บทที่ 1

บทนำ

ภาวการณ์ในปัจจุบันที่มีการแข่งขันพัฒนาด้านอุตสาหกรรม การเกษตร การคมนาคม อย่างรวดเร็วเพื่อตอบสนองต่อความต้องการของประชากรที่เพิ่มมากขึ้นทุกๆปี จนนำไปสู่การเปลี่ยนแปลงโครงสร้างทางสังคม เกิดการเปลี่ยนแปลงจากสภาพชนบทกลายเป็นชุมชนเมืองมีการก่อตั้งโรงงานอุตสาหกรรมจำนวนมากโดยเป็นแหล่งผลิตสินค้าอุปโภคและบริโภคเพื่อใช้ในชีวิตประจำวัน การกำเนิดเกิดขึ้นของโรงงานอุตสาหกรรมอย่างรวดเร็วเป็นสาเหตุสำคัญที่ก่อให้เกิดผลกระทบอย่างรุนแรง ทำให้เกิดปัญหามลพิษทางน้ำ อากาศ เสียง กากของเสียขยะมูลฝอย สิ่งปฏิกูล ทวีความรุนแรงมากยิ่งขึ้น และการใช้สารเคมีในโรงงานอุตสาหรรมมีแนวโน้มที่จะเป็นผลเสียต่อสุขภาพอนามัยของคนงานรวมถึงชุมชนที่อาศัยใกล้กับโรงงาน มีคุณภาพชีวิตที่ไม่ดี อาทิเช่น ไอระเหยของน้ำมันเบนซีน ฝุ่นโลหะ และก๊าซไฮโดรคาร์บอน ซึ่งสามารถที่จะทำให้เกิดโรคมะเร็งได้เมื่อได้รับเป็นระยะเวลานาน นอกจากนี้หากสารเคมีมีการปนเปื้อนลงสู่สิ่งแวดล้อมบนดินหรือในน้ำก็จะเกิดผลกระทบต่อสิ่งมีชีวิตที่อยู่บริเวณนั้น ปัญหาสิ่งแวดล้อมจึงนับว่าเป็นปัญหาที่อยู่ใกล้ตัวที่สุด และนับวันจะยิ่งทวีความรุนแรงขึ้นอย่างต่อเนื่องหากไม่ได้รับการแก้ไขก็อาจจะถึงขั้นวิกฤตในทุกประเภทของทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม

ผลิตภัณฑ์ปิโตรเลียมเป็นสารปนเปื้อนที่พบว่าเป็นปัญหาหลักต่อสิ่งแวดล้อม สาเหตุเกิดจากการรั่วไหลลงสู่พื้นดินและแหล่งน้ำ กากของเสียจากโรงกลั่นน้ำมันที่ตั้งติดชายฝั่งทะเล กิจกรรมที่เกี่ยวกับการเดินเรือได้แก่ การถ่ายน้ำมันเครื่อง การระบายน้ำในท้องเรือ การขนถ่ายน้ำมัน รวมทั้งอุบัติเหตุทางเรือ เช่น เรือชนกัน การอับปางของเรือ (Gentili และคณะ, 2006) น้ำมันดิบ หรือ ปิโตรเลียม ประกอบด้วยสารประกอบไฮโดรคาร์บอนมากกว่า 100 ชนิด ได้แก่ อัลเคน , เรซิน , แอสฟัลทีน และอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอน (Lal และ Khanna, 1996) สารประกอบพอลิไซคลิกอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอน หรือ PAHs เป็นกลุ่มสารเคมีที่มีโครงสร้างโมเลกุลประกอบด้วยคาร์บอนและไฮโดรเจนรวมกันเป็นวงอะโรมาติก ตั้งแต่สองวงเชื่อมต่อกัน PAHs บริสุทธิ์ส่วนใหญ่เป็นของแข็ง เป็นผงหรือผลึกไม่มีสี สีขาว หรือสีเหลืองปนเขียว เป็นสารประกอบที่ไม่มีขั้ว มีสมบัติการละลายน้ำได้น้อย ละลายได้ดีในตัวทำละลายอินทรีย์ (Cerniglia, 1992)

ฟีแนนทรีนและไพรีนจัดเป็นสารประกอบพอลิไซคลิกอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอน (Polycyclic Aromatic Hydrocarbon , PAHs) โดยโครงสร้างทางเคมีเกิดจากการเชื่อมต่อของวงแหวนเบนซีน 3 และ 4 วงตามลำดับ (Cerniglia และคณะ,1992) สมบัติในการละลายน้ำได้จะ

ลดลงเมื่อน้ำหนักโมเลกุลเพิ่มขึ้น ซึ่งเป็นสาเหตุสำคัญทำให้มีความทนทานต่อการย่อยสลาย เกิดการตกค้างและมีความเป็นพิษสูงซึ่งเป็นอันตรายต่อมนุษย์ได้ (Trzesicka และ Ward,1996) ดังนั้นจึงจำเป็นต้องบำบัดเพื่อลดการปนเปื้อนของสารพิษดังกล่าวในสิ่งแวดล้อม

ในปัจจุบันการบำบัดทำได้หลายวิธีได้แก่ วิธีทางกายภาพ วิธีทางเคมีและวิธีทางชีวภาพ วิธีการบำบัดทางชีวภาพ (Bioremediation) เป็นการใช้จุลินทรีย์หรือกลุ่มจุลินทรีย์ เช่น แบคทีเรีย รา ยีสต์ที่มีสามารถย่อยสลายสารประกอบพอลิไซคลิกอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอน ให้หมดความเป็นพิษ หรือเปลี่ยนเป็นโครงสร้างสารให้มีความเป็นพิษน้อยลง โดยจุลินทรีย์จะใช้สารดังกล่าวเป็นแหล่งคาร์บอนและพลังงานเพื่อการเจริญและดำรงชีวิต (Dua และคณะ, 2002) แม้ว่าจะมีจุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการย่อยสลายสารพิษอยู่จำนวนมากก็ตาม พบว่าเมื่อเติมจุลินทรีย์ที่ทดสอบแล้วว่ามีประสิทธิภาพในการย่อยสลายสารพิษลงไปในบริเวณที่มีการปนเปื้อนโดยตรงนั้น (bioaugmentation) มักจะไม่ประสบความสำเร็จ เนื่องจากจุลินทรีย์ตายหรือสูญเสียความสามารถในการย่อยสลายสารปนเปื้อนเพราะต้องแข่งขันกับจุลินทรีย์ประจำถิ่นในบริเวณที่ปนเปื้อนเพื่อแย่งสารอาหารที่มีอยู่อย่างจำกัด หรืออาจจะถูกจับกินได้โดยโปรโตซัวและถูกทำลายโดยแบคทีริโอฝาจ รวมไปถึงปัจจัยทางสิ่งแวดล้อมอื่นๆที่ไม่เหมาะสมต่อการเจริญของจุลินทรีย์ที่เติมลงไปด้วยเช่น แหล่งคาร์บอน แหล่งไนโตรเจน การเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิ ปริมาณน้ำ แรงดันออสโมติก ความเป็นกรดด่าง ตลอดจนปริมาณของสารพิษที่มีอยู่ ณ บริเวณที่ปนเปื้อน (Van Veen และคณะ, 1997)

ปัจจุบันมีการคิดค้นวิธีที่จะทำให้จุลินทรีย์ที่จะเติมลงบริเวณบำบัดมีชีวิตรอดและยังมีความสามารถในการบำบัดสารพิษ เนื่องจากการเตรียมจุลินทรีย์สดเพื่อใช้ในการบำบัดทุกครั้งไม่สะดวกในการปฏิบัติจริง วิธีหนึ่งคือการตรึงเซลล์บนวัสดุพาหะ วัสดุพาหะจะเพิ่มการอยู่รอดของแบคทีเรีย มีรายงานการศึกษาต่างๆพบว่าจุลินทรีย์ที่ผ่านกระบวนการตรึงเซลล์ จะมีความทนต่อภาวะการเปลี่ยนแปลงภายนอกได้ดีกว่าเซลล์อิสระและสามารถนำกลับมาใช้ใหม่ได้หลายครั้ง (Kerrar และคณะ, 2007) การตรึงเซลล์เปรียบเสมือนเกราะป้องกันไม่ให้เชื้อถูกทำลายได้โดยง่าย เช่นจากการถูกจับกินโดยโปรโตซัว นอกจากนี้วัสดุพาหะบางชนิดยังเป็นแหล่งอาหารสำคัญของเชื้ออีกด้วย การตรึงแบคทีเรียวิธีต่างๆเช่น การดูดซับบนวัสดุ (Adsorption) การกักขัง (Entrapment) การเชื่อมกันด้วยพันธะโคเวเลนต์ (Covalent bonding) และการเชื่อมขวาง (Cross-linking) (Colowick และ Kaplan, 1987) วัสดุตรึงที่ใช้ควรเหมาะสมกับเชื้อซึ่งจะเป็นการส่งเสริมการอยู่รอดและการเจริญได้ วัสดุที่ใช้ในการตรึงเซลล์จุลินทรีย์อาจเป็นวัสดุธรรมชาติเช่น วัสดุทางการเกษตรได้แก่ ฟางข้าว เปลือกถั่ว รำข้าว ใยบวบ ขี้เลื่อย ซังข้าวโพด เป็นต้น ตัวอย่างงานวิจัยของ Akhtar และคณะ (2004) นำวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตร การใช้ใยบวบ (loofa

sponge) ให้แบคทีเรีย *Chlorella sorokiniana* จับเกาะ มีผลช่วยกำจัดนิกเกิล (nickel) ออกจากแหล่งน้ำที่มีการปนเปื้อนได้ สามารถสะสมนิกเกิล (nickel) ได้ 25 % สูงกว่าแบคทีเรียที่ไม่ได้ยึดเกาะกับใยบวบ

แม้ว่าการใช้วัสดุทางการเกษตรจะเป็นวัสดุที่หาได้ง่าย มีราคาถูก ไม่เป็นพิษต่อเซลล์แต่พบว่าเมื่อใช้งานในระบบที่มีน้ำเป็นระยะเวลานานอาจเกิดการเปลี่ยนรูปร่าง เปื่อยยุ่ย และสูญเสียสภาพไปในที่สุด ดังนั้นจึงมีแนวทางเลือกโดยใช้วัสดุสังเคราะห์ที่มีความเหมาะสมในการตรึงเซลล์มาทดแทน ดังแสดงในตัวอย่างต่อไปนี้

Tallur และคณะ (2009) ตรึง *Bacillus* sp. สายพันธุ์ PHN ที่สามารถย่อยสลายพารา-ครีซอลซึ่งพบในน้ำเสียจากโรงกลั่นน้ำมันปิโตรเลียม วัสดุพาหะที่ใช้ตรึงเซลล์ ประกอบด้วย พอลิยูริเทนโฟม (polyurethane foam) , พอลิอะคริลาไมล์ (polyacrylamide) , อัลจิเนต (alginate) และเอการ์ (agar) ผลการศึกษาพบว่าเซลล์ตรึงด้วยวัสดุทั้งสี่มีอัตราการย่อยสลายพารา-ครีซอลความเข้มข้น 20 และ 40 มิลลิโมลาร์สูงกว่าการใช้เซลล์อิสระ

Pattanasupong และคณะ (2004a) ศึกษากลุ่มแบคทีเรียที่แยกมาจากดิน สามารถย่อยสลายยาฆ่าแมลง carbendazim และ 2,4-dichlorophenoxyacetic acid พบว่าเมื่อตรึงเซลล์ไว้กับเส้นใยพอลิเอสเตอร์ กลุ่มแบคทีเรียจะมีความสามารถในการย่อยสลายได้เพิ่มขึ้น

Rahman และคณะ (2006) ศึกษาการย่อยสลายปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนในระบบน้ำทะเลจำลอง (oil-contaminated artificial seawater) ที่ปนเปื้อนน้ำมันปิโตรเลียมด้วยการเติมกลุ่มจุลินทรีย์ *Pseudomonas aeruginosa* และ *Bacillus* sp. ที่ตรึงเซลล์โดยใช้แคลเซียมอัลจิเนตเป็นวัสดุตรึง ตรวจวัดการลดลงของปริมาณ *n*-alkane ที่ช่วง C_{10}-C_{28} ภายหลัง 30 วัน พบว่ามีความสามารถในการลดปริมาณคาร์บอนต่างๆซึ่งเป็นองค์ประกอบอยู่ในน้ำมันปิโตรเลียมได้ 42-68 % ทั้งนี้ในงานวิจัยทดลองศึกษาการนำเซลล์ตรึงกลับมาใช้ซ้ำ พบว่าเม็ดอัลจิเนตสามารถใช้ซ้ำได้ถึง 4 ครั้ง

การใช้วัสดุสังเคราะห์มีข้อเสียก็คือ ไม่สามารถย่อยสลายได้เองตามธรรมชาติ มีราคาแพง ดังนั้นวัสดุพาหะที่นิยมใช้ในการตรึงแบคทีเรีย รา ส่วนมากจะเป็นสารอินทรีย์พอลิเมอร์ที่มีลักษณะเป็นรูพรุน เช่น แคลเซียมอัลจิเนต, อะกาโรส, คาราจีแนน (Van Veen และคณะ ,1997) การใช้อัลจิเนตเป็นวิธีหนึ่งที่นิยมนำมาใช้ในการตรึงแบคทีเรีย เนื่องจากเป็นวิธีที่มีต้นทุนต่ำ อัลจิเนตเป็นสารพอลิแซคคาไรด์ที่ได้มาจากวิธีทางชีวภาพนิยมนำมาใช้ในการตรึงเซลล์หรือเอนไซม์ เนื่องจากปราศจากความเป็นพิษซึ่งจะไปรบกวนการเจริญและการอยู่รอด ดังนั้นเซลล์ที่ถูกตรึงจึงมีความแข็งแรงและทนต่อภาวะต่างๆได้ดี และสามารถนำกลับมาใช้ใหม่ได้หลายครั้ง (Kerrar และคณะ, 2007) ข้อดีของการใช้อัลจิเนตพบว่าจะช่วยรักษาชีวิตให้กับเซลล์เนื่องจากอัตราการหลุด

ออกมีค่าต่ำ ขนาดของเม็ดบีทสามารถควบคุมได้ตามที่ต้องการและขั้นตอนในการเตรียมไม่ยุ่งยาก (Seoud และ Maachi, 2003 ; Benyahia และ Polomarkaki, 2005)

ดังนั้นงานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์ที่จะใช้อัลจิเนตเพื่อตรึงกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ซึ่งเป็นกลุ่มแบคทีเรียที่มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายไพรีนความเข้มข้น 100 มิลลิกรัม/ลิตร ได้หมดภายในระยะเวลา 14 วัน คัดแยกได้จากใบจามจุรีโดยจิรทีปม์ แสนรัก (2547) โดยจะหาภาวะที่ใช้ตรึงกลุ่มแบคทีเรียให้มีการรอดชีวิตสูงและมีประสิทธิภาพในการย่อยสลายไพรีน/ฟีแนนทรีนรวมทั้งสามารถนำแบคทีเรียตรึงกลับมาใช้ซ้ำได้

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

ตรึงกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 โดยใช้อัลจิเนตและตรวจสอบความสามารถในการย่อยสลายไพรีน/ฟีแนนทรีน

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

สามารถตรึงกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ในอัลจิเนตที่ยังคงประสิทธิภาพสูงในการย่อยสลายไพรีน/ฟีแนนทรีน