บทที่ 1

บทนำ

ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

มลพิษทางน้ำเป็นปัญหาทางด้านสิ่งแวดล้อมที่สำคัญและควรได้รับการแก้ไขที่เหมาะสม เนื่องจากน้ำเป็นทรัพยากรธรรมชาติที่สำคัญต่อการดำรงชีวิตของมนุษย์ ทั้งในการอุปโภคและบริโภค อีกทั้งยังจำเป็นต่อการดำรงชีวิตของสิ่งมีชีวิตชนิดอื่นด้วย เช่น เป็นที่อยู่อาศัยของสัตว์น้ำ พืชน้ำ และจุลินทรีย์ต่างๆ เป็นต้น มลพิษทางน้ำนั้นมีสาเหตุหนึ่งมาจากการปนเปื้อนของสารประกอบไนโตรเจน ซึ่งอาจอยู่ในรูปของสารอนินทรีย์ไนโตรเจนที่เป็นปุ๋ยในน้ำทิ้งทางการเกษตร หรือสารอินทรีย์ไนโตรเจนก็ได้ ภายใต้สภาพแวดล้อมที่เหมาะสมแบคทีเรียจะเปลี่ยนสารอินทรีย์ไนโตรเจนไปเป็นแอมโมเนียม โดยกระบวนการแอมโมนิฟิเคชัน (ammonification) จากนั้นในภาวะที่มีออกซิเจน แอมโมเนียมจะถูกออกซิไดซ์ไปเป็นไนไทรต์และไนเทรตตามลำดับ โดยกระบวนการไนทริฟิเคชัน (nitrification) ไนเทรตเป็นสารอนินทรีย์ไนโตรเจนที่พบมากในแหล่งน้ำต่างๆ เนื่องจากอิออนของไนเทรตจะเคลื่อนที่ผ่านดินได้ง่ายกว่าฟอสฟอรัสและต่างกับไนโตรเจนในรูปอื่นซึ่งเกิดการแลกเปลี่ยนอิออนกับอนุภาคของดินได้ ไนเทรตในแหล่งน้ำจะทำให้น้ำเป็นพิษ หากมีการนำน้ำที่มีไนเทรตปนเปื้อนไปใช้บริโภคก็จะก่อให้เกิดปัญหาทางด้านสาธารณสุขโดยเฉพาะกับเด็กอ่อนทำให้ถึงตายได้ นอกจากนี้ไนเทรตที่ปนมากับน้ำทิ้งทางการเกษตรยังทำให้เกิดปรากฏการณ์ยูโทรฟิเคชัน (eutrophication) หรือ แอลจี บลูม (algae bloom) ซึ่งเป็นสาเหตุหนึ่งของการเน่าเสียของแหล่งน้ำขึ้นด้วย (ธงชัย พรรณสวัสดิ์, 2544; สุธีลา ตุลยะเสถียร, โกศล วงศ์สวรรค์ และสถิต วงศ์สวรรค์, 2544)

กระบวนการดีไนทริฟิเคชัน (denitrification) เป็นกระบวนการรีดิวซ์ไนเทรตแบบดิสสิมิเลชัน (Dissimilatory nitrate reduction) เปลี่ยนไนเทรตให้กลายเป็นก๊าซไนโตรเจนซึ่งเกิดขึ้นโดยดีไนทริฟายอิ้งแบคทีเรีย ตามปกติก๊าซไนโตรเจนจะละลายน้ำได้น้อยมากจึงถูกขับหรือไล่ออกจากมวลของน้ำได้ง่ายโดยจะระเหยสู่อากาศได้ดี การกำจัดไนโตรเจนจึงเกิดขึ้นได้ไม่ยาก ถ้าสารประกอบไนโตรเจนในรูปต่างๆเปลี่ยนมาอยู่ในรูปของไนเทรต ดีไนทริฟายอิ้งแบคทีเรียก็จะสามารถเปลี่ยนไนเทรตให้กลายเป็นก๊าซไนโตรเจนได้ และสามารถกำจัดการปนเปื้อนของสารประกอบไนโตรเจนต่างๆ รวมทั้งไนเทรตในแหล่งน้ำได้ด้วย (ธงชัย พรรณสวัสดิ์, 2544)

การเกิดกระบวนการดีไนทริฟิเคชันโดยแบคทีเรียมี 4 ขั้นตอน อาศัยเอนไซม์ 4 ชนิดคือ ไนเทรตรีดักเทส (nitrate reductase, Nar) ไนไทรต์รีดักเทส (nitrite reductase, Nir) ไนทริกออกไซด์รีดักเทส (nitric oxide reductase, Nor) และไนทรัสออกไซด์รีดักเทส

(nitrous oxide reductase, Nos) ซึ่งควบคุมด้วยยีนโครงสร้าง (structural gene) 4 ยีน คือ *nar nir nor* และ *nos* ตามลำดับ (Schwintner และคณะ, 1998 ; Philippot และคณะ, 2001) แต่ละยีนจะมีตำแหน่งอยู่บนโครโมโซม (chromosome) หรือเอนโดจีนัสพลาสมิด (endogenous plasmid) ขึ้นอยู่กับชนิดของแบคทีเรีย จากการศึกษาโดยคัดเลือกดีไนทริฟายอิ้งแบคทีเรีย จากดินบริเวณแหล่งน้ำในพื้นที่โครงการสร้างป่าตามแนวพระราชดำริและป่าพันธุกรรมพืชอำเภอครบุรี จังหวัดนครราชสีมา มาทดสอบประสิทธิภาพในการรีดิวซ์ไนเทรต พบว่าเชื้อที่คัดเลือกได้ส่วนใหญ่อยู่ในกลุ่ม *Pseudomonas* (เจษฎา โพธิรัตน์, 2541)

เนื่องจากการรีดิวซ์ไนไทรต์ด้วยเอนไซม์ไนไทรต์รีดักเทสเป็นขั้นตอนที่สำคัญของกระบวนการดีไนทริฟิเคชัน (denitrification pathway) เพราะเป็นขั้นตอนที่ใช้ในการแยกดีไนทริฟายอิ้งแบคทีเรียออกจากแบคทีเรียในกลุ่มที่หายใจโดยใช้ไนเทรต (nitrate respirer) (Hallin และ Lindgren, 1999) ดังนั้นการตรวจสอบยีนที่ควบคุมการทำงานของเอนไซม์นี้ก็จะทำให้ทราบข้อมูลของยีนในแต่ละสายพันธุ์ (strain) และสามารถนำไปใช้ในการคัดเลือกดีไนทริฟายอิ้งแบคทีเรียต่อไปได้

จากข้อมูลข้างต้นงานวิจัยนี้จึงสนใจที่จะตรวจสอบยีนไนไทรต์รีดักเทส (nitrite reductase genes) ในดีไนทริฟายอิ้งแบคทีเรียที่คัดแยกได้ในพื้นที่ โดยอาศัยเทคนิคพีซีอาร์-อาร์เอฟแอลพี (PCR-RFLP)

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

เพื่อตรวจสอบยีนไนไทรต์รีดักเทสในแบคทีเรียที่คัดแยกได้ โดยอาศัยเทคนิคพีซีอาร์-อาร์เอฟแอลพี

ขอบเขตของการวิจัย

ครอบคลุมถึงการคัดเลือกแบคทีเรียดีไนทริฟายอิ้งแบคทีเรียจากดิน การวัดประสิทธิภาพการเกิดกระบวนการดีไนทริฟิเคชันของเชื้อ และการตรวจสอบยีนไนไทรต์รีดักเทสด้วยเทคนิคพีซีอาร์-อาร์เอฟแอลพี

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ทราบข้อมูลของยีนไนไทรต์รีดักเทสในดีไนทริฟายอิ้งแบคทีเรีย ซึ่งจะเป็นประโยชน์ต่อการคัดเลือกเชื้อไปใช้ในการบำบัดน้ำเสียที่มีการปนเปื้อนของไนเทรตต่อไป

2. ได้เชื้อดีไนทริฟายอิ้งแบคทีเรียที่ทำให้เกิดกระบวนการดีไนทริฟิเคชันได้ดีที่สุด เพื่อนำไปใช้ในการบำบัดน้ำเสียที่มีการปนเปื้อนของไนเทรต ซึ่งจะเป็นประโยชน์ต่อสิ่งแวดล้อมในแง่ของการลดปัญหามลพิษทางน้ำ