ม *Clostridia*

4.2 Dissimilatory sulfate reduction

เกิดจากบทบาทของแบคทีเรียกลุ่มที่เรียกว่า Sufate reducing bactria (SRB) ในกลุ่มจีนัส *Desulfovibrio* ลักษณะของปฏิกริยาดังแสดงในสมการ

$$SO_4^{=} + \text{สารอินทรีย์} \longrightarrow S^{2-} + H_2O + CO_2$$

$$S^{2-} + 2H^+ \longrightarrow H_2S$$

ผลกระทบจากความไม่สมดุลของวัฏจักรกำมะถันต่อสิ่งแวดล้อมอาจก่อให้เกิดปัญหาได้ดังต่อไปนี้

1. การเกิดการสึกกร่อน (corrosion)

มักเกิดในสภาพที่ไม่มีอ๊อกซิเจนแบคทีเรียกลุ่ม SRB เช่น *D. desulfuricans* จะเจริญร่วมกับ biofilm (มีความหนาประมาณ 10-100 ไมครอน) ในท่อส่งน้ำมันที่เป็นโลหะ สามารถเจริญเติบโตและรีดิวซ์สารอินทรีย์ให้กลายเป็น H_2S จากนั้น H_2S จะทำปฏิกริยากับ Fe^{2+} จากตัวของท่อเองได้เป็น FeS ซึ่งมีอำนาจกัดกร่อนสูง

2. การเกิดกลิ่นเหม็น

เช่นในการผลิตก๊าซชีวภาพ (biogas) ซึ่งปกติมักใช้บทบาทของแบคทีเรียกลุ่ม methanogen ในการผลิต แต่ถ้ามีการปนเปื้อนของแบคทีเรียกลุ่ม SRB ซึ่งเจริญในสภาพไม่มีอ๊อกซิเจนได้ก็จะทำให้ได้ H_2S ปนเปื้อนออกมากับมีเธนด้วย หรืออาจเกิดขึ้นในอุตสาหกรรมการผลิตน้ำมันและกระดาษได้เช่นกัน

3. การเกิดสภาพกรดรุนแรงจากเหมืองแร่และการเผาไหม้

เกิดจากเหมืองแร่ถ่านหินซึ่งมี pyrite อยู่จะถูกออกซิไดซ์โดย SOB ให้กลายเป็น $Fe(OH)_3$ ซึ่งมีฤทธิ์ความเป็นกรดสูงกว่ากรดซัลฟูริก ดังแสดงในสมการ

$$FeS_2 + O_2 + H_2O \xrightarrow{\text{SOB}} H_2SO_4 + Fe^{3+}$$

$$Fe^{3+} + H_2O \longrightarrow Fe(OH)_3$$

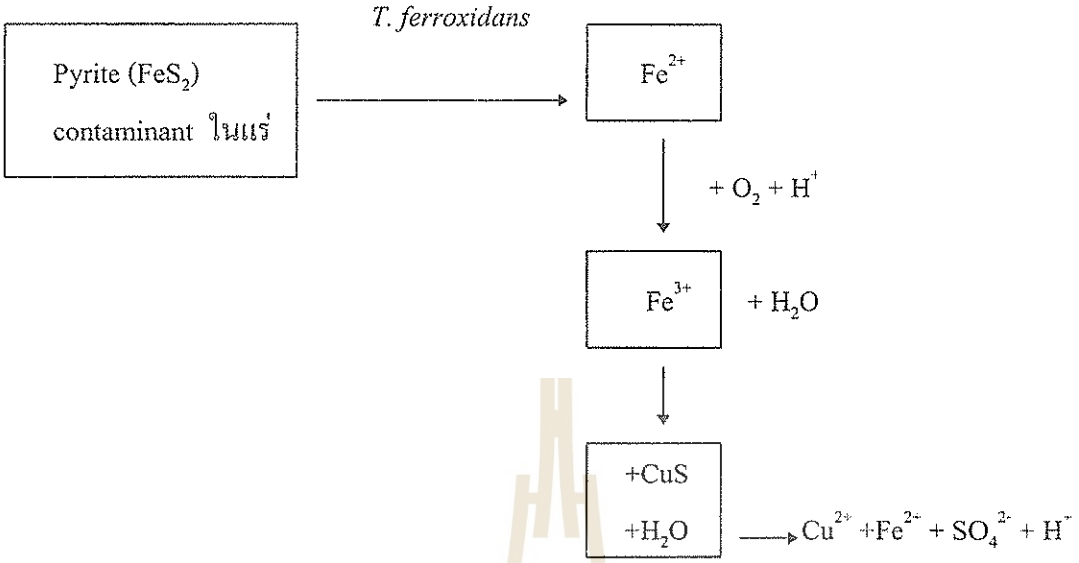
4. ในกรณีที่มีการเผาไหม้เชื้อเพลิงจากถ่านหินที่มีกำมะถันเป็นองค์ประกอบ

กำมะถันจะถูกออกซิไดซ์ให้อยู่ในรูปของซัลเฟอร์ไดออกไซด์ (SO_2) จากนั้นเมื่อทำปฏิกริยากับน้ำฝนจะได้ผลิตภัณฑ์ที่มีฤทธิ์เป็นกรดที่เรียกว่า กรดซัลฟอรัส (H_2SO_3) ทำให้เกิดฝนกรดซึ่งก่อให้เกิดการสึกกร่อนและกระทบต่อระบบทางเดินหายใจของคนอีกด้วย

<u>การสกัดทองแดงจากสารประกอบกำมะถันในแร่เกรดต่ำโดยแบคทีเรีย</u>

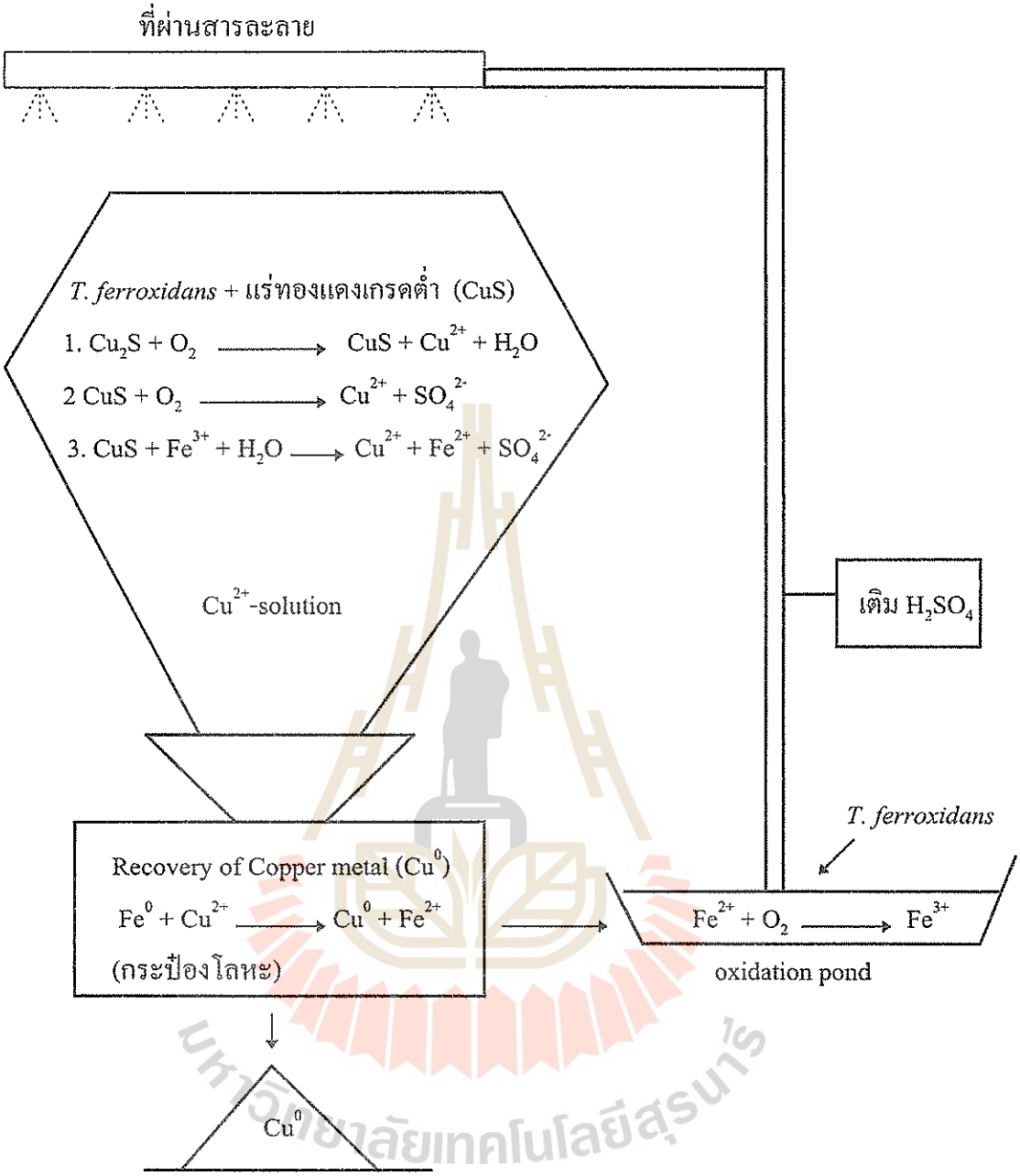
โดยปกติการทำเหมืองแร่กำมะถันมักพบว่ายังคงมีแร่ธาตุอื่น ๆ หลงเหลืออยู่ เช่น ทองแดง ตะกั่ว สังกะสีและยูเรเนียม ดังนั้นเพื่อให้มีการใช้ประโยชน์ของแร่ธาตุอย่างสูงสุดจากการทำเหมืองแร่จึงมีการสกัดธาตุดังกล่าวออกมาโดยใช้บทบาทของจุลินทรีย์ หรือที่เราเรียกกันว่า microbial leaching แบคทีเรียที่นิยมใช้กันได้แก่ *T. ferroxidans* หรือ *T. thiooxdans* เพื่อที่จะสามารถออกซิไดซ์เอาแร่ธาตุที่เหลืออยู่ออกมาได้ ตัวอย่างเช่น ในการทำเหมืองแร่ทองแดง แร่ทองแดงเกรดต่ำมักจะมีส่วนของทองแดงหลงเหลืออยู่ประมาณ 0.5% ซึ่งมักอยู่ในรูปของ chalcocite (Cu_2S) หรือ covellite (CuS) การสกัดแร่ทองแดงออกมาจากสารประกอบกำมะถันมักอาศัยหลักการของปฏิกริยา oxidation โดย *T. ferroxidans* จะสร้าง ferric iron (Fe^{3+}) จาก ferrous

iron (Fe^{2+}) จากนั้น Fe^{3+} จะไปออกซิไดซ์ CuS ทำให้ได้เป็น Cu^{2+} ในที่สุด ดังแสดงในไดอะแกรมข้างล่างนี้



ในกระบวนการทางอุตสาหกรรมเหมืองแร่จะนำแร่ธาตุเกรดต่ำเหล่านี้กองเอาไว้เป็นเนินสูงผสมกับ *T. ferroxidans* แล้วพ่นกรดซัลฟูริกเจือจางมีค่า pH ประมาณ 2-3 เพื่อเป็นการเพิ่มอ๊อกซิเจนไปด้วยในขณะเดียวกัน ในสภาพเช่นนี้ *T. ferroxidans* สามารถเจริญได้และทำการออกซิไดซ์ได้เป็นทองแดง โดยผ่านกระบวนการทำให้บริสุทธิ์ ส่วนของเหลวที่เป็นกรดซัลฟูริกและ Fe^{2+} จะเป็นถูกปล่อยลงบ่อบำบัดแบบให้อากาศเพื่อที่ Fe^{2+} จะถูกออกซิไดซ์ต่ออีกครั้งกลายเป็น Fe^{3+} แล้วจึงนำกลับไปใช้ใหม่ ภาพสรุปรวมการทางอุตสาหกรรมดังแสดงในไดอะแกรมในหน้าถัดไป

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี



วัฏจักรเหล็ก

เหล็กจัดเป็นอีกธาตุหนึ่งที่พบเป็นจำนวนมากที่เปลือกผิวโลก แต่พบน้อยในระบบนิเวศที่เป็นแหล่งน้ำ เนื่องจากคุณลักษณะที่ปรากฏส่วนใหญ่จะไม่ละลายน้ำ ธาตุเหล็กมี oxidation state 2 ประเภทได้แก่ เฟอร์รัส (ferrous + II) และเฟอร์ริก (ferric + III) ลักษณะของสารประกอบธาตุเหล็กที่พบในธรรมชาตินั้นมักจะขึ้นอยู่กับค่า pH และอุณหภูมิเป็นสำคัญเนื่องจากค่า electrode

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ออกซิไดซ์ได้เรื่อย ๆ โดยอากาศและได้เป็น Fe^{3+} ซึ่ง Fe^{3+} นี้จะทำปฏิกริยากับเฟอร์ริกไฮดรอกไซด์ (ferric hydroxide) และเฟอร์ริกออกไซด์ (ferric oxide) กลายเป็นสารประกอบที่ไม่ละลายน้ำต่อไป ดังนั้นที่ค่า pH เป็นกลางจริง ๆ แล้วเหล็กจะอยู่ในรูปของสารละลายได้ต่อเมื่อเกิดการจับตัวกับสารอินทรีย์อื่น ๆเท่านั้น

บทบาทของแบคทีเรียต่อธาตุเหล็ก

ปฏิกริยาแบบ reduction จากแบคทีเรียที่มีผลต่อ Fe^{3+} แล้วเปลี่ยนกลายเป็น Fe^{2+} จะเป็นปฏิกริยาสำคัญที่มีผลต่อการทำให้สารประกอบธาตุเหล็กมีความสามารถในการละลายได้ ซึ่งสิ่งมีชีวิตมักใช้ Fe^{3+} เป็นตัวรับอิเลคตรอน เช่นการรีดิซ์ Fe^{3+} ไปเป็นเฟอร์รัสซัลไฟด์ (ferrous sulfide ; FeS) เป็นต้น กระบวนการรีดิวซ์นี้มักพบในสิ่งแวดล้อมที่เป็นบริเวณน้ำท่วมขัง ใต้ทะเลลึกซึ่งไม่ค่อยมีปริมาณอ๊อกซิเจนมากนัก แต่เมื่อใดมีสภาพที่เติมอ๊อกซิเจนลงไป Fe^{2+} ที่ได้จากการรีดิวซ์ Fe^{3+} จะถูกออกซิไดซ์ทำให้เห็นตะกอนสีน้ำตาลแดงในสิ่งแวดล้อมนั้น ๆ ดังสรุปในสมการข้างล่าง

$$Fe^{2+} + \tfrac{1}{4}\, O_2 + H^+ \longrightarrow Fe^{3+} + \tfrac{1}{2}\, H_2O$$

$$Fe^{3+} + 3OH^- \longrightarrow Fe(OH)_3 \text{ (ส่วนที่เป็นตะกอนสีน้ำตาลแดง)}$$

แบคทีเรียกลุ่มที่สามารถออกซิไดซ์ Fe^{2+} ที่ค่า pH เป็นกลางได้แก่ *Gallionella* และ *Leptothrix* ส่วนในกลุ่มที่สามารถออกซิไดซ์ในสภาพที่เป็นกรดได้แก่ *T. ferroxidans* แต่ไม่ได้ตะกอนของเฟอร์ริกไฮดรอกไซด์แต่มักจะรวมกันเป็นสารประกอบเชิงซ้อนกับแร่ธาตุกำมะถันที่เรียกว่า จาโรไซด์ (jarosite ; $HFe_3(SO_4)_2(OH)_6$) ซึ่งมีสีเหลืองปนน้ำตาลหรือที่เรียกว่า yellow boy ดังที่ได้กล่าวมาแล้วข้างต้นนั่นเอง

การนำธาตุเหล็กมาใช้โดยจุลินทรีย์

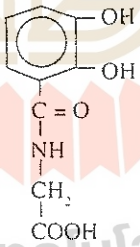
ธาตุเหล็กที่อยู่ในรูปของสารประกอบที่ละลายน้ำได้ยาก หรือไม่สามารถละลายน้ำได้เลย เช่นในสภาพที่มีก๊าซออกซิเจนค่า pH เป็น 7.0 ธาตุเหล็กมักปรากฏในรูปของ Fe^{3+} และสถานะของแข็งที่เป็น oxide-hydroxide polymer ซึ่งมีความสามารถละลายได้เพียง 10^{-38} M (ในรูปของ $FeOH_3$) จากสมบัติการละลายของธาตุเหล็กนี้เองที่เป็นอุปสรรคต่อการที่สิ่งมีชีวิตจะนำธาตุเหล็กมาใช้ในกระบวนการเมตาบอลิซึมเพื่อการดำรงชีวิต

ความสำคัญของธาตุเหล็กต่อสิ่งมีชีวิตส่วนใหญ่คือ เป็นองค์ประกอบสำคัญในโมเลกุลของสารกลุ่มที่เป็น cytochromes โดยมีบทบาทสำคัญในกระบวนการหายใจระดับเซลล์เพื่อให้ได้มาซึ่งพลังงาน และยังรวมไปถึงเป็นองค์ประกอบสำคัญของเอมไซม์ nitrogenase ซึ่งมีบทบาทต่อกระบวนการตรึงไนโตรเจนของสิ่งมีชีวิตบางชนิดอีกด้วย กลไกทั่วไปที่สิ่งมีชีวิตจะนำธาตุเหล็กเข้าสู่เซลล์มีสองรูปแบบคือ สารประกอบที่มีธาตุเหล็กจะจับกันบริเวณผนังเซลล์ในส่วนที่สามารถเชื่อมจับกับกลุ่มในโลหะต่าง ๆ ประกอบกับกรดอินทรีย์ที่ปล่อยออกมาจากภายนอกเซลล์ จะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการแยกธาตุเหล็กออกจากโมเลกุลของสารประกอบนั้น ๆ แล้วจึงถูกขนย้ายเข้าสู่เซลล์ในลักษณะนี้เรียกว่า Low affinity อีกรูปแบบหนึ่งของการนำธาตุเหล็กเข้าสู่เซลล์อาจจะ

เพิ่มประสิทธิภาพในการแยกธาตุเหล็กออกจากโมเลกุลของสารประกอบนั้น ๆ แล้วจึงลูกขนย้ายเข้าสู่เซลล์ในลักษณะนี้เรียกว่า Low affinity อีกรูปแบบหนึ่งของการนำธาตุเหล็กเข้าสู่เซลล์อาจจะเรียกว่า High affinity สิ่งมีชีวิตโดยเฉพาะจุลินทรีย์จะสร้างสารที่สามารถเข้าเกาะจับโมเลกุลที่มีธาตุเหล็กได้โดยตรง โดยสารดังกล่าวนี้จะเป็นสารในกลุ่ม ligands ที่มีความจำเพาะเจาะจงสูงต่อไอออนโมเลกุลของธาตุเหล็ก หรือที่รู้จักในนามของซิเดอร์โรฟอร์ (Siderophores; เป็นภาษากรีกหมายถึง iron carrier) ซิเดอร์โรฟอร์เป็นกลุ่ม ligands ที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ (0.5-1.5 กิโลดาลตัน) มีความจำเพาะเจาะจงต่อธาตุเหล็กสูงสามารถละลายได้ในน้ำ ขนถ่ายเข้าสู่เซลล์และเป็นแหล่งเก็บสะสมธาตุเหล็กของสิ่งมีชีวิตได้ อย่างไรก็ตามนักวิทยาศาสตร์พบว่าในสภาพแวดล้อมที่ขาดธาตุเหล็ก หรือมีธาตุเหล็กในปริมาณน้อยจะกระตุ้นให้จุลินทรีย์เกือบทุกชนิดมีการสร้างซิเดอร์โรฟอร์มากขึ้น และในทางกลับกันการสร้างก็จะถูกยับยั้งเมื่อในสภาพแวดล้อมมีปริมาณของธาตุเหล็กมากขึ้น ยกเว้นในกลุ่มของแบคทีเรียพวก *Lactobacillus* ซึ่งสามารถเจริญได้ในสภาพที่ไม่มีธาตุเหล็กเลย

ซิเดอร์โรฟอร์สามารถจำแนกได้เป็น 2 กลุ่มโดยอาศัยตามความแตกต่างของโครงสร้างทางเคมี คือ

1. กลุ่ม Cathecolamides หรือ Cathecolate siderophores (CS) พบได้จากสิ่งมีชีวิตส่วนใหญ่ที่เป็นแบคทีเรีย ไม่พบในสิ่งมีชีวิตที่เป็นเชื้อรา CS ที่พบครั้งแรกได้แก่ 2, 3-dihydroxy-N-benzoyl-glycine (DHB-glycine) ซึ่งสกัดได้จากแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* (สูตรโครงสร้างทางเคมีดังแสดงในรูปที่ 39)

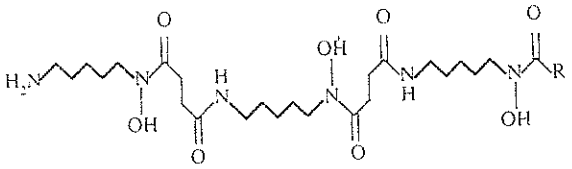


รูปที่ 39 แสดงโครงสร้างของ 2, 3-dihydroxy-N-benzoyl-glycine. ที่มา : C.E. Lankferd (1973)

2. กลุ่ม Hydroxamates หรือ Hydroxamate siderophores (HS) พบได้จากสิ่งมีชีวิตที่เป็นทั้งแบคทีเรียและเชื้อรา Ferrioxamine จัดเป็นประเภทหนึ่งของซิเดอร์โรฟอร์กลุ่มนี้ที่สร้างจาก *Actinomycetes* โดยมีโครงสร้างทางเคมีเป็นทั้งแบบ linear และ cyclic ตัวแรกที่ถูกค้นพบคือ Desferrioxamine B ซึ่งปัจจุบันใช้เป็นยารักษาผู้ป่วยที่มีปริมาณธาตุเหล็กสูงกว่าปกติ (มีชื่อทางการค้าว่า Desferal สูตรโครงสร้างทางเคมีดังแสดงในรูปที่

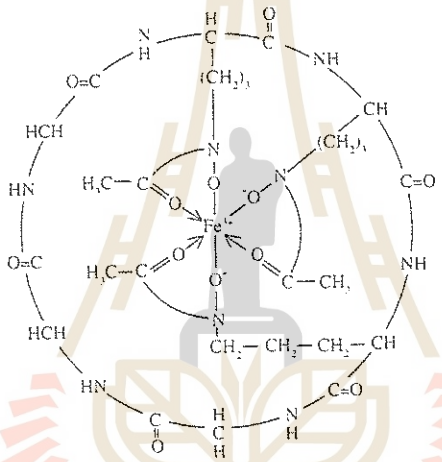
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

40) อีกประเภทหนึ่งของกลุ่ม HS นี้คือ Ferrichromes (สูตรโครงสร้างทางเคมีดังแสดงในรูปที่ 41) ซึ่งส่วนใหญ่จะถูกสร้างจากเชื้อรา HS ประเภทนี้ถูกพบครั้งแรกในปี ค.ศ. 1952 จากการเพาะเลี้ยงเชื้อรา *Ustilago sphaeronena* และสร้าง HS ที่ชื่อว่า Ferrichrome A



Desferrioxamine B R=CH_3

รูปที่ 40 แสดงโครงสร้างของ Desferrixamine B. ที่มา: G. Winklemann (1991)



รูปที่ 41 แสดงโครงสร้างของ Ferrichromes. ที่มา: C.E. Lankford (1973)

ซิเดอร์โรฟอร์ทั้งสองกลุ่มนี้มีโครงสร้างหลักที่เหมือนกันเป็นส่วนใหญ่คือ ส่วนที่เป็น polyamine ซึ่งเป็นกระบวนการสังเคราะห์ซิเดอร์โรฟอร์ในสิ่งมีชีวิต โดยเฉพาะจุลินทรีย์นั้นจะสร้างสารตั้งต้นสำหรับการสังเคราะห์หรือที่เรียกว่า precusor นั้นเป็นกลุ่มสารกรดอะมิโน เช่น L-ornithine เป็นสารตั้งต้นสำหรับการสังเคราะห์ HS จากเชื้อราไมคอไรซาใน *Hymenoscyphus ericae* หรือ L-serine เป็นสารตั้งต้นสำหรับการสังเคราะห์ HS จากเชื้อรา *U. sphaerognena* หรือ CS สร้างจากแบคทีเรีย *Salmonella typhimurium* และ *E. coli* ที่เรียกชื่อว่า Enterobactin ก็ถูกสังเคราะห์มาจากกรดอะมิโน L-serine และ dihydroxybenzonic acid โดยใช้ ATP เป็น cofactor

กลไกทั่วไปของการนำธาตุเหล็กเข้าสู่เซลล์โดยโมเลกุลของซิเดอร์โรฟอร์นั้น ประกอบไปด้วยขั้นตอน 3 ขั้นตอนคือ

1. เริ่มการสังเคราะห์โมเลกุลของซิเดอร์โรฟอร์จากนั้นจึงแพร่ผ่านผนังเซลล์ออกไปสู่สิ่งแวดล้อม
2. ซิเดอร์โรฟอร์เข้าจับกับธาตุเหล็กแล้วถูกดึงกลับเข้าสู่เซลล์โดยกระบวนการ active transport
3. ปลดปล่อยโมเลกุลของซิเดอร์โรฟอร์ที่ดึงธาตุเหล็กออกคืนสู่ภายนอกเซลล์

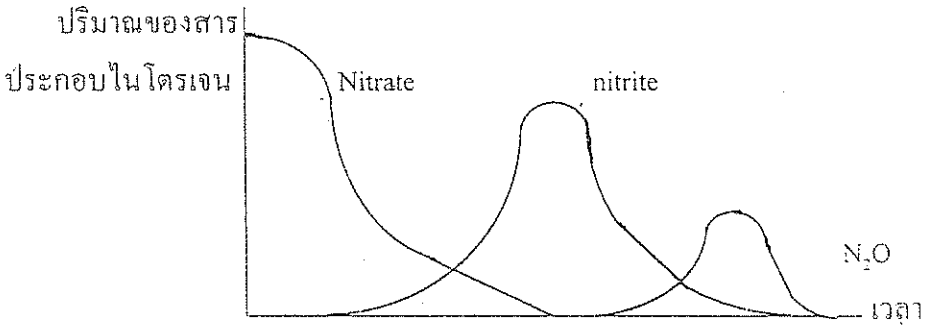
เมื่อโมเลกุลของซิเดอร์ โรฟอร์ เข้าจับกับธาตุเหล็กแล้วนั้น โมเลกุลของซิเดอร์โรฟอร์จะจับกับโปรตีนที่ผนังเซลล์ซึ่งทำหน้าที่เป็น receptor protein จากนั้นจะถูกขนย้ายผ่านเข้ามายังผนังเซลล์ โดยกระบวนการ active transport กล่าวคือสาร ATP ที่ผนังเซลล์จะเป็นตัวกระตุ้นให้โปรตีนอีกชนิดหนึ่งที่มี ATP เกาะอยู่แล้วโดยการส่งผ่านพลังงานทำให้นำธาตุเหล็กเข้าสู่ภายในของไซโตรพลาสซึมได้ ทั้งนี้แต่ละชนิดของซิเดอร์โรฟอร์เองจะมีความจำเพาะเจาะจงต่อโปรตีนต่าง ๆ ที่ผนังเซลล์ด้วย เมื่อโมเลกุลของซิเดอร์โรฟอร์ที่จับธาตุเหล็กถูกนำผ่านเข้ามายังผนังเซลล์แล้ว ธาตุเหล็กก็จะปลดปล่อยออกจากโมเลกุลของซิเดอร์โรฟอร์โดยอาศัยกลไกสำคัญสามขั้นตอน โดยขั้นตอนแรกเมื่อโมเลกุลของซิเดอร์โรฟอร์ที่มีธาตุเหล็กจับกันอยู่ก่อนที่จะเข้ามายังไซโตพลาสซึมนั้นบริเวณโมเลกุลที่เป็น ligand ที่เชื่อมกับธาตุเหล็กจะถูกสลาย เช่น เอนไซม์ esterase จะเข้าทำปฏิกริยากับซิเดอร์โรฟอร์กลุ่ม enterobactin หรือธาตุเหล็กอาจถูกปลดปล่อยโดยปฏิกริยาเคมีแบบ reduction เมื่อธาตุเหล็กถูกปลดปล่อยออกจากโมเลกุลของซิเดอร์โรฟอร์แล้ว ส่วนที่เป็นโมเลกุลของซิเดอร์โรฟอร์เองอาจถูกเปลี่ยนแปลงโครงสร้างไปจากเดิมหรือไม่ก็ได้ แล้วจึงถูกปลดปล่อยออกสู่นอกเซลล์ไปสู่สิ่งแวดล้อมเพื่อจับกับธาตุเหล็กต่อไป

ดังกล่าวแล้วข้างต้น เนื่องจากธาตุเหล็กจัดเป็นธาตุสำคัญต่อการดำรงชีวิตของจุลินทรีย์โดยเฉพาะเป็นองค์ประกอบสำคัญในโปรตีนที่เกี่ยวกับกระบวนการขนย้ายอิเลคตรอนในการหายใจระดับเซลล์ เช่น cytochromes เอนไซม์ hydrogenase iron sulfer protein (ferredoxin) เอนไซม์ succinate dehydrogenase หรือไม่ว่าจะเกี่ยวกับเมตาบอลิซึมของ H_2O_2 และ O_2 เช่น มีความสำคัญต่อเอนไซม์ catalase, peroxidase, superoxide, dismutase และ oxygenase นอกจากนี้ยังมีความสำคัญต่อวัฏจักร tricarboxylic acid โดยเฉพาะต่อเอนไซม์ aconitase รวมไปถึงกระบวนการสังเคราะห์ DNA และการตรึงไนโตรเจนอีกด้วย ดังนั้นจุลินทรีย์เกือบทั้งหมดพบว่าสามารถสร้างซิเดอร์โรฟอร์ได้ ยกเว้นแบคทีเรีย *Arthrobacter flavescens*

บางสายพันธุ์ที่จัดเป็น siderophores auxotroph คือไม่สามารถสร้างซิเดอร์โรฟอร์ได้ และไม่สามารถเจริญได้ถ้าไม่ได้รับซิเดอร์โรฟอร์จากสิ่งมีชีวิตอื่น โดยเฉพาะซิเดอร์โรฟอร์ในกลุ่ม HS เท่านั้น ดังนั้นปัจจุบันจึงได้มีการนำแบคทีเรียในจีนัสนี้มาใช้ในการตรวจสอบทางชีวภาพอย่างแพร่หลาย โดยเฉพาะอย่างยิ่งการสร้าง HS จากจุลินทรีย์ต่าง ๆ

คำถามท้ายบท

1. จากกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณของสารประกอบไนโตรเจนกับเวลา



จงตอบคำถามต่อไปนี้

ก. จงทำนายว่าความสัมพันธ์ของการสร้างสารประกอบไนโตรเจนเหล่านี้เกิดขึ้นในสิ่งแวดล้อมแบบใด และถ้าขาดความสมดุลจะก่อให้เกิดผลเสียต่อสิ่งแวดล้อมอย่างไร

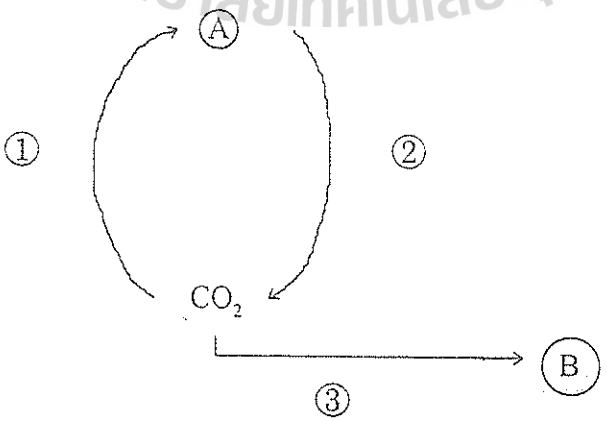
ข. จงระบุความสัมพันธ์ของ N_2 กับสารทั้ง 3 ชนิดลงในกราฟโดยลากเส้นแสดงความสัมพันธ์นี้ลงในกราฟที่ให้มาพร้อมอธิบายเหตุผล

2. บริษัท MTJ-Agriculture ได้ผลิตปุ๋ยแอมโมเนียขึ้นมาชนิดหนึ่งซึ่งเคลือบด้วยสารที่ชื่อว่า Dicyadiamide (DCD) ซึ่งเป็นสารที่ช่วยให้การปลดปล่อยสารอาหารไนโตรเจนช้าลง (N-retarder หรือ Slow-releasing N)

ก. ท่านคิดว่าผลิตภัณฑ์ของบริษัท MTJ-Agriculture มีผลดีหรือผลเสียอย่างไร

ข. ถ้านางสาวจิ๊ดจี๋ซึ่งเป็นชาวนานำไปใช้ในพื้นที่เพาะปลูกของตนเอง แต่ปรากฏว่าที่ดินนั้นมีแบคทีเรียที่สามารถย่อยสลาย DCD ได้สูงมาก จงทำนายผลที่คาดว่าจะตามมาในที่ดินของนางสาวจิ๊ดจี๋พร้อมเหตุผล

จากแผนภาพแสดงวัฏจักรของธาตุคาร์บอน จงใช้ตอบคำถามข้อ 3-5



มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

3. ถ้าปฏิกริยา (1) เกิดจากบทบาทของเอนไซม์ RuBisCO ท่านคิดว่า (A) คืออะไร

ก. น้ำ
ข. กรดอะมิโน
ค. คาร์โบไฮเดรต
ง. H_2CO_3
จ. $(C_2H_5OH)_n$
ฉ. CH_3COOH
ช. ทั้ง จ. และ ฉ.
ซ. เป็นไปได้ทุกข้อ

4. จากคำถามข้อที่ 2 ท่านคิดว่าปฏิกริยาที่ 2 เกิดจากจุลินทรีย์กลุ่มใด

ก. Phototroph
ข. Heterotroph
ค. Animal
ง. Chemolitotroph
จ. ก. และ ข. ถูก
ฉ. ข. และ ค. ถูก
ช. ก. และ ง. ถูก
ซ. ค. เท่านั้นที่ถูกที่สุด

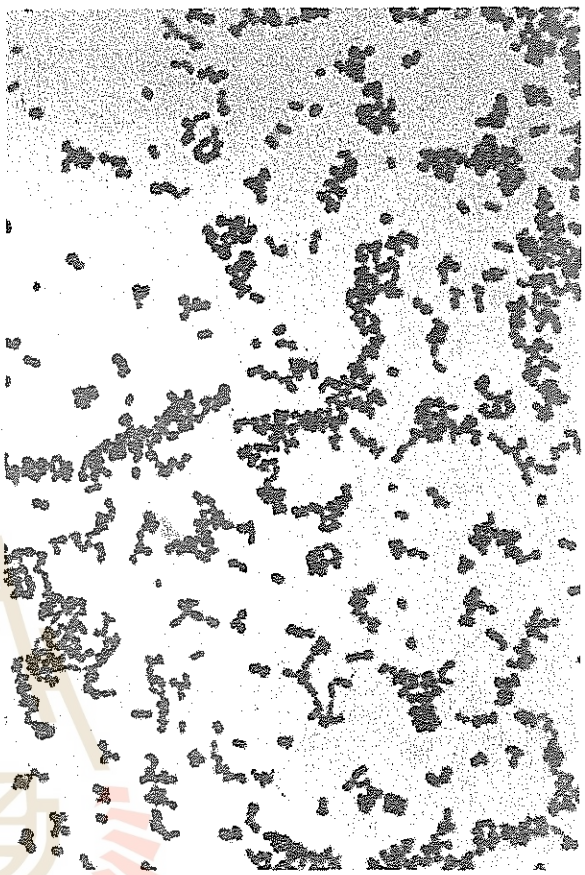
5. ถ้าปฏิกริยาที่ 3 เกิดในสภาพที่มีอ๊อกซิเจนน้อยและเป็นปฏิกริยาแบบ Reduction โดยมีก๊าซ H_2 เป็นตัวให้อิเลคตรอน ดังนั้นปฏิกริยานี้จะมีตัวรับอิเลคตรอนตัวสุดท้ายเป็น_____ ที่พบได้ _____ ในจุลินทรีย์กลุ่ม_____

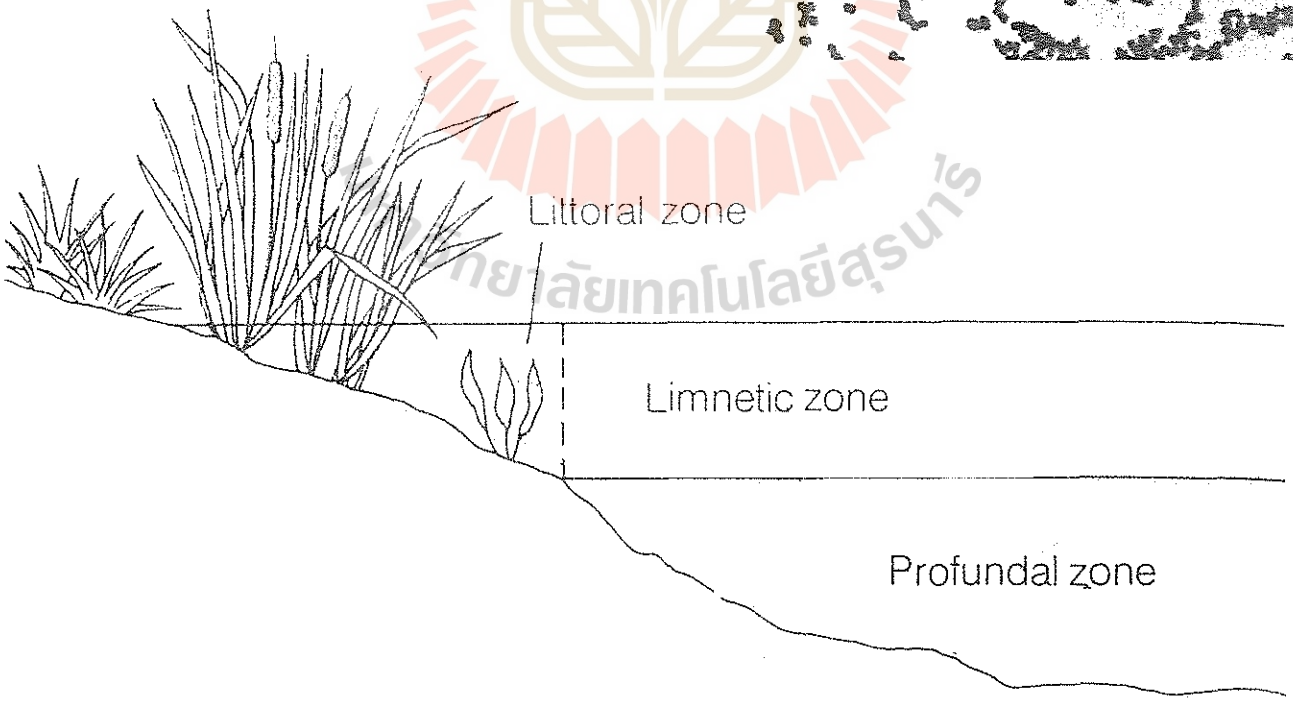
ดังนั้นสาร B คาดว่าจะเป็น

ก. H_2O, Chemoaerobic, carbohydrate
ข. O_2, methanogens, vitamin B12
ค. N_2, Rhizobium, amino acid
ง. CO_2, methanogens, methane
จ. H_2S, sulfate-reducing bacteria, amino acid
ฉ. CO_2, carbondioxide fixing bacteria, glucose
ช. CH_4, heterotroph, glucose
ซ. CH_4, metthane-reducing bacteria, amino acid

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

บทที่ 5 บทบาทของจุลินทรีย์และแบคทีเรียในแหล่งน้ำ





มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

บทที่ 5 บทบาทของจุลินทรีย์และแบคทีเรียในแหล่งน้ำ

แหล่งน้ำ (Water Resources)

97.5% ของปริมาณน้ำทั้งหมดในโลกจะเป็นมหาสมุทร อีก 2.5% เป็นแหล่งน้ำจืดซึ่งประกอบไปด้วยน้ำแข็งบริเวณขั้วโลก และ glaciers ประมาณ 1.97% ของแหล่งน้ำจืด น้ำใต้ดิน (ground water) 0.5% ทะเลสาบและแม่น้ำ 0.03% ความชื้นในดิน 0.01% และน้ำในบรรยากาศ 0.0001%

ในลำดับแรกจะเน้นความสำคัญของการใช้ประโยชน์ของมนุษย์จากแหล่งน้ำ ซึ่งส่วนใหญ่จะเป็นแหล่งน้ำจืด ดังจะกล่าวต่อไปนี้

1. แหล่งน้ำผิวดิน (Surface Water)

เป็นแหล่งน้ำจืดที่พบบนผิวโลก ได้แก่ แม่น้ำ ลำธาร ทะเลสาบ และ wetlands (เป็นบริเวณที่มีน้ำขังเป็นเวลานานติดต่อกันเป็นปี) เป็นที่น่าสังเกตุว่าการตั้งถิ่นฐานของมนุษย์จะปรากฏอยู่อย่างหนาแน่นตามสองฟากฝั่งของลำน้ำ หรือแหล่งน้ำจืดอื่น ๆ น้ำจืดที่ได้จากแหล่งน้ำดังกล่าว 75% จะนำมาใช้เพื่อการอุปโภค บริโภค และการชลประทาน สำหรับน้ำที่นำมาใช้เพื่อการอุตสาหกรรมนั้น 90% จะได้มาจากแหล่งน้ำจืดในผิวดินเช่นเดียวกัน น้ำจืดที่แช่ขังอยู่ตามแหล่งน้ำผิวดินจะมาจาก (1) น้ำฝน (2) หิมะละลาย และ (3) ไหลซึมออกมาจากใต้ดิน

จากความแปรผันของหยาดน้ำฟ้า (precipitation) ที่ตกลงมา ลักษณะภูมิประเทศ และโครงสร้างของดินจะทำให้ปริมาณน้ำจืดที่แช่ขังอยู่ตามแหล่งน้ำบนดินในแต่ละบริเวณแตกต่างกันออกไป ตัวอย่างเช่น ระดับน้ำผิวดิน ที่ปรากฏในประเทศไทยจะผันแปรไปตามฤดูกาล กล่าวคือ ในช่วงฤดูฝนปริมาณน้ำจืดผิวดินจะมาก และค่อย ๆลดลง และบางแห่งจะแห้งขอดในช่วงฤดูแล้ง จากสภาพดังกล่าวจึงทำให้บางท้องถิ่นของประเทศไทยเกิดภาวะขาดแคลนน้ำเพื่ออุปโภค และการชลประทานในช่วงฤดูแล้ง โดยเฉพาะอย่างยิ่งในแถบภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ทั้งนี้เพราะ (1) ภูมิประเทศที่มีความลาดเอียงมาก (2) ดินไม่อุ้มน้ำ และ (3) พืชพรรณธรรมชาติถูกทำลาย

การนำน้ำจากแหล่งน้ำผิวดินมาใช้จะมีวิธีที่แตกต่างกันออกไป บางแห่งจะใช้แรงงานคนหาบหาม ใช้ระหัดชุดดึงขึ้นมา หรือใช้เครื่องสูบน้ำ แต่บางท้องที่อาจทำเหมืองฝาย เขื่อน หรือทำนบกักกันลำล้ำ เพื่อยกระดับน้ำให้สูงนั้นพอที่จะไหลบ่าเข้าไปในพื้นที่ทำการเพาะปลูก หรือเพื่อนำเอาพลังงานน้ำมาใช้ผลิตพลังงานไฟฟ้า อย่างไรก็ตามการนำน้ำท่ามาใช้เพื่อที่ชลประทานจะประสบอุปสรรคนานับประการ คือ (1) ปริมาณน้ำในแหล่งน้ำไม่สม่ำเสมอและมีปริมาณไม่เพียงพอ (2) แหล่งน้ำอยู่ห่างไกลจากพื้นที่ทำการเพาะปลูก ต้องเสียค่าใช้จ่ายในการขุดคลองส่งน้ำ (3) ลักษณะภูมิประเทศไม่อำนวย โดยเฉพาะอย่างยิ่งบริเวณที่สูงซึ่งยากที่จะผันน้ำขึ้นไปใช้ได้ แม้จะใช้เครื่องสูบน้ำหรือระหัดมาช่วยในการชักน้ำก็จะเพิ่มค่าใช้จ่ายในการลงทุนมากขึ้น และ (4)

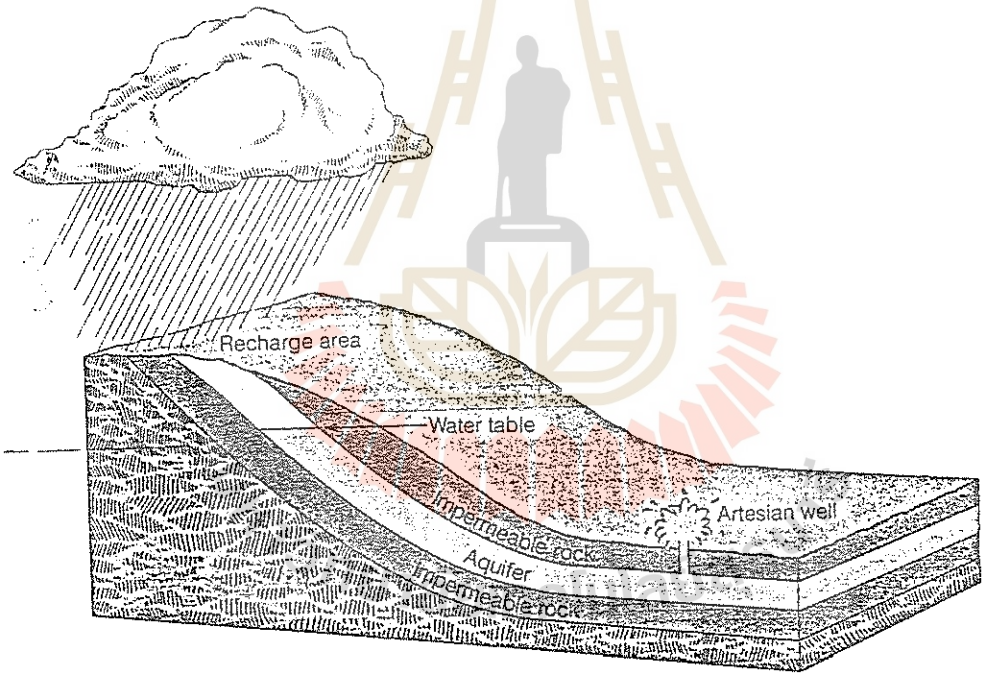
คุณภาพของน้ำไม่เหมาะสม เช่น น้ำเปรี้ยว หรือน้ำกร่อย ส่วนบริเวณที่ราบใกล้กับปากแม่น้ำจะไม่สามารถนำน้ำมาใช้ได้เพราะน้ำเค็ม เช่น ที่ราบปากแม่น้ำบางปะกง เป็นต้น

2. แหล่งน้ำใต้ดิน (ground Water)

มีต้นกำเนิดจากฝนหรือหิมะที่ละลายแล้วไหลซึมลงสู่ดิน แล้แทรกผ่านตามรอยแยกของชั้นหิน แล้วเก็บสะสมรวมอยู่ที่ชั้นหินเนื้อทึบซึ่งน้ำไม่สามารถไหลซึมต่อไปได้อีก (Impermeable layer) ชั้นของหินใต้ดินที่มีรูพรุนและเป็นแหล่งสะสมของน้ำเรียกว่า Aquifers ซึ่งมี 2 แบบได้แก่

2.1 Confined aquifer เป็นบริเวณที่กักเก็บน้ำใต้ดินอยู่ระหว่างชั้นของหินที่เป็น impermeable layer บางครั้งเรียกว่า Artesian aquifer น้ำที่อยู่ในชั้นนี้จะถูกเก็บรักษาไว้ มีความลึกหลายไมล์ไว้ด้วยความดันตามธรรมชาติ ดังนั้นการขุดเจาะที่จะนำมาใช้จึงไม่ต้องใช้แรงสูบ เพราะสามารถขึ้นมาเองได้ตามแรงดันนี้เอง

2.2 Unconfined aquifer เป็นบริเวณที่กักเก็บน้ำใต้ดินที่อยู่เหนือชั้นของหินที่เป็น impermeable layer ดังแสดงในรูปที่ 42



รูปที่ 42 แสดงภาพตัดขวางของชั้นดินและแหล่งสะสมน้ำ (ที่มา : Peter H. Raven, 1993)

ตามธรรมชาติแล้วน้ำใต้ดินจะปรากฏอยู่เป็นแห่งๆ เท่านั้น และขึ้นอยู่กับลักษณะโครงสร้างของหินที่ดูดซับน้ำเอาไว้ ดังนั้นการนำน้ำใต้ดินขึ้นมาใช้จึงต้องกระทำอย่างระมัดระวัง ถ้าหากบริเวณใดน้ำใต้ดินอยู่ตื้น ๆ คือลึกราว 3 - 5 เมตร จะสามารถใช้แรงคนหรือสัตว์ชักดึงขึ้นมาใช้ได้ แต่ถ้าหากระดับลึกมากกว่า 7.5 เมตร ขึ้นไปจำเป็นต้องใช้เครื่องจักรสูบขึ้น อย่างไรก็ตาม

มนุษย์รู้จักเอาน้ำใต้ดินมาใช้เป็นเวลาหลายศตวรรษแล้ว โดยในระยะแรก ๆ จะใช้วิธีการขุดบ่อลงไปในแนวดิ่งจนกระทั่งถึงระดับน้ำใต้ดิน (Water table) ก็จะได้นำน้ำใต้ดินมาใช้ตามความต้องการ ในบางบริเวณที่มีสภาพภูมิอากาศแห้งแล้ง การขุดบ่อเพื่อนำน้ำใต้ดินที่ซึมผ่านชั้นดินลงมา ซึ่งในประเทศอิหร่าน เรียกว่า "ควาแนท" (Quanat) เป็นต้น ปริมาณน้ำจืดที่ได้จากบ่อในแนวนอน จะมีปริมาณพมากพอสำหรับนำไปใช้เพื่อการชลประทานได้

ส่วนน้ำบาดาลนั้นจะนำขึ้นมาใช้ยากกว่าน้ำใต้ดิน ทั้งนี้เพราะ (1) มีระดับลึก (2) เป็นน้ำที่แทรกซอนอยู่ในชั้นหิน การขุดเจาะน้ำบาดาลมาใช้จะมีแนวโน้มเพิ่มมากยิ่งขึ้น โดยเฉพาะอย่างยิ่งในบริเวณที่ขาดแคลนน้ำจืดผิวดิน วิธีการเอาน้ำบาดาลมาใช้จะต้องมีเครื่องจักรในการขุดเจาะพร้อมทั้งฝังท่อเหล็กลงไปเพื่อป้องกันการอุดตัน ขนาดของท่อโดยทั่วไปจะมีเส้นผ่าศูนย์กลางราว 30 - 40 ซม. และมีระดับลึกราว 300 เมตร แต่บางแห่งอาจจะตื้นหรือลึกมากกว่านี้ก็ได้ จากนั้นจะใช้เครื่องจักรสูบน้ำขึ้นมา ปริมาณน้ำที่สูบขึ้นมาแต่ละบ่อจะแตกต่างกันออกไป ซึ่งบางแห่งจะใช้น้ำเพียง 9 - 10 ลิตรต่อวัน แต่บางแห่งอาจจะได้น้ำมากถึง 1 - 30 ล้านลิตรต่อวัน

ในหลายประเทศน้ำใต้ดินได้ถูกนำขึ้นมาใช้เป็นจำนวนมาก จึงเป็นผลทำให้น้ำใต้ดินมีปริมาณลดลงและอาจหมดไปในที่สุด ในบริเวณที่อยู่ใกล้กับทะเลสาบจะมีน้ำเค็มแทรกซอนเข้าไป จึงทำให้น้ำใต้ดินที่สูบขึ้นมาในระยะหลัง ๆ เค็ม ปัญหาอีกประการหนึ่งในการนำน้ำใต้ดินมาใช้ก็คือ น้ำใต้ดินที่ขุดได้บางบ่ออาจจะมีรสเค็ม หรือกร่อย เพราะแร่ธาตุบางชนิดละลายอยู่ในน้ำมากเกินไป เช่น น้ำใต้ดินที่ขุดในภาคตะวันออกเฉียงเหนือบางบ่อที่มีเกลือสะสมอยู่มากเกินไป จึงไม่สามารถนำน้ำมาใช้ประโยชน์ได้

แหล่งน้ำใต้ดินจัดเป็นทรัพยากรที่สามารถหมดไปได้ เพราะอาศัยเวลานานนับล้านปี ที่จะมีการซึมซับเก็บรวมตัวเป็นน้ำใต้ดิน แม้ว่าจะมีการไหลสะสมทุก ๆ ปี แต่เป็นไปด้วยอัตราที่ต่ำมาก

3. แหล่งน้ำจากที่มหาสมุทร (Ocean)

71 % ของผิวโลกทั้งหมดประกอบไปด้วยแหล่งน้ำที่เป็นมหาสมุทรซึ่งรวมเป็นพื้นที่ทั้งหมด 361 ล้านตารางกิโลเมตรคิดเป็นปริมาตรทั้งหมดประมาณ 1,347 ล้านคิวบิกเมตรบริเวณที่พบว่ามีความลึกที่สุดคือ Mariana Trench ซึ่งอยู่ทางตะวันตกเฉียงใต้ของเกาะกวม (Guam) โดยมีความลึกประมาณ 11 กม. เช่น แปซิฟิก, แอตแลนติก, อินเดีย และอาร์คติก ดังแสดงรายละเอียดตามตารางที่ 7

ตารางที่ 7 จำนวนและขนาดของมหาสมุทรในโลก (ที่มา : Peter H. Raven, 1993)

มหาสมุทร	พื้นที่ (ตร.กม. x106)	%	ค่าเฉลี่ยความลึก (เมตร)
พื้นที่ทุกมหาสมุทร	361	100.0	3,650
แปซิฟิก	165	45.7	4,270
แอตแลนติก	81	22.4	3,930
อินเดีย	75	20.8	3,930
อาร์ตติก	14	3.9	1,250
ทะเลอื่น ๆ	26	7.2	-

องค์ประกอบทั่วไปของมหาสมุทรประกอบไปด้วยสสารส่วนที่ไม่ละลาย และละลายน้ำ ส่วนที่ไม่ละลายน้ำมักมาจากอนุภาคจากแม่น้ำหรือจากการกัดเซาะของชายฝั่งเอง ในส่วนของอนุภาคที่ละลายน้ำได้ มักเป็นสารพวก ไอออน คือมี โซเดียมคลอไรด์เป็นองค์ประกอบส่วนใหญ่ ส่วนองค์ประกอบของไอออนอื่น ดังแสดงในตารางที่ 7

ตารางที่ 8 แสดงถึงชนิดและปริมาณของไอออนที่พบในมหาสมุทร (ที่มา : Peter H. Raven, 1993)

ไอออน	% ที่พบในมหาสมุทร
คลอไรด์ (Cl^-)	55.04
โซเดียม (Na^+)	30.62
ซัลเฟต (SO^{2-}_4)	7.68
แมกนีเซียม (Mg^{2+})	3.69
แคลเซียม (Ca^{2+})	1.15
โปแตสเซียม (K^+)	1.10
ไบคาร์บอเนต (HCO_3^-)	0.41

ความเค็มในทะเลหรือมหาสมุทร ส่วนใหญ่เกิดจากสารไอออนเหล่านี้ ความเค็มโดยเฉลี่ยของมหาสมุทรทั่วโลกมีค่าประมาณ 35 - 37 กรัม ต่อกิโลกรัม ในระดับน้ำทะเลลึกลงไปความเค็มจะยิ่งมีค่าสูงขึ้น ในขณะที่ค่า pH อยู่ในช่วง 8.3-8.5

อย่างไรก็ดีในบทนี้จะเน้นถึงความสำคัญของแหล่งน้ำจืดและบทบาทของแบคทีเรียในแหล่งน้ำจืด เพราะแหล่งน้ำจืดเป็นแหล่งน้ำที่มีคนนำมาใช้เพื่อกิจกรรมอุปโภคบริโภคเป็นส่วนใหญ่ โดยเฉพาะอย่างยิ่งแหล่งน้ำที่มนุษย์สามารถนำมาบริโภคได้หรือดื่มได้ (Potable water) ปัจจุบันพบว่ามีอยู่เพียง 2% ของแหล่งน้ำทั่วโลกที่สามารถรองรับประชากรของโลกกว่า 6 พัน

ล้านคน และยิ่งไปกว่านั้นแหล่งน้ำนี้กำลังประสบปัญหาเกี่ยวกับการปนเปื้อน (contamination) โดยแบ่งลักษณะการปนเปื้อนได้เป็น 2 ประเภทได้แก่

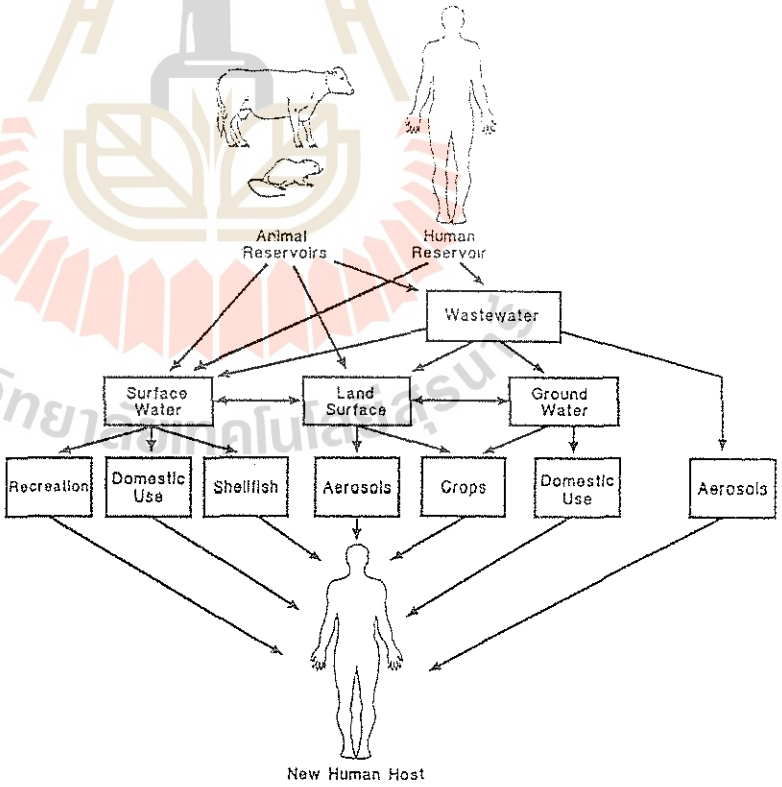
1. การปนเปื้อนจากสารเคมี (chemical contamination) อันได้แก่

1.1 การปนเปื้อนจากสารอนินทรีย์ (inorganic contaminant) เช่น จากโลหะพวกเหล็ก, ตะกั่ว, แมงกานีส, แคดเมียม, ทองแดงและสังกะสี ซึ่งมักมีแหล่งกำเนิดของการปนเปื้อนจากกระบวนการทางอุตสาหกรรม หรือการกัดกร่อนของท่อส่งน้ำหรือน้ำมันจากกิจกรรมของแบคทีเรียกลุ่ม SRB และ SOB ซึ่งมักทำให้เกิดการปนเปื้อนจากตะกั่ว, ทองแดงและสังกะสี

1.2 การปนเปื้อนจากสารอินทรีย์ (organic contaminant) เช่น กลุ่มยากำจัดศัตรูพืช (pesticdes) ของเสียจากอุตสาหกรรมปิโตรเลียม ผงซักฟอก ซึ่งสารเหล่านี้มักจะถูกย่อยสลายได้ยากตามธรรมชาติ จึงส่งผลทั้งทางตรงต่อสิ่งมีชีวิตในแหล่งน้ำ และทางอ้อมโดยสะสมความมีพิษไว้ในห่วงโซ่อาหารได้

2. การปนเปื้อนจากจุลินทรีย์ (microbial comtamination)

กลุ่มจุลินทรีย์ที่พบว่ามีการปนเปื้อนสูงในแหล่งน้ำจืดได้แก่ แบคทีเรียและไวรัส ซึ่งมักพบว่าแหล่งกำเนิดของการปนเปื้อนมาจากสัตว์ และคนมาจากอุจจาระและสิ่งขับถ่าย ลักษณะของการแพร่เชื้อลงสู่แหล่งน้ำและกลับเข้าสู่คนดังสรุปเป็นแผนภูมิได้ตามรูปที่ 43



รูปที่ 43 แสดงการแพร่เชื้อจากอุจจาระและสิ่งขับถ่ายจากคนและสัตว์ลงสู่แหล่งน้ำ และกลับมาสู่ คนอีกครั้ง (ที่มา : C.J.Huret, 1996)

ลักษณะของการติดเชื้อจากแหล่งน้ำสามารถจำแนกได้เป็น 4 ลักษณะคือ

2.1 การติดเชื้อจากน้ำที่ใช้ในการชะล้าง (water-washed infection) สามารถติดเชื้อได้โดยการสัมผัสหรือการบริโภคน้ำที่ใช้ในการชะล้างที่มีการปนเปื้อนของเชื้อ

2.2 การติดเชื้อจากน้ำที่มีแมลงเป็นพาหะ (water-related insect vectors) เป็นการติดเชื้อจากแหล่งน้ำที่มีแมลงเป็นพาหะนำโรคอาศัยอยู่ ตัวอย่างที่เห็นได้ชัดคือยุงและไข้เลือดออก

2.3 การติดเชื้อจากสิ่งมีชีวิตที่อยู่ในแหล่งน้ำโดยตรง (water-based infection) ตัวอย่างที่เห็นได้ชัดคือการติดเชื้อหรือเกิดโรคอันเนื่องมาจาก พยาธิหรือไข่พยาธิที่อาศัยอยู่ใน intermediate host เช่น ปลา หอย เมื่อคนบริโภคสัตว์เหล่านี้เข้าไปก็จะทำให้เกิดโรค

2.4 การติดเชื้อจากเชื้อก่อโรคที่อยู่ในแหล่งน้ำได้ (waterborne infection) สามารถติดเชื้อได้โดยตรงไม่ว่าจะเป็นการสัมผัสหรือการบริโภคน้ำ และอาหาร เชื้อก่อโรคส่วนใหญ่มักเป็นจุลินทรีย์ที่มาจากทางเดินอาหารของคนและสัตว์ เช่น โรคอหิวาตกโรค ไทฟอยด์ เป็นต้น

เชื้อก่อโรคและปรสิตที่พบในแหล่งน้ำจืดเพื่อการบริโภค

กลุ่มของสิ่งมีชีวิตที่เป็นจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคจากการอุปโภคน้ำที่มีการปนเปื้อนสามารถจำแนกได้เป็นกลุ่มดังนี้

1. แบคทีเรีย

แหล่งที่มาของแบคทีเรียที่สำคัญคืออุจจาระและสิ่งปฏิกูลโดยพบว่าจะมีจำนวนของประชากรแบคทีเรียที่สูงถึง 10^{12} เซลล์ต่อกรัมน้ำหนักสด กลุ่มที่พบทั่วไปได้แก่ กลุ่มที่เป็นแกรมลบและเป็น facultative anaerobe เช่น *Aeromonas, Enterobacter, E. coli, Klebsiella* และ *Shigella* เป็นต้น กลุ่มแบคทีเรียแกรมลบที่เป็น aerobe เช่น *Pseudomonas, Alcaligenes* กลุ่มแบคทีเรียแกรมบวกที่สร้าง endospore เช่น *Bacillus* และแบคทีเรียแกรมบวกที่ไม่สร้าง endospore เช่น *Arthrobacter* และ *Rhodococcus* เป็นต้น

กลุ่มของแบคทีเรียที่มีบทบาทสำคัญในการก่อโรคได้แก่

1.1 กลุ่มแบคทีเรียในจีนัส *Salmonella*

กลุ่มแบคทีเรียในกลุ่มนี้มักพบมากในช่วงแรก ๆ ของแหล่งน้ำเสียในปริมาณ 8,000 เซลล์ต่อตัวอย่างน้ำ 100 มล. ก่อให้เกิดโรคไทยฟอยด์และพาราไทฟอยด์ โดยค่าประมาณต่ำสุดที่ก่อให้เกิดโรคในร่างกาย (mininal infective dose : MID) ประมาณ

10^4-10^7 เซลล์ พิษที่ก่อให้เกิดโรคจะเป็นพวก endotoxin ใช้เวลาในการก่อโรค 8-48 ชม.

1.2 แบคทีเรียในกลุ่มจีนัส *Shigella*

มีแหล่งการแพร่ระบาดจากอุจจาระของคน ก่อให้เกิดโรคท้องร่วงอย่างรุนแรงและมีโลหิตปนออกมาด้วย มีค่า MID เพียง 10^1-10^2 เซลล์ ระยะเวลาก่อโรค 1-7 วัน ตัวอย่างเช่น การเกิดโรค Shigaellosis ในมลรัฐฟลอริดา ประเทศสหรัฐอเมริกา ทำให้คนเสียชีวิตกว่า 1,200 คน

1.3 แบคทีเรียในกลุ่มจีนัส *Vibrio*

ตัวอย่างที่สำคัญได้แก่ *Vibrio cholera* ซึ่งสร้างสารพิษจำพวก enterotoxin ทำให้เกิดอหิวาตกโรค มักพบว่าปนเปื้อนมากับน้ำที่ใช้รดในการปลูกผัก บางครั้งพบว่าเกาะอยู่กับพวกแพลงค์ตอนพืชและสัตว์ ระยะเวลาก่อโรคประมาณ 9-72 ชม. มีค่า MID 10^3 เซลล์

1.4 แบคทีเรียในกลุ่มจีนัส *E. coli*

โดยปกติ *E. coli* หลายสายพันธุ์จะไม่ก่อให้เกิดโรคเพียงแต่อาศัยอยู่ในลำไส้ใหญ่แบบแบคทีเรียเจ้าบ้าน (normal flora) ส่วนกลุ่มหรือสายพันธุ์ที่ก่อให้เกิดโรคมักจะมีการการสร้างสารพิษซึ่งสามารถแบ่งได้ดังนี้

1.4.1 Enterotoxigenic (ETEC) *E. coli*

ก่อให้เกิดอาการคลื่นไส้ ท้องร่วง หรือเกิดโรคที่เรียก Gastroenteritis มีระยะเวลาก่อโรค 12-72 ชม.

1.4.2 Enteropathogenic (EPEC) *E. coli*

พบว่ามีประชากรประมาณ 2-8% ของ *E. coli* ทั้งหมดในแหล่งน้ำธรรมชาติก่อให้เกิดอาการท้องร่วงเช่นเดียวกัน มีระยะเวลาก่อโรคประมาณ 1-6 วัน มีค่า MID สูงประมาณ 10^6-10^9 เซลล์

1.4.3 Enterohemorhagic (EHEC) *E. coli*

ก่อให้เกิดอาการท้องร่วงและมีโลหิตออกมา มักพบในผู้ป่วยที่เป็นเด็กและคนชรา มีระยะก่อโรค 3-8 วัน

1.5 แบคทีเรียในกลุ่มจีนัส *Yersinia*

กลุ่มที่มีบทบาทในการก่อโรคได้แก่ *Y. enterocolitica* มักแพร่มาจากฟาร์มเลี้ยงสุกร อาหารประเภทนมและเต้าหู้ แบคทีเรียกลุ่มนี้เป็น psychrophile ก่อให้เกิดโรค Gastroenteritis ระยะเวลาการก่อโรคประมาณ 2-7 วัน

1.6 แบคทีเรียในกลุ่มจีนัส *Campylobacter*

กลุ่มนี้มีบทบาทในการก่อโรค ได้แก่ *C. jejuni* ซึ่งทำให้เกิดอาการท้องร่วง อาเจียร มักปนเปื้อนมาจากกระแสน้ำจากภูเขา

1.7 แบคทีเรียในกลุ่มจีนัส Leptopira

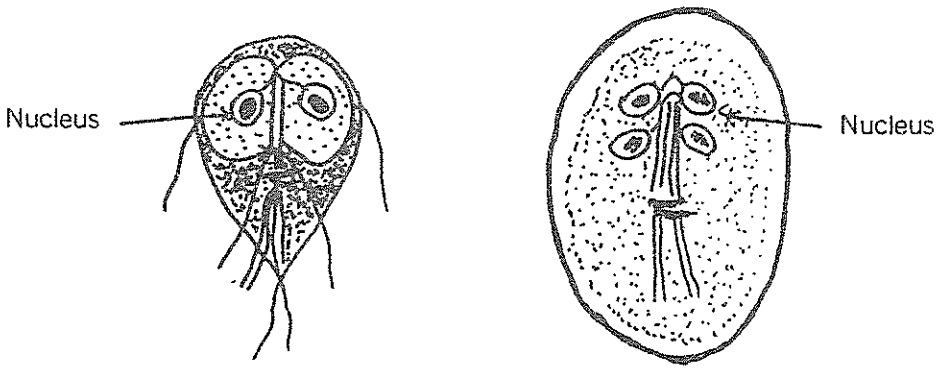
เป็นแบคทีเรียในกลุ่ม spirochete ก่อให้เกิดโรค Leptospirosis พวกสัตว์ฟันแทะ (rodent) มักเป็นพาหะน้ำโรคนี้ โดยเชื้อจะเข้าทำลายที่ระบบไตและระบบประสาทส่วนกลาง

2. ไวรัส

กลุ่มของไวรัสที่มีบทบาทสำคัญในการก่อให้เกิดโรคจากแหล่งน้ำได้แก่ เอนเทอริกไวรัส (Enteric virus) ซึ่งพบว่ามีมากกว่า 140 ชนิดในแหล่งน้ำ มักจะเข้าสู่ร่างกายคนทางปาก ตัวอย่างเช่น โปลิโอไวรัส (polioviruses), คอกเซกีไวรัส (coxackieviruses) และเอคโคไวรัส (echoviruses) ซึ่งมีระยะเวลาก่อโรค 3-14 วัน (โดยปกติประมาณ 5-10 วัน) นอกจากนี้ไวรัสกลุ่มอื่นที่ก่อให้เกิดโรคกลุ่มอื่น ๆ เช่น เฮพาไททิสไวรัส เอและอี (Hepatis A and E viruses), นอร์วอล์คไวรัส (Norwolk viruses) เป็นต้น โดยปกติมักพบจำนวนอนุภาคของไวรัสไม่มากนักในแหล่งน้ำ ดังนั้นในการตรวจสอบการปนเปื้อนของไวรัสในแหล่งน้ำมักใช้น้ำในปริมาณมากตั้งแต่ 10-1,000 ลิตร จากนั้นทำการกรองเพื่อให้เข้มข้นโดยใช้ระบบการกรองพิเศษที่ใช้วัสดุในการกรองหลายชนิดร่วมกัน เช่น ไนโตรเซลลูโลส (nitrocellulose), ใยแก้ว (fiber glass), Charged modified cellulose, expoxyfiber glass, เซลลูโลสและเยื่อกรองจากนั้นจึงตรวจสอบกับเนื้อเยื่อของสัตว์ ค่า MID โดยเฉลี่ยของไวรัสมีประมาณ 17 PFU (Plaque forming unit)

3. โปรโตซัวหรือปรสิต

กลุ่มของโปรโตซัวหรือปรสิตที่พบว่าก่อโรคมักมีโครงสร้างภายในที่เรียกว่า ซีสต์ (cyst) ซึ่งทนทานต่อความรุนแรงต่าง ๆ ในสภาพแวดล้อมได้ดี ดังนั้นโปรโตซัวมักจะมีการสร้างซีสต์ (encystment) เมื่อถูกกระตุ้นด้วยสภาวะแวดล้อมที่กดดัน เช่น ขาดอาหาร และงอกเจริญเป็นเซลล์ใหม่ (excystment) เมื่อสิ่งแวดล้อมเหมาะสมต่อไป ตัวอย่างของโปรโตซัวที่สำคัญได้แก่ *Giardia lambia* ซึ่งก่อให้เกิดโรค Giardiasis เป็นโปรโตซัวที่มีแฟลกเจลลา (flagella) รูปร่างคล้ายลูกแพร์มีขนาดยาวประมาณ 9-21 ไมครอน อาการของโรคจะแสดงออกภายหลังได้รับเชื้อไปแล้วเป็นเดือนหรือปี อาการของโรคจะมีอาการท้องร่วง ปวดหลัง อาเจียร แต่ไม่ทำให้ถึงตาย มักพบในน้ำดื่มที่ฆ่าเชื้อด้วยคลอรีนแต่ไม่ผ่านการกรอง รูปของเซลล์ *G. lambia* และซีสต์ดังแสดงในรูปที่ 44



รูปที่ 44 แสดงเซลล์และซีสต์ของ *Giardia lambia* (ที่มา : C.J. Hurst, 1997)

นอกจากนี้ โปรโตซัวอีกชนิดที่มีบทบาทในการก่อให้เกิดโรคที่สำคัญ ได้แก่ *Cryptosporidium* ซึ่งก่อให้เกิดโรค cryptosporidiosis ซึ่งมีอาการท้องร่วง อาเจียรและเป็นไข้ซึ่งอาจทำให้เด็กเกิดใหม่และคนชราเสียชีวิตได้ การกำจัดโปรโตซัวในกลุ่มนี้ก็ทำได้ยากเช่นเดียวกันเพราะมีความทนทานต่อคลอรีน และไม่สามารถตรวจพบได้ถ้าใช้ coliform test วิธีการจัดการที่ดีที่สุดคือ ระบบการบำบัดน้ำที่มีระบบการก่อตะกอน การตกตะกอนและการกรองที่มีคุณภาพจึงจะแก้ปัญหาได้ ระยะเวลาก่อให้เกิดโรคของ *Cryptosporidium* นี้กินเวลาประมาณ 1-2 สัปดาห์ ส่วนโปรโตซัวและปรสิตอื่น ๆ ได้แก่ *Entamoeba histolytica, Balantidium coli* เป็นต้น

จุลินทรีย์ก่อโรคในแหล่งน้ำที่กำลังมีปัญหามากในปัจจุบัน

1. ไวรัสกลุ่มนอร์วอล์ก (Norwalk-like virusses ; NV)

กลุ่ม NV จัดเป็นไวรัสที่มีรูปร่างกลมขนาดเล็กก่อให้เกิดโรคในทางเดินอาหารในเด็กและผู้ใหญ่ ซึ่งพบมากในประเทศสหรัฐอเมริกา แหล่งที่พบ NV ปนเปื้อนได้แก่ น้ำดื่ม น้ำแข็ง แหล่งน้ำเพื่อการพักผ่อน อาหารและอาหารทะเลต่าง ๆ

2. *E. coli* O 157 : H7

จัดเป็น *E. coli* กลุ่ม EHEC ลักษณะอาการที่เกิดจากการติดเชื้อจะมีโลหิตปนออกมากับปัสสาวะ เม็ดเลือดขาวถูกทำลายและการทำงานของไตก็ถูกทำลายเช่นเดียวกัน โรคนี้มักเป็นอันตรายต่อเด็กและคนชราเป็นอันมาก MID มีค่าต่ำใกล้เคียงกับ *Shigella*

3. ไซยาโนแบคทีเรีย

จะมีความเป็นพิษอย่างแรงเมื่อเกิดปรากฏการณ์ที่เรียกว่า algal blooms ในแหล่งน้ำพบว่ามีมากกว่า 25 สปีชีส์ที่สร้างสารพิษและก่อให้เกิดโรค เช่นในทะเลมักพบไซยาโนแบคทีเรียที่สร้างสารพิษได้แก่จีนัส *Lyngbya, Schizothrix* และ *Oscillatoria* ส่วนในแหล่งน้ำจืดได้แก่ *Microcystis, Anabaena, Aphanizomenon, Nodularia* และ *Oscillatoria* ปัจจัยสำคัญที่ก่อให้เกิด algal bloom มักมาจากอุณหภูมิ สารพิษในไซยาโนแบคทีเรียส่วนใหญ่มักเป็น lipopolysaccharide endotoxin, hepatotoxin และ neurotoxin ซึ่งจะมีผลต่อระบบทางเดินอาหาร ระบบประสาทและมะเร็งในตับ โดยเฉพาะ microcystin toxin จาก *Microcystis* อีกสาเหตุที่พบว่าทำให้สารพิษเหล่านี้ปนเปื้อนมากับแหล่งน้ำที่ใช้ทำผลิตดื่มคือ การใช้คอปเปอร์ซัลเฟต หรือจุนสี ($CuSO_4$) ในการกำจัดไซยาโนแบคทีเรีย ซึ่งจะทำให้เซลล์แตกและปลดปล่อยสารพิษออกมาปนเปื้อนได้

4. *Cyclospora cayetanensis*

เป็นโปรโตซัวอีกกลุ่มที่มีขนาดใหญ่กว่าและคล้ายกับ *Cryptosporidium* ซึ่งมักพบว่าทำให้เกิดโรคทางเดินอาหาร โดยเฉพาะกับผู้ป่วยโรค AIDS ที่มีอาการร้องร่วง โปรโตซัวกลุ่มนี้มักพบในประเทศเขตร้อน

การป้องกันและการควบคุมโรคที่มาจากแหล่งน้ำ

การป้องและควบคุมโรคที่มาจากแหล่งน้ำที่ดีนั้นจำเป็นต้องมีวิธีการที่แม่นยำและรวดเร็วในการตรวจสอบจุลินทรีย์ทั้งเชิงคุณภาพและปริมาณ รวมถึงสามารถประเมินปัจจัยที่ก่อให้เกิดความเสี่ยงต่อการเกิดโรคได้ วิธีการดังกล่าวที่มีความสำคัญและใช้กันอยู่ ได้แก่

1. Multiple-Barrier approach

เป็นระบบการควบคุมระบบต่าง ๆ ของการจัดการแหล่งน้ำอันได้แก่ การตรวจสอบและควบคุมแหล่งน้ำดิบ การบำบัดน้ำ ระบบการจำหน่ายน้ำ เป็นต้น ซึ่งล้วนแต่เป็นแหล่งที่มีโอกาสจะเกิดการปนเปื้อนได้สูง

2. การประเมินความเสี่ยง (Risk assesment)

เป็นวิธีการที่เป็นประโยชน์ต่อการจำแนกวิเคราะห์สาเหตุของโรค วิธีการนี้จะทำจากการรวบรวมข้อมูลจากแหล่งน้ำที่มีการปนเปื้อนจริง แล้วทำการทำนายเพื่อใช้ในการป้องกันต่อไป

3. การใช้จุลินทรีย์เป็นตัวบ่งชี้ (Microbial indicator)

เนื่องจากการติดตามและตรวจสอบจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคน้ำเป็นวิธีที่ทำได้ลำบากและใช้ค่าใช้จ่ายสูง ดังนั้นการตรวจสอบโดยทางอ้อมทำได้โดยใช้ติดตามจากจุลินทรีย์ที่มีความใกล้เคียงกับกลุ่มที่ก่อโรค แต่ติดตามได้ง่ายและไม่สิ้นเปลืองใช้จ่ายเท่า ดังนั้นจึงเรียกจุลินทรีย์ที่ใช้ในการติดตามทางอ้อมนี้ว่าเป็นจุลินทรีย์บ่งชี้ (microbial indicator)

คุณสมบัติของการเลือกใช้จุลินทรีย์เพื่อเป็นตัวบ่งชี้กลุ่มที่ก่อโรคในแหล่งน้ำ ประกอบไปด้วย

1. ควรมีความสัมพันธ์ใกล้เคียงกับจุลินทรีย์ที่พบในทางเดินอาหารของสัตว์เลือดอุ่น
2. การปรากฏในแหล่งน้ำแม้ว่าแหล่งน้ำนั้นจะมีการปนเปื้อนหรือไม่จากกลุ่มก่อโรคก็ตาม
3. ควรมีจำนวนประชากรสูงกว่ากลุ่มที่ก่อโรคในแหล่งน้ำนั้น ๆ
4. ควรมีความทนทานเทียบเท่ากับกลุ่มก่อโรคในสิ่งแวดล้อมนั้น ๆ
5. ไม่ควรมีการเพิ่มจำนวนของเซลล์ได้ในแหล่งน้ำ
6. สามารถตรวจสอบได้ง่ายและไม่ใช้ค่าใช้จ่ายสูง
7. ไม่ควรเป็นกลุ่มที่ก่อโรคเสียเอง

ตัวอย่างของจุลินทรีย์ที่ใช้เป็นตัวบ่งชี้จุลินทรีย์ก่อโรคสำคัญในแหล่งน้ำ ได้แก่

ก. แบคทีเรียกลุ่ม coliform

เป็นกลุ่มแบคทีเรียที่เป็น aerobe และ facultative anaerobe แกรมลบไม่สร้างสปอร์ รูปร่างเป็นแท่งสั้นสามารถใช้น้ำตาลแลคโตสเป็นแหล่งอาหารคาร์บอนในกระบวนการหมักและได้ผลิตภัณฑ์เป็นกรดและก๊าซภายในเวลา 24-48 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 35 °ซ แบคทีเรียในกลุ่มนี้ส่วนใหญ่อยู่ในสกุล *Enterobacteriaceae* ซึ่งได้แก่จีนัส *E. coli, Enterobacter, Klebsiella* และ *Citrobacter* ซึ่งส่วนใหญ่จะสร้างเอนไซม์ β-galactosidase และไม่สร้าง cytochrome oxidase ปัจจุบันการใช้ coliform เป็นจุลินทรีย์ชี้วัดโดยเฉพาะในแหล่งน้ำที่จะนำมาใช้เพื่อการอุปโภคบริโภคยังคงมีใช้กันอยู่อย่างแพร่หลาย

ข. แบคทีเรียกลุ่ม fecal coliform (thermotolerant coliform)

จัดเป็นกลุ่ม coliform ที่สามารถหมักน้ำตาลแลคโตสให้ได้เป็นกรดและก๊าซได้ที่อุณหภูมิ 44.5 $\pm$ 0.2° ซ การพบแบคทีเรียกลุ่มนี้ในแหล่งน้ำมักพบว่า มีความสัมพันธ์กันอย่างดีกับการปรากฏของการปนเปื้อนอุจจาระจากสัตว์เลือดอุ่นในแหล่งน้ำ กลุ่มแบคทีเรียที่เป็น fecal coliform ได้แก่ *E. coli* และ *Klebsiella pneumoneae* อย่างไรก็ตามในการตรวจสอบและติดตามไวรัสหรือ

โปรโตซัวที่ก่อโรคมักไม่ใช้ fecal coliform เนื่องจากมีความอ่อนแอเมื่ออยู่ในแหล่งน้ำมากกว่าไวรัสและโปรโตซัวก่อโรค

ค. แบคทีเรียกลุ่ม Steptococci และ Enterococci

เป็นกลุ่มแบคทีเรียแกรมบวก รูปร่างทรงกลมมักพบในลำไส้สัตว์เลือดอุ่นและสัตว์ขนาดเล็กบางชนิด ตัวอย่างเช่น *Streptococcus faecalis, S. faecium* ซึ่งเป็นกลุ่ม enterococci ที่สัมพันธ์กับคนมากที่สุด ในขณะที่ *S. bovis, S. equinus* และ *S. avium* จะคล้ายกับกลุ่มที่ปนเปื้อนมาจากสัตว์อื่น ๆ และนก แบคทีเรียกลุ่มนี้มักไม่เพิ่มจำนวนในแหล่งน้ำ และนิยมใช้เป็นจุลินทรีย์บ่งชี้ไวรัสก่อโรคในน้ำทะเลและ sludge การประเมินแหล่งที่มาของการปนเปื้อนในแหล่งน้ำจากจุลินทรีย์ก่อโรค โดยจุลินทรีย์บ่งชี้กลุ่มนี้มีค่าเท่าทับสัดส่วนระหว่าง fecal coliform และ fecal streptococci หรือที่เรียกว่า FC/FS ratio ถ้าค่า FC/FS มีค่ามากกว่าหรือเท่ากับ 4 แสดงว่าแหล่งน้ำมีการปนเปื้อนจากอุจจาระคน แต่ถ้าค่า FC/FS มีค่าน้อยกว่าหรือเท่ากับ 0.7 แสดงว่าแหล่งน้ำนั้นได้รับการปนเปื้อนจากสัตว์ อย่างไรก็ตามอายุของการวิเคราะห์แบบนี้จะเชื่อถือได้ในระยะเวลาไม่เกิน 24 ชั่วโมง มาตราฐานของการใช้จุลินทรีย์บ่งชี้สำหรับน้ำดื่ม และแหล่งน้ำเพื่อสันทนาการดังสรุปในตารางที่ 9

ตารางที่ 9 แสดงมาตราฐานของจำนวนจุลินทรีย์บ่งชี้ในน้ำดื่มและแหล่งน้ำเพื่อสันทนาการ

(ที่มา : C. J. Hurst 1997)

มาตราฐานของบางองค์การ	จำนวนแซลล์ต่อ 100 มล.				ความขุ่น (NTU)
	Total coliform		Fecal coliform		
	น้ำดื่ม	แหล่งน้ำเพื่อสันทนาการ	น้ำดื่ม	แหล่งน้ำเพื่อสันทนาการ	
1. WHO (World Health Organization	1-10		0		น้อยกว่า 1-5
2. ประเทศแคนนาดา	น้อยกว่า 10		0	200	น้อยกว่า 1-5
3. กลุ่ม มสหภาพยุ โรป (European Economic Community)	0	น้อยกว่า 10,000		น้อยกว่า 2,000	0-4
4. สหรัฐอเมริกา	0	200			1

ง. กลุ่ม Anaerobic bacteria

กลุ่ม Anaerobic bacteria ที่นิยมใช้เป็นจุลินทรีย์บ่งชี้ได้แก่ *Clostridium perfingens* นิยมใช้สำหรับอาหารกระป๋องและน้ำทะเล, *Bifidobacterium* และ *Bacteroides fragilis* ใช้สำหรับแหล่งน้ำที่มีการปนเปื้อนจากอุจจาระ เป็นต้น

จ. กลุ่ม Sulfite-Reducing Clostridia

กลุ่มสำคัญได้แก่แบคทีเรียในจีนัส *Clostridium perfingens* และ *Cl. welchii* มักใช้เป็นจุลินทรีย์บ่งชี้ในแหล่งน้ำที่มีการปนเปื้อนจากอุจจาระ ซึ่งลักษณะสำคัญที่บางครั้งสามารถนิยมใช้แบคทีเรียกลุ่มนี้คือมีการสร้าง endospore ทำให้สามารถใช้เป็นแบคทีเรียบ่งชี้สำหรับแหล่งน้ำได้

ฉ. กลุ่มแบคทีเรียจีนัส *Pseudomonas* spp.

แบคทีเรียในจีนัส *P. aeruginosa* พบว่าเป็นสปีชีส์หนึ่งในกลุ่มจีนัสที่พบว่า มีความทาทานต่อกระบวนการบำบัดน้ำด้วยโอโซน (ozonation) ได้เป็นอย่างดี ดังนั้นจึงสามารถใช้เป็นแบคทีเรียบ่งชี้ในระบบบำบัดน้ำด้วยวิธีทางเคมี เช่น ตรวจสอบในสระว่ายน้ำได้ เป็นต้น

ช. กลุ่มไวรัสแบคเทอริโอฟาจ (Bacteriophage)

ไวรัสกลุ่มนี้มีคุณสมบัติคล้ายเอนเทอริกไวรัส แต่ตรวจสอบได้ง่ายกว่า เพราะเหตุว่ามักมีจำนวนประชากรมากกว่าเอนเทอริกไวรัสและพบในสิ่งแวดล้อมต่าง ๆ ได้มากกว่า กลุ่มที่นิยมใช้คือ โคลิฟาจ (coliphage) ซึ่งเป็นไวรัสบ่งชี้ในแหล่งน้ำทะเลได้เป็นอย่างดีโดยพบว่าให้ผลสอดคล้องกับการปรากฏของ *Salmonella* และเอนเทอริกไวรัสด้วย การตรวจสอบดูได้จากการที่แต่ละอนุภาคไวรัสสร้างวงใส (plaque) มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางใหญ่กว่า 3 มิลลิเมตรบนโคโลนีของแบคทีเรียเจ้าบ้าน (bacterial host)

ซ. กลุ่ม acid-fast แบคทีเรีย

ตัวอย่างของแบคทีเรียที่มีลักษณะเป็น acid-fast ได้แก่ แบคทีเรียในจีนัส *Mycobacterium fortuitum* และ *M. pheei* ซึ่งมีลักษณะสำคัญ มีความทนทานต่อโอโซน และคลอรีนมากกว่า *E. coli*

ฌ. Heterotrophic Plate Count (HPC)

มักเป็นกลุ่ม heterotroph ที่เป็น aerobe และ facultative anaerobe เช่น *Aeromonas* และ *Flavobacterium* นิยมใช้กับแหล่งน้ำที่บำบัดด้วยคลอรีน ส่วนในน้ำดื่มมักพบอยู่ในช่วง 1-10^4 เซลล์ต่อมิลลิลิตร แต่ตามมาตราฐานไม่ควรพบเกิน 500 เซลล์ต่อมิลลิลิตร

4. การใช้การปรากฏของสารเคมีตัวบ่งชี้ (Chemical indicator)

ก. สารจำพวก Fecal sterols

เป็นกลุ่มสารเคมีที่พบว่ามีความสัมพันธ์กับการปนเปื้อนจากอุจจาระโดยเฉพาะจากคน กลุ่มของสารเหล่านี้ได้แก่ 5-β-cholestan-3β-ol (coprostanol), coprosterol,

cholesterol และ coprostanone แต่ข้อจำกัดของการตรวจสอบสารกลุ่มนี้คือ สารเหล่านี้จะถูกย่อยสลายได้ง่ายโดยเฉพาะจากกระบวนการบำบัดน้ำ

ข. Free-Cl_2 residual

นิยมใช้สำหรับการตรวจสอบน้ำดื่ม

ค. เอนโดท็อกซิน (endotoxin)

เป็นองค์ประกอบที่พบบนส่วน outermembrane ของแบคทีเรียแกรมลบ สามารถตรวจสอบโดยวิธี LAL assay (Limulus Amoebocyte Lysate) โดยปฏิกริยาจะเกิดขึ้นระหว่างเซลล์เม็ดเลือดขาวของ horseshoe crab กับเอ็นโดท็อกซิน โดยก่อให้เกิดความขุ่นซึ่งตรวจสอบได้โดย spectrophotometer

ระบบการติดตามจุลินทรีย์บ่งชี้ในสิ่งแวดล้อม

Detection method for some indicator microorganisms

ก่อนที่จะมีการติดตามหรือวิเคราะห์จุลินทรีย์จากตัวอย่างในสิ่งแวดล้อมในลำดับแรก การเก็บตัวอย่าง การขนย้ายและการเก็บรักษาตัวอย่างถูกวิธี โดยเริ่มจากการเก็บตัวอย่างจากสิ่งแวดล้อม เช่น ตัวอย่างน้ำจำเป็นต้องมีการเก็บใส่ภาชนะที่เป็นแก้วปลอดเชื้อ หรือขวด polypropylene ปลอดเชื้อ จากนั้นควรเติมสารละลายโซเดียมไทโอซัลเฟต (Sodium thiosulfate ; $Na_2S_2O_3$) ลงไปเพื่อ neutrialize หรือยับยั้งผลอันอาจเกิดมาจากสารกลุ่มฮาโลเจน (residual halogen compound) เช่น ถ้าเติม $Na_2S_2O_3$ ลงไปในปริมาณ 18 มิลลิกรัมต่อลิตรจะสามารถ neutralize คลอรีนอิสระได้มากกว่า 5 มิลลิกรัมต่อลิตร หรือในบางครั้งอาจมีการเติมสาร disodium salt ของ EDTA (Na_2EDTA) ในปริมาณ 372 มิลลิกรัมต่อลิตรเพื่อเป็นสาร chelate ในการจับหรือลดโลหะที่พิษในน้ำตัวอย่างได้ ในการขนย้ายตัวอย่างควรทำในเวลาอันสั้นไม่ควรเกิน 24 ชั่วโมงก่อนที่จะทำการวิเคราะห์ต่อไป และควรเก็บรักษาในอุณหภูมิต่ำกว่า 10 °ซ

ระบบการติดตามจุลินทรีย์โดยเฉพาะจุลินทรีย์กลุ่ม coliform ที่สำคัญที่นิยมใช้กัน ได้แก่

1. MPN (Multiple-Tube Technique)

เป็นวิธีวิเคราะห์ที่อาศัยหลักการทางสถิติการสุ่มแบบ Poisson ผลที่ได้รับจะแสดงในรูปของ MPN ของจุลินทรีย์ต่อปริมาณของตัวอย่าง ในการตรวจสอบ coliform จะอาศัยหลักการที่กลุ่ม coliform สามารถเกิดกระบวนการ fermentationในอาหารที่มีแลคโตสเป็นแหล่งอาหารคาร์บอนที่ 35° ซ เป็นเวลา 2 วันแล้วผลิตกรดและก๊าซ (รายละเอียดและวิธีการดังกล่าวแล้วในคู่มือปฏิบัติการของวิชานี้) อย่างไรก็ตามวิธีการนี้จัดว่าเป็นวิธีที่ใช้เวลานาน และค่าที่ได้เป็นค่าที่ค่อนข้างสูงกว่าความเป็นจริง ในบางครั้งเพื่อช่วยเหลือแบคทีเรีย

หรือ coliform จากตัวอย่างที่ได้รับบาดเจ็บ หรือมีสภาพเซลล์ที่ไม่สมบรูณ์ อาจทำโดยเลี้ยงในอาหาร M-T7 ที่อุณหภูมิ 37° ซ ก่อนเป็นเวลา 8 ชม. โดยเฉพาะกับตัวอย่างน้ำที่มีคลอรีนซึ่ง coliform อาจได้รับความกดดันจากคลอรีนมาก่อน หรือบางครั้งเพื่อต้องการทราบปริมาณ coliform ที่คาดว่ามีอยู่น้อย อาจใช้เทคนิคการเตรียมอาหารแลคโตสแบบ triple strength (มีความเข้มข้นหรือปริมาณของสารอาหารเป็น 3 เท่าขององค์ประกอบในสูตรมาตราฐานปกติ) ซึ่งทำให้สามารถใช้น้ำตัวอย่างในการวิเคราะห์มากขึ้นกว่าเดิมด้วย

2. Rapid method

วิธีการที่จะกล่าวต่อไปนี้เป็นวิธีที่รวดเร็วเหมาะสมต่อการให้ข้อมูลในการเฝ้าระวังการปนเปื้อนในแหล่งน้ำ ซึ่งวิธีโดยปกติทั่วไปจะใช้เวลาไม่น้อยกว่า 18 ชั่วโมงในการที่จะทราบผลจากการวิเคราะห์ทั้งเชิงปริมาณและคุณภาพของที่มาของการปนเปื้อน
หลักการโดยรวมของวิธีนี้ต้องคำนึงถึงประเด็นสำคัญ ๆ ดังต่อไปนี้

ก. สามารถครอบคลุมกลุ่มจำนวนประชากรจุลินทรีย์ที่สนใจให้ได้มากที่สุด (high percent recovery)

ข. วิธีการตรวจสอบจะต้องมีความจำเพาะเจาะจงต่อชนิดจุลินทรีย์ที่สนใจสูงที่สุด (high specificity)

ค. ต้องตรวจสอบได้แม้มีจำนวนประชากรของจุลินทรีย์เพียงเล็กน้อยก็ตาม (high sensitivity)

ตัวอย่างของ rapid method ที่นิยมใช้กันและอยู่ในขั้นกำลังพัฒนามี ดังต่อไปนี้

2.1 การตรวจนับจุลินทรีย์โดยตรงภายใต้กล้องจุลทัศน์

สีที่นิยมใช้ย้อมจุลินทรีย์เพื่อการตรวจนับโดยตรงได้แก่ acridine orange, 5-cyano-2,3-ditilyl tetrazolium chloride ซึ่งเป็นสารประกอบเรืองแสง จำเป็นต้องใช้กล้องจุลทัศน์แบบ fluorescene ซึ่งมีราคาแพงและไม่สามารถจำแนกความแตกต่างต่อเซลล์ที่ยังมีชีวิตอยู่และที่ตายแล้วออกจากกันได้

2.2 การตรวจวัด ATP

วิธีนี้ทำได้รวดเร็วโดยเฉพาะอย่างยิ่งปริมาณ ATP ที่วัดได้มีความสัมพันธ์โดยตรงกับความหนาแน่นของประชากรจุลินทรีย์ แต่มีข้อจำกัดคือ ไม่สามารถจำแนกชนิดของจุลินทรีย์ได้ และจำเป็นต้องมีความหนาแน่นของจุลินทรีย์อย่างน้อย 1,000 เซลล์จึงทำการตรวจวัดได้

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

2.3 การติดฉลากกัมมันตรังสี

มักทำการติดฉลากสารกัมมันตรังสีเข้ากับสารอาหารที่จุลินทรีย์จะใช้ได้แล้วให้ผลิตภัณฑ์เป็นก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ เป็นวิธีที่รวดเร็วและมีความไวสูง แต่ยังไม่นิยมแพร่หลาย

2.4 การติดฉลากแอนติบอดีเรืองแสง

วิธีนี้จำเป็นต้องใช้กล้องจุลทัศน์แบบ fluorescene เพื่อตรวจสอบเซลล์ที่ติดฉลากด้วยแอนติบอดีเรืองแสง อย่างไรก็ตามความไวและความจำเพาะเจาะจงต่อจุลินทรีย์คงมีการพัฒนาอยู่

2.5 การตรวจสอบจากเอนไซม์

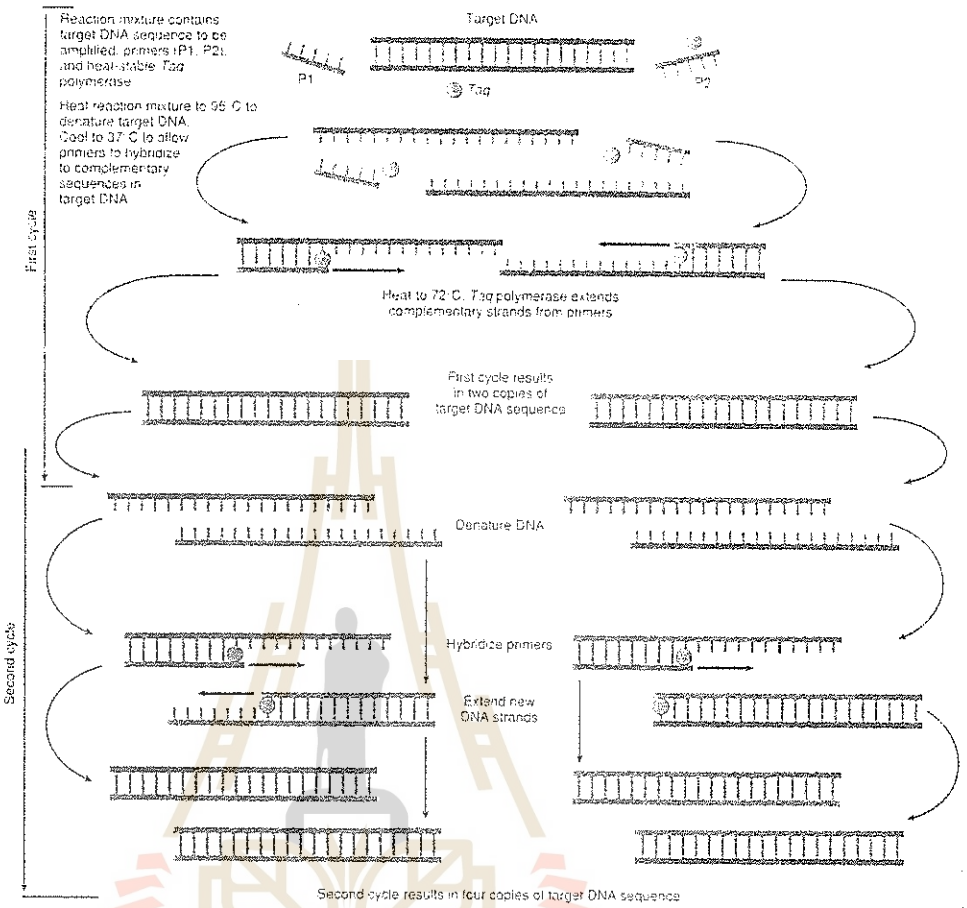
ตัวอย่างที่นิยมกันแพร่หลายคือการตรวจสอบเอนไซม์ β-galactosidase ใน *E. coli* ที่สามารถย่อยสลาย ONPG (O-nitrophenyl-β-galactopyrenoside) โดยจะได้ผลิตภัณฑ์สีเหลืองชื่อ nitrophenol ซึ่งสามารถตรวจสอบกิจกรรมของเอนไซม์ได้โดย nitrophenol จะดูดกลืนแสงได้ที่ความยาวคลื่น 420 นาโนเมตร วิธีนี้มักใช้ตรวจสอบ *E. coli* หลังจากทำการบ่มเชื้อบนอาหาร M-7hFC ไปแล้ว 7 ชั่วโมง จากนั้นนำมาเพาะเลี้ยงที่ 41.5° ซ และสามารถตรวจสอบดูว่าเป็น *E. coli* หรือไม่จากสีของโคโลนีที่เป็นสีเหลืองอันเนื่องมาจาก nitrophenol นั่นเอง

2.6 การใช้เทคนิคทาง ดีเอ็นเอ

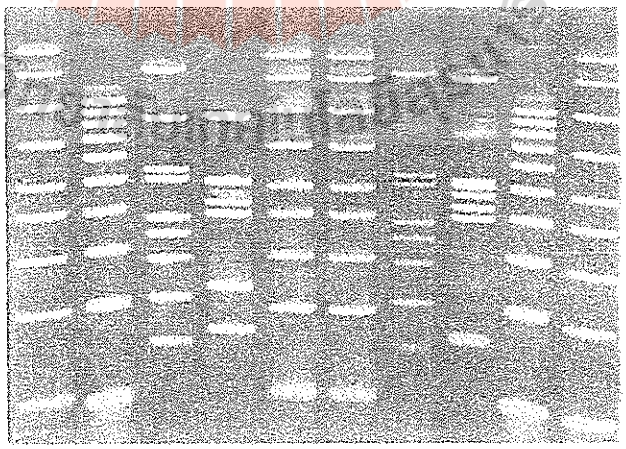
เทคนิคทางดีเอ็นเอในปัจจุบันได้รับความสนใจและถูกพัฒนาขึ้นอย่างรวดเร็ว เนื่องจากมีข้อได้เปรียบอย่างสูงทั้งในเรื่องของความไวและความจำเพาะเจาะจงของจุลินทรีย์ แม้จะมีจำนวนประชากรน้อยก็ตาม เทคนิคดังกล่าวได้แก่ PCR (Polymerase Chain Reaction) ซึ่งมีหลักการคือสามารถเพิ่มจำนวนชุดของชิ้นส่วนดีเอ็นเอของสิ่งมีชีวิตนั้น ๆ ให้สามารถตรวจสอบได้อย่างชัดเจนและจำเพาะเจาะจง แม้จะมีดีเอ็นเอตั้งต้นเพียง 1 ชุด (เทียบเท่ากับสิ่งมีชีวิตที่เป็น prokaryote 1 เซลล์) ก็ตาม

ขั้นตอนสำคัญของปฏิกริยา PCR ดังสรุปในรูปที่ 45

(A)



(B)



รูปที่ 45 (A) แสดงขั้นตอนสำคัญของปฏิกริยา PCR (B) แสดงลักษณะของชุดดีเอ็นเอที่ถูกเพิ่มจำนวนขึ้นด้วยเทคนิค PCR (ที่มา : D. Lim 1998)

ก. การทำให้ดีเอ็นเอเสียภาพ (DNA denaturation)

ในขั้นตอนนี้จะทำให้ดีเอ็นเอของจุลินทรีย์ที่ต้องการจะตรวจสอบเสียสภาพคือแยกจากสายที่จับกันเป็นคู่ให้กลายเป็นสายเดี่ยวโดยใช้อุณหภูมิที่สูงประมาณ 90-95 °ซ เพื่อให้ชิ้นส่วน ดีเอ็นเอที่ได้รับการออกแบบ (DNA primer) ให้ครอบคลุมชิ้นดีเอ็นเอที่จำเพาะเจาะจงจะเข้าจับเกาะได้ง่ายในขั้นตอนต่อไป

ข. Primer annealing

ในขั้นตอนนี้ DNA primer จะเข้าจับกับสายดีเอ็นเอด้วยลำดับเบสที่คู่สมกันที่แยกเป็นสายเดี่ยวแล้วจากขั้นตอนแรก จากนั้นลดอุณหภูมิลงให้เหลือประมาณ 40-60 °ซ ดีเอ็นเอและ primer จะจับกันเป็นสายคู่อีกครั้ง

ค. Primer extension

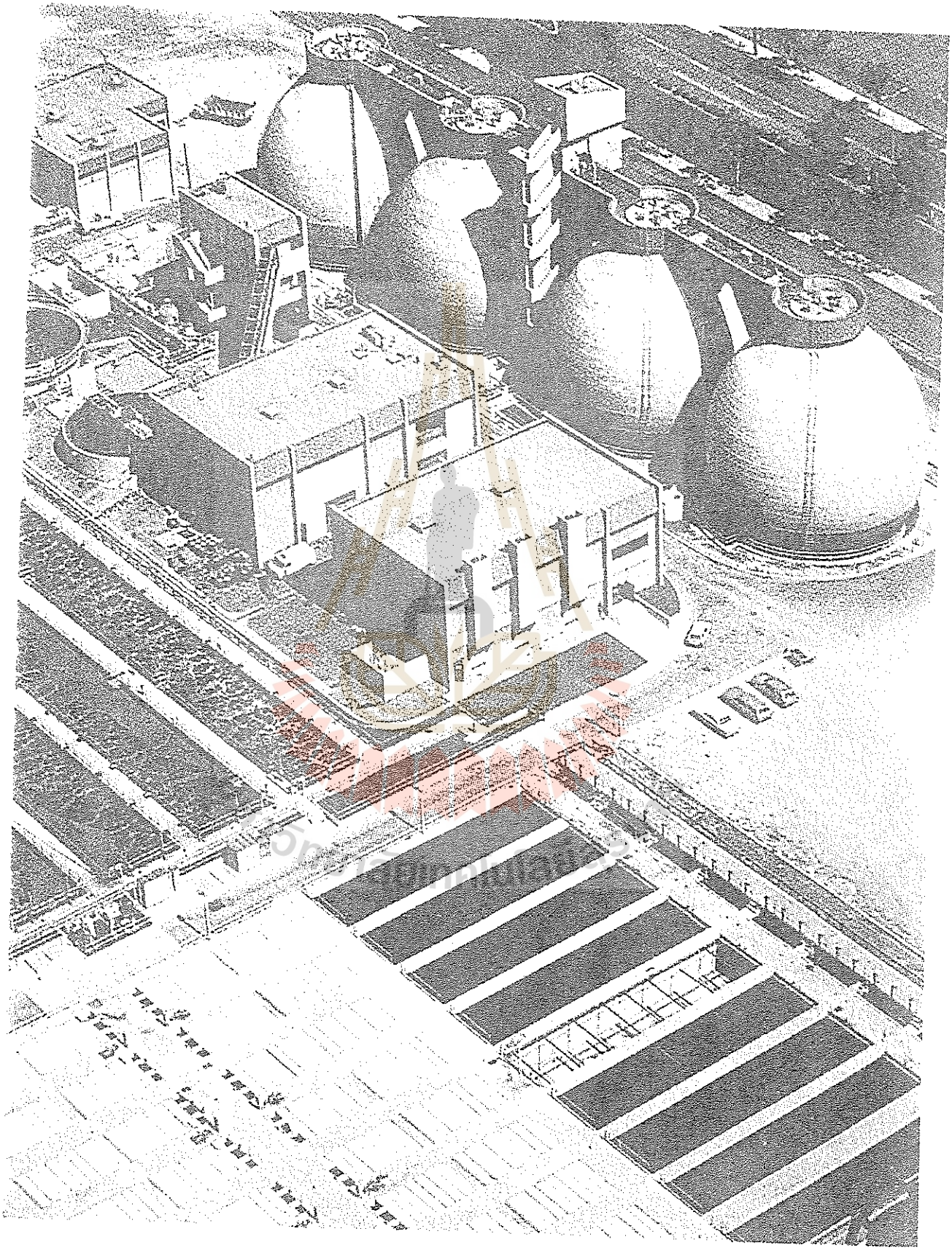
ในขั้นตอนนี้ดีเอ็นเอ ชุดใหม่จะถูกสังเคราะห์ขึ้นจาก primer ที่ครอบคลุมชิ้นส่วนดีเอ็นเอที่ต้องการจะศึกษาโดยเอนไซม์ Taq DNA polymerase ซึ่งทำงานได้ดีที่อุณหภูมิประมาณ 70° ซ

เมื่อครบทั้ง 3 ขั้นตอนที่กล่าวมาแล้วจะมีการทำซ้ำ ๆ กันไปหลายครั้งจนในที่สุดจะได้ชิ้นส่วนดีเอ็นเอในปริมาณพอที่จะศึกษาได้ในที่สุด โดยคำนวนชุดของดีเอ็นเอที่เพิ่มขึ้นจะมีความสัมพันธ์เป็นแบบ 2^n โดยที่ n หมายถึงจำนวนรอบที่ทำซ้ำๆกัน

คำถามท้ายบท

1. ค่า MID หมายถึงอะไร
2. เมื่อเปรียบเทียบระหว่างการใช้ coliform และ fecal coliform ในการเป็นจุลินทรีย์บ่งชี้ ท่านคิดว่ากลุ่มใดมีความเหมาะสมกว่ากัน จงอภิปรายถึงเหตุผล
3. จงอธิบายความหมายของ Opportunistic bacterial pathogen
4. ทำไรจึงใช้ *E. coli* เป็นจุลินทรีย์บ่งชี้ของ *Giardia lambia* และ *Cryptosporidium* ไม่ได้
5. จงอธิบายความหมายของประโยคต่อไปนี้ "ในอ่างสุระ 1 ตรวจสอบแล้วพบว่ามีค่า FC/FS = 4.5
6. จงเปรียบเทียบให้เห็นถึงความจำเพาะเจาะจง (specificity) ในการตรวจสอบและติดตาม *E. coli* ในแหล่งน้ำระหว่างการใช้วิธีตรวจสีจากการย่อย ONPG และวิธี PCR ว่ามีข้อได้เปรียบเสียเปรียบต่างกันอย่างไร
7. PFU หมายถึงอะไร

บทที่ 6 การบำบัดน้ำเสีย



บทที่ 6 การบำบัดแหล่งน้ำ

สาเหตุที่ก่อให้น้ำมีคุณภาพที่ไม่เหมาะสมต่อการดำรงชีวิตของสิ่งมีชีวิตไม่ว่าจะเป็นที่อยู่อาศัย หรือเพื่อการอุปโภคบริโภคเกิดได้มาจากความเสียสมดุลของสสารที่อยู่ในแหล่งน้ำนั้น ๆ ซึ่งส่วนใหญ่แล้วเกิดจากการกระทำของคนเกือบทั้งสิ้น แหล่งที่ก่อให้เกิดน้ำเสียและลักษณะสำคัญของน้ำเสียที่พบได้ทั่วไปแบ่งออกได้ดังนี้

1. จากที่พักอาศัย

ลักษณะของน้ำเสียจากที่พักอาศัยโดยทั่วไปมีสีเทาอมน้ำตาล มีกลิ่นและมีปริมาณของน้ำถึง 99% โดยมีองค์ประกอบหลักสำคัญที่ต้องคำนึงในการบำบัดได้แก่

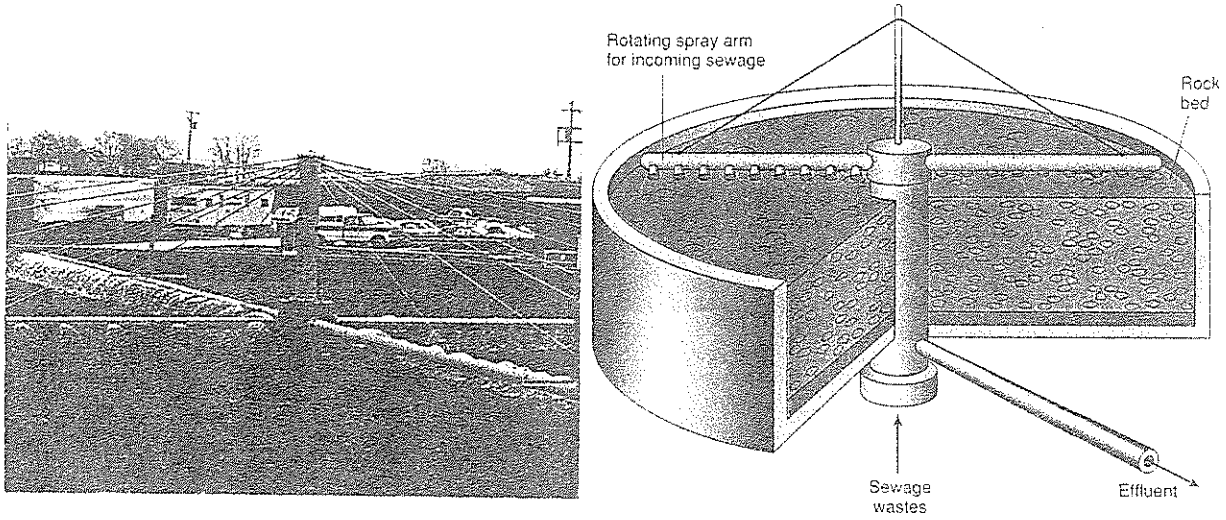
ก. Total suspended solids (TSS)

ข. Biochemical oxygen demand (BOD)

ค. สารอาหารไนโตรเจน (N) และสารประกอบฟอสฟอรัส (P)

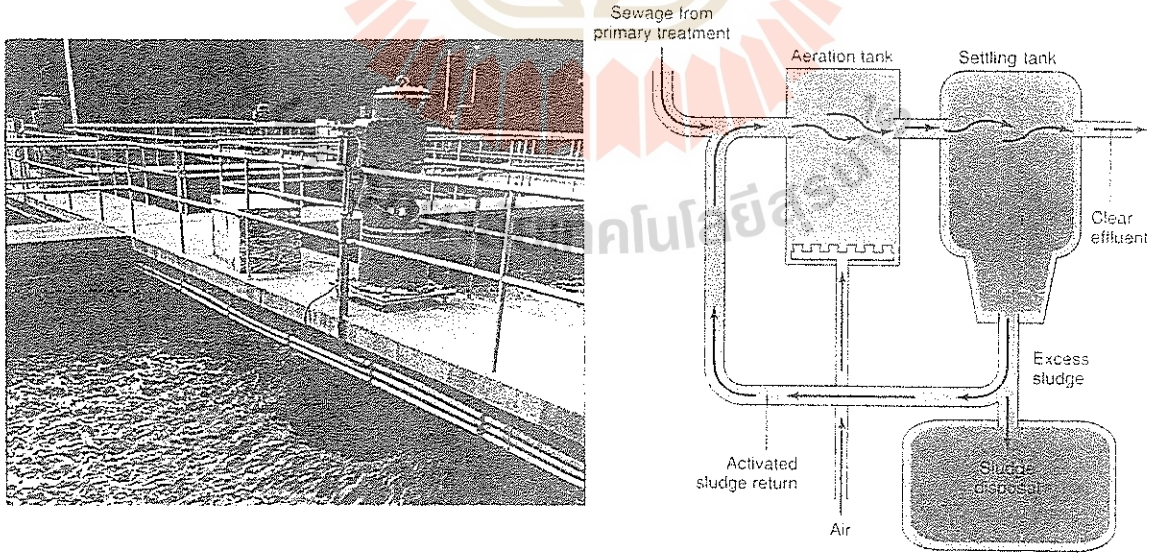
ง. แบคทีเรียก่อโรค

โดยทั่วไปน้ำทิ้งจากแหล่งที่พักอาศัยมักมีปริมาณของแอมโมเนียมโดยเฉลี่ย 15 มิลลิกรัมไนโตรเจนต่อลิตร ซึ่งสาเหตุที่พบว่ามีในปริมาณสูงเพราะอ๊อกซิเจนที่ใช้ในการบำบัดไม่เอื้อต่อกระบวนการ nitrification ดังนั้นการบำบัดน้ำเสียจากแหล่งที่พักกอาศัยมักเริ่มจากการปล่อยให้ตกตะกอน กำจัดส่วนที่ลอยบนผิวน้ำในขั้นตอนนี้ที่เรียกว่า primary treatment จะช่วยลดค่า BOD ประมาณ 35% และลดค่า TSS ประมาณ 30-50% แต่สามารถลดปริมาณ N และ P ได้เพียง 10-20% ในการบำบัดสำคัญต่อมาที่เรียกว่า secondary treatment โดยน้ำหรือของเหลวที่ผ่านขั้นตอน primary treatment แล้วเรียกว่า effluent พบว่าเมื่อผ่านขั้นตอนนี้จะสามารถลดค่า TSS ได้ถึง 85% และค่า BOD จะเหลือเพียง 30 มิลลิกรัมต่อลิตร วิธีการสำคัญของขั้นตอนนี้คือการใช้กระบวนการที่เรียกว่า activated sludge ซึ่งเป็นกระบวนการที่ให้อ๊อกซิเจนในการบำบัดในปริมาณสูงพร้อมกับจะไปช่วยเร่งการเจริญของแบคทีเรีย (activated sludge) ที่เกาะอยู่บนวัสดุต่าง ๆ ที่ใช้ในการบำบัด เช่น trickling filter (ดังแสดงในรูปที่ 46)



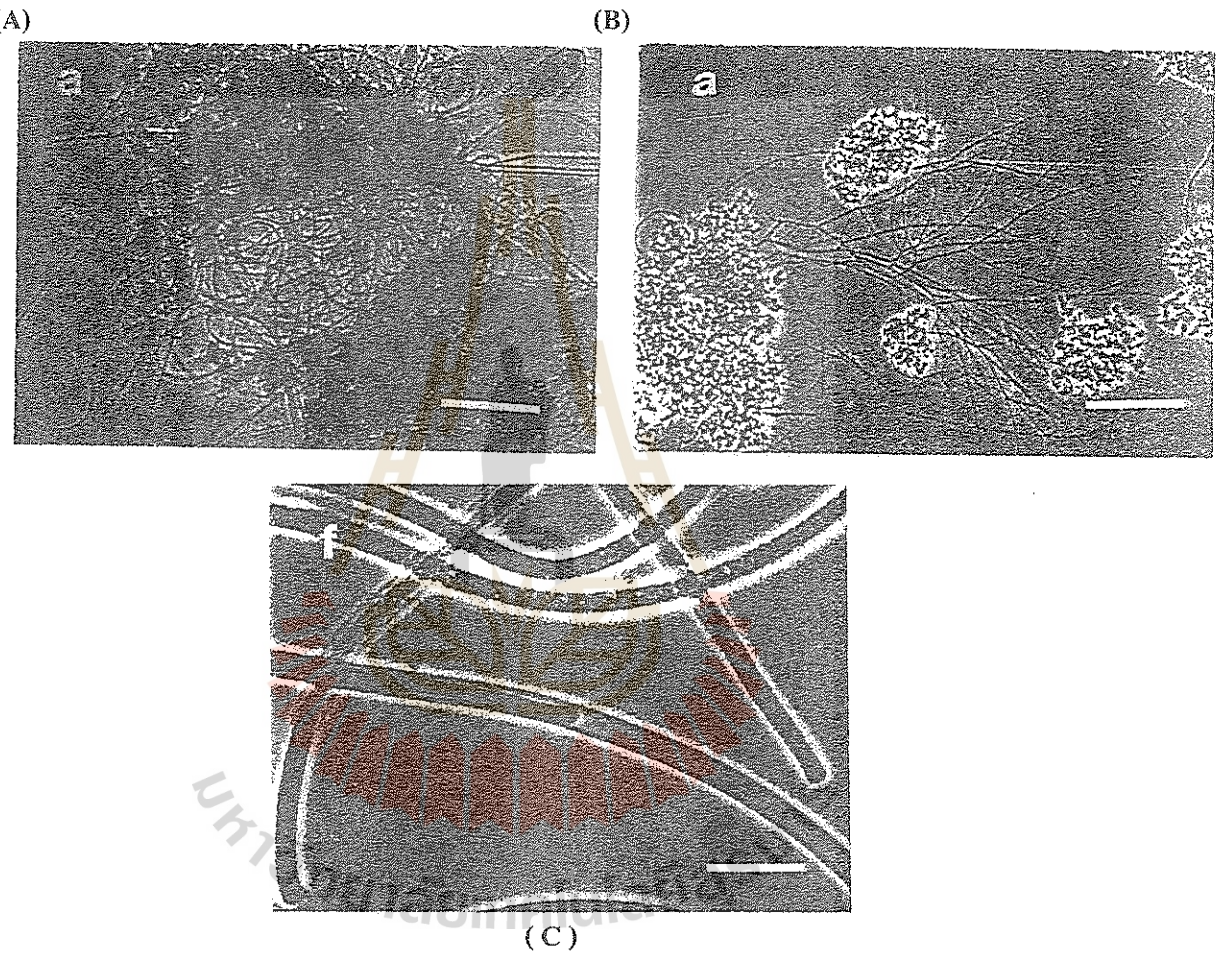
รูปที่ 46 แสดงภาพและไดอะแกรมของระบบ trickling filter (ที่มา : D. Lim 1998)

ในระบบ trickling filter นั้นจะมีลักษณะเป็นแท้งค์ขนาดใหญ่ภายในบรรจุด้วยหิน กรวด และวัสดุที่มีรูพรุน จากนั้น effluent จะถูกพ่นเป็นละอองเหนือวัสดุเหล่านี้ ซึ่งขั้นตอนนี้สารอินทรีย์จะถูกย่อยสลายด้วยกลุ่มจุลินทรีย์ที่เป็น heterotroph ซึ่งรวมกันอยู่บน biofilm ที่เป็นแผ่นเมือกที่สร้างจากแบคทีเรียในกลุ่มจีนัส *Zoogloea* จากนั้นสารอินทรีย์ก็จะถูกอ็อกซิไดซ์กลายเป็นก๊าซและสารอนินทรีย์ในที่สุด อีกระบบหนึ่งของ activated sludge คือการให้อ๊อกซิเจนในแท้งค์ (activated sludge aeration tank) ซึ่งจะมีส่วนของ floc หรือ clump เกิดขึ้นมากมายประกอบกับสามารถนำ floc หรือ clump ที่เป็นแหล่งของแบคทีเรียเหล่านี้กลับมาใช้ใหม่ได้ ลักษณะของ activated sludge aeration tank ดังแสดงในรูปที่ 47



รูปที่ 47 แสดงภาพและไดอะแกรมของระบบ activated sludge aeration tank (ที่มา : D. Lim 1998)

การบำบัดในขั้นตอนนี้พบว่า บางครั้งสามารถลดปริมาณ P และ N ได้ถึง 50 และ 25 % ตามลำดับ โดยเฉพาะบางครั้งการลดปริมาณของ P อาจทำได้โดยใช้การตกตะกอนโดย alum (aluminium sucfate), เกลือของเหล็ก เช่น $FeCl_3$ ในส่วนของแบคทีเรียกลุ่ม coliform บางครั้งอาจกำจัดได้ทั้งในขั้น primary และ/หรือ secondary treatment โดยการใช้คลอรีนซึ่งสามารถลดจำนวน coliform เหลือเพียงประมาณ 200 MPN ต่อ 100 มิลลิลิตร ปัญหาของการบำบัดในขั้นนี้พบว่าบางครั้งเกิดกระบวนการที่เรียกว่า bulking ซึ่งมักจะพบกลุ่มแบคทีเรียที่เป็นเส้นลาย (filamentous bacteria) เช่น *Beggiatoa, Sphaerotilus* และ *Thiothrix* (ดังแสดงในรูปที่ 48)



รูปที่ 48 แสดงลักษณะของแบคทีเรียที่ก่อให้เกิด bulking (A) *Beggiatoa*, (B) *Sphaerotilus* และ (C) *Thiothrix* (ที่มา : D. Jenkins และคณะ 1993)

ลักษณะ bulking นี้จะทำให้เกิดการเสียสภาพไปของ floc ซึ่งทำให้ตกตะกอนช้าลง สาเหตุของการเกิด bulking ยังไม่ทราบแน่ชัดแต่คาดว่าน่าจะเกี่ยวเนื่องกับสภาพของน้ำทิ้งที่อาจเกื้อกูลต่อการเจริญของกลุ่มแบคทีเรียเส้นสาย

2. จากการกัดเซาะพังทลาย

น้ำที่เกิดจากการกัดเซาะพังทลายอาจเกิดขึ้นจากน้ำฝน น้ำท่วมที่กัดเซาะพื้นที่ตามธรรมชาติ หรือบางครั้งอาจไหลไปรวมกับแหล่งน้ำเสียจากชุมชนอื่น ๆ ดังนั้นองค์ประกอบทางเคมีจากแหล่งนี้ บางครั้งพบว่ามีค่าใกล้เคียงพอ ๆ กับแหล่งน้ำเสียอื่น ๆ โดยเฉพาะค่า TSS และ BOD มักพบว่ามีค่าสูง นอกจากนี้ปริมาณของสังกะสี ทองแดงและตะกั่วก็พบว่ามีค่าสูงด้วยเช่นกัน

3. จากโรงงานอุตสาหกรรมต่าง ๆ

3.1 อุตสาหกรรมกระดาษ

ประเภทของสารพิษหรือของเสียที่ได้มาจากกระบวนการผลิต ได้แก่ โซเดียมซัลเฟต โซเดียมไบซัลไฟต์ ดังนั้นมักพบว่าค่า BOD สูงมากรวมไปถึงการตรวจพบสารพิษประเภท dioxin อีกด้วย

3.2 อุตสาหกรรมปิโตเลียม

อุตสาหกรรมประเภทนี้ก่อให้เกิดสารพิษจำนวนมาก โดยเฉพาะฟีนอลและรวมไปถึงการรั่วไหลของน้ำมันลงสู่แหล่งน้ำด้วย

3.3 อุตสาหกรรมอาหาร

อุตสาหกรรมประเภทนี้จะก่อให้มีค่า TSS และ BOD สูง

3.4 อุตสาหกรรมเหมืองแร่

น้ำทิ้งจากโรงงานประเภทนี้มักมีสภาพเป็นกรดพร้อมกับโลหะหนักที่เป็นพิษบางตัวอย่าง เช่น ทองแดง สังกะสีและเหล็กซึ่งก่อให้เกิด FeS

4. จากการเกษตร

มักมาจากการใช้สารเคมีในรูปปุ๋ยหรือยากำจัดศัตรูพืช เช่น สารกลุ่ม chlorinated hydrocarbon เช่น DDT และ dioxin (เป็นกลุ่มของ chlorinated hydrocarbon) ดังนั้นโอกาสที่แหล่งน้ำจะเสื่อมโทรมก็มาจากเหตุของการใช้สารเหล่านี้ด้วย

นอกเหนือไปจากการบำบัดในขั้นตอน primary และ secondary reaetment และในบางครั้งของเสียที่ยังหลงเหลืออยู่ในรูป เกลืออนินทรีย์ หรือของแข็งยังจำเป็นต้องถูกกำจัดต่อไป โดยเฉพาะฟอสฟอรัสและไนโตรเจนที่อยู่ในรูปเกลืออนินทรีย์ ถ้าถูกปลดปล่อยลงสู่แหล่งน้ำก็จะก่อให้เกิดปรากฏการณ์ eutrophication ได้ ดังนั้นการบำบัดในขั้นตอนนี้จึงเรียกว่า tertiary treatment

ในกรณีของการลดปริมาณฟอสฟอรัสนั้น ฟอสเฟตจะถูกเปลี่ยนให้อยู่ในรูปที่ละลายน้ำได้ยากโดยทำให้เกิดเป็นสารประกอบกับอลูมิเนียม, แคลเซียม หรือเหล็ก แล้วรวบรวมกำจัดทิ้งไปในรูปของตะกอน ในส่วนของไนโตรเจนนั้นจะบำบัดโดยใช้หลักการของปฏิกริยา nitrification โดยจุลินทรีย์ ส่วนที่เป็นของแข็งจะทำการกำจัดโดยการกรองหรือปล่อยให้ตกตะกอน

การกำจัดจุลินทรีย์ก่อโรคในแหล่งน้ำเพื่อการอุปโภคบริโภค

การพัฒนาแหล่งน้ำสะอาดเพื่อการอุปโภค บริโภค จัดเป็นปัจจัยพื้นฐานที่สำคัญทางเศรษฐกิจและสังคม ดังนั้นการกำจัดจุลินทรีย์ก่อโรค (disinfection) จึงมีบทบาทสำคัญเป็นอย่างยิ่งในการพัฒนาแหล่งน้ำนั้นๆ วิธีในการกำจัดจุลินทรีย์ก่อโรคในแหล่งน้ำสามารถทำได้หลายวิธี เช่น การใช้คลอรีน การใช้โอโซน การกรอง เป็นต้น ซึ่งในแต่ละวิธีจะมีข้อจำกัดและปัจจัยที่มีอิทธิพลต่างกันไป เช่น ชนิดของจุลินทรีย์ก่อโรคในแหล่งน้ำนั้นๆ ซึ่งโดยทั่วไปพบว่ากลุ่มจุลินทรีย์ที่มีการสร้างเอนโดสปอร์หรือซีสต์จะมีความทนทานสูง โดยพบว่ากลุ่มที่ความทนทานสูงสุดได้แก่ โปรโตซัวที่สร้างซีสต์ รองลงไปคือแบคทีเรียที่สร้างเอนโดสปอร์กลุ่ม enteric virus และที่อ่อนแอที่สุดเป็นเซลล์แบคทีเรียปกติทั่ว ๆ ไป ปัจจัยที่มีอิทธิพลประการที่สองคือเวลาสัมผัส (contact time) สารที่ใช้ในการกำจัดจุลินทรีย์ซึ่งเป็นหน่วยเวลาที่ใช้บอกว่าใช้เวลานานเพียงใดในการกำจัดจุลินทรีย์นั้น ๆ ซึ่งมีจำนวนของจุลินทรีย์เป็นตัวแปรสำคัย ดังแสดงในสมการ

$\frac{Nt}{No} = e^{-kt}$; โดย No หมายถึงจำนวนจุลินทรีย์ที่เวลาตั้งต้น, Nt หมายถึงจำนวนจุลินทรีย์ภายหลังที่มีการกำจัดแล้ว, k หมายถึงค่า decay constant, e หมายถึงค่าของการยับยั้ง (inactivation)

ในส่วนของความหลากหลายชนิดจุลินทรีย์ในแหล่งน้ำก็พบว่ามีอิทธิพลต่อการใช่สารเคมีเพื่อกำจัดจุลินทรีย์ในแหล่งน้ำด้วยเช่นเดียวกัน กล่าวคือ เช่นเมื่อมีการใช้คลอรีนในการกำจัดจุลินทรีย์ในแหล่งน้ำดิบพบว่าในแหล่งน้ำนั้น ๆ มีความหลากหลายของจุลินทรีย์ค่อนข้างต่ำ ประสิทธิภาพในการใช้คลอรีนเพื่อการกำจัดจุลินทรีย์จะสูงกว่าในแหล่งน้ำที่มีความหลากหลายของจุลินทรีย์สูง ซึ่งน่าจะเป็นเหตุผลมาจากการจับกลุ่มกันเป็นชุมชนของจุลินทรีย์นานาชนิดจะช่วยป้องกันอันตรายบางส่วนอันมาจากคลอรีนได้นั่นเอง นอกจากนี้ในบางครั้งประสิทธิภาพของการใช้สารเคมีในการกำจัดจุลินทรีย์ก่อโรคในแหล่งน้ำยังต้องพิจารณาถึงปัจจัยสำคัญอีกประการหนึ่งคือ ความเข้มข้นของสารเคมีนั้น ซึ่งพบว่าจะมีความสัมพันธ์กับเวลาดังแสดงในสมการ

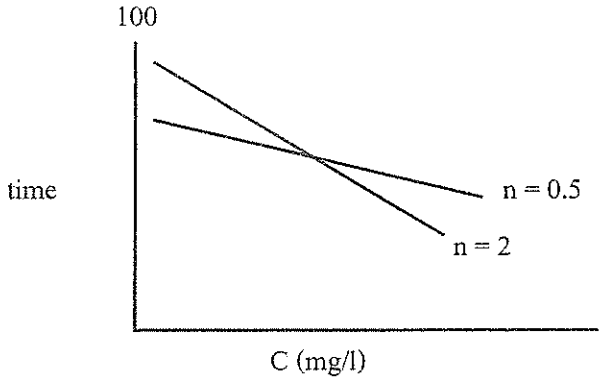
$K = C^n . t$; โดย C หมายถึง ความเข้มของสารเคมี (มก. ต่อลิตร),

t หมายถึง เวลาที่ใช้ในการกำจัดจุลินทรีย์ (นาที),

K หมายถึง ค่าคงที่ของจุลินทรีย์

n หมายถึง ค่าสัมประสิทธิ์ของการเจือจาง

ความสัมพันธ์ของสมการข้างต้นอาจประเมินค่าได้โดยทำการสร้างกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารเคมีและเวลา โดยค่าความชัน (n) จะเป็นตัวบอกถึงอิทธิพลของเวลาและความเข้มข้นของสาร (ดังแสดงในรูปที่ 49)



รูปที่ 49 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารเคมีที่ใช้กำจัดจุลินทรีย์กับเวลา
(ที่มา : D.W. Cornell และ D.W. Hawker, 1992)

ถ้าค่า n มีค่าน้อยกว่า 1 สามารถอธิบายได้ว่าอิทธิพลของเวลามีมากกว่าความเข้มข้นของสารเคมี แต่ถ้า n มีค่ามากกว่า 1 จะหมายถึงว่าอิทธิพลที่มาจากความเข้มข้นของสารเคมีมีสูงกว่า นอกจากนี้ในบางครั้งประสิทธิภาพของสารเคมียังอาจพิจารณาได้จากสมการดังต่อไปนี้

$\lambda = 4.6$; โดย λ หมายถึงค่า lethality coefficient, 4.6 หมายถึงค่า natural log 100,

$\overline{Ct_{99}}$ C = ความเข้มข้นของสารเคมีที่ใช้ (มก./ลิตร), t_{99} หมายถึงเวลาที่ใช้ในการกำจัดจุลินทรีย์ให้มีประสิทธิภาพลดลงไป 99%

โดยทั่วไปค่า λ จะแปรผันอยู่ในช่วง 5 ถึง 500 เช่น ในการกำจัดจุลินทรีย์ที่เป็นโปรโตซัวพวก *Entamoeba histolytica* โดยใช้คลอรีนจะมีค่า λ เท่ากับ 5 แต่ถ้าเป็น *E. coli* จะมีค่า λ เท่ากับ 500 เป็นต้น

ปัจจัยทางกายภาพอื่น ๆ ที่มีอิทธิพลต่อการกำจัดจุลินทรีย์ก่อโรคในแหล่งน้ำได้แก่

1. ค่า pH

พบว่ามักมีผลต่อการบำบัดน้ำโดยใช้กลุ่มสารประกอบคลอรีน เช่น กรดไฮโปคลอรัส (Hypochlorous acid ; HOCl), ไฮโปคลอไรด์ (Hypochlorite ; OCl^-) กล่าวคือเวลาที่ใช้ในการกำจัดแบคทีเรียในแหล่งน้ำจะนานขึ้นถ้าในแหล่งน้ำมีค่า pH สูง

2. อุณหภูมิ

โดยส่วนใหญ่ประสิทธิภาพของสารเคมีที่ใช้ในการกำจัดจุลินทรีย์จะแปรผันโดยตรงกับอุณหภูมิ

3. ปัจจัยทางกายภาพและเคมีอื่น ๆ

ในกรณีของการใช้คลอรีน ถ้าในแหล่งน้ำมีสารกลุ่มไนโตรเจน เหล็ก แมกนีเซียม ไฮโดรเจนซัลเฟต์ หรือความขุ่นสูงจะทำให้ประสิทธิภาพการใช้คลอรีนต่ำลง เป็นต้น

นอกไปจากนี้ความสัมพันธ์ระหว่างสิ่งมีชีวิตในแหล่งน้ำนั้น ๆ ก็มีอิทธิพลด้วยเช่นเดียวกัน เช่น กลุ่มหนอนตัวกลม (nematode) เมื่อกินไวรัสหรือแบคทีเรียเข้าไปจะมีส่วนป้องกันไวรัสและแบคทีเรียเหล่านั้นทางอ้อมไม่ให้โดนกำจัดโดยสารเคมี เช่น หนอน *Hyalella azreca* จะช่วยป้องกันโคลิฟอร์มจากการใช้คลอรีนได้ เป็นต้น

วิธีการบำบัดน้ำเพื่อการอุปโภคบริโภค

โดยทั่วไป แหล่งน้ำที่จะทำการแจกจ่ายสู่ชุมชนเพื่อการอุปโภคบริโภคจำเป็นต้องมีการบำบัดในสิ่งต่อไปนี้

ก. กลุ่มจุลินทรีย์ก่อโรค

ข. สารที่ก่อให้เกิดสารพิษหรือโรค

แหล่งน้ำที่สามารถนำมาใช้เพื่อการอุปโภคบริโภคได้แก่ แหล่งน้ำใต้ดินและแหล่งน้ำผิวดิน ซึ่งโดยทั่วไปแหล่งน้ำใต้ดินจัดว่ามีคุณภาพค่อนข้างดีอยู่แล้ว ทั้งนี้เพราะได้ผ่านการกรองโดยธรรมชาติของชั้นดินและหินมาพอสมควร ดังนั้นการบำบัดจึงไม่ยุ่งยากแต่ในกรณีของแหล่งน้ำผิวดินซึ่งมักมาจากแม่น้ำลำคลองที่มีปริมาณออกซิเจนที่ละลายอยู่น้อย และมีจุลินทรีย์ปนเปื้อนอยู่มากจึงมีความจำเป็นที่ต้องมีการบำบัดก่อน โดยทั่วไปอนุภาคขนาดใหญ่จากแหล่งน้ำผิวดินมักจะถูกกำจัดโดยการใช้สารก่อตะกอน (coagulant) เช่น อะลูมิเนียมซัลเฟตซึ่งทำให้อนุภาคต่าง ๆ ในน้ำจับตัวและตกตะกอนลงมา (flocs) ในลำดับต่อไปคือการกำจัดตะกอน (clarification) จนได้น้ำที่เหลือแต่เพียงอนุภาคขนาดเล็ก และสารบางชนิดที่ละลายอยู่ซึ่งจะนำไปผ่านระบบถังทรายกรองเร็ว (rapid sand filter) ซึ่งเป็นถังที่มีขนาดกรองประมาณ 1 ม. บรรจุอยู่เป็นตัวกรอง หรืออีกกระบวนการหนึ่งที่ใช้กันบ้างบางพื้นที่ ได้แก่ ระบบถังทรายกรองช้า (slow sand filter) ระบบถังทรายกรองช้าเป็นกระบวนการผลิตน้ำสะอาด โดยการปล่อยน้ำดิบให้ไหลผ่านชั้นกรอง (Filter medium) ระหว่างที่น้ำดิบไหลผ่านชั้นกรองจะมีการลดปริมาณของแบคทีเรีย สารแขวนลอยรวมไปถึงความขุนของน้ำดิบได้ด้วย นอกจากนั้นจะเกิดกระบวนการทางชีวเคมีขึ้นบริเวณผิวของชั้นกรอง หลังจากการใช้งานของระบบถังทรายกรองช้าผ่านไปเป็นระยะเวลาพอสมควรจะเกิดชั้นบาง ๆ ของจุลินทรีย์ขึ้นที่ผิวของชั้นกรองที่เรียกว่า Schmutzdecke ชั้น Schmutzdecke นี้จะประกอบด้วยจุลินทรีย์ที่ยังคงมีกิจกรรมทางชีวเคมี และมีความสามารถในการย่อยสลายสารอินทรีย์ ระบบถังทรายกรองช้านี้สามารถแยกให้เห็นความแตกต่างจากระบบถังทรายกรองเร็วได้ชัดเจน โดยลักษณะของชั้น Schmutzdecke ซึ่งเป็นส่วนสำคัญในการผลิตน้ำสะอาด ส่วนระบบถังทรายกรองเร็วนั้นถือว่าเป็นกระบวนการทางฟิสิกส์ และใช้วิธีล้างย้อน (Backwash) ในการทำความสะอาดถังกรองที่อุดตัน แต่สำหรับระบบถังทรายกรองช้าการทำความสะอาดชั้นกรองจะทำแบบง่าย ๆ และไม่ต้องใช้อุปกรณ์ที่ซับซ้อน โดยใช้แรงงานคนทำความสะอาดเฉพาะชั้นผิวทรายกรอง

กลไกการกรองของถังทรายกรองช้า

กลไกการกรองของถังทรายกรองช้าว่า เป็นการทำงานแบบผสมผสานระหว่างกลไกต่าง ๆ หลายกลไกและมีกลไกที่สำคัญดังต่อไปนี้ คือ

-Mechanical Straining

-Sedimentation

-Impaction

-Adsorbtion

-กลไกทางชีวเคมี

สำหรับรายละเอียดต่าง ๆ ของกลไกแต่ละแบบมีดังต่อไปนี้

1. **กลไกแบบ Mechanical Straining** เป็นกลไกการกรองอนุภาคแขวนลอยซึ่งมีขนาดใหญ่กว่าช่องว่างระหว่างสารกรอง เพื่อให้สารแขวนลอยติดค้างอยู่ภายในชั้นกรองระหว่างการไหลผ่าน โดยปกติทรายกรองที่มีขนาดเส่นผ่านศูนย์กลาง 0.15 มม. จะสามารถกำจัดสารแขวนลอยซึ่งมีขนาดใหญ่กว่า 20 μ หลังจากการกรองผ่านไประยะหนึ่งจะมีการติดค้างของสารแขวนลอย จนทำให้ช่องว่างระหว่างทรายกรองมีขนาดเล็กลงจากเดิม ทำให้สารแขวนลอยขนาด 5-10 μ บางส่วนติดค้างอยู่ระหว่างทรายกรองได้โดยกลไกแบบนี้ อย่างไรก็ตามสารแขวนลอย เช่น คอลลอยด์ (ขนาด 0.001-1 μ) ยังไม่สามารถถูกกำจัดออกด้วยกลไกแบบ Mechanical Straining นี้ได้

2. **กลไกแบบตกตะกอน** (Sedimentation) เป็นกลไกการกำจัดอนุภาคแขวนลอยที่มีขนาดเล็ก และสามารถตกตะกอนที่ผิวของสารกรอง การกำจัดด้วยกลไกนี้จะมีความสัมพันธ์กับพื้นที่ผิวของสารกรอง กล่าวคือ หากใช้สารกรองที่เป็นทรายมีขนาด 0.2 มม. และมีความหนาของชั้นทรายกรอง 0.8 ม. ทรายกรองนี้จะมีพื้นที่ผิวสำหรับการเกิดกลไกนี้ประมาณ 1,000 ตร.ม. ของพื้นที่ผิวขนของชั้นกรอง ประสิทธิภาพของการกำจัดของกลไกแบบตกตะกอนนี้จะขึ้นอยู่กับความหนาแน่นของมวลของสารแขวนลอย โดยสารแขวนลอยส่วนใหญ่จะถูกกำจัดที่ผิวบนของชั้นทรายกรอง จะมีสารแขวนลอยอินทรีย์สารบางส่วนที่มีความหนาแน่นของมวลต่ำ (Low mass density) จะตกค้างที่ผิวทรายกรองในชั้นที่ลึกลงไป

3. **กลไกแบบการชน** (Impaction) เป็นกลไกกำจัดอนุภาคแขวนลอย สามารถตกตะกอนที่ผิวของสารกรอง โดยที่อนุภาควิ่งเข้าชนสารกรองแล้วติดที่ตัวของสารกรอง การกำจัดด้วยกลไกนี้จะมีความสัมพันธ์กับระยะเวลาสำหรับการเปลี่ยนแปลงความเร็ว

4. **กลไกแบบดูดติดผิว** (Adsorbtion) เป็นกลไกที่มีความสำคัญในการกรอง เนื่องจากสามารถกำจัดสารแขวนลอยขนาดเล็ก ๆ เช่น คอลลอยด์ได้ กลไกแบบดูดติดผิวนี้อาจเกิดขึ้นได้หลายแบบ กล่าวคือ เมื่อน้ำดิบไหลผ่านชั้นกรองสารแขวนลอยขนาดเล็ก ๆ ที่สัมผัสกับผิวของเม็ดทรายกรองจะเกาะติดเป็นเมือกเหนียวรอบทรายกรอง สารแขวนลอยที่เกาะติดอยู่นี้จะอาศัยแรงดึงดูดระหว่างอนุภาค (London-vander Waals forces) และแรงดึงดูดเนื่องจากประจุไฟฟ้า (Coulamb

forces) ทั้งนี้ทรายกรองที่สะอาดจะมีประจุบวกที่ผิวของเม็ดทราย ซึ่งพร้อมที่จะดูดติดกับคอลลอยด์ที่ประจุลบได้

5. กลไกทางชีวเคมี สารแขวนลอยต่าง ๆ ที่สะสมอยู่ภายในชั้นกรองจนเป็นเหตุให้เกิดการอุดตันนั้นมีการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีอยู่ตลอดเวลา โดยสารละลายเหล็กและแมงกานีสออกไซด์ที่ไม่ละลายน้ำ ดังสมการ

$$4Fe^{2+} + O_2 + (2n\text{-}4)\,H_2O + 8HCO_3^- \longrightarrow 2Fe_2O_3nH_2O\downarrow + 8CO_2$$

$$2Mn^{2+} + O_2 + 4HCO_3^- \longrightarrow 2MnO_2\downarrow + 2H_2O + 4CO_2$$

สารที่เกิดขึ้นนี้จะเกาะติดผิวของทรายกรองเป็นชั้นบาง สำหรับสารตกค้างที่เป็นสารอินทรีย์ถูกออกซิไดส์เพื่อเป็นแหล่งพลังงานของแบคทีเรียน ดังสมการ

$$C_5H_7O_2N + 7O_2 \longrightarrow 3H_2O + 5CO_2 + NO_3^- + H^+$$

ปริมาณสารอินทรีย์ในน้ำเป็นปัจจัยที่กำจัดการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย การเกิดปฏิกริยาทางชีวเคมีนี้ จะเกิดขึ้นและดำเนินไปอย่างช้า ๆ ตามที่เคยได้กล่าวมาแล้วในรายละเอียดการทำงานกลไกอื่น ๆ จะเห็นว่า สารแขวนลอยส่วนใหญ่มีการตกค้างอยู่บริเวณผิวบนของชั้นกรอง ด้วยเหตุผลนี้เองทำให้สารอินทรีย์ที่มีอยู่ในน้ำดิบมีความเข้มข้นเฉพาะบริเวณผิวบนของชั้นกรอง ทำให้การเจริญเติบโตของแบคทีเรียต่าง ๆ เกิดเฉพาะบริเวณผิวของชั้นกรองเป็นส่วนใหญ่ และจะค่อย ๆ ลดลงตามความลึกของชั้นกรอง เนื่องจากชั้นกรองที่ลึกลงไปจะมีสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมแก่การเจริญเติบโตของแบคทีเรีย โดยสภาพขาดสารอินทรีย์ที่ใช้เป็นอาหารในการเจริญเติบโต ทำให้แบคทีเรียบางส่วนที่ผิวบนของชั้นกรองลึกลงไปค่อย ๆ ตายและลดจำนวนลง นอกเหนือจากนั้นแบคทีเรียที่ตายลงเนื่องจากสภาวะขาดอาหารนี้ยังมีการสร้างสารพิษขึ้น เพื่อยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียอื่น ๆ ด้วย ลักษณะของการเกิดกลไกทางชีวเคมี ดังกล่าวนี้ทำให้ถังทรายกรองช้ามีความสามารถในการกำจัดแบคทีเรีย และเชื้อโรคต่าง ๆ ได้อย่างมีประสิทธิภาพ น้ำใสที่ผ่านการกรองแล้งจึงมีคุณภาพดี

โดยทั่วไปปฏิกริยาที่เกิดขึ้นจากกลไกทางชีวเคมีนี้ จะเกิดขึ้นภายในช่วงความลึกของชั้นกรองประมาณ 0.6 ม. ดังนั้นหากคำนึงถึงประสิทธิภาพในการกำจัดเชื้อโรคการออกแบบถังทรายกรองช้าจึงมีความหนาไม่น้อยกว่า 0.7 ม. และควรมีส่วนเพิ่มสำหรับการทำความสะอาดชั้นกรองอีกประมาณ 0.3-0.5 ม. กล่าวโดยสรุปคือ ชั้นกรองความลึกไม่น้อยกว่า 1.00 ม. นั้นเอง

บทบาทของสาหร่ายในถังกรอง

สาหร่ายเป็นสิ่งมีชีวิตที่จัดอยู่ในพวก Autotrophic ต้องการแสงสว่างในการสังเคราะห์แสง ลักษณะเด่นของสาหร่ายก็คือ สามารถสร้างเซลล์จากเกลือแร่ ธาตุต่าง ๆ ที่มากับน้ำ เช่น คาร์บอนไดออกไซด์ ไนเตรท ฟอสเฟต เป็นต้น โดยอาศัยพลังงานจากแสงอาทิตย์ ดังสมการ

$$n(CO_2) + n(H_2O) + \text{energy} \longrightarrow (CH_2O) + n(O_2) \quad \ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots (1)$$

เมื่อสาหร่ายตายเซลล์ของสาหร่ายจะแตกลงและเป็นอาหารของแบคทีเรียที่อยู่ในถังกรอง ดังปฏิกริยาการสลายตัวของเซลล์สาหร่าย ซึ่งจะให้พลังงานออกมา ดังสมการ

$$(CH_2O)_n + n(O_2) \longrightarrow n(CO_2) + n(H_2O) + \text{energy} \quad \ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots (2)$$

เมื่อสาหร่ายมีความสมบรูณ์เต็มที่จะเกิดปฏิกริยา (1) ทำให้ปริมาณออกซิเจนเพิ่มขึ้นและคาร์บอนไดออกไซด์ลดลง ปริมาณออกซิเจนที่เพิ่มขึ้นบางครั้งมากเป็น 3 เท่าของระดับอิ่มตัวปกติ (Saturation value) ซึ่งเป็นผลดีต่อระบบกรอง โดยปกติกระบวนการตามสมการ (1) นี้ จะเกิดขึ้นในเวลากลางวันซึ่งได้รับแสงสว่างจากดวงอาทิตย์ สำหรับในเวลากลางคืนปริมาณออกซิเจนจะลดลง เนื่องจากมีการเกิดขึ้นของกระบวนการตามสมการ (2) เพียงอย่างเดียว ถ้าความแปรปรวนของออกซิเจนเกิดขึ้นอย่างรุนแรง จะทำให้เกิดสภาพการขาดออกซิเจนในเวลากลางคืนได้ อันเป็นผลร้ายต่อระบบกรอง คือ ทำให้มีเหล็กและแมงกานีสในน้ำที่กรองสูงขึ้น เนื่องจากการสลายตัวของเหล็กและแมงกานีสที่สะสมบริเวณของผิวชั้นทรายกรอง และยังทำให้เกิดรสและกลิ่นอันน่ารังเกียจอีกด้วย

ในประเทศที่มีอากาศหนาวมักจะประสบปัญหาความแปรปรวนของออกซิเจนในถังกรองดังที่ได้กล่าวมาแล้วข้างต้น กล่าวคือ เมื่ออุณหภูมิลดลงสภาพของน้ำจะไม่เหมาะสมแก่การดำรงชีวิตของสาหร่าย สาหร่ายจะตายและลดจำนวนลงเรื่อย ๆ ปฏิกริยาที่ดำเนินการต่อไปตามสมการ (2) จะใช้ออกซิเจนและได้คาร์บอนไดออกไซด์ ความเปลี่ยนแปลงต่าง ๆ จะทวีความรุนแรงขึ้นเรื่อย ๆ ในที่สุดก็จะเกิดสภาพขาดออกซิเจน เป็นผลให้ pH ของน้ำลดลงเนื่องจากคาร์บอนไดออกไซด์ที่เพิ่มขึ้น และกลิ่นเหม็นเนื่องจากสาหร่ายตายเป็นจำนวนมาก สารอินทรีย์ที่อยู่ในน้ำเกิดการเน่าเปื่อยจึงจำเป็นต้องหยุดการกรอง เพื่อทำความสะอาดโดยการกำจัดสาหร่ายออกจากชั้นผิวบนของทรายกรอง ในทางกลับกันเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นสาหร่ายจะเจริญเติบโตอย่างรวดเร็ว และจะมีการตายของสาหร่ายในช่วงที่อุณหภูมิลดลงอีก ความแปรปรวนของออกซิเจนดังกล่าวมาแล้วนี้เป็นอุปสรรคแก่การทำงานของถังทรายกรองช้าในประเทศที่มีอากาศหนาว ทำให้ต้องมีการทำความสะอาดถังกรองบ่อยครั้งมากขึ้น การแก้ไขปัญหาที่เกิดขึ้นนี้สามารถแก้ไขได้ด้วยการก่อสร้างหลังคาคลุมหลังกรอง นอกจากนั้นยังสามารถป้องกันสิ่งสกปรกที่ปลิวมากับลม และการถ่ายสิ่งปฏิกูลของนกลงถังกรองได้ทำให้ถังกรองมีอายุการใช้งานมากขึ้นดังเช่น การประปาเมืองอัมสเตอร์ดัม ภายหลังจากการก่อสร้างหลังคาปิดถังกรอง ทำให้สามารถเพิ่มอัตราการกรองจาก 0.1 ม. ต่อ ชม. เป็น 0.3 ม. ต่อ ชม. และใช้งานได้มากกว่า

สำหรับในประเทศที่มีอากาศร้อน อุณหภูมิค่อนข้างคงที่ตลอดปี ลักษณะการเกิดความแปรปรวนของออกซิเจนไม่ค่อยปรากฏมากนักและไม่ค่อยเกิด และตายอย่างรุนแรงของสาหร่ายทำ

ให้ไม่ต้องทำความสะอาดถังกรองบ่อยครั้ง เนื่องจากเกิดความสมดุลย์ของปฏิกริยาเกิดและตายของสาหร่ายในถังกรองเกิดขึ้นอย่าสม่ำเสมอตลอดปี อย่างไรก็ตามการปล่อยให้น้ำดิบมีเวลาสัมผัสกับแสงแดดมากจนเกินไป จะทำให้มีการเกิดของสาหร่ายเร็วกว่าปกติ การแก้ไขปัญหาอาจทำได้โดยการก่อสร้างหลังคาคลุม หรือควบคุมให้มีการไหลของน้ำดิบผ่านกรองอย่างต่อเนื่อง โดยไม่ให้น้ำดิบมีเวลากักเก็บนานจนเกินไป

ข้อได้เปรียบของระบบถังทรายกรองช้า

1. **คุณภาพของน้ำที่กรองแล้ว** ระบบถังทรายกรองช้าสามารถปรับปรุงคุณภาพน้ำทั้งทางกายภาพ ทางเคมี และทางชีว โดยใช้กระบวนการกรองอย่างเดียวน้ำที่ผ่านกรองแล้วไม่จำเป็นต้องเพิ่มสารเคมีฆ่าเชื้อโรค ซึ่งอาจจะทำให้เกิดกลิ่นและรส

2. **การก่อสร้างและค่าใช้จ่ายในการก่อสร้าง** การออกแบบระบบถังทรายกรองช้าแบบง่าย ๆ ใช้วัสดุท้องถิ่น และแรงงานของชาวบ้านภายในท้องถิ่นนั้น ๆ ได้โดยไม่จำเป็นต้องใช้เครื่องจักรและวัสดุที่จัดหามาจากภายในท้องถิ่น ระบบถังทรายกรองช้าจะไม่มีงานวางท่อที่ซับซ้อน อุปกรณ์ที่ใช้ในการก่อสร้างและเป็นตัวชั้นกรอง (Filter media) ก็ไม่พิเศษมากนัก

3. **ค่าใช้จ่ายในการดำเนินการและการควบคุม** ค่าใช้จ่ายในการดำเนินการทั้งหมดเฉพาะถังทรายกรองช้าอยู่ที่การทำความสะอาดชั้นทรายกรองเท่านั้น ซึ่งในการทำความสะอาดชั้นทรายนั้นเราอาจจะใช้เครื่องมือเข้าช่วย หรือใช้คนงานล้างก็ได้ ในประเทศที่กำลังพัฒนาจะมักนิยมใช้วิธีการหลังมากกว่าเพราะราคาถูก นอกจากนั้นในตัวถังทรายกรองช้าไม่จำเป็นต้องใช้สารเคมีอื่น ๆ เข้าช่วย และรวมทั้งน้ำมันเชื้อเพลิง อุปกรณ์ หรือวัสดุอื่น ๆ ด้วย

ผู้ควบคุมการทำงานของระบบถังทรายกรองช้าไม่จำเป็นต้องมีความรู้ และความชำนาญมากนัก ซึ่งไม่เหมือนกับผู้ควบคุมการทำงานของถังทรายกรองเร็ว เพราะผู้ควบคุมจะต้องมีความรู้พอสมควร และการควบคุมการทำงานของระบบถังทรายกรองช้านั้นไม่จำเป็นต้องดูแลตรวจตราอย่างใกล้ชิด ด้วยเหตุที่ระบบของถังทรายกรองช้านั้นสามารถยืดหยุ่นในตัวเองได้ ดังนั้นจึงสามารถทนต่อการเปลี่ยนแปลงคุณลักษณะเล็กน้อยของน้ำดิบต่าง ๆ เช่น อุณหภูมิ สภาพภูมิอากาศ และความขุ่นมากในช่วงสั้น ๆ ได้ โดยที่ระบบในการกรองยังคงใช้งานได้เหมือนเดิม

ในที่ที่มีปริมาณน้ำใช้จำกัดระบบถังทรายกรองช้า จะมีข้อได้เปรียบกว่าระบบถังทรายกรองเร็ว เพราะเหตุว่าเมื่อถึงจุดที่ต้องทำการล้างถังทรายกรองแล้ว จะใช้ปริมาณน้ำในการล้างน้อยมากและน้อยครั้งกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับระบบถังทรายกรองเร็ว ซึ่งจะต้องล้างทรายทุก ๆ 2-3 วัน สิ้นเปลืองน้ำประมาณ 2-3 % จากปริมาณน้ำที่กรองได้

4. **การย่อยสลายตะกอน** ระบบถังทรายกรองช้าจะมีปัญหาน้อยมากเกี่ยวกับการเก็บกักตะกอน การเพิ่มความเข้มข้นของตะกอน และการย่อยสลายตะกอน ซึ่งเกิดกับระบบถังทรายกรองเร็ว สำหรับตะกอนของระบบถังทรายกรองช้ามักจะตกอยู่ที่ชั้นบนสุดของชั้นทราย สามารถกำจัด

ได้อย่างง่ายดายและตะกอนของระบบถังทรายกรองช้าสามารถใช้ปรุงแต่งสภาพของดิน และใช้ในการปรับสภาพของดินเหนียว

ข้อจำกัดของการใช้ระบบถังทรายกรองช้า

1. ถังทรายกรองช้าต้องการพื้นที่ในการก่อสร้างมาก
2. ในบางประเทศปัจจัยในการก่อสร้าง เช่น แรงงานและวัสดุมีผลต่อราคาก่อสร้างถังทรายกรองช้า ทำให้มีราคาสูงกว่าถังทรายกรองเร็ว เช่น ในประเทศเนเธอร์แลนด์ราคาค่าก่อสร้างถังทรายกรองช้าสูงกว่าถังทรายกรองเร็วถึง 3 เท่า ในขณะที่มีขนาดกำลังผลิตที่เท่ากัน
3. สำหรับในกรณีที่ค่าแรงในท้องถิ่นมีราคาสูง ถังทรายกรองเร็วสามารถนำอุปกรณ์อัตโนมัติมาใช้จ่ายในการดำเนินการได้
4. ในประเทศที่มีอากาศหนาวมาก การควบคุมการแข็งตัวของน้ำในถังกรองของถังทรายกรองช้า กระทำได้ยากกว่าถังทรายกรองเร็ว เนื่องจากมีขนาดใหญ่กว่ามาก
5. การเปลี่ยนแปลงลักษณะต่าง ๆ ของน้ำโดยทันที หรือการเกิดมลภาวะทางน้ำของอุตสาหกรรม จะทำให้ถังทรายกรองช้าเกิดการล้มเหลวในการทำงานได้ง่าย
6. การแก้ปัญหาการเกิดสาหร่ายในถังทรายกรองช้า กระทำได้ยากและต้องใช้เงินลงทุนสูงกว่าถังทรายกรองเร็ว

การใช้คลอรีนในการบำบัดน้ำ

คลอรีนถ้าอยู่ในสถานะที่เป็นก๊าซเมื่อทำปฏิกริยากับน้ำจะได้สารประกอบ ดังสมการข้างล่างนี้

$$Cl_2\,(g) + H_2O \rightleftharpoons HOCl + H^+Cl^-$$
$$\downarrow\uparrow$$
$$H^+ + OCl^-$$

ซึ่งส่วนของ HOCl และ OCl^- จัดว่าเป็น free residual จะเป็นส่วนสำคัญที่มีความสามารถในการกำจัดแบคทีเรียกลุ่มที่ก่อให้เกิดโรค เช่น *E. coli, Campylobacter, Clostridium, Salmonella, Shigella* และ *Vibrio* โดยจะเป็น oxidizing agent ที่มีความรุนแรง สามารถทำลายความสามารถในการควบคุมสารเข้าออกบนผนังเซลล์ของแบคทีเรีย รวมไปถึงทำลายกรดนิวคลีอิค และเอนไซม์ต่าง ๆ ในเซลล์ได้ ในบางครั้งสามารถเพิ่มประสิทธิภาพของการใช้คลอรีนได้โดยอาจใส่เกลือ หรือโลหะร่วมด้วย เช่น KCl, NaCl, CsCl, Ag หรือ Cu เป็นต้น ปริมาณของ free residual ของคลอรีนที่ใช้คือประมาณ 0.5 ppm (0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร) ซึ่งจะมีประสิทธิภาพได้สูงถ้าค่า pH มีค่าน้อยกว่า 7

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

อย่างไรก็ตามถ้าในแหล่งน้ำมีแอมโมเนีย คลอรีนจะรวมตัวกับแอมโมเนียกลายเป็นสารกลุ่มที่เรียกว่า คลอรามีนส์ (Chloramines) ซึ่งจะสลายตัวเป็นคลอรีนได้ช้าทำให้ประสิทธิภาพของการใช้คลอรีนลดลง ดังนั้นบางครั้งการบำบัดน้ำด้วยคลอรีนในแหล่งน้ำบางประเภทจำเป็นต้องใช้คลอรีนมากกว่าในปริมาณปกติหรือที่เรียกว่า superchlorination เพื่อกำจัดกลิ่นและรสที่ไม่พึงประสงค์ก็อาจทำได้ แต่ภายหลังต้องมีการลดปริมาณคลอรีนโดยการเติมสารกลุ่มซัลเฟอร์ไดออกไซด์ (sulphus dioxide) หรือเรียกกระบวนการนี้ว่า Sulphonation การตรวจสอบคลอรีนที่หลงเหลืออยู่อาจทำได้โดยใช้สารที่เรียก DPD (N, N-diethyl-p-phenylenedimine) ซึ่งเมื่อทำปฏิกริยากับคลอรีนแล้วจะให้เป็นสีแดง ทำให้ตรวจสอบปริมาณที่ยังคงเหลืออยู่ได้

ข้อจำกัดประการสำคัญของการใช้คลอรีนในการบำบัดเพื่อการบริโภคคือ น้ำดื่มที่มีคลอรีนหลงเหลืออยู่จะเพิ่มความเสี่ยงในการเกิดมะเร็งที่กระเพาะปัสสาวะ และลำไส้ใหญ่ได้ และยิ่งไปกว่านั้นคลอรีนเมื่อทำปฏิกริยากับกรดฮิวมิก หรือสารอินทรีย์ที่ปะปนมากับแหล่งน้ำจะเกิดเป็นสารกลุ่มที่เรียก THM (trihalomethanes) เช่น ไดคลอโมีเธน (dichloromethane) ซึ่ง THM นี้จะเป็นสารก่อมะเร็งที่สำคัญ ดังนั้นจึงมีการกำหนดค่าระดับการปนเปื้อนสูงสุดของ THM (MCL ; maximum contaminant level) ไว้อยู่ที่ 100 ไมโครกรัมต่อลิตร

จากข้อจำกัดของการเกิด THM บางครั้งการบำบัดน้ำด้วยคลอรีนจึงหันไปใช้วิธีอื่น ๆ ทดแทน เช่น การใช้ chloramination หรือการใช้คลอรามีนซึ่งจะไม่ก่อให้เกิด THM แต่จะมีประสิทธิภาพด้อยกว่าการใช้คลอรีน โดยลักษณะของปฏิกริยาในน้ำ ดังแสดงในสมการ

$$NH_3 + HOCl \longrightarrow NH_2Cl + H_2O \text{ (monochloramine) พบในน้ำที่มี pH ประมาณ 8.5}$$

$$\downarrow + HOCl$$

$$NHCl_2 + H_2O \text{ (dichloramine) พบในน้ำที่มี pH ในช่วง 4.5-8.5}$$

$$\downarrow + HOCl$$

$$NCl_3 + H_2O \text{ (trichloramine) พบในน้ำที่มี pH น้อยกว่า 4.5}$$

ในบ่อบำบัดส่วนใหญ่มีค่า pH ในช่วง 6-9 ซึ่งถ้าพบว่ามีสารกลุ่ม tri- และ dichloramine มาก (ในปริมาณ 0.8-2.0 มก.ต่อลิตร) สารในกลุ่มนี้มีประสิทธิภาพในการบำบัดแบคทีเรีย มักแปรผันโดยตรงตามอุณหภูมิและความเข้มข้นของ H^+ อย่างไรก็ตามถ้ามีการใช้สารกลุ่มนี้มากอาจก่อให้เกิดความผิดปกติของโลหิตในไตได้

ในปัจจุบันประเทศที่มีการพัฒนาและได้เปลี่ยนมาใช้คลอรีนไดออกไซด์ (Chlorinedioxide ; ClO_2) โดยใช้ครั้งแรกในปี ค.ศ. 1921 ในประเทศเยอรมันนี โดยมีข้อดีคือ ไม่ก่อให้เกิด THM (หรือเกิดช้ากว่าเมื่อเทียบกับการใช้คลอรีน) และไม่ทำให้เกิดคลอรามีนเมื่อมีแอมโมเนียในแหล่งน้ำ ClO_2 เกิดขึ้นจากการทำปฏิกริยาระหว่าง Cl_2 กับโซเดียมคลอไรด์ (Sodium chlorite ; $NaClO_2$) ในสารละลายที่มีฤทธิ์เป็นกรดที่มีค่า pH ประมาณ 3.5 ดังแสดงในสมการ

$$2NaClO_2 + Cl_2 \longrightarrow 2ClO_2 + 2NaCl$$

แต่ถ้าสภาพแวดล้อมที่มีความเป็นด่าง ClO_2 จะถูกเปลี่ยนไปเป็นคลอไรท์ (chlorite ; ClO^-_2) และคลอเรต (chlorate ; ClO^-_3) ดังแสดงในสมการ

$$2ClO_2 + OH^- \longrightarrow ClO^-_2 + ClO^-_3 + H_2O$$

ในบ่อบำบัดน้ำทั่วไปพบว่าจะมีคลอไรท์ ซึ่งมีในปริมาณสูงกว่า 50 มก.ต่อลิตร จะไปทำปฏิกริยากับฮีโมโกลบิน (haemoglobin) ในเซลล์เม็ดเลือดแดงก่อให้เกิดโรคโลหิตจางประเภท haemolytic anemia และอาจมีผลกระทบต่อต่อมไทรอยด์ (thyroid) และก่อให้เกิดโรค methemoglobinemia อีกด้วยได้ ดังนั้นมาตราฐานทั่วไปกำหนดให้มีคลอไรท์ได้ไม่เกิน 1 มก.ต่อลิตร

การบำบัดด้วยวิธีอื่น ๆ

1. การใช้โอโซน

โอโซนจัดเป็น oxidizing agent ที่มีความรุนแรงอีกประเภทหนึ่ง และเข้าทำลายสาย DNA บริเวณที่เป็น G และ T จึงมีคุณสมบัติที่จะนำมาใช้ในการกำจัดจุลินทรีย์ก่อโรคในแหล่งน้ำได้ การสร้างโอโซนมักทำโดยผ่านอากาศที่มีความชื้นต่ำผ่านเข้าไปยังขั้ว electrode ที่มีกระแสไฟฟ้า 8,000-20,000 โวลท์ ข้อดีของการใช้โอโซนคือจะไม่ถูกกระทบโดยค่า pH และไม่ทำปฏิกริยากับแอมโมเนีย แต่ต้องใช่ค่าใช้จ่ายสูง บางครั้งนิยมใช้บำบัดหลังจากการใช้คลอรีนแล้วที่เรียกว่า postchlorination พบว่าเวลาที่ใช้โอโซนในการกำจัด *E. coli* ในแหล่งน้ำมีค่าต่ำมากคือ 0.001-0.2 (เมื่อเรียงลำดับที่ใช้โอโซนกับจุลินทรีย์ก่อโรคในแหล่งน้ำโดยเรียงจากมากไปหาน้อยจะได้ดังนี้ *Mycobacterium fortuitum* > Poliovirus >ยีสต์> *Candida* > *E. coli* > *Salmonella typhimurium*) นอกจากนี้ยังพบว่าการใช้โอโซนสามารถกำจัดซีสต์ในกลุ่มของโปรโตซัวได้อีกด้วย สำหรับแหล่งน้ำที่มีปัญหาเรื่องกลิ่นบางครั้งมีการใช้โฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) ผสมร่วมกับโอโซน ทำให้เรียกว่า Peroxone process โดยนิยมใช้ในอัตราส่วน H_2O_2 3 ส่วนต่อโอโซน 10 ส่วน ข้อจำกัดอีกประการที่ยังไม่ทราบแน่ชัดคือ ถ้ามีการใช้มากกว่า 1 มก.ต่อลิตร อาจก่อให้เกิดสารในกลุ่ม mutagen ได้

2. การใช้รังสีอุลตราไวโอเลต (UV)

ทำโดยมีการสร้างหลอดกำเนิดแสง UV ไว้ภายในถังน้ำที่ต้องการบำบัด มีผลในการกำจัดจุลินทรีย์โดยตรง โดยการทำลายลำดับเบสที่เป็น T บนสาย DNA วิธีนี้นิยมใช้กับแหล่งน้ำใต้ดิน ไม่ก่อให้เกิดสารก่อมะเร็ง หรือสารพิษอื่น ๆ ไม่มีปัญหาในเรื่องการสร้างกลิ่นและรสที่ไม่พึงประสงค์ แต่ข้อจำกัดคือ ประสิทธิภาพไม่ค่อยสูง คะเนหรือปรับปริมาณของแสงได้ลำบาก กำจัดคราบ biofilm ลำบาก บำรุงรักษายากและราคาแพง

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

คำถามท้ายบท

1. จงอธิบาย mechanism ว่าการใช้คลอรีนสามารถกำจัดจุลินทรีย์ในแหล่งน้ำได้อย่างไร
2. จงอธิบายการเกิดคลอรีนไดออกไซด์ และข้อได้เปรียบเมื่อเทียบกับวิธีอื่นที่ใช้กำจัดจุลินทรีย์ในแหล่งน้ำ
3. ลองออกแบบระบบการบำบัดน้ำที่สามารถกำจัดจุลินทรีย์กลุ่ม *Giardia lambia* มา 1 ลักษณะ

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

บทที่ 7 บทบาทของจุลินทรีย์ต่อการกำจัดมลภาวะในสิ่งแวดล้อม

บทที่ 7 บทบาทของจุลินทรีย์ต่อการกำจัดมลภาวะในสิ่งแวดล้อม

สารพิษต่าง ๆ เกิดมากขึ้นทั้งในเชิงปริมาณและคุณภาพควบคู่กันไปกับการพัฒนาเทคโนโลยี และการเติบโตทางเศรษฐกิจ สิ่งที่จะตามมาคือมลภาวะซึ่งจะส่งผลกระทบทั้งทางตรงและทางอ้อม ต่อความสมดุลของห่วงโซ่อาหารรวมไปถึงการถ่ายทอดพลังงานแก่สิ่งมีชีวิตในที่สุด สารพิษสามารถจำแนกเป็น 2 ประเภทใหญ่ได้แก่

1. สารอินทรีย์ ซึ่งประกอบไปด้วย

1.1 สารที่มาจากอุตสาหกรรมน้ำมันและถ่านหิน ได้แก่

ก. น้ำมันดิบ ซึ่งประกอบไปด้วยสารกลุ่ม alkanes, heterocyclics และ aromatics

ข. น้ำมันเชื้อเพลิง เช่น ก๊าซโซลีน น้ำมันดีเซล เป็นต้น

ค. ผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากการเผาไหม้เชื้อเพลิงต่าง ๆ เช่น PAHs, คาร์บอนไดออกไซด์ เป็นต้น

1.2 สารอินทรีย์สังเคราะห์ ได้แก่

ก. Halogenated hydrocarbon เช่น สารกลุ่ม polychlorinated biphenyls (PCBs), CFCs, ย่าฆ่าแมลงและตัวทำละลายต่าง ๆ

ข. Plasticizers เช่น phthalic acid, PVC เป็นต้น

ค. สารอื่น ๆ เช่น สารลดแรงตรึงผิว, สารกลุ่ม organophosphate ที่ใช้เป็นยาฆ่าแมลง, สาร pyrethrenoid สังเคราะห์ เป็นต้น

1.3 ของเสียจากชุมชน

1.4 จุลินทรีย์ เช่น จุลินทรีย์ก่อโรค

2. สารอนินทรีย์ ซึ่งประกอบไปด้วย

2.1 กลุ่มโลหะหนัก เช่น แคดเมียม, ตะกั่ว, นิเกล, ทองแดงและปรอท เป็นต้น

2.2 กลุ่มสารกัมมันตรังสี ได้แก่

ก. Transuranics เช่น $P_{,}$ Am และ Cm เป็นต้น

ข. ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากปฏิกริยา fission เช่น ^{137}Cs และ ^{90}Sr เป็นต้น

ค. ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากปฏิกริยา activation เช่น ^{60}Co, ^{54}Mn, ^{65}Zn และ ^{51}Cr เป็นต้น

ง. ที่พบในธรรมชาติ เช่น กระบวนการย่อยสลาย U-Th (U-Th decay series)

2.3 กลุ่มที่มาจากโรงงานอุตสาหกรรม ได้แก่ การปล่อยฟอสฟอรัส ไนโตรเจน ซิลิคอน เป็นต้น

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

จากกลุ่มของสารพิษที่กล่าวข้างต้นนี้ล้วนแต่มีผลกระทบต่อสิ่งมีชีวิตทั้งสิ้น อย่างไรก็ตาม ยังมีจุลินทรีย์บางประเภทซึ่งปกติในธรรมชาติสามารถเปลี่ยนรูปของสารพิษเหล่านี้ไปเป็นสารที่มีความเป็นพิษน้อยลง หรือหมดพิษไปโดยกระบวนการเมตาโบลิซึม เช่น แบคทีเรียบางชนิดสามารถย่อยสลายสารกลุ่มที่เป็น aliphatic hydrocarbon ให้กลายเป็นคาร์บอนไดออกไซด์ และน้ำได้ในที่สุด เป็นต้น ดังนั้นการนำจุลินทรีย์มาใช้เพื่อการกำจัดสารพิษที่ก่อให้เกิดมลภาวะจึงถือกำเนิดขึ้นมาพร้อมกับการเจริญเติบโตทางเทคโนโลยีด้วยเช่นเดียวกัน โดยเทคโนโลยีดังกล่าวนี้เรียกรวมว่า Bioremediation

Bioremediation

Bioremediation เป็นเทคโนโลยีที่ใช้ในการบำบัดมลภาวะโดยใช้ระบบของสิงมีชีวิตเพื่อไปทำลายหรือเปลี่ยนรูปสารพิษให้มีความเป็นพิษน้อยลง วิธีการโดยทั่วไปของเทคโนโลยีชนิดนี้ประกอบไปด้วย

ก. การติดตามกระบวนการย่อยสลายสารพิษที่เกิดขึ้นในสิ่งมีชีวิตตามธรรมชาติ (intrinsic bioremediation)

ข. การปรับเปลี่ยนสภาพแวดล้อมเพื่อให้กระบวนการ bioremediation มีประสิทธิภาพสูงขึ้น (bioatimulation) เช่น การเพิ่มสารอาหารให้จุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการย่อยสลายสารนั้นๆ

ค. การเพิ่มจุลินทรีย์หรือสิ่งมีชีวิตที่มีความสามารถสูงในการย่อยสลายสารพิษลงสู่สิ่งแวดล้อม (bioaugmutation)

สิ่งที่จะเป็นตัวบ่งชี้ว่ากระบวนการ bioremediation มีประสิทธิภาพสูงคือ ผลิตภัณฑ์สุดท้ายที่ได้จากการย่อยสลายมักจะเป็นน้ำ และคาร์บอนไดออกไซด์ หรือสารอื่น ๆ ที่ไม่เป็นพิษกับสิ่งมีชีวิต สารบางอย่างที่สามารถถูกย่อยสลายได้โดยสิ่งมีชีวิตบางครั้งเรียกว่า biodegradability ในขณะสารบางชนิดไม่สามารถถูกย่อยสลายได้เลยโดยสิ่งมีชีวิตจะเรียกว่า recalcitrant (nonbiodegradable) สารกลุ่มนี้มักเป็น recalcitrant ได้แก่ สารกลุ่ม halocarbon หรือ dioxin เป็นต้น

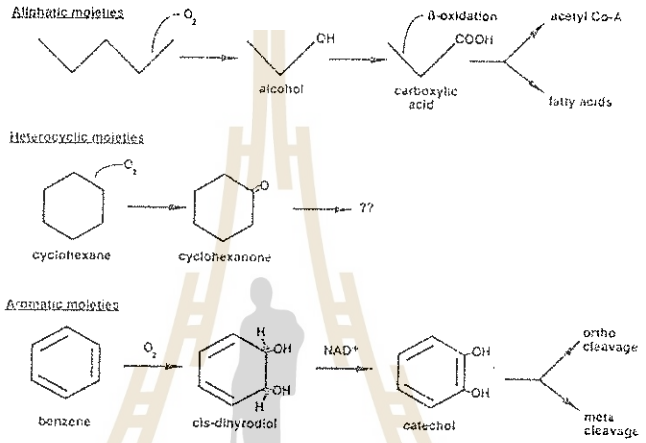
สารกลุ่มที่นิยมใช้เทคโนโลยี Bioremidiation ในการบำบัด

1. **สารกลุ่มปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอน** (Petroleum Hydrocarbon)

โดยทั่วไปโมเลกุลที่เป็น alkane สายสั้น ๆ มักจะมีความเป็นพิษต่อจุลินทรีย์ และค่อนข้างจะถูกย่อยสลายได้ยากโดยชีววิธี ในขณะที่ alkane ที่มีความยาวของสายโมเลกุลปานกลาง (C_{10}-C_{24}) มักจะถูกย่อยสลายได้ง่าย ในส่วนที่เป็นสายยาวมากขึ้นไปจะถูกย่อยสลายได้ยากขึ้นไปอีก ปฏิกริยาเริ่มต้นเมื่อจุลินทรีย์เริ่มเข้าสลาย alkane จะเกิดจากการปลดปล่อยเอนไซม์ในกลุ่ม monooxygenases หรือ dioxygenases โดยจะทำปฏิกริยาที่หมู่เมธิล (mrthyl ; CH_3) จากนั้นเปลี่ยน

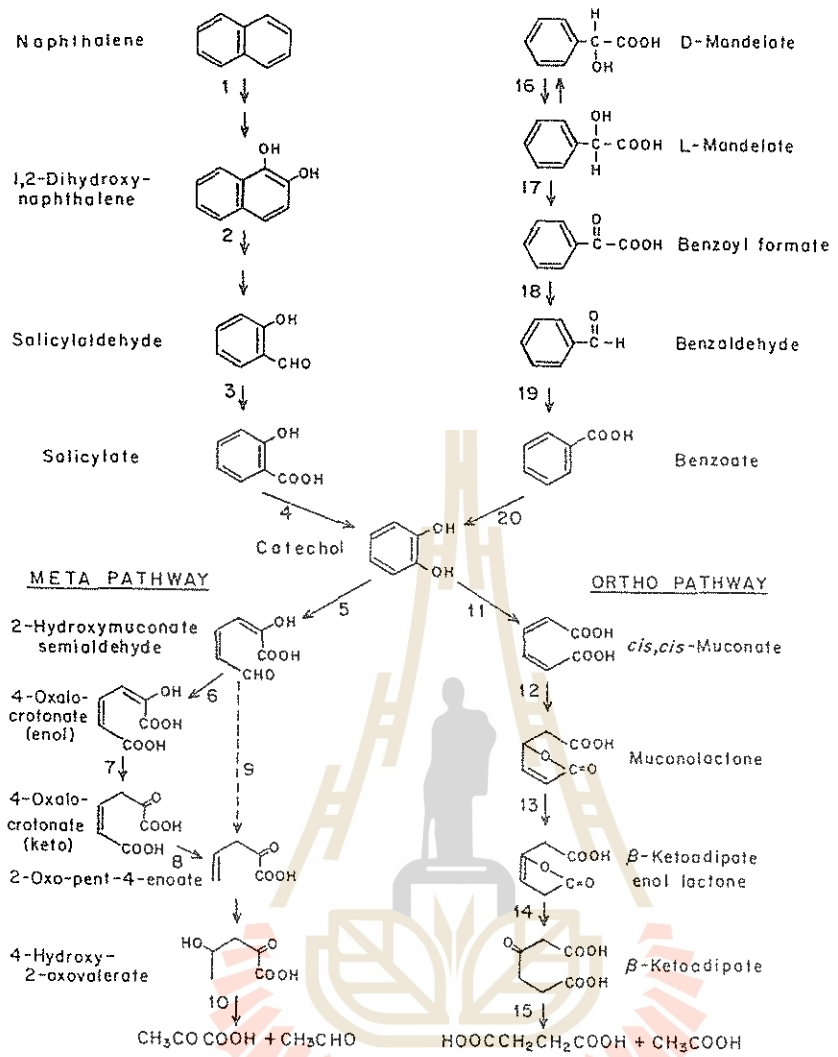
โมเลกุลของเมธิลให้กลายเป็นหมู่ที่เป็นแอลกอฮอล์ ซึ่งจะถูกออกซิไดซ์ต่อไปเป็นแอลดีไฮด์ (aldehyde) และกรดไขมัน และกรดไขมันที่ถูกเปลี่ยนไปเป็นคาร์บอนไดออกไซด์และน้ำในที่สุด (ดังแสดงปฏิกริยาในรูปที่ 50)

ในส่วนของสารกลุ่มที่มีโมเลกุลเป็นแบบ aromatic จะถูกย่อยสลายได้ช้ากว่าพวก alkanes โดยการย่อยสลายอาจเริ่มจากการถูกออกซิไดซ์โดยกลุ่มเอนไซม์ dioxygenases และได้เป็นสารกลุ่ม catecols (รูปที่ 50) จากนั้นส่วนที่เป็น dihydroxylated aromatic ring บนโมเลกุลของ catechols ก็จะถูกสลายต่อไปเป็นกรดฟอร์มิก กรดไพรูวิก และอะเซทัลดีไฮด์ในที่สุด



รูปที่ 50 แสดงกลไกการย่อยสลายสารกลุ่มปิโตเลียมไฮโดรคาร์บอนโดนจุลินทรีย์
(ที่มา : D.G.Capone และ J.E. Baure, 1992)

Catechol จัดเป็นสารตัวกลาง (intermediate) ซึ่งมักจะถูกย่อยสลายต่อได้โดย 2 กระบวนการ กล่าวคือ เข้าสู่การย่อยสลาย meta-ring (mea-ring cleavage หรือ meta pathway) หรือ การย่อยสลาย ortho-ring (ortho-ring cleavage หรือ ortho pathway) ดังแสดงรายละเอียดของกระบวนการในรูปที่ 51



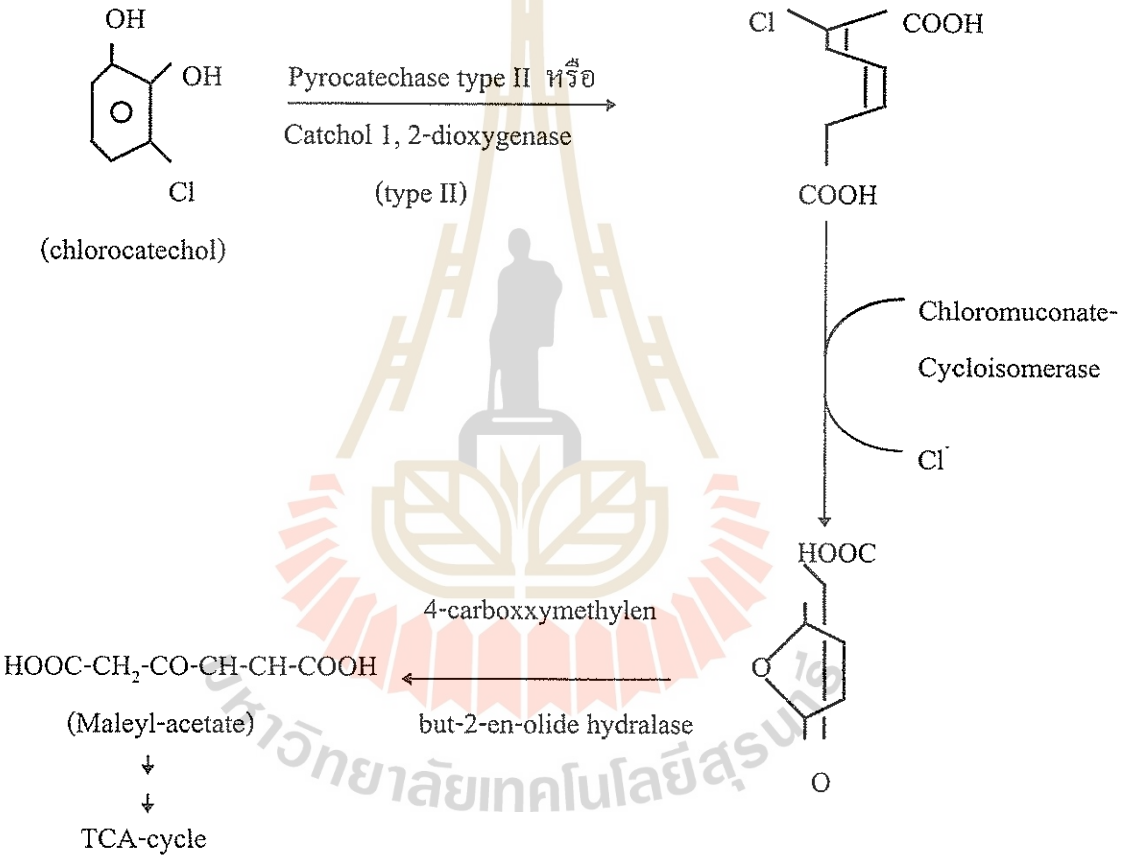
รูปที่ 51 แสดงกระบวนการย่อยสลายสารกลุ่ม aromatic ring โดยแบคทีเรียกลุ่มจีนัส Pseudomunads (ที่มา : D.G.Capone และ J.E. Baure, 1992)

ในสาร aromatic บางกลุ่มเช่น เบนซีน (benzene), โทลูอีน (toluene), เอธิลเบนซิน (ethylbenzene) และ ไซลีน (Xylene) ซึ่งรวมเรียกว่า BTEX สามารถถูกย่อยสลายได้ในสภาพที่ไม่มีออกซิเจน แต่จะใช้ออกซิเจนจากโมเลกุลของสารทั้งสองนี้เองโดยกระบวนการ ring hydroxylation โดยมีโมเลกุลของน้ำเป็นตัวช่วยในปฏิกริยา ดังนั้นปฏิกริยาย่อยสลายสารกลุ่มนี้จะเห็นได้ว่าออกซิเจนมีบทบาทสำคัญอย่างมาก เนื่องจากจุลินทรีย์ต้องใช้ออกซิเจนเป็นตัวรับอิเลคตรอน ในขณะที่สารกลุ่ม aromatic จะเป็นตัวให้อิเลคตรอน ซึ่งจะได้เป็นพลังงานหรือนำไปใช้เป็นองค์ประกอบของเซลล์ในที่สุด ดังแสดงในสมการ

$(C_2H_6) + 7.5O_2 \longrightarrow 6CO_2 + 3H_2O$ + energy หรือ

$+ 1.5\ HCO^-_3 + 1.5NH^+_4 \longrightarrow 1.5C_5H_7O_2N$ (องค์ประกอบของเซลล์) $+ 1.5\ H_2O$

อย่างไรก็ตามถ้าสารกลุ่ม catechol นี้เป็นกลุ่มที่มีธาตุในหมู่ halogen รวมอยู่หรือที่เรียกว่า halogenated catechol พบว่าจะไม่ถูกย่อยสลายได้โดย meta pathway ในปัจจุบันทำการแก้ไขโดยใช้เทคนิคพันธุวิศวกรรมเปลี่ยนกลไกหรือกระบวนการของแบคทีเรียให้มีเมตาโบลิซึมเป็นใช้กลไก ortho-pathway แทนจึงสามารถย่อยสลายได้ดังแสดงในไดอะแกรมข้างล่างนี้



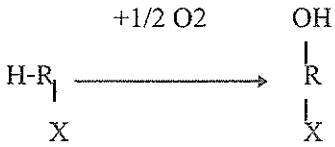
2. สารกลุ่มฮาโลคาร์บอน (Halocarbons)

กลุ่มเอนไซม์สำคัญในจุลินทรีย์ที่มีบทบาทในการย่อยสลายสารกลุ่มนี้คือ dehalogenases ส่วนสารพิษกลุ่มแรกที่นิยมศึกษากันได้แก่ tetrachloroethene (TCE) ซึ่งพบว่าสามารถถูกย่อยสลายได้กลุ่มแบคทีเรีย SBB และ methanogen สารอีกกลุ่มหนึ่งได้แก่ chlorobenzene ก็สามารถถูกย่อยสลายได้โดยแบคทีเรียในกลุ่มจีนัส *Pseudomonas* และ *Alcaligenes* โดยเอนไซม์ในกลุ่ม dioxygenases ส่วนสารในกลุ่ม polychlorinated biphenyls

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

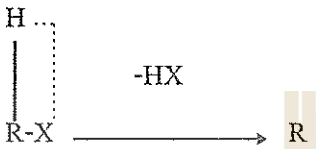
(PCBs) อาจถูกย่อยสลายได้โดยกลุ่มเอนไซม์ dehalidohydrolases ทั้งในสภาพที่มีและไม่มีออกซิเจน ปฏิกริยาโดยทั่วไปของการย่อยสลายสารกลุ่มฮาโลคาร์บอนนี้แบ่งได้เป็น 3 ประเภท ได้แก่

2.1 ปฏิกริยา oxidation

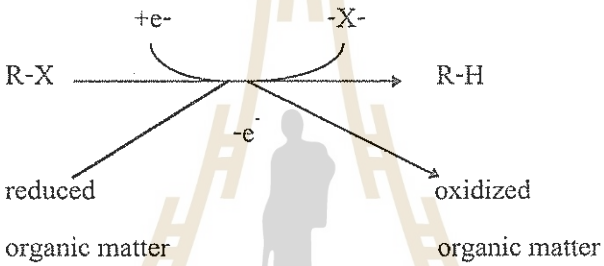


(X = halogen)

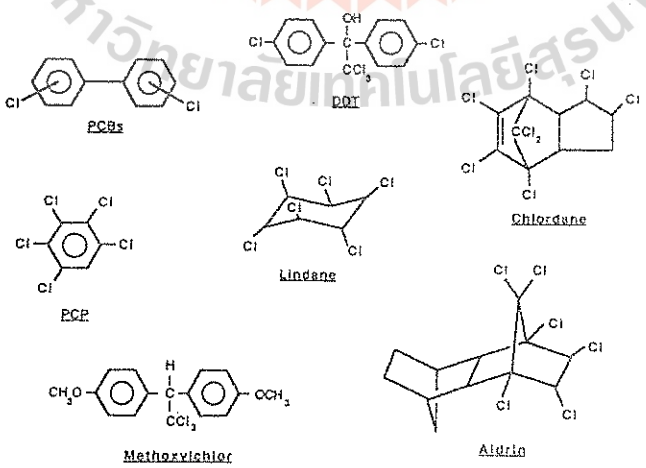
2.2 ปฏิกริยา dehydrohalogenation



2.3 ปฏิกริยา reductive dechlorination



สารพิษในกลุ่มนี้สารกลุ่ม organochlorines ที่นิยมใช้เป็นยาปราบศัตรูพืชจัดว่าเป็นสารที่กำลังมีปัญหาต่อสิ่งแวดล้อมมากที่สุด ตัวอย่างที่สำคัญคือ PCBs, DDT (2,2 bis[p-chlorophenyl]-1,1,1-trichloroethane), สารกลุ่ม cyclodiens (เช่น Chlordane, Heptochlor, Aldrin, Dieldrin, Mirex และ Endosulfan) ดังแสดงสูตรโครงสร้างในรูปที่ 52



รูปที่ 52 แสดงสูตรโครงสร้างเคมีของสารกลุ่ม organochlorines (ที่มา : D.G.Capone และ J.E. Baure, 1992)

3. สารกลุ่มคลอโรฟีนอล (Chlorophenols)

สารกลุ่มนี้สามารถถูกย่อยสลายได้โดยแบคทีเรียหลายชนิดทั้งในสภาพที่มีและไม่มีออกซิเจน ตัวอย่างเช่น เพนตาคลอโรฟีนอล (pentachlorophenol) ซึ่งใช้เป็นยาฆ่าแมลงสามารถถูกย่อยสลายได้โดยเอนไซม์ monooxygenase กลายเป็น tetrachlorohydroquinone ในสภาพที่มีออกซิเจน ส่วนในสภาพที่ไม่มีออกซิเจนอาจถูกย่อยสลายได้เป็นฟีนอล ซึ่งฟีนอลจะถูกย่อยสลายต่อไปเป็นมีเธนและคาร์บอนไดออกไซด์ในที่สุด

4. สารกลุ่มไนโตรอะโรมาติก (Nitroaromatics)

สารกลุ่มนี้จัดว่ามีแนวโน้มเป็น recalcitrant ตัวอย่างเช่น Munitions (TNT) เป็นต้น

อย่างไรก็ตามเทคโนโลยีทางด้าน Bioremediation ยังคงมีข้อจำกัดอยู่ได้แก่

ก. ไม่สามารถย่อยสลายสารพิษได้สมบรูณ์

ข. อัตราการย่อยสลายต่ำ

ค. ยังมีสารอีกหลายชนิดที่เป็น recalcitrant

ง. ในระหว่างการย่อยสลายสาร สารตัวกลาง (intermediate) บางตัวมีพิษมากกว่าสารตั้งต้น ในปัจจุบันใช้เทคนิคทางพันธุวิศวกรรมกับจุลินทรีย์ทำให้กำจัดดังกล่าวข้างต้นได้ เช่น การเพิ่มประสิทธิภาพการทำงานของเอนไซม์ที่จำเพาะเจาะจง การเปลี่ยนระบบเมตาโบลิซึมให้เหมาะสม เป็นต้น

ตัวอย่างการประยุกต์ใช้เทคโนโลยี Bioremediation

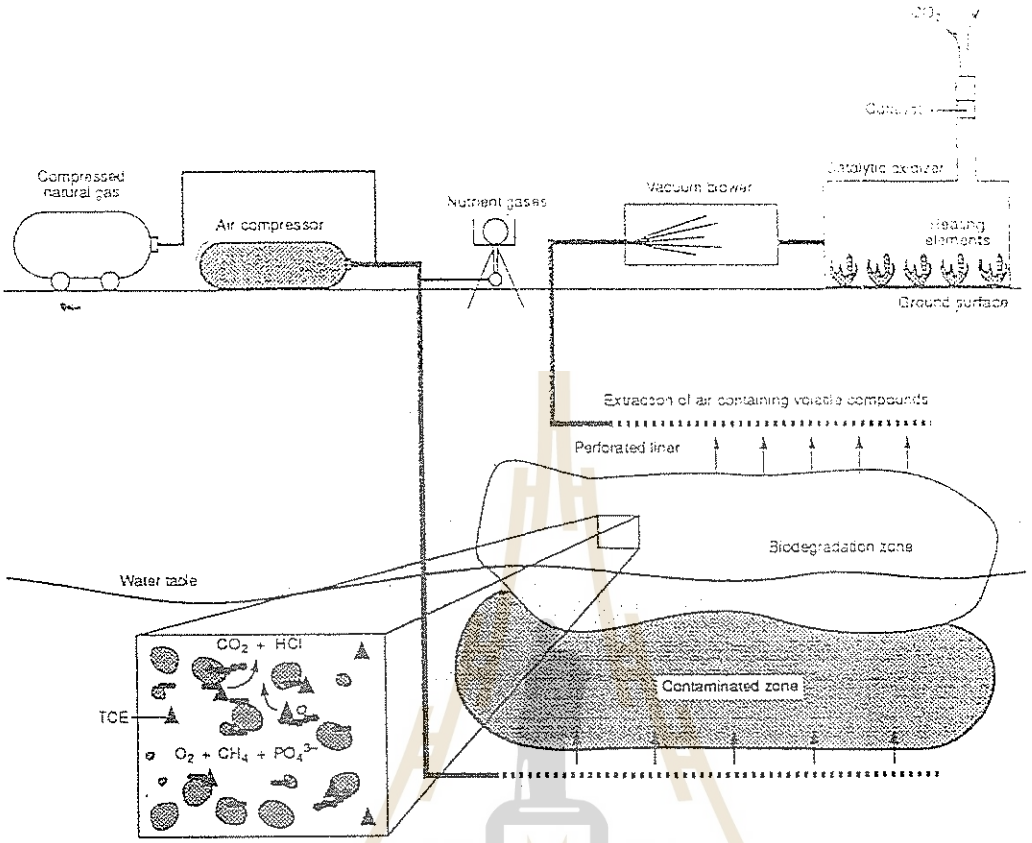
1. การกำจัดสารไฮโดรคาร์บอนที่ปนเปื้อนในดิน

วิธีการทั่วไปในการกำจัดสารไฮโดรคาร์บอนที่ปนเปื้อนมากับดินนี้ เริ่มจากการสำรวจลักษณะของจุลินทรีย์ และลักษณะทางเคมีทั่วไปของดินที่ปนเปื้อนก่อน จากนั้นจึงวิเคราะห์ประเมินปัจจัยทางเคมีที่อาจก่อให้เกิดความเป็นพิษต่อจุลินทรีย์ในดินนั้น ๆ ประกอบกับตรวจหาจำนวนจุลินทรีย์ในดินทั้งหมดที่เป็น aerobes พร้อมกับหาจำนวนจุลินทรีย์ตามธรรมชาติที่มีความสามารถในการย่อยสลายสารที่ปนเปื้อนมากับดิน นอกไปจากนี้คุณสมบัติการแพร่ซึมของอากาศลงสู่ดินก้เป็นอีกปัจจัยที่ต้องวิเคราะห์ด้วยเช่นเดียวกัน จากนั้นจึงทำการคัดเลือกจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายสูงสุดปล่อยลงไปพร้อมกับจัดทำระบบการให้สารอาหาร และอากาศที่เหมาะสม เพื่อเอื้อให้จุลินทรีย์ที่ปล่อยลงไปทำงานได้สมบรูณ์ที่สุด

2. การกำจัดสารกลุ่มฮาโลคาร์บอนที่ปนเปื้อนในแหล่งน้ำใต้ดิน

กลุ่มสารที่พบว่ามีการปนเปื้อนมากได้แก่ สารกลุ่ม haloethanes, halomethanes และ halogenated aromatics ในการบำบัดนิยมใช้แบคทีเรียกลุ่ม merhanotrophs ที่สามารถสร้าง

เอนไซม์ methane monooxygenase ซึ่งจะย่อยสลาย TCE, dichloroethane และ vinyl chloride ได้ ดังแสดงในรูปที่ 53



รูปที่ 53 แสดงไดอะแกรมการกำจัดสารกลุ่มฮาโลคาร์บอนที่ปนเปื้อนในแหล่งน้ำใต้ดิน

โดยข้างต้นจะทำการฉีดสารอาหารในรูปก๊าซที่มีมีเธนและมีก๊าซออกซิเจนลงไปยังชั้นใต้ดินที่มีการปนเปื้อนเพื่อกระตุ้นให้กลุ่มแบคทีเรีย methanotroph ที่สามารถใช้มีเธนเป็นแหล่งพลังงาน มีการเจริญเติบโตและย่อยสลาย TCE วิธีนี้พบว่า TCE กว่า 98% ถูกย่อยสลาย ส่วนผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ ที่เหลือจะถูกลำเลียงผ่านปั๊มจากนั้นถูกนำไปเผาต่อไป

3. การกำจัดคราบน้ำมันในทะเล

วิธีการโดยทั่วไปมักนิยมปล่อยวัสดุลอยน้ำที่มีความสามารถในการดูดซับคราบน้ำมันในระดับหนึ่ง เช่น ขี้เลื่อย หรือซังข้าวโพด ลงไปก่อนเพื่อกำจัดส่วนหนึ่งของคราบน้ำมัน จากนั้นทำการเร่งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียในธรรมชาติที่มีความสมารถในการใช้คราบน้ำมันเป็นแหล่งอาหารคาร์บอน โดยการเติมสารอนินทรีย์ไนโตรเจน และฟอสฟอรัสในรูปของปุ๋ยลงไป เช่น ปุ๋ย Inipol EAP22 เพื่อเร่งการเจริญของแบคทีเรียให้มีมากขึ้น จนสามารถกำจัดคราบน้ำมันได้ใน

ระดับหนึ่ง หรืออาจใส่หัวเชื้อแบคทีเรียที่มีความสามารถในการย่อยสลายคราบน้ำมันสูงร่วมลงไปด้วย

4. การกำจัดโลหะหนักที่ปนเปื้อนในดิน

อีกเทคโนโลยีหนึ่งที่นอกเหนือจากการใช้จุลินทรีย์ในการกำจัดสารพิษแล้ว ในกรณีของการกำจัดโลหะหนักที่ปนเปื้อนในดินบางครั้งเราใช้พืชในการลดหรือกำจัด ที่เรียกว่า phytoremediation เช่นการใช้พืชที่ชื่อ Indian mustard (*Brassica juncea*) หรือ ragweed (*Ambrosia* sp.) พบว่าพืชเหล่านี้สามารถดูดเก็บเอาโลหะหนัก เช่น ตะกั่วเข้าไว้ได้กว่า 40% เมื่อทำการปลูกลงในดินที่มีการปนเปื้อน จากนั้นจึงนำพืชเหล่านี้ไปเผาและสกัดเอาโลหะหลักกลับมาใช้ต่อไป หรือในกรณีของแคดเมียมและเมธิลเมอร์คิวรี่ที่ก่อให้เกิดมินามาตะ (minamata) ที่ปนเปื้อนในดินมีแนวโน้มที่จะถูกกำจัดได้โดยมีการโคลนยีนที่ควบคุมการสร้างโปรตีนที่ชื่อว่า metalothioneins (MTS) จากสัตว์หรือยีสต์ ซึ่งสามารถเข้าจับเกาะจับโลหะหนักได้ประมาณ 7 กรัมอะตอมของโลหะต่อ 1 โมเลกุลของ MTs เข้าสู่แบคทีเรียไรโซเบียม พร้อมกับเพิ่มจำนวนให้มีมากขึ้น กว่าปกติ จากนั้นปลูกร่วมกับพืชตระกูลถั่วในดินที่มีการปนเปื้อนก็จะเป็นวิธีการหนึ่งที่ช่วยในการกำจัด เช่นเดียวกัน

เทคโนโลยีการใช้ชีววิทยาทดแทนการใช้สารเคมีในระบบการเกษตร

การใช้สารเคมีหรือวัตถุมีพิษหรือยาฆ่าแมลงในการควบคุมและการป้องกันศัตรูพืช สารเคมีฆ่าแมลง (insecticide) มาจากคำว่า insect และ icide (to kill) การใช้สารเคมีเป็นวิธีที่เกษตรกรนิยมใช้มากที่สุดเพราะหาซื้อได้ง่าย ใช้ง่าย ได้ผลเร็ว ทันต่อเหตุการณ์แต่ปัญหาใหญ่คือราคาแพง มีพิษต่อผู้ใช้และสิ่งแวดล้อม รวมทั้งแมลงสร้างภูมิต้านทานสารเคมี (chemical resistance) และเกิดระบาดของแมลงมากกว่าและเป็นปัญหามากกว่าเดิม (resurgence) รวมไปถึงมีปัญหาและผลกระทบต่อแมลงชนิดอื่น ๆ ที่ไม่ใช่เป้าหมาย (non-target insects) อย่างไรก็ดีมีการปรับปรุงรูปแบบของสารเคมีฆ่าแมลงมากมาย เช่น มีการใช้ฮอร์โมนระงับหรือยับยั้งการเจริญเติบโต (growth inhibitor, GI หรือ growth regulator, GR.) ใช้จุลินทรีย์ที่เป็นศัตรูธรรมชาติในลักษณะเหมือนการใช้สารเคมี ที่เรียกว่า biopesticide ซึ่งรวมกับการใช้สารสกัดจากพืช เช่น สะเดา (neem) ไพเรทริน หรือสารสังเคราะห์ที่เลียนแบบสารสกัดจากธรรมชาติ เช่น สารไพรีทรอยสังเคราะห์ (synthetic pyrethrods) เป็นต้น

ยุคการใช้สารเคมี ยุคแรกคือการใช้สารอินทรีย์หรือสารประกอบโลหะหนัก (inorganic compound) คือสารหนูเขียว (Paris green) เพื่อปราบด้วง *Leptinotarsa decemlineata* (Colorado beetle) ในปี 1867 อีก 100 ปีต่อมามีการใช้พวกน้ำมันก๊าด น้ำมันและ emulsion ต่าง ๆ ในการป้องกันกำจัดแมลงเพราะมีพิษน้อยกว่าสารหนูเขียวมาก ยุคที่สองของการใช้ยาฆ่าแมลงเป็นยุคของการใช้ยาฆ่าแมลงในธรรมชาติ เช่น ดอกไพเรทรัม, ใบยาสูบ และโล่ติ้น ยุคที่สามเริ่มมีการใช้สาร

อินทรีย์สังเคราะห์ เช่น chlorinated hydrocarbons, organophosphates และ carbamates ยุคที่สี่หรือยุคปัจจุบันนี้เป็นยุคของการใช้ยาฆ่าแมลงชีวินทรีย์หรือสารอื่น ๆ ซึ่งมีพิษต่อมนุษย์หรือสิ่งแวดล้อมน้อยกว่าสารอินทรีย์สังเคราะห์ เช่น การใช้ฮอร์โมนระงับหรือยังยั้งการเจริญเติบโต (growth inhibitor, GI หรือ growth regulator, GR) หรือสารสกัดจากพืช เช่น สะเดา (neem) และสารไพรีทรอยสังเคราะห์ (systhetic pyrethroid) และยุคที่ห้า (ในทศวรรตที่ 20) คงจะเป็นการใช้สารเคมีหรือจุลินทรีย์กับการใช้พืชจำลองพันธุ์ (transgenic plant)

รูปแบบของสารฆ่าแมลง (Pesticide formulations and their codes)

ปัจจุบันการผลิตสารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืชมีหลายรูปแบบ (formulations) และใช้รหัสต่างกันแม้ว่าสารเคมีชนิดนั้นจะมีคุณสมบัติและส่วนประกอบใกล้เคียงกันก็ตาม ดังนั้นเพื่อให้การใช้รหัสไปในทางเดียวกันองค์การ FAO และ CIPAC (Collaborative International Pesticid Analytical Council) ได้นำรหัสของสารเคมีซึ่งจัดทำโดย GIFAP (International Association of Pesticide Manufacturers) มาเป็นมาตราฐานกำหนดรหัสของสารเคมีที่ผลิตขึ้น รหัสที่นำมาใช้ประกอบด้วยอักษร 2 ตัว ซึ่งใช้เป็นตัวบ่งชี้คุณสมบัติและการใช้ของสารเคมีชนิดนั้น

รูปแบบของสารฆ่าแมลงภายใต้ coding system นี้แบ่งออกเป็นกลุ่มใหญ่ตามคุณสมบัติและการใช้ได้ดังนี้

กลุ่มที่ 1 ชนิดเข้มข้นต้องผสมน้ำก่อนพ่น (Concentrates for dilution with water) ได้แก่

EC = Emulsiflable concentrate

SC = Suspension concentrate (= flowable concentrate, FL)

SL = Soluble concentrate (= water soluble concentrate, WSC
= liquid concentrate, LC)

SP = Water soluble powder

SG = Water soluble granules

WP = Wettable powder

WG = Water dispersible granules (= Dry flowable)

EG = Encapsulated granules

กลุ่มที่ 2 ชนิดเข้มข้นต้องผสมด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ (Concentrates for dilution with organic solvents) ได้แก่

OL = Oil miscible liquid

OF = Oil miscible flowable concentrate (oil miscible suspension)

OP = Oil dispersible powder

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

กลุ่มที่ 3 ชนิดที่ใช้ได้ทันที (Formulations to be applied undiluted or ready-to-use) ได้แก่

GR = Granules (G)

DP = Dustable powder (dust)

UL = Ultra Low Volume (ULV) liquid

ED = Electrochargeable liquid

กลุ่มที่ 4 ชนิดใช้สำหรับคลุกเมล็ด (Concentrate for seed treatment) ได้แก่

DS = Powder for dry seed treatment

FS = Flowable concentrate for seed treatment

LS = Solution for seed treatment

SS = Water soluble power for seed treatment

กลุ่มที่ 5 ชนิดใช้เฉพาะอย่าง (Miscellaneous formulation for special purposes) ได้แก่

RB = Bait (ready for use)

GE = Gas generating product

HN = Hot fogging concentrate

KN = Cold fogging cocentrate

AE = Aerosol dispenser

GA = Gas (under pressure)

ประเภทของสารเคมีฆ่าแมลง (Types of insecticides)

อาจแบ่งได้หลายประเภทดังนี้

ก. แบ่งตามทางเข้า (Mode of entry)

1. ประเภทกินตาย (Stomach poison) เช่น สารหนูเขียว (Lead arsenate หรือ paris green) หรือจุลินทรีย์ *Bacillus thurigiensis*
2. ประเภทถูกตัวตาย (Contact poison) เช่น DDT, BHC, parathion
3. ประเภทไอระเหยเป็นพิษ (Fumigant) เช่น Methyl bromide, Carbon disulphide, Hydrocyanide หรือ Chloropicrin

ข. แบ่งตามระดับความเป็นอันตรายหรือความเป็นพิษ (Levels of toxicity)

การวัดความเป็นพิษที่นิยมใช้กันทั้งในการเกษตรและการแพทย์ คือ วัดความเป็นพิษโดยฉับพลัน (acute toxicity) วิธีนี้เป็นวิธีวัดผลของวัตถุมีพิษหลังจากที่สัตว์ทดลองได้รับวัตถุมีพิษนั้น ๆ หนึ่งขนาด 1 ครั้ง ภายหลังในเวลาจำกัด การทดลองวัดความเป็นพิษของยาฆ่าแมลงซึ่งทำกับสัตว์ทดลองนั้นทำได้ 3 วิธีคือ

1. วิธีให้สัตว์ทดลองได้รับยาโดยทางอาหารหรือทางปาก (Acute oral LD_{50})

2. วิธีให้ยาซึมผ่านเข้าตัวสัตว์ทางผิวหนัง (Acute dermal LD_{50})

3. วิธีให้ยาโดยการหายใจ (Inhalation LC_{50})

วิธีแรกเป็นวิธีที่นิยมใช้กันทั่วไปเพราะง่ายต่อการปฏิบัติการทดลอง และเป็นวิธีที่สะดวกเมื่อนำมาเปรียบเทียบกับผลการทดลองค้นคว้าจากแหล่งอื่น อย่างไรก็ตามในการทดลองวัดความเป็นพิษ ค่าที่ได้จะแตกต่างกันไปบ้างเมื่อใช้สัตว์ทดลองต่างชนิด, ต่างเพศ ต่างอายุหรือแม้แต่ใช้อาหารต่างกันและในสภาพแวดล้อมที่แตกต่างกัน

องค์การอนามัยโลก (WHO หรือ World Health Organization) ได้เป็นผู้จัดชนิดของความเป็นพิษของยาฆ่าแมลงออกเป็น 6 ชนิดดังนี้คือ ชนิดที่มีพิษร้ายแรงยิ่ง (extremely toxic) ชนิดมีพิษร้ายแรง (highly toxic) ชนิดมีพิษปานกลาง (moderately toxic) ชนิดมีพิษน้อย (Sightly toxic) ชนิดมีพิษน้อยมาก (practically nontoxic) ชนิดไม่มีพิษ (harmless)

1. ยาฆ่าแมลงชนิดที่ร้ายแรงที่สุด ได้รับพิษโดยทางปาก (oral rate LD_{50}) และพิษโดยตรงต่อผิวหนัง (dermal rate LD_{50}) ต่อหนูซึ่งเป็นสัตว์ทดลองโดยใช้ยาเพียง 5 มิลลิกรัม/กิโลกรัม เท่านั้น สำหรับพิษโดยการหายใจกับหนูประมาณ 4 ชั่วโมง พบว่ามี LD_{50} = 10 ไมโครกรัม/ลิตร ยาฆ่าแมลงประเภทนี้ถ้าคนเรารับประทานเข้าไปเพียงแค่ชิมดู (น้อยกว่า 7 หยด ถ้าเป็นน้ำ) ถ้าเป็นยาเม็ดเพียงเม็ดเดียวก็จะเป็นอันตรายถึงชีวิตในมนุษย์ผู้ใหญ่ สำหรับเด็กนั้นยิ่งเป็นอันตรายอย่างมากที่สุด ตัวอย่างยาฆ่าแมลงชนิดอันตรายร้ายแรงที่สุดมีดังต่อไปนี้คือ

1. ยาเทมิค (Temik) หรือยาแอลดิคาร์บ (Aldicarab)
2. ยาซิสตอก (Systox) หรือยามิดิตอน (Demiton)
3. ยาไดซิสตอน (Di-syston) หรือยาไดซัลโฟตอน (Disulfoton)
4. ยาฟ่อสดริน (Phosdrin) หรือยาเมวินฟอส (Mevinphos)
5. ยาพาราไธออน (Parsthion) หรือยา Folidol
6. ยาไธเมต (Thimet)
7. ยาชาราแดน (Scharadan, OMPA)
8. ยาเทพ (TEPP)
9. ยาซินโนฟอส (Zinophos) หรือยาไธโอนาซิน (Thionazin)

2. ยาฆ่าแมลงใช้ร้ายแรงสูง ได้รับพิษโดยทางปาก และพิษโดยตรงต่อผิวหนัง ต่อหนูประมาณ 5-50 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ถ้าหายใจเข้าไปความเป็นพิษ LC_{50} = 10 - 100 ไมโครกรัม/ลิตร ส

มือ ก็อาจจะเป็นอันตรายถึงชีวิตได้ยาชนิดนี้ได้แก่

1. ยาแอลดริน (Aldrin)
2. ยาไบดริน (Bidrin)
3. ยาไตรไธออน (Trithion) หรือยาคาร์โบฟีโนไธออน (Carbophenothion)

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

4. ยาดีดีวีพี (DDVP) หรือยาไดคอลร์วอส (Dichlorvos)
5. ยาดิลดริน (Diedrin)
6. ยาเอนดริน (Endrin)
7. ยาเมทธิลพาราไธออน (Methyl paration)
8. ยาฉุน (Nicotine)
9. สารหนู (Sodium arsenite)
10. ยาเซดแทรน (Zectran)

3. ยาฆ่าแมลงชนิดอันตรายปานกลาง ถ้าหนูกินเข้าไปถึงขนาด 50-500 มิลลิกรัม/กิโลกรัม (น้ำหนักตัว) ก็มีอันตรายถึงตายได้เช่นกัน ถ้าเข้าทางผิวหนังและทางหายใจยอมให้ได้ถึงขนาด 50-1000 มิลลิกรัม/กิโลกรัม (น้ำหนักตัว) สำหรับคนถ้ารับประทานโดยตรงขนาดหนึ่งช้อนชาถึงสองช้อนโต๊ะก็อาจมีอันตรายถึงตายได้ ยาชนิดนี้ได้แก่

1. ยากูไธออน (Guthion) หรือยาอะซินฟอสเมทธิล (Azinphosmethyl)
2. ยาบีเอชซี (BHC) หรือยาลินเดน (Lindane)
3. ยาคลอร์เดน (Chlordane)
4. ยาโค-ราล (Co-Ral) หรือยาคูมาฟอส (Coumaphos)
5. ยาไดอะซินนอน (Diazinon)
6. ยาไซกอน (Cygon) หรือยาไดเมตโทเอท (Dimethoate)
7. ยาไธโอแดน (Thiodan) หรือยาเอนโดซัลแฟน(Endosulfan)
8. ยาเบย์เท็กซ์ (Baytex) หรือยาเฟนไธออน (Fenthion)
9. ยาเฮพตาคลอร์ (Heptachlor)
10. สารหนูตะกั่ว (Lead arsenate)
11. ยาไดบรอม (Dibrom)
12. ยาเมตา-ซิสตอก (Meta-systox)
13. ยาดิพเทอเร็กซ (Dipterex) หรือยาไดล็อกซ์ (Dylox) หรือยาไตรคลอร์ฟอน (Trichlorfon)
14. ยาดีดีที DDT
15. ยาทอกซาฟีน (Toxaphene)

4. ยาฆ่าแมลงชนิดอันตรายน้อย เป็นยาที่มีอันตรายไม่มากนัก ขนาดทดลองกับหนูกินแล้วมีอันตรายถึงตายต้องมากกว่า 500 มิลลิกรัม/กิโลกรัม (น้ำหนักตัว) ขึ้นไป ถ้าหายใจหรือเข้าทางผิวหนังต้องมากถึง 4,000 มิลลิกรัม/กิโลกรัม (น้ำหนักตัว) ความเป็นพิษสำหรับคนนั้นถ้ารับประทานมากกว่าสองช้อนโต๊ะขึ้นไปก็เป็นอันตรายถึงตายได้ ยาชนิดนี้ได้แก่

1. ยาอะเบท (Abate)

2. ยาอะราไมท์ (Aramite)

3. ยาเซวิน (Sevin) หรือยาคาร์บาริล (Carbaryl)

4. ยาคลอโรเบนซิเลต (Chlorobenzilate)

5. ยาดี.ดี.ดี. (DDD)

6. ยาเคลเทน (Kelthane)

7. ยามาลาไธออน (Malathion)

8. ยาเมทธอกซีคลอร์ (Methoxychlor)

9. ยาไมเรกซ์ (Mirex)

10. ยาเพอร์เธน (Perthane)

11. ยารอนเนล (Ronnel) หรือยาโครัน (Korlan)

12. โลติ๊น (Rotenone)

5. ยาฆ่าแมลงที่มีพิษน้อยมาก หรือชนิดไม่มีพิษ ได้แก่ น้ำมันพืชต่าง ๆ ขี้เถ้าแกลบ ปูนขาว ฯลฯ

ค. แบ่งตามปฏิกริยา (Mode of actions)

1. เป็นพิษทางกายภาพ (Physical poison) สารพวกนี้จะไปเคลือบตัวแมลงทำให้แมลงหายใจไม่ออก ขาดออกซิเจนและตายได้ เช่น สารประเภทน้ำมันหรืออีมัลชั่น (oil and emulsion)

2. เป็นพิษทำให้โปรตีนตกตะกอน (protoplasmic poison) ทำให้โปรตีนของเซลล์ตกตะกอน และแมลงตายได้ เช่น สารหนูเขียว, Methyl bromide, Chloropicrin

3. เป็นพิษต่อทางเดินหายใจ (Respiratory poison) ทำให้แมลงขาดออกซิเจน มึนงงและตาย เช่น แก๊ซพิษส่วนใหญ่ (Hydrogen cyanide และ Sodium cyanide หรือ Calcium cyanide

4. เป็นพิษต่อระบบประสาท (Nerve poison) ทำลายระบบการทำงานของ CNS ทำให้แมลงเป็นอัมพาต เช่น สารในกลุ่ม organophosphorous ทั้งหมดและสารสกัดจากพืชบางชนิด เช่น pyrethrin หรือ Nicotin sulphate

5. พิษทั่ว ๆ ไป (General poison) คือสารประเภทที่มีพิษมากกว่าหนึ่งประเภท อาจเป็นทั้งทำลายประสาทร่วมกับทำลายระบบหายใจ เช่น โล่ติ้น (Rotenone) และสารในกลุ่ม DDT เป็นต้น

ง. แบ่งตามส่วนประกอบทางเคมีภัณฑ์ (Chemical compositions)

1. สารประกอบอนินทรีย์ (Inorganic compounds) คือสารประกอบที่มีโลหะเป็นองค์ประกอบ และไม่มีคาร์บอน ที่นิยมใช้มากที่สุดคือสารหนูเขียว Lead arsenate ($Pb_2HAs_3O_4$) รองลงมาคือ Calcium arsenate ($Ca_3AasO_4)_2$, Alumina (Al_2O_3) และ Talcum

2. สารประกอบอินทรีย์ (Organic compounds) คือมีองค์ประกอบของ H, C และ N สารกลุ่มนี้มีมากที่สุดสามารถแยกตามองค์ประกอบทางเคมี ได้ดังนี้

(1) Organo phosphorous insecticides

(2) Carbamate insecticides

(3) Chlorinated hydrocarbon insecticides

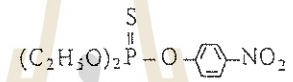
(4) Botanical insecticides หรือ synthetic botanical insecticides

(5) Microbial Insecticide คือสารจุลินทรีย์หรือที่เรียกว่า biopesticide สารประกอบทั้ง 5 จะได้กล่าวในรายละเอียดแต่ละกลุ่มดังนี้

1. Organo phosphorous insecticides (organophosphates)

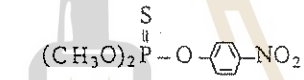
สารเคมีกลุ่มนี้เป็นสารประกอบของกรดฟอสฟอริค (H_3PO_4) หรือสาร อนุพันธ์ต่าง ๆ ของกรดฟอสฟอริคหรือพวก ester ซึ่งจะเป็นสารที่มีฤทธิ์มากที่สุด ตัวอย่างสารกลุ่มนี้พร้อมโครงสร้างเคมีดังนี้

ETHYL PARATHION



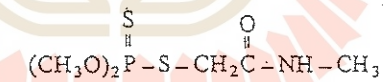
O, O-diethyl O-p-nitrophenyl phosphorothioate

METHYL PARATHION



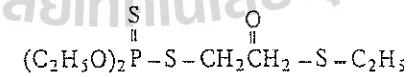
O, O-diethyl O-p-nitrophenyl phosphorothioate

DIMETHOATE (Cygon®)



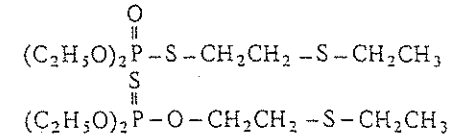
O, O-diethyl S-(N-methylcarbamoylmethyl) phosphorothioate

DISULFOTON (Di-Syston®)



O, O-diethyl S-2-[(ethylthio) ethyl] phos phorothioate

DEMETON (Systox®)



mixture of O, O-diethyl S-(and O)-2-[(ethylthio) ethyl] phosphorothioate

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ยาเคมีฆ่าแมลงจำพวกนี้มีสูตรโครงสร้างอย่างเดียว จึงมีฤทธิ์คล้ายคลึงกันจะต่างกันก็เพียงความรุนแรงและการดูดซึมเข้าสู่ร่างกาย สารพวก organic phosphorous มีหลายชนิด เช่น parathion, malathion, mevinphos, chlorthion, phosdrin ฯลฯ เป็นต้น

สารเคมีฆ่าแมลงจำพวก organic phosphorous สามารถเข้าสู่ร่างกายได้ถึง 3 ทางคือ

1. ทางผิวหนัง จะไม่มีการระคายเคืองต่อผิวหนังแต่อย่างใด โดยเฉพาะอย่างยิ่งผู้ที่มีแผลหรือเป็นโรคผิวหนัง หรือขณะที่อุณหภูมิของอากาศสูง การดูดซึมจะมีมากขึ้นและดียิ่งขึ้น
2. โดยการหายใจเอาละอองของสารนี้เข้าไป
3. โดยการกินเข้าไป

สำหรับข้อที่ 1 และ 2 นั้นมักจะเกิดขึ้นกับผู้ที่ทำงานเกี่ยวกับการพ่นสารฆ่าแมลง หรือในโรงงานที่ผลิตหรือบรรจุสารจำพวกนี้ ส่วนข้อที่ 3 นั้นมักจะเกิดจากการตั้งใจฆ่าตัวตายหรือโดยอุบัติเหตุ การซึมเข้าทางผิวหนังและการหายใจเอาละอองของสารนี้เข้าไปจะทำให้เกิดอาการได้ในเวลาประมาณ 6 ถึง 12 ชั่วโมง ถ้าสารนั้นเข้าไปจำนวนมากพอ ส่วนการกินเข้าไปจะทำให้เกิดอาการได้อย่างรวดเร็ว ภายในระยะเวลา 30 นาที

สารพวกนี้เมื่อซึมเข้าสู่ร่างกายแล้วจะทำให้เกิดอาการแพ้คล้ายคลึงกัน ทั้งนี้เนื่องจากฤทธิ์ของสารจำพวกนี้ทำให้เกิด acetylcholine คั่งในร่างกายโดยสารพวก organic phosphorous นี้ไปทำปฏิกริยากับ enzyme cholinesterase กลายเป็นสารซึ่งคงทนมาก สลายตัวได้ยากร่างกายจึงขาด cholinesterase enzyme สำหรับจะไปทำให้ acetylcholine ที่เกิดขึ้นจากการทำงานของร่างกายสลายตัวไป ฉะนั้นจึงเกิดจำนวน acetylcholine คั่งค้างมากขึ้น และทำให้เกิดอาการในระยะต่าง ๆ ดังนี้

1. อาการเนื่องจากการกระตุ้นประสาท parasympathetic ซึ่งมักจะเกิดขึ้นในระยะแรกคือ มีอาการเบื่ออาหาร คลื่นไส้ อาเจียร เหงื่อออก แน่นบริเวณลิ้นปี่ และยอกอก ถ้าอาการรุนแรงมากขึ้นจะมีปวดท้อง ท้องเดิน น้ำลายฟูมปาก น้ำตาไหล น้ำมูกไหล ถ่ายอุจจาระ และปัสสาวะคลั้นไม่อยู่ หลอดลมมีเสมหะมาก หายใจหอบ หลอดลมตีบ หน้าเขียวคล้ำ
2. อาการทางกล้ามเนื้อจะมีอาการกระตุกของกล้ามเนื้อ กล้ามเนื้อตามร่างกายเต้นและสั่น (mascular fasciculation) จะเห็นได้ชัดที่ลิ้น ตามหน้าและบริเวณลำคอ ถ้าอาการรุนแรงขึ้นจะพบว่ากระตุ้นมากขึ้นทั่วร่างกาย ต่อมาจึงมีอาการอ่อนเพลียตามกล้ามเนื้อทั่วไป และในที่สุดจะเป็นอัมพาตได้
3. อาการทางสมอง ได้แก่ มึนศีรษะ ปวดศีรษะ งง และกระสับกระส่าย ตื่นเต้นตกใจง่าย อารมณ์พลุ่งพล่าน ถ้าอาการมากอาจชักและหมดสติได้

ผู้ที่ได้รับสารชนิดนี้อาจจะมีอาการมากถึงตายได้เนื่องจากระบบหายใจล้มเหลว (respiratory failure) ซึ่งอาจเกิดเนื่องจากหลอดลมตีบมาก หลอดลมมีเมือกและเสมหะมากถึงขนาดอุดตันกล้ามเนื้อ ระบบการหายใจเป็นอัมพาต ศูนย์ควบคุมการหายใจในสมองหยุดการทำงาน

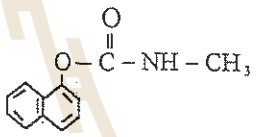
การรักษาพิษของสารเหล่านี้นอกจากจะใช้ยาฉีดพวก Atropine แล้วเรายังใช้ 2-PAM หรือ paralidoxime chloride หรือ 2-pyridine aldoxime methylchloride ร่วมด้วย 2-PAM เป็นตัวยาที่แก้พิษสารจำพวกนี้โดยเฉพาะ เนื่องจากมีฤทธิ์ปลดปล่อย enzyme cholinesterase ซึ่งรวมตัวกับสารฆ่าแมลงให้เป็นอิสระ ดังนั้นร่างกายจึงมี enzyme มากพอที่จะสลาย acetycholine ทำให้เกิดอาการแพ้พิษหมดไป

2. Carbamate insecticides (carbamates)

ในปัจจุบันนี้ยาฆ่าแมลงจำพวก carbamate ได้ใช้กันแพร่หลายมากขึ้น เนื่องจากอันตรายจากยามีน้อย บริษัทหลายแห่งได้ผลิตยานี้ออกจำหน่าย ชาวสวนและชาวไร่จึงได้ใช้กันมากในการกำจัดแมลงต่าง ๆ ที่เป็นศัตรูต่อผัก ผลไม้ ตลอดจนในการเกษตรเกี่ยวกับพืชไร่ต่าง ๆ เช่น carbaryl คือ (1-naphthyl n-methyl carbamate)

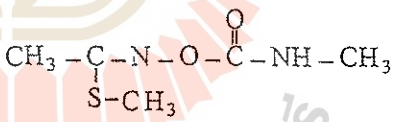
สารกลุ่มนี้เป็นสารประกอบหรืออนุพันธ์ต่าง ๆหรือ ester ของกรดคาร์บาร์มิค ตัวอย่างสารประกอบในกลุ่มนี้มีดังนี้

CARBARYL (Sevin®)



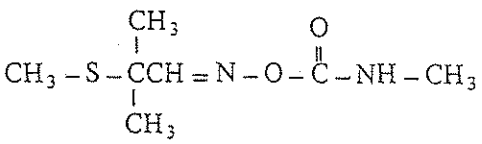
1-naphthyl methylcarbamate

METHOMYL (Lannate®)



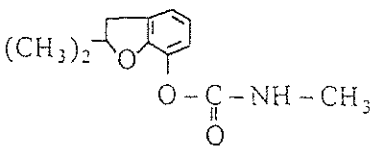
methyl N-[(methylcarbamoyl)oxy] thioacetimidate

ALDICARB (Temik®)



2-methyl-2-(methylthio) propionaldehyde O-(methylcarbomoyl) oxime

CARBOFURAN (Furadan®)



2,3-dihydro-2,2-dimethyl-7-benzofuranyl methyl carbamate

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

การดูดซึมเข้าสู่ร่างกายของสารเคมีฆ่าแมลงในกลุ่มนี้สามารถเข้าได้ทุกทาง รวมทั้งทางผิวหนังเช่นเดียวกับพวก organic phosphorous compound และมีฤทธิ์คล้ายกัน แต่ปฏิกริยาในการจับกับ enzyme cholinesterase นั้นไม่มั่นคงถาวรคือจะปลดปล่อย enzyme ให้กลับคืนสู่สภาพปกติภายในระยะเวลาอันสั้นเรียกว่า reversible inhibitors of cholinesterases เนื่องจากสารนี้สลายตัวเร็ว ฉะนั้นผู้ป่วยที่แพ้นี้ก็จะมีอาการดีขึ้นอย่างรวดเร็วด้วย และการตรวจหาระดับ enzyme cholinesterase อาจพบว่ามีการเปลี่ยนแปลงน้อยหรือไม่มีเลย

อาการพิษของผู้ที่ได้รับสาร carbamate จะมีอาการเช่นเดียวกับสารพวก organic phosphorous แต่อาการน้อยกว่า อาการที่สำคัญคือ

1. มีเหงื่อออกมาก
2. น้ำลายออกมาก
3. คลื่นไส้ อาเจียร
4. ม่านตาหดเล็กลง

อาการเหล่านี้จะดีขึ้นภายใน 3-4 ชั่วโมง ถ้ายานี้เข้าไปในร่างกายไม่มากนัก และรักษาด้วย Atropine Sulfate

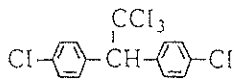
3. Organochlorines (chlorinated hydrocarbons)

ยาฆ่าแมลงจำพวกนี้ได้ใช้กันมานานแล้ว มักจะเรียกและรู้จักกันดีในชื่อของ DDT (dichloro diphenyl trichloroethane) ซึ่งใช้กันอย่างแพร่หลายในทางการแพทย์และสาธารณสุข โดยใช้กำจัดยุงและสัตว์นำโรคหลายชนิด เช่น เห็บ เหา หมัดและไร เป็นต้น ถึงแม้ว่าได้มีการปิดโรงงานการผลิต DDT และห้ามใช้ DDT ทั่วโลกมานานแล้ว ปัจจุบันประเทศไทยยังใช้ DDT ในสาธารณสุขเช่น กำจัดยุงพาหะไข้มาลาเลีย โรคเท้าช้าง ฯลฯ

ยาฆ่าแมลงพวกนี้นอกจาก DDT แล้วยังมีชนิดอื่น ๆ อีกที่ใช้กันมาก เช่น dieldrin, endrin และ benzene hexachloride (BHC) เป็นต้น ตัวอย่างของสารเคมีฆ่าแมลงในกลุ่มนี้คือ

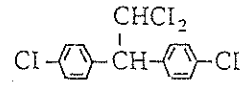
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

DDT



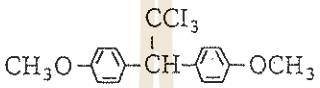
1,1, 1-trichloro-2,2-bis (p-chlorophenyl) ethane

TDE (DDD)



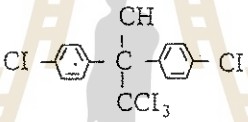
1, 1, 1-dichloro-2,2-bis (p-chlorophenyl) ethane

METHOXYCHLOR



1, 1, 1-TRICHLORO-2,2-bis (p-methoxyphenyl) ethane

DICOFOL



1, 1, 1-TRICHLORO-2,2-bis (p-methoxyphenyl) ethane

สารจำพวกนี้เข้าสู่ร่างกายได้ทางการหายใจและทางปาก โดยการกินเข้าไป สำหรับทางผิวหนังนั้นซึมเข้าไปได้เช่นกัน สำหรับ DDT รูปผงนั้นซึมได้ยาก นอกจากจะทำให้เป็นสารละลายเสียก่อน

สารเคมีฆ่าแมลงจำพวก chlorinated hyprocarbon มีฤทธิ์ต่อสมองในส่วน cerebellum และ motor cortex กลไกที่ทำให้เกิดอาการต่าง ๆ ยังไม่ทราบแน่นอน อาการที่เกิดขึ้นคือ มีการกระตุกของกล้ามเนื้อและชัก ถ้ายาเข้าไปในขนาดมากจะมีคลื่นไส้ อาเจียรและอุจจาระร่วง ถ้าได้รับสารนี้เข้าไปบ่อย ๆ จะมีพยาธิสภาพเกิดขึ้นที่ตับและไต นอกจากนี้แล้วอาจมีอาการเปลี่ยนแปลงของสารโดยสลายตัวและถูกเก็บไว้ในไขมันเป็นสารที่ inactive และจะถูกกำจัดออกจากร่างกายทีละน้อย ผู้ที่มีสารนี้อยู่ในตัวอาจตรวจพบได้ในน้ำนมและปัสสาวะ สำหรับขนาดที่ทำให้เกิดพิษในคนได้นั้น จากการศึกษาพบว่าถ้ากิน DDT เข้าไปในขนาด 10 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัวหนึ่งกิโลกรัม จะทำให้เกิดอาการขึ้นได้ แต่ในคนที่ร่างกายอ่อนแอหรือในขณะที่กระเพาะอาหารว่างถ้ากินเข้าไปในขนาด 6 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัวหนึ่งกิโลกรัม ก็สามารถทำให้เกิดอาการได้แต่ไม่มากนัก อาการรุนแรงจะเกิดขึ้นเมื่อกินเกินกว่า 16 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัวหนึ่งกิโลกรัม ผู้ป่วยจะ

มีอาการชัก เคยมีรายงานผู้ป่วยซึ่งมีอาการรุนแรงมากแต่ไม่ถึงตายเมื่อกิน DDT เข้าไปในขนาด 285 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัวหนึ่งกิโลกรัม ในราย acute poisoning โดยกินเข้าไปมาก อาการจะเกิดขึ้นเร็วภายใน 30 นาที หรือ 2-3 ชั่วโมงหรืออาจมากกว่านี้ขึ้นอยู่กับขนาดของสารที่กินเข้าไป

การรักษาพิษของสารฆ่าแมลงกลุ่มนี้ มีดังนี้

1. ล้างท้องเพื่อดูดเอาสิ่งมีพิษออกให้มากที่สุด ถ้ามีอยู่ตามผิวหนังให้ใช้น้ำและสบู่ล้างออกให้หมด

2. ให้ยาถ่ายชนิด saline cathantic เช่น Sat. Mg. SO_4 ถ้าผู้ป่วยไม่รู้สึกตัวให้ใส่ไว้ในกระเพาะ เมื่อล้างท้องแล้วห้ามใช้ oil laxative เพราะช่วยทำให้การดูดซึม DDT มากขึ้น

3. ใช้ยาจะพวก Barbiturate ควบคุมการกระตุกของกล้ามเนื้อ เช่น Phenobarbital ใช้กินและ Pentobabital ใช้ฉีกเพื่อแก้อาการชัก

4. ใช้ Calcium gluconate ฉีดช่วยในการควบคุมการชักได้ผลดีพอสมควร ห้ามใช้ Epinaphrine เพราะจะทำให้เกิด arrhythmia ได้ง่ายและอาจถึงตายได้

4. Botanical insecticides (botanical Extracts)

เป็นที่รู้จักกันมานานแล้วว่าสาร Pyrethrins ใช้เป็นสารเคมีฆ่าแมลงได้ และในปัจจุบันนี้มีสารสังเคราะห์เลียนแบบขายอยู่ในท้องตลาดเป็นจำนวนมาก สารนี้สกัดได้มาจากดอกไม้ตระกูลเบญจมาศคือ *Chrysanthemum cinerariaefolium* โดยทำให้แห้งแล้วป่นให้ละเอียดเป็นผง (มีสารนี้อยู่ประมาณร้อยละ 1) แต่ส่วนใหญ่ที่ใช้ในการกำจัดศัตรูพืชหรืออาจใช้ตามบ้าน การสกัดตัวยานี้จากดอกไม้ทำได้โดยใช้ตัวละลายเป็น alcohol หรือ kerosene ตัวยาที่อยู่ใน Pyrethrum มีอยู่ 4 อย่างคือ Pyrethrin I และ II, Cinerin I และ II ตัวยา Pyrethrin นั้นมีฤทธิ์แรงกว่าอย่างอื่น นอกจากนี้ได้มีผู้สังเคราะห์สารบางอย่างที่มีฤทธิ์คล้ายคลึงกับสารกลุ่มนี้รวมเรียกชื่อว่า สารไพรีทรอยสังเคราะห์ (sythetic pyrethroid) ซึ่งมีมากมายเช่น permethrin, cypermethrin, cyhalothrin, deltamethrin, allethrin ฯลฯ

สารเคมีฆ่าแมลงชนิดนี้ที่พ่นหรือฉีดตามบ้าน มีความเข้มข้นของสารนี้ประมาณร้อยละ 0.5 บางสูตรใช้ผสมใช้ผสม Pyrethrin และ Allethrin เข้าด้วยเพื่อให้มีฤทธิ์รุนแรงยิ่งขึ้น

สารนี้สามารถเข้าสู่ร่างกายได้ทางการกินและการหายใจ แต่เข้าทางผิวหนังได้น้อยมากอย่างไรก็ตามอาจเกิดปฏิกริยาที่ผิวหนังได้ โดยเป็นโรคผิวหนังอย่างรุนแรงในคนที่แพ้ เช่นเดียวกันถ้าหายใจเข้าไปก็เกิดการแพ้ได้ ทำให้แน่นอึดอัดหายใจไม่ออก สารนี้มีฤทธิ์ต่อระบบประสาท เริ่มต้นด้วยการกระตุ้นจนกระทั่งมีอาการชักและอัมพาต การเป็นพิษอย่างรุนแรงอาจเกิดขึ้นได้ถ้ากินเข้าไปเป็นจำนวนมากขนาด 1-2 กรัมต่อน้ำหนักตัวหนึ่งกิโลกรัมของจำนวน pyrethrin อาจตายได้โดยเกิดอัมพาตของกล้ามเนื้อเกี่ยวกับการหายใจ โดยธรรมดาสารนี้มีพิษน้อยที่สุดในจำพวกยากำจัดศัตรูพืชด้วยกัน อาการและการแสดงที่เป็นพิษส่วนใหญ่มีได้ดังนี้

1. อาการเป็น contact dermatitis มีบวมแดงเป็นตุ่มใส คันมาก น้ำเหลืองมาก

2. อาการเหมือนแพ้เกสรดอกไม้ มีอาการจาม ไอ น้ำมูกไหลมาก หายใจอึดอัด หายใจไม่ออก บางรายอาจมีอาการหอบหืด

3. ถ้าอาการแพ้มีมากและรุนแรง ผู้ป่วยจะมีอาการชาที่ปาก ที่ลิ้น ปวดหัว คลื่นไส้ อาเจียรและอุจจาระร่วง กล้ามเนื้อกระตุก และในที่สุดก็ชักแบบ chronic convulsion และอาจตายได้ด้วยอัมพาตของกล้ามเนื้อของการหายใจ

การรักษา

1. รักษาตามอาการเป็นส่วนใหญ่ การแพ้เนื่องจากภาวะภูมิแพ้ของร่างกายใช้ antihistamine และ steroid ได้ผลดี
2. ถ้ากินเข้าไปเป็นจำนวนมากควรล้างกระเพาะลดการกระตุกของกล้ามเนื้อโดย Barbiturate

สารเคมีฆ่าแมลงที่สกัดจากพืชที่ผลิตเป็นการค้าที่สำคัญมากอีกชนิดหนึ่งขณะนี้คือ สารสกัดสะเดา (neem extract) ซึ่งนิยมสกัดจากเมล็ด สารสกัดจากเมล็ดสะเดามีมากกว่า 60 ชนิด แบ่งได้เป็น 5 กลุ่ม ซึ่งส่วนใหญ่เป็นสารประกอบพวกไตรเทอร์ปีนอยด์ (triterpenoids) โดยเฉพาะสารลิโมนอยด์ (limonoids) เตตระไตรเทอร์ปีนอยด์ (tetratriterpenoids) 3 ชนิดคือ azadiractin, salanin และ nimbin สารออกฤทธิ์ที่สำคัญที่ใช้เป็นสารฆ่าแมลงคือ azadiratin ซึ่งพบว่าสะเดาอินเดียมีสูงถึง 7.02 มก.ต่อ กรัม เนื้อเมล็ด ส่วนสะเดาไทยสูงประมาณ 2.0-6.0 มก. ต่อ กรัม เนื้อในเมล็ด

ประสิทธิภาพของสารสกัดจากสะเดามีดังนี้คือ

1. ยับยั้งการลอกคราบของหนอนและแมลง
2. ยับยั้งการกินอาหารทำให้ระบบกินและย่อยอาหารไม่ทำงาน
3. ยับยั้งการเจริญเติบโตของไข่ ตัวอ่อน และดักแด้
4. เป็นการไล่
5. ลดปริมาณไข่ของแมลง

แมลงที่ได้ทดสอบแล้วว่าใช้สาร azadiractin ควบคุมหนอนได้ผลดีมากคือ หนอนผีเสื้อ เช่น หนอนเจาะสมอฝ้ายอเมริกัน ซึ่งทดสอบแล้วที่ อ.ตากฟ้า จ. นครสวรรค์ พบว่าควบคุมหนอนได้ผลผลิตเสียหายเฉลี่ยเพียง 28.15% เมื่อเปรียบเทียบกับความเสียหายเฉลี่ย 88.15% ในแปลง ชุดควบคุม

นอกจากนี้สารสกัดจากสะเดายังใช้ได้ดีกับเพลี้ยจักจั่นฝ้าย (*Amrasca biguttula*) เพลี้ยอ่อน หนอนหนามเจาะสมอฝ้าย (*Earias fabia*) หนอนชอนใบส้มโอ เพลี้ยจักจั่นละหุ่ง (*Jascobiasca formosana*) หนอนกระทู้หอม หนอนกระทู้ผัก ฯลฯ

วิธีชีวภาพหรือชีววิธี (Biological Control)

หมายถึงการกำจัดควบคุมศัตรูพืชที่เป็นโรค แมลงและวัชพืช โดยอาศัยสิ่งมีชีวิตซึ่งมีคุณสมบัติเป็นตัวเบียน (parasites) หรือตัวห้ำ (predators) หรือโรค (pathogens) ทำลายศัตรูพืชที่ต้องการกำจัด หรือจะหมายความว่า "การใช้สิ่งมีชีวิตควบคุมหรือปราบปรามสิ่งมีชีวิต" ก็ได้

การควบคุมศัตรูพืชโดยวิธีนี้เป็นวิธีที่มีอยู่แล้วในธรรมชาติและได้ผลดีในการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืช เช่น มีผลสำเร็จในปี ค.ศ. 1888 ในมลรัฐแคลิฟอเนีย ประเทศสหรัฐอเมริกา คือการใช้ด้วงเต่า (*Vedalia* sp. ควบคุมเพลี้ยแป้งของส้ม (cottony-cushion scale, *Icerya purchasi*)) ได้สำเร็จเป็นครั้งแรกของโลก ต่อมาในประเทศออสเตรเลียได้ใช้หนอนผีเสื้อ (*Opuntia* sp.) ในรัฐควีนส์แลนด์ในเนื้อที่กว่า 70 ล้านเอเคอร์ ในปัจจุบันเนื้อที่ดังกล่าวได้กลายเป็นทุ่งหญ้าปศุสัตว์ที่ดีที่สุดของประเทศ

วิธีการควบคุมศัตรูพืชทางชีวภาพ

วิธีการควบคุมทางชีวภาพอาจจำแนกวิธีการดำเนินงานออกตามหัวข้อต่อไปนี้

1. การใช้สัตว์ที่มีกระดูกสันหลังเป็นตัวห้ำ
2. การใช้สัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังและแมลงเป็นตัวห้ำ
3. การใช้สัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังและแมลงเป็นตัวเบียน
4. การใช้เชื้อจุลินทรีย์ และสารจุลินทรีย์ฆ่าแมลง
5. การทำหมันโดยใช้สารกัมมันตภาพรังสี

การใช้สัตว์มีกระดูกสันหลังเป็นตัวห้ำ (Predacious verebrate animals)

ได้แก่การส่งเสริมให้มีการขยายพันธุ์สัตว์ที่อาศัยแมลงเป็นอาหารหลัก ซึ่งจำแนกออกเป็นพวกต่าง ๆ คือ

1. พวกนก (Aves) ที่สำคัญได้แก่ นกหัวขวาน นกนางแอ่น นกกะสาหัวหงอก นกแซงแซว นกตาฟ่าง นกกระจิบ นกกะปูด นกดุเหว่า นกสาลิกา นกกางเขน ฯลฯ
2. พวกสัตว์เลื้อยคลาน (Reptilia) ที่สำคัญได้แก่ กิ้งก่าธรรมดา กิ้งก่าบิน แย้ ตะกวด ฯลฯ
3. พวกสัตว์ครึ่งบกครึ่งน้ำ (Amphibia) ที่สำคัญได้แก่ กบ คางคก อึ่งอ่าง
4. พวกปลา (Pisces) ส่วนใหญ่เป็นปลาขนาดเล็กที่อาศัยอยู่ในน้ำจืด เป็นสัตว์ที่มีคุณค่าทางอาหารพร้อม ๆ กันกับการช่วยทำลายลูกน้ำของยุง และหนอนของตัวเหลือบดูดเลือดสัตว์

5. สัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม (Mamalia) ที่สำคัญได้แก่ ค้างคาวกินแมลง ตัวตุ่น และตัวนิ่ม ฯลฯ

การใช้สัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังและแมลงที่เป็นตัวห้ำ (Predacious invertebrate animals and insects)

สัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังที่ผ่านการทดลองนำไปใช้กำจัดศัตรูพืชอย่างได้ผลมาแล้วคือ แมงมุมในวงศ์ Lycosidae, Oxyopidae, Salticidae, Lynyphiidae เป็นต้น หอยทากชนิด *Gonaxis kibwoziensis* เป็นหอยทากขนาดเล็ก กินเนื้อเป็นอาหารสามารถนำไปปราบหอยทากยักษ์ (Giant African snail) ชนิด *Achatina fulica* อย่างได้ผลมาแล้วในหมู่เกาะทะเลใต้ และเกาะฮาวาย

ส่วนพวกแมลงห้ำ ซึ่งมีส่วนช่วยจับแมลงกินโดยตรงมีอยู่มากมายหลายชนิดในอันดับ (Order) และวงศ์ (Family) ต่าง ๆ ดังต่อไปนี้

1. **พวกตั๊กแตน** (Order Orthoptera) ได้แก่ ตั๊กแตนตำข้าว (วงศ์ Mantidae) จิ้งหรีด (วงศ์ Gryllidae) ตั๊กแตนหนวดยาว (วงศ์ Tettigoniidae) กินตัวอ่อนของหนอผีเสื้อ มวน ฯลฯ
2. **พวกแมลงช้าง** (Order Neuroptera) ตัวอ่อนชอบอาศัยอยู่ตามพื้นทราย, ในถ้ำหรือใต้หลืบหิน ดักจับกินแมลงที่ตกลงไปในหลุมทราย ซึ่งตัวอ่อนทำไว้และฝังตัวเองอยู่ก้นหลุมคอยดักจับกินแมลงที่ตกลงไป
3. **พวกแมลงปอ** (Order Odanata) ตัวอ่อนอาศัยอยู่ในน้ำคอยจับแมลงและศัตว์ขนาดเล็กที่อาศัยอยู่ในน้ำ ส่วนตัวแก่จับแมลงขนาดเล็ก เช่น พวกยุงและริ้นเป็นอาหาร แมลงทุกวงศ์ใน Order นี้เป็น predator เช่น แมลงปอยักษ์ (วงศ์ Aeshinidae) แมลงปอเสือ (วงศ์ Gomphidae) ฯลฯ
4. **พวกแมลงติดหิน** (Order Pecoptera) ตัวอ่อนอาศัยอยู่ตามก้อนหินใต้น้ำ คอยจับตัวหนอนและแมลงขนาดเล็กที่อาศัยอยู่ในน้ำเป็นอาหาร
5. **พวกมวน** (Order Hemiptera) ที่สำคัญคือ มวนเพชฌฆาตและมวนพิฆาตในวงศ์ Reduviidae จิงโจ้น้ำ (วงศ์ Gerridae) มวนหญ้า (วงศ์ Miridae) ซึ่งใช้ปากแบบดูดฆ่าและดูดแทงทะลุผนังลำตัวของศัตรูพืช เช่น ตัวอ่อนของมวนและหนอนผีเสื้อ เพื่อดูดกินอาหารที่อยู่ในลำตัว
6. **พวกแมลงวัน** (Order Diptera) เช่น แมลงวันโจร (วงศ์ Asilidae) เป็นแมลงวันขนาดใหญ่ แข็งแรงและว่องไว สามารถจับเหยื่อในขณะที่กำลังบินอยู่แล้วใช้ปากแบบดูดฆ่าและดูดกินน้ำในลำตัวเหยื่อ ตัวอ่อนของแมลงวันดอกไม้ (วงศ์ Surphidae) จับเพลี้ยอ่อนกินเป็นอาหาร

7. **พวกด้วงปีกแข็ง** (Order Coleoptera) ที่มีนิสัยเป็นตัวห้ำ ได้แก่ ด้วงเสือในวงศ์ Cicindelidae ด้วงดินในวงศ์ Carabeidae ด้วงเต่าทองในวงศ์ Coccinellidae ด้วงน้ำในวงศ์ Hydrophilidae ด้วงดีดในวงศ์ Elateridae และด้วงเปลือกไม้ในวงศ์ Cucujidae และวงศ์ Cleridae

การใช้สัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังและแมลงที่เป็นตัวเบียน (Parasitic invertebrate animal and insects)

สัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังซึ่งเป็นตัวเบียนที่สำคัญคือ พวกไส้เดือนฝอยกินแมลง (entomophagous nematodes) เฉพาะที่มีส่วนเกี่ยวพันกับแมลงมีอยู่ทั้งสิ้นประมาณ 750 ชนิด ที่สัมพันธ์กับแมลงศัตรูป่าไม้ ได้แก่ *Aphelenchulus reversus, A. diplogaster, A. tomici* ซึ่งเป็นไส้เดือนฝอยตัวเบียนทำลายมอดเจาะเปลือกไม้สน (*Dendroctonus monticolae, Ips typographus* และ *Pityogenes bidentatis*) ปัจจุบันนี้มีการผลิตไส้เดือนฝอยชนิด *Seinernema carpocapsae* เป็นการค้าเพื่อใช้ควบคุมแมลงศัตรูพืชที่สำคัญเช่น หนอนเจาะสมอฝ้ายอเมริกัน หนอนกระทู้หอม หนอนกระทู้ผัก หนอนกินใบเปลือกลองกอง, ลางสาดและด้วงหมัดผัก ได้ผลดีเป็นที่น่าพอใจมาก

วิธีนี้เป็นวิธีการควบคุมโดยชีววิธี (biological control) นี้กำลังได้รับความนิยมเนื่องจากเป็นวิธีที่ลดมลภาวะสารพิษหรือสารเคมีในสิ่งแวดล้อม วิธีนี้ผู้ใช้จะต้องเข้าใจถึงความสัมพันธ์ของเหยื่อ (prey) และศัตรูธรรมชาติ (ตัวห้ำ predator) หรือตัวเบียน (parasie) เป็นอย่างดี

แมลงเบียน (parasitic insects) ได้แก่แมลงที่เป็นศัตรูธรรมชาติซึ่งทำลายแมลงศัตรูพืชโดยจะเกาะกินเหยื่อหรือแมลงอาศัย (prey หรือ host) อยู่ภายในและภายนอกทีละน้อยจนตายในที่สุด ที่สำคัญคือ แมลงเบียนในวงศ์ Pipunculidae, Encyrtidae Trichogrammatidae, Tachinidae, Scoliidae, Bethylidae และ Elasmidae

"prey" หรือ "เหยื่อ" ในความหมายของการควบคุมโดยชีววิธีนี้หมายถึงศัตรูพืชที่เราต้องการจะควบคุมและแมลงที่เป็นอาหารของศัตรูธรรมชาติคือ ตัวเบียน (parasites) นั่นเอง ความสัมพันธ์ของ prey และ predator และอาหารได้กล่าวมาบ้างแล้วในเรื่องของสาเหตุของการระบาดของแมลงศัตรูพืช ดังนั้นความสัมพันธ์เบื้องต้นของ predator และ parasite ก็มีในแง่ของการที่ prey เป็นอาหารดังที่จะอธิบายได้ดังนี้คือ

การเพิ่มจำนวนของเหยื่อจะทำให้ศัตรูธรรมชาติมีอาหารกินมากและหาอาหารได้ง่าย จำนวนของศัตรูธรรมชาติก็เพิ่มขึ้น และจำนวนเหยื่อที่ถูกทำลายก็มีมากขึ้นจนกระทั่งเหยื่อไม่สามารถที่จะขยายและเพิ่มจำนวนได้ จำนวนของเหยื่อก็เริ่มลดลงจนถึงจุด ๆ หนึ่งที่ศัตรูธรรมชาติเกิดปัญหาขาดแคลนอาหาร จำนวนศัตรูธรรมชาติก็เริ่มลดน้อยลง จนถึงจุดต่ำสุดจุดหนึ่งที่เหยื่อจะสามารถเพิ่มหรือทวีปริมาณได้โดยไม่มีภัยหรือภัยน้อยมาจากศัตรูธรรมชาติ และเมื่อมีเหยื่อมากศัตรูธรรมชาติก็เริ่มทวีจำนวนมากขึ้นอีก จนเหยื่อเริ่มลดจำนวนลงเป็นวัฏจักรดังนี้เรื่อยไป ลักษณะ

ดังนี้เป็นปรากฏการณ์ของความสัมพันธ์ของเหยื่อกับศัตรูธรรมชาติหรือ parasite ในสภาวพสมดุลทางธรรมชาติ

สิ่งที่จะต้องศึกษาเพื่อให้การควบคุมศัตรูพืชทางชีวภาพเป็นไปอย่างมีประสิทธิภาพคือความรู้ด้านนิเวศวิทยาของแมลงศัตรูพืช เพื่อหาความเคลื่อนไหวหรือความผันแปรของประชากร (population dynamics)

ในเรื่องความผันแปรของประชากรนี้ จะต้องศึกษาว่าวงจรชีวิตของแมลงศัตรูพืชในทุกระยะของการเจริญเติบโตนั้นมีปัจจัยด้านสิ่งแวดล้อมอะไรบ้าง ที่มีผลต่อจำนวนประชากรของแมลงศัตรูพืชนั้น ๆ ปัจจัยดังกล่าวรวมทั้ง Abiotic factor (คือปัจจัยที่ไม่มีชีวิต) เช่น อุณหภูมิ ฝน ความชื้น แสงลม ฯลฯ และที่สำคัญอย่างยิ่งคือ Biotic factor (คือปัจจัยที่มีชีวิต) เช่น predators, parasites และ pathogens เป็นต้น การศึกษานี้ต้องการทราบถึงรายละเอียดของแต่ละปัจจัย และนำมารวบรวมเพื่อคำนวณและสรุปได้ว่า ตลอดระยะการเจริญเติบโตนั้นจะมีประชากรของแมลงศัตรูเหลือมีชีวิตรอดอยู่เท่าไร จากจำนวนเต็มเท่าไร เราเรียกการศึกษานี้ว่าเป็นการศึกษาถึงความเคลื่อนไหวของประชากร (Population dynamics)

การใช้เชื้อจุลินทรีย์และสารจุลินทรีย์ฆ่าแมลง (Microbial organisms and Microbial insecticides)

เชื้อจุลินทรีย์ที่เป็นโรคทำลายแมลงศัตรูพืชที่สำคัญมี 5 กลุ่มคือ แบคทีเรีย เชื้อรา ไวรัส ไส้เดือนฝอยและโปรโตซัว ดังจะกล่าวอธิบายในรายละเอียดแต่ละกลุ่มดังนี้คือ

1. แบคทีเรีย แบคทีเรียที่ใช้ได้ผลดีมากและผลิตเป็นการค้าแล้วคือ *Bacillus thuringiensis* (Bt.) ซึ่งใช้ควบคุมหนอนผีเสื้อได้แทบทุกชนิด และใช้กันอย่างกว้างขวางทั่วโลก ในปัจจุบันมีการผลิตจำหน่ายในท้องตลาดในรูปผง (dust) และน้ำ (solution) จากผลการทดลองนำมาใช้ปราบแมลงศัตรูป่าไม้ระหว่างปี พ.ศ. 2515-2517 ปรากฏว่าใช้ได้ผลดีมากสำหรับกำจัดหนอนระบาดกินในต้นสัก Hyblaea puera puera ต่อมาใช้กับหนอนใยผักและหนอนกระทู้ชนิดต่าง ๆ ได้ผลดีมาก นอกจากนี้ยังมี *Bacillus sphaericus* ควบคุมยุง, *B. moritai* ควบคุมแมลงวันและ *B. larvae* ทำให้เกิดโรค American foulbrood ในผึ้ง พิษของแบคทีเรียนั้นเกิดจากสาร endotoxin ซึ่งเป็นผลึกที่แบคทีเรียสร้างขึ้นภายในเซลล์ เพื่อทำลายผนังลำไส้และระบบย่อยอาหารของแมลง และสารดังกล่าวจะเข้าไปในระบบเลือด สาร endotoxin ที่พบปัจจุบันมี 4 ชนิดคือ α, β, δ endofoxin และ exo-enzyme endotoxin ชนิดที่สำคัญที่สุดคือ δ-endotoxin อย่างไรก็ดีข้อจำกัดการใช้ของสาร Bt. คือ

(1) จะต้องให้แมลงกิน Bt. เข้าไปเท่านั้น เพราะไม่มีฤทธิ์ถูกตัวตายและจะมีฤทธิ์ฆ่าแมลงเมื่อน้ำย่อยในลำไส้ของแมลงย่อยสลายผลึก endotoxin เท่านั้น

(2) จะสลายตัวเร็วเมื่อได้รับรังสี UV จากแสงอาทิตย์ จึงต้องพ่นสารในเวลาตอนเย็นหรือค่ำ

(3) มีอายุเก็บสั้นกว่าสารเคมีและสลายตัวเร็วเมื่อถูกความร้อน

(4) ใช้ได้ดีเฉพาะหนอนผีเสื้อเป็นส่วนใหญ่ และไม่สามารถทำลายแมลงชนิดอื่น เช่น เพลี้ยไฟ, เพลี้ยจักจั่น ฯลฯ

(5) เมื่อแมลงวันได้รับ Bt. แล้วไม่ตายทันทีแต่จะแสดงฤทธิ์หลังจากกิน 48 ชม. ขึ้นไป ส่วนข้อดี คือไม่เป็นพิษต่อศัตรูธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม รวมทั้งผู้บริโภคและสามารถขยายพันธุ์ทำลายแมลงอย่างต่อเนื่องได้เมื่อสิ่งแวดล้อมเหมาะสม จากการใช้เพียงครั้งเดียว

2. เชื้อรา เชื้อราที่เป็นโรคของแมลงส่วนใหญ่อยู่ในสกุล *Entomophthora, Empusa, Hirsutella, Cordyceps, Beauveria, Spicaia, Metarrhizium, Penicillium* เป็นต้น ชนิดที่น่าสนใจได้แก่ *Empusa grylli* ซึ่งเป็นโรคระบาดทำลายตั๊กแตนและ *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill ซึ่งเป็นโรคของแมลงหลายชนิด สามารถนำมาเพาะเลี้ยงและขยายพันธุ์ได้บนอาหารเทียม เจริญเติบโตได้ดีที่อุณหภูมิ 27.5 $^{\circ}$C ความชื้นสัมพันธ์ 40-70 เปอร์เซ็นต์ สามารถนำไปใช้กำจัดหนอนมอดป่าเจาะไม้สักชนิด *Xyleutes ceramicus* และหนอนผีเสื้อเจาะไม้สักชนิด *Zeuzera indica* ได้

เชื้อราที่เป็นโรคของแมลงที่เก่าแก่และรู้จักกันดีคือ green muscardine fungus (*Entomorphthora anisopliae*) ทำลายผึ้งและควบคุมด้วงงวงกินหัวบีท (Sugar beet Curculio) ได้สำเร็จในสภาพไร่โดยทำลายแมลงได้ถึง 50-80% และต่อมามีการใช้ *Beauvaria bassiana* ควบคุมแมลง Cinechbug ได้สำเร็จในมลรัฐแคนซัส การระบาดของเชื้อราที่เป็นโรคของแมลงเกิดขึ้นต่อเมื่อมีการเจริญเติบโตของเชื้อราในแมลงอาศัย และการแพร่กระจายของประชากรของแมลงอาศัยที่เหมาะสม

เชื้อราที่พบเป็นโรคของแมลงมีดังนี้

1) กลุ่ม Phycomycetes เช่น *Coelomomyces spp., Entomorphthora spp.* และ *Massospora spp.*

2) กลุ่ม Ascomycetes เช่น *Cordyceps spp.*

3) กลุ่ม Basidiomycetes เช่น *Septobasidium spp.*

4) กลุ่ม Fungi Imperfecti เช่น *Beauveria spp., Cephalospoium spp., Hirsutella spp., Metarrhizium spp.* และ *Verticillium spp.* เป็นต้น

เชื้อราที่ใช้ได้ผลดีในประเทศไทย ปัจจุบันนี้คือ เชื้อรา *M. anisopliae* ใช้ควบคุมด้วงแรดมะพร้าว และ *Beuveria bassiana* ควบคุมด้วงงวงมันเทศ

3. **เชื้อไวรัส** ที่เป็นโรคของแมลงอยู่ในสกุล *Borrelina, Bergoldia, Smitthia, Morator, Paillotella* ชนิดที่สำคัญได้ *Borrelina bombycis* ซึ่งทำลายหนอนไหม (*Bombyx mori*) และเชื้อ *Paillotella pieris* ทำลายหนอนกระหล่ำปลีชนิด *Pieris brassicae* ที่สำคัญที่สุดที่ใช้ได้ดีขณะนี้คือ Nuclear Polyhedrosis Virus (NPV) ซึ่งเป็นไวรัสกลุ่ม Baculovirus

ไวรัส NPV เป็นไวรัสชนิด Baculovirus ซึ่งสามารถทำลายแมลงได้กว้างขวาง เช่น ทำลายหนอนผีเสื้อ ผึ้ง ต่อ แตน ด้วง และแมลงวัน เป็นต้น โดยพบว่ามักจะทำลายตัวอ่อนของแมลงเหล่านี้ ปัจจุบันนี้มีการผลิต NPV เป็นการค้าได้สำเร็จหลายชนิด เช่น NPV ของหนอนเจาะสมอฝ้าย (*Heliothis zea*), ของ gypsy moth (*Lymantria dispar*), douglas tussoc moth (*Orgyia pesudosugata*), หนอนคืบกระหล่ำปลี (*Trichoplusia ni*) และหนอนกระทู้ผัก (*Spodoptera litura*), หนอนกระทู้หอม (*Spodoptera exigua*) และหนอนเจาะสมอฝ้าย (*Heliothis armigera*) เป็นต้น

ข้อดีของการใช้ไวรัสนอกเหนือจากข้อดีทั้งหลายจากที่กล่าวในการใช้จุลินทรีย์ทั่ว ๆ ไปแล้ว พบว่าไม่เคยมีรายงานการสร้างความต้านทานของแมลงต่อไวรัส และสามารถแนะนำให้เกษตรกรผลิตใช้เองอย่างต่อเนื่องได้หลังจากการใช้ครั้งแรกแล้ว แต่มีข้อเสียต้องใช้เวลา 3-7 วัน แมลงจึงจะตาย และเกษตรกรมักไม่ค่อยยอมรับเพราะไม่รวดเร็วทันต่อเหตุการณ์ สำหรับแมลงที่ใช้ NPV ได้ผลดีและประสบผลสำเร็จแล้วในประเทศไทย มีดังนี้

1) การควบคุมหนอนเจาะสมอฝ้าย ในฝ้าย มะเขือเทศ หน่อไม้ฝรั่ง และใช้ร่วมกับสารเคมีในการบริหารแมลงศัตรูฝ้ายได้สำเร็จ
2) การควบคมหนอนกระทู้หอม (หนอนหนังเหนียว)
3) การควบคุมหนอนกระทู้ผัก
4) การควบคุมหนอนคืบกระหล่ำ

4. **ไส้เดือนฝอย (Entomopathogenic nematode)**

ไส้เดือนฝอยในวงศ์ Steinematidae ได้แก่ *Steinernema carpocapsae* และในวงศ์ Heterorhabitidae ได้แก่ *Heterorhabditis sp.* เป็นไส้เดือนฝอยศัตรูธรรมชาติของแมลงทำให้แมลงตายได้ ปัจจุบันได้ใช้ควบคุมศัตรูพืชหลายชนิด โดยไส้เดือนฝอยในระยะตัวอ่อนวัยที่ 3 เป็นระยะที่เข้าทำลายแมลง (infectious stage) เข้าสู่แมลงทางช่องเปิดได้ทุกช่องเช่น ทางปาก ทวาร รูหายใจ เมื่อแมลงได้สัมผัสกับไส้เดือนฝอยแล้วเข้าสู่ลำไส้ (midgut) เข้าสู่กระแสเลือดของแมลงซึ่งอยู่ใน haemocoel ไส้เดือนฝอยพวกนี้จะมีแบคที่เรียในกลุ่ม *Xanohabdus* เช่น *X. luminescens* และ *X. nematophilus* ซึ่งจะถูกปล่อยออกมาใน haemocoel ของแมลงทำให้เลือดแมลงเป็นพิษและแมลงจะตายภายใน 24-48 ชั่วโมง

ในการใช้ไส้เดือนย่อย *S.carpocapsae* นี้ พบว่าใช้ได้กับแมลงหลายชนิด เช่น ควบคุมหนอนกินใต้เปลือกลองกองได้ถึง 80% ควบคุมแมลงในดินส่วนใหญ่ได้ดีรวมทั้งหนอนกระทู้หลายชนิด

ข้อจำกัดของการใช้ไส้เดือนฝอยเหมือนกับการใช้แบคทีเรีย และจะใช้ได้ดีในสภาพอากาศชื้นหรือฝนตกเพราะจะถูกน้ำพัดพาไปอย่างรวดเร็ว ไส้เดือนฝอยสามารถทนแรงดันได้สูง จึงใช้ร่วมกับหัวฉีดน้ำได้ ปัจจุบันมีการผลิตเป็นการค้า และใช้กันแพร่หลายทั่วโลก

5. เชื้อโปรโตซัว ที่เป็นโรคของแมลงที่สำคัญได้แก่ *Herpetomonas pyraustae* ชอบทำลายหนอนเจาะลำต้นข้าวโพด (*Mythimna nubialaris*) โรคอมีบางชนิด *Malameba locustae* ทำอันตรายแก่พวกตั๊กแตนหลายชนิด

นอกจากการใช้ตัวเชื้อจุลินทรีย์ดังกล่าวข้างต้นโดยตรงแล้ว ยังมีการใช้สารปฏิชีวนะ (Antibiotic) ซึ่งเป็นผลที่เกิดจากเชื้อจุลินทรีย์ต่าง ๆ เช่น Streptomycin ใช้กำจัดโรคใบลายของยาสูบ (Tobacco mosaic) Actidione ใช้กำจัดป้องกันโรครัสท์ของไม้สน เช่น white pine blister rust เป็นต้น

ข้อดีและข้อเสียของการควบคุมทางชีวภาพ

การควบคุมทางชีวภาพมีข้อดีและข้อได้เปรียบที่ดีกว่าการใช้ด้วยสารเคมี คือ

1) ไม่มีปัญหากระทบกระเทือนต่อสิ่งแวดล้อม ปลอดภัยต่อชีวิตมนุษย์และสัตว์
2) เกิดการสร้างความต้านทานหรือการดื้อยา (resistant effects) ช้ากว่าการใช้ยาเคมี
3) มีผลคุ้มกันต่อเนื่องเป็นลูกโซ่ในระยะยาว เพราะเป็นสิ่งมีชีวิตที่สามารถขยายแพร่พันธุ์ได้เองและเป็นการอนุรักษ์ทรัพยากรธรรมชาติ

ส่วนข้อเสียได้แก่

1) ศัตรูธรรมชาติที่มีประสิทธิภาพบางชนิดต้องลงทุนสูง และยากแก่การนำมาเพาะเลี้ยงขยายพันธุ์ให้ได้จำนวนมาก
2) ให้ผลช้าและต้องรอให้มีจังหวะและมีช่วงเวลาที่เหมาะสม ซึ่งหมายถึงปัจจัยทั้งที่เป็นสิ่งมีชีวิตและไม่มีชีวิตที่เหมาะสมจึงจะใช้ได้ผลดี
3) ยากแก่การประเมินผล

องค์การระหว่างประเทศที่มีบทบาทในเรื่องการควบคุมทางชีวภาพ

1. CIBC (The Commonwealth Institute of Biological Control) ซึ่งตั้งขึ้นในปี 1927 มีสำนักงานใหญ่อยู่ที่ประเทศอังกฤษ และมีสาขาห้องปฏิบัติการอยู่ในประเทศสวิสเซอร์แลนด์, ทรินิแดด อินเดีย และปากีสถาน
2. OILB (The Organization Internationale de Lutte Biologique) มีสาขาอยู่ในกลุ่มประเทศทางยุโรปตะวันตก
3. สำหรับประเทศไทยเราเพิ่งได้มีการริเริ่มจัดตั้งศูนย์ทางชีวภาพนี้ขึ้นในปี พ.ศ. 2510 โดย CIBC ให้ความร่วมมือผ่านทางองค์การ ส.ป.อ. โดยให้ประเทศไทยเป็นศูนย์ทางการควบคุมโดยชีวภาพในแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ทั้งหมด ใน 6-7 ปีแรกก็เป็น

การเสนอหลักการการดำเนินงานต่อคณะกรรมการและกรมวิเทศสหการเป็นผู้รวบรวมข้อเสนอจากรัฐบาลต่างประเทศปี พ.ศ. 2518 จึงกำหนดตั้งศูนย์นี้มีชื่อว่า National Biological Control Research Center (NBCRC) หรือศูนย์วิจัยควบคุมศัตรูพืชโดยชีววินทรีย์แห่งชาติ ปัจจุบันคณะอนุกรรมการบริหารของศูนย์ NRBC ขึ้นตรงต่อคณะกรรมการบริหารสภาวิจัยแห่งชาติ และได้งบประมาณดำเนินการจากสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแหล่งชาติ มีศูนย์ส่วนกลางอยู่ที่มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ บางเขน กรุงเทพฯและกำแพงแสน จ.นครปฐม และมีศูนย์ย่อยปฏิบัติงานประจำภาคต่าง ๆ มีรายละเอียดดังนี้

ศูนย์ส่วนกลาง

ศูนย์วิจัยควบคุมศัตรูพืชโดยชีววินทรีย์แห่งชาติ ส่วนกลาง อาคารศูนย์วิจัยควบคุมศัตรูพืชโดยชีววินทรีย์แห่งชาติ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน กรุงเทพฯ 10900 โทรศัพท์/โทรสาร : (02) 5793649

ศูนย์ส่วนภูมิภาค

(1) ศูนย์วิจับควบคุมศัตรูพืชโดยชีววินทรีย์แห่งชาติภาคกลาง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน นครปฐม 73140 โทรศัพท์/โทรสาร : (034) 351-881

(2) ศูนย์ควบคุมศัตรูพืชโดยชีววินทรีย์แห่งชาติภาคเหนือ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ สันทราย เชียงใหม่ 50290 โทรศัพท์/โทรสาร : (053) 489-243

(3) ศูนย์วิจัยควบคุมศัตรูพืชโดยชีววินทรีย์แห่งชาติ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ มหาวิทยาลัยขอนแก่น 40002 โทรศัพท์ : (043) 273-602 โทรสาร : (043) 224-474

(4) ศูนย์วิจัยควบคุมศัตรูพืชโดยชีววินทรีย์แห่งชาติ ภาคใต้ มหาวิทยาสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่ สงขลา 90112 โทรศัพท์ : 212-823

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

คำถามท้ายบท

1. ประเทศไทยมีการตื่นตัวเรื่อง Bioremediation มากน้อยเพียงใด จงสืบค้นกิจกรรมหรืองานวิจัยที่เกี่ยวข้องพร้อมกับวิจารณ์ด้วย

เอกสารอ้างอิง

1. จุฑารัตน์ อรรถจารุสิทธิ์ 2540 เอกสารคำสอนวิชาเทคโนโลยีศัตรูพืช สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี จ.นครราชสีมา
2. พระธรรมปิฎก (ป.อ. ปยุตฺโต) 2541. พุทธธรรม. สำนักพิมพ์มูลนิธิพุทธธรรม จตุจักร กรุงเทพ.
3. A.L. Lehninger. 1970. Biochemistry. Worth Publisher, New York USA.
4. C.E. Lankford. 1973 Bacterial assimilation of iron. Crit. Rev. Microbiology 2 ; 273-331.
5. C.J. Hurst. 1997. Manual of environmental microbiology. ASM. Washirgton. USA.
6. D.A. Hodson. 1989. Bacterial diversity : The range of interesting things that bacteria do, pp. 4-22. In : Genetics of Bacterial Diversity. D.A. Hopwood and K.F. Chater. Academic Press, London, VIC.
7. D.E. Engber. 1998. Architecture of life. Nature 62. 417-430.
8. D.G. Capone amd J.E. Bacur. 1992. Environmental microbiology. Wiley-Liss, Inc USA.
9. D. Jenkins, M.G. Richard and G.T. Daigger. 1993. Manual on the causes and control of activated sludge bulking and foaming. Lewis publishers, Inc, Michigan, USA.
10. D. Lim. 1998. Microbiology. WCB/McGraw-Hill. USA.
11. D.M. Sievers. 1998. Proceedings of the 8th national symposium on individaul and small community sewage systems. ASAE, Michigan, USA.
12. D.W. Cornell and D.W. Hawker. 1992. Pollution in tropical aquatic systems. CRC. Press, Inc. Florida. USA.
13. D. White. 1995. The physiology and biochemistry of prokaryotes. Oxford University Press, Inc., New York, USA.
14. G. Winklemann. 1991. In Handbook of iron chelates. CRC. Press. Inc. USA.
15. J.H. Cho, J.M. Wildholm, N Tanaka, Y. Nakanishi and Y. Murooka. 1998. *Agrobacterium rhizogenes*- mediated transformation and regeneration of the legume *Astragalus sinicus* (Chinese milk vetch). Plant Science, 138, 53-65.
16. J.H. Postlethwait, J.L. Hopson and R.C. Veres 1991. Biology. McGraw-Hill, Inc. USA.

17. K. Haselwandter. 1995. Mycorrhizal fungi : Siderophore production. Crit. Rev. Biotechnology 15, 287-291.

18. K. Watanabe and P.W. Baker. 2000. Environmentally relevant microorganisms. J. Biosci. Bioeng. 89, 1-11.

19. L. Mckane and J. Kandel. 1996. Microbiology ; Essentials and applications. McGraw-Hill, Inc. USA.

20. M. alexander. 1981. Biodegradation of Chemicals of environmental concern. Science 211, 132-138.

21. M.D. Morgan, J.M. Moran and J.M. Wiersma. 1993. Environmental science : Managing biological & physical resousces. Wm. C. Brown Publishing. USA.

22. M.M. Fogel, A.R. Taddeo and S. Fogel. 1986. Biodegradation of chlorinated ethanes by a methane-utilizing mixed culture. Appl. Environ. Microbiuo. 51 ; 720-724.

23. M. Moo-Young, W.A. Anderson and A.M. Chakrabarty. 1996. Environmental boitechnology. Kluwes Academic Publishers. The Netherlands.

24. M.T. Straub, I.L. Pepper and C.P. Gerba. 1993. Hazards from pathogenic microorganisms in land-disposed sewage sludge. Rev. Environmental. Contam. Toxicol. 132, 55-91.

25. Napompeth, B. 1982. *Biologycal Control Research and Development in Thailand.* Proc. Int. Conf. Pl. Prot. In Tropics. p. 301-320.

26. Renolds, H. F., P. L. Adkinson, R. F. Smith and R. E. Frisbe. 1982. *Cott Insect Pest Management.* 2nd Ed. John Wiley and Sons, New York. p. 375-441.

27. R.M. Atlas and R. Bartha. 1992. Hydrocarbon biodegradation and oil spill bioremediation. Adv. Micrib. Ecol. 12, 287-338.

28. P.H. Raven. 1993. Environment. Saunders College Publishing, USA.

29. Shorey, H. H. 1991. *The Use of Chemical Attractants in Insect Control.* In. D. Pimentel 1991. Handbook of Pest Management in agriculture Vol. II. N. Y. p. 289-295.

30. Southwood, T.R.E. 1966. *Ecological Methods with Particular References to the Study of Insect.* Populations. Methuen, London. 367 pp.

31. Van Beek, T. A. and H. Breteler 1993. Phytochemistry and Agriculture. Clarendon Press., Oxford. 390 pp.

32. Van Emden, H. F. 1974. Pest Control and Its Ecology. Edward Arnold, London. 59 pp.

33. Y. Murooka and T. Nagaoka. 1986. Expression of cloned monkey metallothionein in *Escherichia coli*. Appl. Environ. Microbiol. 53, 204-207.

34. W.Seiler. 1984. Contribution of biological processes to the global budget of CH_4 in the atmosphere, pp.-468-477. In : Current Perspectives in Microbial Ecology. M. J. Klug and C.A. Reddy. ASM, Washington, D.C., USA.

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี