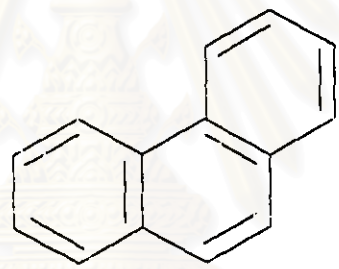
บทที่ 2

สารสารปริทัศน์

ฟีแนนทรีน (Phenanthrene)

ฟีแนนทรีน เป็นสารประกอบอินทรีย์ชนิดหนึ่งในกลุ่มพอลิไซคลิกอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอน ที่มีโครงสร้างโมเลกุลประกอบด้วย วงเบนซีน 3 วงเชื่อมต่อกันเป็นมุมงอ (angular arrangement) ดังแสดงในรูปที่ 2.1



รูปที่ 2.1 โครงสร้างโมเลกุลของฟีแนนทรีน

สมบัติของฟีแนนทรีน

สูตรโมเลกุล	$C_{14}H_{10}$
น้ำหนักโมเลกุล	178.23
ชื่อสามัญ	ฟีแนนเทรน (Phenanthren) ฟีแนนทริน (Phenantrin)
ความถ่วงจำเพาะ	1.025
อุณหภูมิหลอมเหลว	100 °ซ
อุณหภูมิกลายเป็นไอ	339 °ซ
ความหนาแน่น	1.179 กรัมต่อลูกบาศก์เมตร (ที่ 25 °ซ)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ความดันไอ	1 มม. ปรอท (ที่ 118.3 °ซ)
การละลาย	ละลายได้น้อยในน้ำ (น้อยกว่า 1 มก. ต่อลิตร ที่ 26 °ซ)
	ละลายได้ปานกลางในแอลกอฮอล์ (ละลายในเอทธานอลได้
	มากกว่า 100 มก. ต่อลิตร ที่ 26 °ซ)
	ละลายได้ดีในตัวทำละลายอินทรีย์เช่น เบนซีน คลอโรฟอร์ม
	โทลูอีน อีเทอร์ เฮกเซน กรดแกลเซียลอะซีติก และ
	คาร์บอนไดซัลไฟด์

ประโยชน์ของฟีแนนทรีน

ใช้เป็นสีและการสังเคราะห์วัตถุระเบิดและยาบางชนิด มีการนำมาใช้ในการศึกษาทางชีวเคมี เป็นส่วนประกอบหลักชนิดหนึ่งในครีโอโสท (creosote) ซึ่งใช้ในการรักษาเนื้อไม้ และเป็นส่วนประกอบในน้ำมันดีเซล รวมทั้งมีการนำมาใช้ในอุตสาหกรรมปิโตรเคมีหลายประเภท

แหล่งกำเนิดของฟีแนนทรีน

ฟีแนนทรีนสามารถพบได้ทั่วไปในสิ่งแวดล้อมโดยมีแหล่งกำเนิดสำคัญมาจากกระบวนการไพโรไลซิส (pyrolysis) ซึ่งเป็นกระบวนการที่เกิดขึ้นเมื่อสารอินทรีย์ได้รับความร้อนสูงจากภายนอก ผลจากกระบวนการนี้ทำให้ฟีแนนทรีนและ PAHs ชนิดอื่นถูกสร้างขึ้นและสะสมอยู่ในรูปของเชื้อเพลิงฟอสซิล เช่น น้ำมันดิบ(crude oil) และถ่านหิน (coal) (Blumer, 1976) โดยที่

<u>น้ำมันดิบ</u> ฟีแนนทรีนอยู่ในลำดับส่วน (fraction) ของน้ำมันดิบที่มีจุดเดือดสูงภายหลังกระบวนการกลั่น เช่นในส่วนของน้ำมันดีเซล (diesel) น้ำมันหล่อลื่น (lubricating oil) และน้ำมันเชื้อเพลิง (fuel oil) (Grimmer et al., 1983)

<u>ถ่านหิน</u> ในการผลิตแก๊สเชื้อเพลิงจากถ่านหิน (coal gasification) จะเกิดผลผลิตร่วมระหว่างกระบวนการขึ้นหลายชนิด เช่น น้ำมันดินส่วนหนัก (heavy tar oils) ซึ่งประกอบด้วยครีโอโสท และพิช (pitch) โดยที่ครีโอโสทประกอบด้วย PAHs ประมาณร้อยละ 85-90 ต่อน้ำหนักทั้งหมด (Bos et al., 1984) โดยมีฟีแนนทรีนอยู่ในปริมาณสูงสุดประมาณ 12-14 % ร่วมกับ

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

อะซีแนพธีน (acenaphthene) แอนทราซีน (anthracene) ฟลูออรีน (fluorene) และคาร์บาโซล (carbazole) ในปริมาณสารละ 2-4 % (Considine, 1974)

นอกจากนี้ ฟีแนนทรีนและ PAHs ชนิดอื่นสามารถเกิดขึ้นเองในธรรมชาติ เช่น เกิดจากการเผาไหม้ของพืชและสารอินทรีย์ การเกิดไฟป่า และเกิดจากกิจกรรมของพืชและจุลินทรีย์บางชนิด (Blumer, 1976) แต่อย่างไรก็ตามการเกิดและการรั่วไหลของฟีแนนทรีนและ PAHs ชนิดอื่นมีต้นกำเนิดมาจากกิจกรรมของมนุษย์เป็นส่วนใหญ่ เช่น การเผาไหม้ของเชื้อเพลิงฟอสซิลในอุตสาหกรรมปิโตรเลียม อุตสาหกรรมการแยกและแปรสภาพถ่านหิน และอุตสาหกรรมผลิตภัณฑ์ถนอมและรักษาเนื้อไม้ที่ใช้ครีโอโสทเป็นส่วนประกอบหลัก (Sim and Overcash, 1983) โดยที่ Cerniglia (1992) และ Wilson และ Jones (1993) ได้สรุปแหล่งกำเนิดและวิธีในการเข้าสู่สิ่งแวดล้อมของฟีแนนทรีนและ PAHs ชนิดอื่นไว้ดังนี้

กระบวนการแยกและแปรสภาพก๊าซธรรมชาติจากเชื้อเพลิงฟอสซิล

การใช้แหล่งพลังงานและความร้อนจากเชื้อเพลิงฟอสซิล

กระบวนการกลั่นน้ำมันดิบ และผลิตภัณฑ์ที่ได้จากน้ำมันดิบ

กระบวนการผลิตถ่านโค้ก (coke production)

การผลิตและการใช้คาร์บอนแบล็ค (carbon-black)

การผลิตและการใช้แอสฟัลท์ (asphalt)

กระบวนการรักษาเนื้อไม้ (wood-treatment process)

การผลิตผลิตภัณฑ์ถนอมเนื้อไม้ที่ใช้ครีโอโสทเป็นองค์ประกอบหลัก

การเก็บ การขนส่ง กระบวนการผลิต การใช้และการกำจัดน้ำมันเชื้อเพลิง

การกำจัดสิ่งปฏิกูลโดยการฝังดิน (landfill)

การเผาไหม้ของถ่านหินในระบบแบบเปิด

การเผาสิ่งปฏิกูล (incineration)

การซึมของน้ำมันดิบในธรรมชาติ

การรั่วไหลที่เกิดจากอุบัติเหตุจากเรือบรรทุกน้ำมันและเรือชนิดอื่น

การแพร่กระจายของน้ำเสียชุมชนและอุตสาหกรรมปิโตรเคมี

การแพร่กระจายของอนุภาคเถ้าถ่าน และฝุ่นละอองในบรรยากาศ

ควันจากถ่านหุงต้ม และอาหารประเภท ปิ้งและย่าง

ควันจากบุหรี่และยาสูบ

ควันจากไอเสียรถยนต์

ไฟป่า และการเผาหญ้า

ความเป็นพิษ (toxicity) ของฟีแนนทรีน

พิษต่อพืชและสัตว์ในทะเล

ฟีแนนทรีนมีความเป็นพิษต่อสิ่งมีชีวิตในทะเลบางชนิดเช่น สาหร่าย (algae) และแพลงตอนพืช (phytoplankton) (Bender et al., 1988; Kusk, 1981) Pipe และ Moore (1986a) รายงานว่าฟีแนนทรีนมีผลต่อเยื่อหุ้มไลโซโซม (lysosomal membranes) และเพิ่มปริมาณเอนไซม์เบต้ากลูคูโรนิเดส (β - glucuronidase) ภายในเซลล์ย่อยอาหาร (digestive cells) ของหอยชนิดไม่มีกาบ *Littorina littorea* และสามารถชักนำกิจกรรมของเอนไซม์แอริลซัลฟาเทส (Arylsulphatase) ส่งผลให้เซลล์ที่ใช้ในการย่อยอาหารของหอยทะเล *Mytilus edulis* มีจำนวนลดลง (Pipe and Moore, 1986 b)

พิษต่อสัตว์ทดลอง (Lewis, 1991)

ค่า LD_{50} เมื่อให้หนู (mice) กินมีค่าเท่ากับ 70 มก. ต่อ กก.

ค่า LD_{50} เมื่อฉีดเข้าเส้นเลือดหนู (mice) มีค่าเท่ากับ 56 มก. ต่อ กก.

ความสามารถในการเป็นสารก่อมะเร็ง (carcinogenicity) (Lewis, 1991)

ความสามารถในการชักนำให้เกิดเนื้องอก (neoplastic effects) เมื่อทดสอบที่ผิวหนังของหนู (mouse) มีค่า TDLo เท่ากับ 71 มก. ต่อ กก.

ความเป็นไปได้ในการเป็นสารชักนำให้เกิดเนื้องอก (equivocal tumorigenic agents) เมื่อทดสอบที่ผิวหนังหนู (mouse) มีค่า TD เท่ากับ 22 กรัมต่อ กก. ใน 10 สัปดาห์

ความสามารถในการเป็นสารก่อกลายพันธุ์ (mutagenicity) (Lewis, 1991)

เมื่อทดสอบโดยใช้เซลล์ไลน์ (cell line) จากปอดของหนูแฮมสเตอร์มีค่า 40 มก. ต่อลิตรภายใน 27 ชั่วโมง

เมื่อทดสอบการทำลายดีเอ็นเอ (DNA-damage) ของเซลล์ไฟโบรบลาสต์ (fibroblast) ของหนูแฮมสเตอร์มีค่า 5 มก. ต่อลิตรภายใน 24 ชั่วโมง

เมื่อทดสอบการทำลายดีเอ็นเอของเซลล์ไตของหนูแฮมสเตอร์มีค่า 5 มก. ต่อลิตร

เมื่อทดสอบด้วยวิธีไมโครโซมัล มิวตาจีนิซิตี้ (microsomal mutagenicity assay) โดยใช้ *Samonella typhimurium* เป็นเชื้อทดสอบ มีค่า 100 ไมโครกรัมต่อเพลต

เมื่อทดสอบการเปลี่ยนแปลงของซิสเตอร์โครมาติด (sister chromatid exchange) ของเซลล์ไฟโบรบลาสต์ ของหนูแฮมสเตอร์มีค่า 10 ไมโครโมลต่อลิตร

เมื่อทดสอบการเปลี่ยนแปลงของซิสเตอร์โครมาติดโดยใช้เซลล์ได้เยื่อบุช่องท้องของหนูแฮมสเตอร์มีค่า 900 มก. ต่อ กก. ภายใน 24 ชั่วโมง

พิษต่อมนุษย์ (Lewis, 1991)

ฟีแนนทรีนมีความเป็นพิษต่ำเมื่อให้กินโดยตรง ความเป็นพิษจะแสดงออกเมื่อฉีดเข้าทางเส้นเลือด (intravenous route) ทำให้ผิวหนังมนุษย์มีความไวต่อแสงมากกว่าปกติ (human skin photosensitizer) อาจทำให้เกิดการระคายเคืองต่อผิวหนังและระบบทางเดินหายใจเมื่อสัมผัส ไม่มีหลักฐานยืนยันว่ามีสมบัติในการเป็นสารก่อมะเร็งในมนุษย์

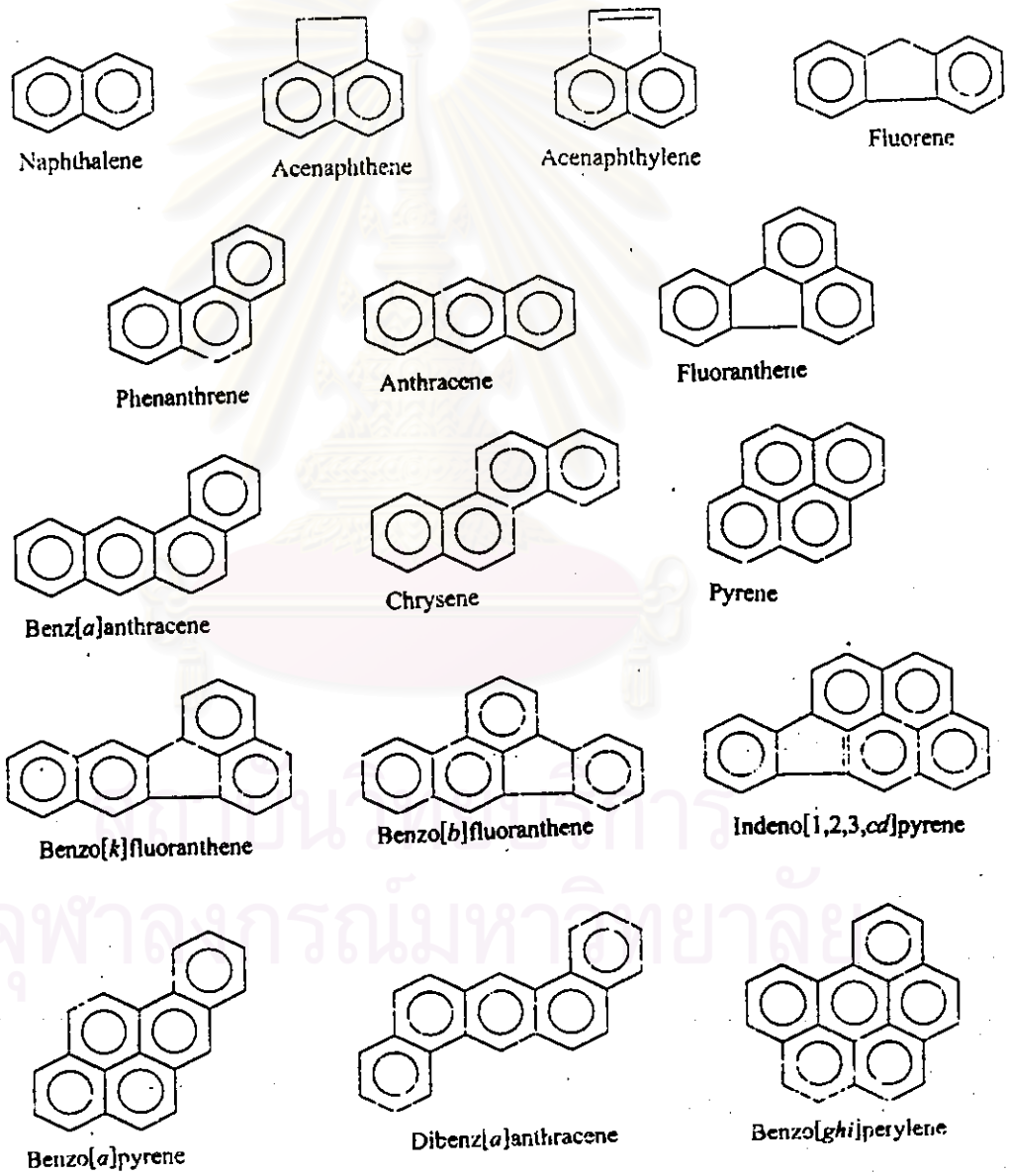
รายงานที่เกี่ยวข้องกับมนุษย์กับมนุษย์ (Lewis, 1991)

1. The U.N. International Agency for Research on Cancer (IARC) รายงานว่า ฟีแนนทรีนไม่มีสมบัติเป็นสารก่อมะเร็งในมนุษย์

2. The Occupational Safety and Health Administrations (OSHA) กำหนดให้มีฟีแนนทรีนปนเปื้อนในอากาศได้ไม่เกิน 0.2 มก. ต่อลูกบาศก์เมตร

3. สำนักงานคุ้มครองสิ่งแวดล้อมสหรัฐอเมริกา (The U.S. Environmental Protection Agency ,EPA) ได้กำหนดให้ฟีแนนทรีน และ PAHs ชนิดอื่นรวมทั้งหมด 16 ชนิดเป็นสารพิษที่ควร

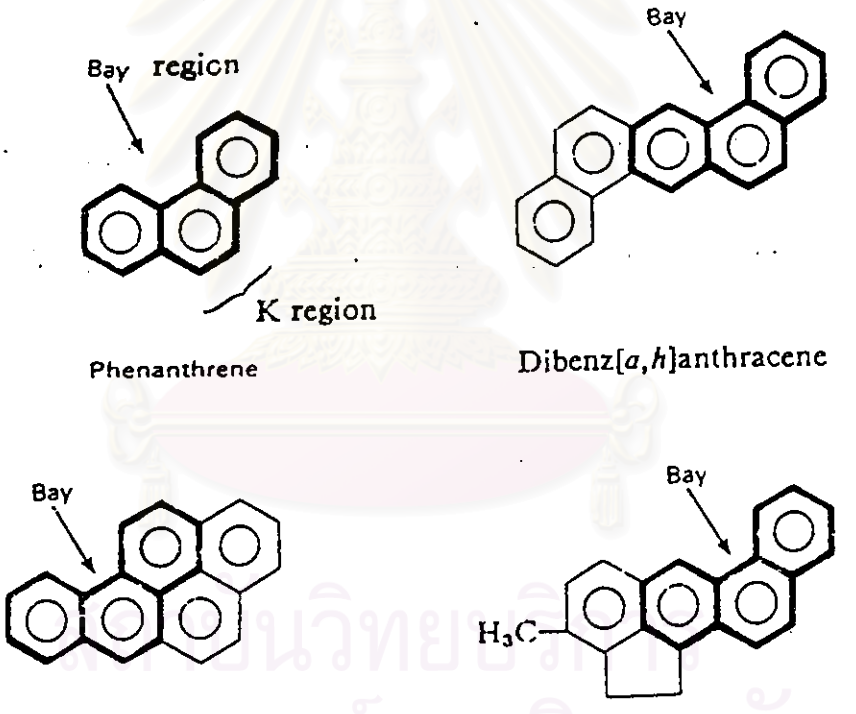
ให้ความสำคัญในอันดับต้น ซึ่งได้แก่ แนพธาลีน (naphthalene) อะซีแนพธีน (acenaphthene) อะซีแนพธิลีน(acenaphthylene) ฟลูออรีน(fluorene) ฟีแนนทรีน(phenanthrene) แอนทราซีน (anthracene) ฟลูออแรนธีน(fluoranthene) ไพรีน(pyrene) เบนซ์[เอ]แอนทราซีน(benz[*a*] anthracene) ไครซีน(chrysene) เบนซ์[บี]ฟลูออแรนธีน(benz[*b*]fluoranthene) เบนซ์[เค]ฟลูออแรนธีน(benz[*k*]fluoranthene) เบนโซ[เอ]ไพรีน(benzo[*a*]pyrene) ไดเบนซ์[เอ,เอช]แอนทราซีน (dibenz[*a,h*]anthracene) เบนโซ[จี,เอช,ไอ]เพอริลีน(benzo[*g,h,i*]perylene) อินดิโน[1,2,3-ซีดี]ไพรีน (indeno [1,2,3-*cd*]pyrene) ดังแสดงโครงสร้างโมเลกุลในรูปที่ 2.2



รูปที่ 2.2 โครงสร้างโมเลกุลของ PAHs ทั้ง 16 ชนิดตามรายงานของ U.S. EPA (Wilson and Jones, 1993)

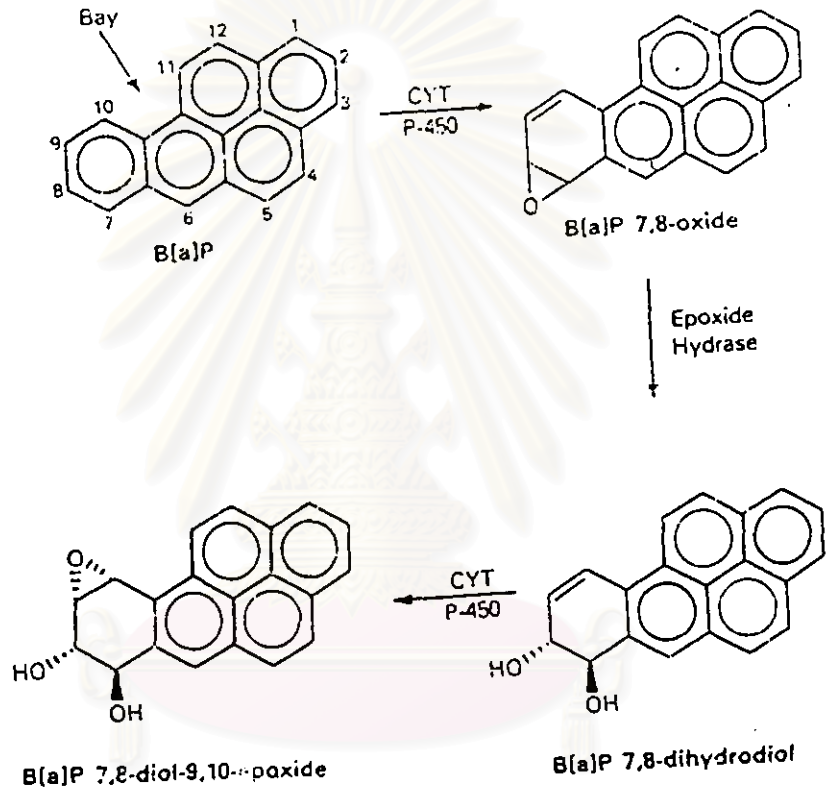
ความเกี่ยวข้องของฟีแนนทรีนกับ PAHs ชนิดอื่นที่มีสมบัติในการเป็นสารก่อมะเร็งและสารก่อกลายพันธุ์

ฟีแนนทรีนจัดเป็นPAH ที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ (low molecular weight PAH) และเป็น PAH ขนาดเล็กที่สุดที่มีโครงสร้างโมเลกุลเป็นมุมงอ ซึ่งเป็นการจัดตัวของ PAH ที่มีความเสถียรสูงที่สุด (Blumer, 1976) ความสำคัญของฟีแนนทรีนคือสารนี้เป็น PAH ขนาดเล็กที่สุดที่มีทั้งบริเวณเบย์ (bay-region) และบริเวณเค (K-region) อยู่ในโครงสร้างโมเลกุล โดยที่ทั้งสองบริเวณนี้จะพบอยู่ในโครงสร้างโมเลกุลของ PAHs ชนิดอื่นที่มีสมบัติเป็นสารก่อมะเร็งและสารก่อกลายพันธุ์ เช่น เบนโซ[เอ]ไพรีน ไดเบนซ์[เอ,เอช]แอนทราซีน 3-เมธิลโครแลนทรีน(3-methyl-cholanthrene) ดังแสดงโครงสร้างโมเลกุลในรูปที่ 2.3 (Narro et al., 1992)



รูปที่ 2.3 บริเวณเบย์และบริเวณเคที่พบในโครงสร้างโมเลกุลของฟีแนนทรีน และ PAHs ที่มีสมบัติเป็นสารก่อมะเร็ง (Narro et al., 1992)

มีรายงานว่าบริเวณเบย์และบริเวณเคยของ PAHs ที่มีสมบัติเป็นสารก่อมะเร็ง อาจเกี่ยวข้องกับการกระตุ้นกระบวนการเมตาบอลิสม (metabolic activation) ภายในเซลล์ของสิ่งมีชีวิตเพื่อใช้ในการเปลี่ยน PAHs ที่เข้ามาในเซลล์ไปเป็นผลิตภัณฑ์ที่สามารถจับหรือเกิดพันธะโควาเลนท์กับดีเอ็นเอ อาร์เอ็นเอ หรือโปรตีน ซึ่งนำไปสู่การกลายพันธุ์และเกิดเป็นมะเร็งได้ในที่สุด (Thakker et al., 1980) ดังแสดงขั้นตอนการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างโมเลกุลและเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องในกระบวนการเมตาบอลิสมของเบนโซ[เอ]ไพรีนในรูปที่ 2.4



รูปที่ 2.4 กระบวนการเมตาบอลิสมของเบนโซ[เอ]ไพรีนภายในเซลล์สิ่งมีชีวิต (Thakker et al., 1980)

หลังจากที่เบนโซ[เอ]ไพรีนเข้าสู่เซลล์ของสิ่งมีชีวิตจะชักนำให้ไซโตโครม พี 450 (cytochrome P450) เพิ่มกิจกรรมและเพิ่มการสร้างเอนไซม์บางชนิด เช่น เอนไซม์โมโนออกซีจีเนส (Monooxygenase) และ เอนไซม์อีพอกไซด์ไฮโดรเลส (Epoxide hydrolase) เพื่อนำมาใช้ในการเปลี่ยนเบนโซ[เอ]ไพรีนไปเป็น เบนโซ[เอ]ไพรีน-7,8-ไดไฮโดรไดออล-9,10-อีพอกไซด์ (benzo[a] pyrene-7,8-dihydrodiol-9,10-epoxide) ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ตัวสุดท้ายของกระบวนการเมตาบอลิสมของเบนโซ[เอ]ไพรีนภายในเซลล์สิ่งมีชีวิต โดยที่ผลิตภัณฑ์นี้มีศักยภาพในการจับกับเบสกัวนีน (guanine) ในดีเอ็นเอทำให้เกิดการกลายพันธุ์และนำไปสู่การเกิดมะเร็งได้ในที่สุด (Sim et al., 1974)

จากเหตุผลดังกล่าว ทำให้มีการนำฟีแนนทรีนมาใช้เป็นแบบจำลองในการศึกษาและติดตามกระบวนการเมตาบอลิสมของ PAHs ที่มีสมบัติเป็นสารก่อมะเร็งชนิดอื่นกันอย่างแพร่หลาย เนื่องจากไม่มีหลักฐานยืนยันว่าฟีแนนทรีนรวมทั้งสารมัธยันต์ต่าง ๆ ที่เกิดขึ้นระหว่างกระบวนการเมตาบอลิสมของฟีแนนทรีนเป็นสารก่อมะเร็งและสารก่อกลายพันธุ์ในคน ดังนั้นการนำฟีแนนทรีนมาศึกษาจึงมีความปลอดภัยมากกว่าการนำ PAHs ที่มีสมบัติเป็นสารก่อมะเร็งมาทำการศึกษาโดยตรง (Cerniglia and Yang, 1984)

ฟีแนนทรีนและ PAHs ชนิดอื่นในระบบนิเวศน์วิทยา

ฟีแนนทรีนและ PAHs เป็นสารพิษที่ตกค้างอยู่ในสิ่งแวดล้อมได้เป็นเวลานาน เนื่องจากมีโครงสร้างโมเลกุลที่เสถียร โดยปกติในธรรมชาติจะเป็นของแข็ง และละลายน้ำได้น้อยมาก รวมทั้งถูกดูดซับโดยสารอินทรีย์และสารอนินทรีย์ชนิดอื่นได้อย่างรวดเร็ว ทำให้ฟีแนนทรีนและ PAHs ชนิดอื่นสลายตัวได้ช้ามาก (Grosser et al., 1991) ฟีแนนทรีนมีครึ่งชีวิต (half-live) ต่อการถูกย่อยสลายในดินตะกอนประมาณ 4-18 สัปดาห์ ส่วน PAH ที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูงเช่น เบนโซ[เอ]ไพรีนจะมีครึ่งชีวิตในสภาวะเดียวกันประมาณ 200-300 สัปดาห์ (Cerniglia, 1992) ฟีแนนทรีนและ PAHs ในสิ่งแวดล้อมสามารถเข้าสู่วงจรอาหารได้ โดยการสะสมอยู่ในพืชที่ขึ้นบนดินและน้ำที่ปนเปื้อนและเข้าสู่สัตว์ผ่านทางห่วงโซ่อาหารทำให้เข้าสู่มนุษย์ได้ในที่สุด (Means et al., 1980)

เส้นทางที่ฟีแนนทรีนและ PAHs เข้าสู่ร่างกายสิ่งมีชีวิต

1. การหายใจเอาฝุ่น ควันจากบุหรี่และใบยาสูบ ก๊าซ เขม่า ขี้เถ้า ที่ปนเปื้อนเข้าไปในระบบทางเดินหายใจ

2. การบริโภคอาหารและน้ำที่ปนเปื้อนเข้าไปในระบบทางเดินอาหาร เช่นการบริโภคอาหารประเภททอดหรือปิ้ง

3. การสัมผัสโดยตรงทางผิวหนัง

คนที่ต้องสัมผัสกับสารเหล่านี้เป็นประจำเช่น คนงานที่ทำงานในโรงงานอุตสาหกรรมที่เกี่ยวข้องกับการใช้เชื้อเพลิงฟอสซิล เช่น โรงงานกลั่นน้ำมัน และเหมืองถ่านหิน รวมทั้งผู้คนที่อาศัยอยู่ในบริเวณที่มีการจราจรหนาแน่น มีโอกาสที่จะได้รับสารเหล่านี้ไปสะสมในร่างกายในปริมาณสูง ทำให้เสี่ยงต่อการเจ็บป่วยได้มากกว่าคนที่ไม่ได้สัมผัสสารเหล่านี้อยู่ตลอดเวลา (Thakker et al., 1980.)

สถานภาพในการควบคุมฟีแนนทรีนและ PAHs ชนิดอื่นในแต่ละประเทศ

สหรัฐอเมริกา

The Comprehensive Environmental Response Compensation, and Liability Act (CERCLA) ได้มอบหมายให้สำนักงานคุ้มครองสิ่งแวดล้อมสหรัฐอเมริกา (EPA) รับผิดชอบการฟื้นฟูบริเวณที่มีการปนเปื้อนจากสารพิษที่มีรายชื่ออยู่ใน The National Priority List (NPL) และภายใต้ The Superfund Amendments and Reauthorisation Act 1986 (SARA) ในส่วนที่ 121 ได้กล่าวถึงการกำหนดมาตรฐานในการฟื้นฟู และกฎเกณฑ์ที่มีความเฉพาะเจาะจงในการบำบัดบริเวณที่มีการปนเปื้อนจากสารพิษอันตราย โดยที่มาตรฐานในการจัดการจะแตกต่างกันระหว่างรัฐ (Anon, 1991) ฟีแนนทรีนและ PAHs ถูกระบุว่าเป็นสารพิษอันตรายในระดับสาธารณรัฐ โดยมีชื่ออยู่บัญชีรายชื่อของสารพิษอันตรายของ CERCLA และ SARA โดยที่ EPA ได้ระบุว่า ฟีแนนทรีนและ PAHs ชนิดอื่นอีก 15 ชนิดเป็นสารพิษอันตรายร้ายแรงที่ต้องให้ความสำคัญในการควบคุมในลำดับต้น (priority pollutants) และได้มีการตั้งเกณฑ์และมาตรฐานในการกำจัดหรือป้องกันไม่ให้สารเหล่านี้รั่วไหลเข้าสู่สิ่งแวดล้อม (Keith and Telliard, 1979)

แคนาดา

กระทรวงสิ่งแวดล้อมของแคนาดา (The Canadian Council of Ministers of the Environment) มีนโยบายในการฟื้นฟูบริเวณที่มีการปนเปื้อนจากสารพิษในปริมาณสูง โดยที่นโยบายดังกล่าวมีการแยกออกเป็นสองส่วน คือ เกณฑ์ในการประเมินสถานภาพในการปนเปื้อนและเกณฑ์ในการฟื้นฟูบริเวณที่มีการปนเปื้อนให้มีสารพิษเหลืออยู่ในระดับที่ปลอดภัยต่อมนุษย์และสิ่งแวดล้อม โดยการกำหนดปริมาณสูงสุดของฟีแนนทรีนที่ยอมรับให้มีในดินได้ไม่เกิน 0.1 มก. ต่อน้ำหนักดินแห้ง 1 กก. และให้มีฟีแนนทรีนปนเปื้อนในแหล่งน้ำได้ไม่เกิน 0.2 ไมโครลิตรต่อลิตร (CCME, 1991)

สหภาพยุโรป (EC)

สหภาพยุโรปได้ออกคำสั่ง (Council Directive) ที่ 80/68/EEC ในปี ค.ศ. 1980 ซึ่งกล่าวถึงการป้องกันไม่ให้สารพิษอันตรายปนเปื้อนในแหล่งน้ำได้ดิน (Haigh, 1990) และคำสั่งที่ 76/464/EEC ในปี ค.ศ. 1976 ซึ่งว่าด้วยเรื่อง มลภาวะที่เกิดจากการปนเปื้อนจากสารพิษอันตรายที่ถูกทิ้งลงไปในแหล่งน้ำตามธรรมชาติ โดยที่ฟีแนนทรีนและ PAHs ชนิดอื่น ถูกจัดอยู่ในบัญชีราย

ชื่อของสารพิษอันตรายที่จำเป็นต้องกำจัดและลดปริมาณที่จะปนเปื้อนในน้ำผิวดินและน้ำใต้ดิน (Wilson and Jones, 1993) นอกจากนี้ในแต่ละประเทศก็ยังมีมาตรฐานในการควบคุมฟีแนนทรีนและ PAHs ชนิดอื่นแตกต่างกันออกไปดังนี้

เนเธอร์แลนด์

รัฐบาลเนเธอร์แลนด์ได้ตั้งเกณฑ์กำหนดที่ให้ในการฟื้นฟูบริเวณที่มีการปนเปื้อนจากฟีแนนทรีนและ PAHs ชนิดอื่น โดยกำหนดให้มีฟีแนนทรีนปนเปื้อนอยู่ในดินหลังการฟื้นฟูสภาพได้ไม่เกิน 0.045 มก. ต่อดินแห้ง 1 กก. และกำหนดให้มีฟีแนนทรีนปนเปื้อนอยู่ในน้ำใต้ดินหลังการฟื้นฟูสภาพได้ไม่เกิน 0.02 ไมโครกรัมต่อลิตร (Dennemian, 1991, 1992)

สหราชอาณาจักร

รัฐบาลอังกฤษได้กำหนดเกณฑ์ในการฟื้นฟูแหล่งดินที่มีการปนเปื้อนสารพิษอันตรายจากกิจกรรมทางอุตสาหกรรม โดยกำหนดให้มี PAHs รวมกันทุกชนิดปนเปื้อนอยู่ในดินบริเวณสวนในบ้าน สนามเด็กเล่น และพื้นที่เพาะปลูกได้ไม่เกิน 50 มก. ต่อดินแห้ง 1 กก. และปนเปื้อนอยู่ในดินบริเวณแหล่งก่อสร้าง และแหล่งอุตสาหกรรมได้ไม่เกิน 1000 มก. ต่อดินแห้ง 1 กก. (ICRCL, 1987)

ออสเตรเลีย

รัฐบาลออสเตรเลียสร้างระบบฐานข้อมูลที่ใช้ในการจัดประเภทของเสียในประเทศออสเตรเลียออกเป็น 17 ประเภทโดยที่ฟีแนนทรีนและ PAHs ชนิดอื่นจัดอยู่ในของเสียประเภท I ซึ่งเป็นของเสียประเภทกากน้ำมัน (waste oils) รวมทั้งมีการออกกฎหมายฟื้นฟูสภาพดินที่มีการปนเปื้อนจากสารเคมี (อ้างถึงโดย นราธิป เถาหิรานนท์, 1997)

สถานการณ์และมาตรการในการควบคุมฟีแนนทรีนและ PAHs ชนิดอื่นในประเทศไทย

ในพระราชบัญญัติวัตถุอันตราย พุทธศักราช 2535 ได้มีการจัดประเภทของวัตถุอันตรายในประเทศออกเป็น 9 ประเภท โดยที่ฟีแนนทรีนและ PAHs ชนิดอื่นมีคุณสมบัติที่จัดอยู่ในวัตถุอันตรายประเภทที่ 7 คือเป็นวัตถุที่ก่อให้เกิดการเปลี่ยนทางพันธุกรรม (พระราชบัญญัติวัตถุอันตราย พ.ศ. 2535)

พระราชบัญญัติส่งเสริมและรักษาคุณภาพสิ่งแวดล้อมแห่งชาติ พ.ศ. 2535 ในส่วนที่ 6 มาตราที่ 78 ได้กล่าวถึงการป้องกันและการควบคุมมลพิษที่เกิดจากการสำรวจ การขุดเจาะน้ำมันก๊าซธรรมชาติและสารไฮโดรคาร์บอนทุกชนิดทั้งบนบกและในทะเล หรือการป้องกันและการควบคุมมลพิษที่เกิดจากการปล่อยน้ำมันและทิ้งของเสียและวัตถุอื่นๆ จากเรือเดินทะเลหรือเรือบรรทุกน้ำมัน และในมาตราที่ 79 กล่าวถึง การควบคุมและมาตรการในการเก็บรวบรวม ขนส่งเคลื่อนย้าย การจัดการ การบำบัด และการกำจัดของเสียจากกระบวนการผลิตทางอุตสาหกรรมด้วยวิธีการที่เหมาะสมและถูกต้องตามหลักวิชาการ (พระราชบัญญัติส่งเสริมและรักษาคุณภาพสิ่งแวดล้อมแห่งชาติ พ.ศ. 2535)

ยังไม่มีรายงานที่ชัดเจนเกี่ยวกับปัญหาสิ่งแวดล้อมที่เกิดจากการปนเปื้อนฟีแนนทรีนและ PAHs ในแหล่งน้ำและแหล่งดินภายในประเทศ แต่ที่มีรายงานชัดเจนที่สุดคือปัญหาอากาศเสียในเขตกรุงเทพมหานคร ตามรายงานของ Puiock และ Ruchirawat (1999) พบว่าตัวอย่างอากาศที่เก็บตัวอย่างโดยตำรวจจราจรในหลายพื้นที่ของกรุงเทพมหานครมี PAHs ปนเปื้อนอยู่ในระดับสูง โดยพบว่ามี เบนโซ[เอ]ไพรีน เบนซ์[เอ]แอนทราซีน ไครซีน เบนซ์[บี]ฟลูออแรนธีน เบนซ์[เอ]ฟลูออแรนธีน ปนเปื้อนอยู่ในช่วงความเข้มข้นประมาณ 1.0 - 5.0 พิโคกรัมต่อไมโครลิตร

การทำลายฟีแนนทรีนและ PAHs ชนิดอื่น

กรรมวิธีต่าง ๆ ที่ใช้ในการทำลายฟีแนนทรีนและ PAHs ชนิดอื่นจะเหมือนกับการกำจัดสารพิษอันตรายทั่วไปซึ่งพอจะจำแนกได้ดังนี้ (Lee et al., 1996)

1. วิธีการเผาที่อุณหภูมิสูงมาก (incineration) โดยการเก็บรวบรวมฟีแนนทรีนและ PAHs ไว้ในภาชนะแล้วนำมาเข้าเตาเผา (incinerator) ชนิดพิเศษที่ใช้อุณหภูมิสูงมากกว่า 2000 องศาฟาเรนไฮต์ เพื่อทำให้สารเหล่านี้แตกตัวเป็นส่วน ๆ (fragments) ซึ่งแต่ละส่วนจะมีความปลอดภัยไม่เป็นมลพิษ แล้วทำการปล่อยของเสียที่แตกตัวแล้วลงสู่บ่อพักของเสียหรือนำไปฝังกลบ แต่อย่างไรก็ตามวิธีการนี้อาจก่อให้มีสารพิษชนิดใหม่เกิดขึ้นได้ (Cobb et al., 1993)

2. วิธีการทางกายภาพ (physical alteration) เช่น กรรมวิธีการให้ความร้อนหรือใช้อากาศเป่าเข้าไปในบริเวณที่มีการปนเปื้อนจากฟีแนนทรีนและ PAHs ชนิดอื่นเพื่อให้เกิดการระเหยของสารเหล่านี้ นอกจากนี้ยังมีวิธีการอื่น เช่น การฝังกลบ (landfill) ด้วยกรรมวิธีที่ปลอดภัย

3. วิธีการทางเคมี (chemical alteration) เป็นการเติมสารเคมีลงไปทำปฏิกริยากับฟีแนนทรีนและ PAHs ชนิดอื่น เพื่อให้เกิดปฏิกริยาในการกำจัดเกิดขึ้นอย่างสมบูรณ์ แล้วจึงปล่อยของเสียลงสู่กาชนะเก็บต่อไป

4. วิธีการทางเคมี-ฟิสิกส์ (physico-chemical techniques) เช่น การเติมถ่านกัมมันต์ (activated carbon) ลงไปในบริเวณที่มีการปนเปื้อนจากฟีแนนทรีนและ PAHs ชนิดอื่น เพื่อใช้เป็นตัวดูดซับสารเหล่านี้จากดินมาเก็บสะสมไว้ในถ่านกัมมันต์ที่เติมลงไป นอกจากนี้ยังมีวิธีการที่ใช้ในห้องทดลองวิธีอื่นๆ อีกเช่น การทำลายโดยการใช้แสงอุลตร้าไวโอเลต หรือรังสีแกมม่า อย่างไรก็ตามวิธีการที่ใช้ในห้องทดลองไม่ปรากฏว่าใช้ได้ผลดีในสภาพแวดล้อมจริง

5. วิธีการบำบัดทางชีวภาพ (bioremediation) เป็นวิธีการกำจัดสารพิษโดยใช้สิ่งมีชีวิต เช่น จุลินทรีย์ต่าง ๆ ที่สามารถย่อยสลายฟีแนนทรีนและ PAHs ชนิดอื่น ๆ ให้มีความเป็นพิษลดลงหรือไม่มีอันตรายต่อสิ่งแวดล้อม วิธีการนี้มีประสิทธิภาพในการบำบัดตะกอน ดิน แหล่งน้ำใต้ดิน และผิวดินที่มีการปนเปื้อนจากฟีแนนทรีน และ PAHs (Cerniglia, 1992) วิธีการนี้มีข้อได้เปรียบวิธีการกำจัดวิธีอื่นคือ ใช้ค่าใช้จ่ายในการดำเนินการต่ำ ทำได้สะดวก และไม่ก่อให้เกิดปัญหามลพิษตามมาเนื่องจากการตกค้างของสารชนิดอื่น รวมทั้งสามารถนำไปใช้ในการบำบัดบริเวณที่เกิดมลภาวะเนื่องจากการปนเปื้อนจากสารเหล่านี้เป็นบริเวณกว้าง เช่นแหล่งดิน หรือแหล่งน้ำในธรรมชาติได้โดยตรง โดยไม่ต้องทำการขนย้ายไปกำจัดที่อื่นเหมือนวิธีการอื่นๆทำให้มีค่าใช้จ่ายลดลง (Lee et al., 1996)

การย่อยสลายฟีแนนทรีนโดยจุลินทรีย์

การย่อยสลายฟีแนนทรีนโดยจุลินทรีย์มีการศึกษามาเป็นเวลาไม่ต่ำกว่า 60 ปี และมีรายงานว่าจุลินทรีย์หลายชนิดสามารถย่อยสลาย หรือเปลี่ยนแปลงโครงสร้างโมเลกุล (transformation) ของฟีแนนทรีนได้ (Cerniglia, 1992) โดยจุลินทรีย์ที่สามารถย่อยสลายฟีแนนทรีนได้มีทั้ง แบคทีเรีย รา และยีสต์ รวมทั้งสาหร่าย ดังสรุปไว้ในตารางที่ 2.1 2.2 และ 2.3 ตามลำดับ

ตารางที่ 2.1 ชนิดของแบคทีเรียที่สามารถย่อยสลายฟีแนนทรีนได้

สายพันธุ์แบคทีเรีย	เอกสารอ้างอิง
Aeromonas sp.	Kiyohara และคณะ, 1976.
Alcaligenes faecalis AEK2	Kiyohara และคณะ, 1982.
Alcaligenes denitrificans	Weissenfels และคณะ, 1990.
Arthobacter polychromogenes	Keuth และ Rehm, 1991.
Arthobacter sp.	Savino และ Lollini, 1977.
Beijerinckia sp.	Jerina และคณะ, 1976.
Burkholderia sp. strain JT1500	Mosrawski และคณะ, 1997.
Burkholderia cepacia F297	Grifoll และคณะ, 1995.
Comamonas testosteroni	Goyal และ Zylsta, 1996.
Cycloclasticus sp.	Geiselbrecht และคณะ, 1998.
Flavabacterium sp.	Colla และคณะ, 1959.
Micrococcus sp.	Ghosh และ Mishra, 1983.
Mycobacterium sp. strain BG1	Guerin และ Jones, 1988.
Mycobacterium sp. strain KR2	Rehmann และคณะ, 1998.
Mycobacterium sp.	Treccani และคณะ, 1954.
Nocardiodes sp. strain KP7	Iwabuchi และคณะ, 1997.
Pseudomonas aeruginosa	Romero และคณะ, 1998.
Pseudomonas fluoresens 5R	Menn และคณะ, 1993.
Pseudomonas paucimobilis	Mueller และคณะ, 1990.
Pseudomonas putida	Evans และคณะ, 1965.
Pseudomonas putida OU582	Kiyohara และคณะ, 1994.

ตาราง 2.1 (ต่อ)

Pseudomonas putida NCIB 9816	Yang และคณะ, 1994.
Pseudomonas sp. strain C18	Denome และคณะ, 1993.
Pseudomonas saccharophila P-15	Stringfellow และ Aitken, 1994.
Pseudomonas stuzeri P-16	Stringfellow และ Aitken, 1994.
Pseudomonas sp. U614Gr	Errampalli และคณะ, 1998.
Pseudomonas sp.	Foght และ Westlake, 1988.
Rhodococcus sp.	Walter และคณะ, 1991.
Sphingomonas paucimobilis EPA505	Ye และคณะ, 1996.
Sphingomonas yanokuyae B1	Khan และคณะ, 1996.
Streptomyces flavovirens	Sutherland และคณะ, 1990.
Streptomyces griseus	Trower และคณะ, 1988.
Vibrio sp.	Kiyohara และ Nagao, 1978.

ตารางที่ 2.2 ชนิดของราและยีสต์ที่สามารถย่อยสลายฟีแนนทรีนได้

สายพันธุ์จุลินทรีย์	เอกสารอ้างอิง
เชื้อรา	
Agrocybe aegerita	Sack และคณะ, 1998.
Cunninghamella eleguns	Cerniglia, 1982.
Penicillium sp.	Sack และ Gunther, 1993.
Phanerochaete chrysosporium	Hammel และคณะ, 1992.
Pluerotus ostreatus	Bezalel และคณะ, 1996.

ตาราง 2.2 (ต่อ)

Syncephalastrum racemosum	Sutherland และคณะ, 1993.
Trametes versicolor	Field และคณะ, 1992.
Trichosporon penicillatum	Sack และ Gunther, 1993.
ยีสต์	
Flammulina velutipes	MacGillivray และ Shiaris, 1993.
Laetiporus sulphureus	MacGillivray และ Shiaris, 1993.
Marasmiellus sp.	MacGillivray และ Shiaris, 1993.
Rhodotorula glutinis	Romero และคณะ, 1998.

ตารางที่ 2.3 ชนิดของสาหร่ายและไซยาโนแบคทีเรียที่สามารถย่อยสลายฟีแนนทรีนได้

สายพันธุ์จุลินทรีย์	เอกสารอ้างอิง
Agmenellum quadruplicatum	Narra และคณะ, 1992a.
Oscillatoria sp. strain JCM	Narra และคณะ, 1992b.

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วิถีเมตาบอลิซึมที่จุลินทรีย์แต่ละกลุ่มใช้ในกระบวนการย่อยสลายฟีแนนทรีน

กระบวนการย่อยสลายฟีแนนทรีนและ PAHs ชนิดอื่นของทั้งโปรคาริโอต (procaryote) และยูคาริโอต (eucaryote) โดยส่วนมากเริ่มต้นจากการเติมออกซิเจนเข้าที่วงอะโรมาติกของฟีแนนทรีนโดยอาศัยกิจกรรมของเอมไซม์ที่แตกต่างกันออกไปในจุลินทรีย์แต่ละกลุ่ม หลังจากนั้นผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นจะถูกย่อยสลายต่อไปโดยวิถีเมตาบอลิซึมที่แตกต่างกันออกไปในแต่ละกลุ่มของจุลินทรีย์ (Cerniglia, 1992) ซึ่งสามารถแยกออกเป็นกลุ่มต่าง ๆ กันคือ

กระบวนการย่อยสลายฟีแนนทรีนโดยแบคทีเรีย

กระบวนการย่อยสลายฟีแนนทรีนโดยรา และยีสต์

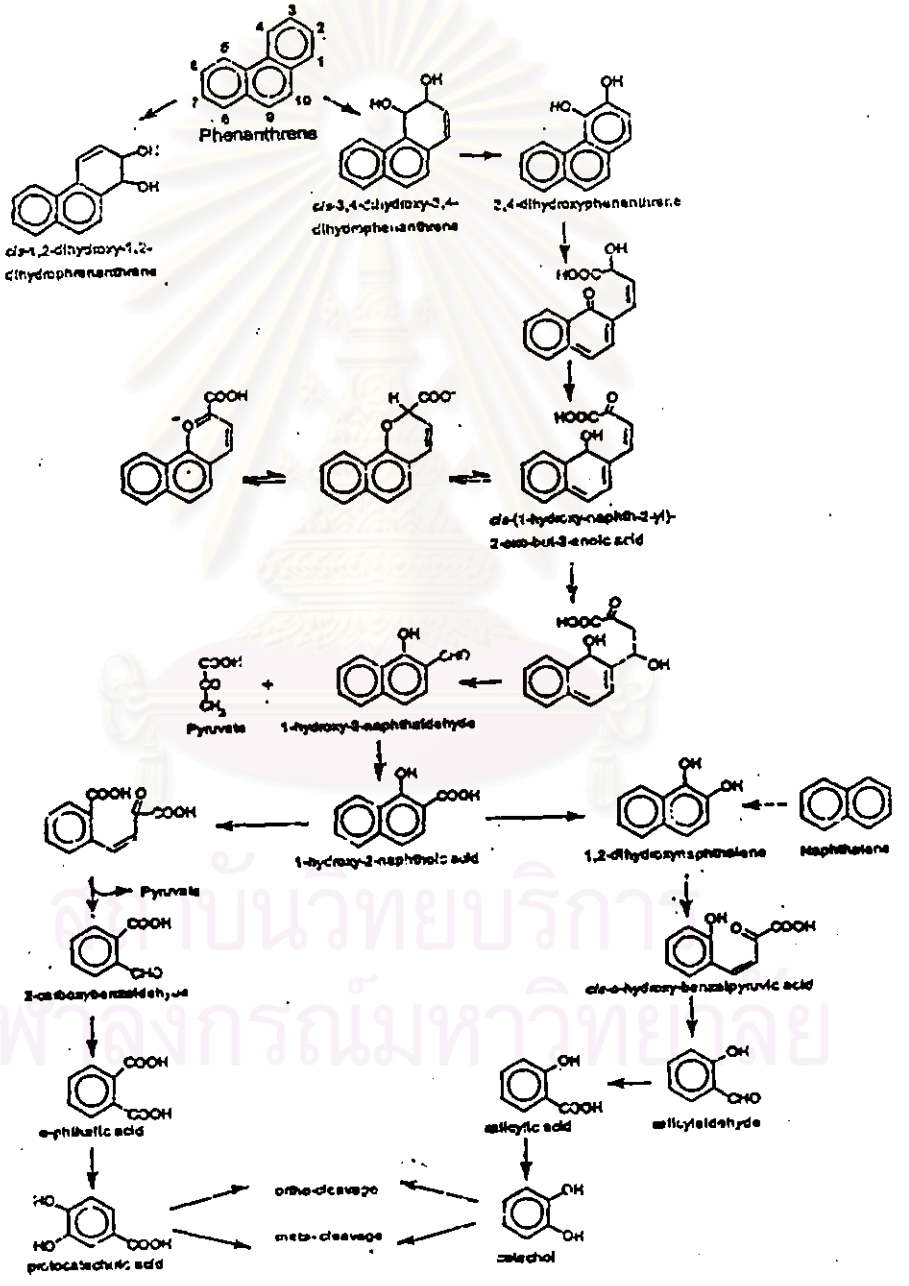
กระบวนการย่อยสลายฟีแนนทรีนโดยราไวท์รอท (white rot fungi)

กระบวนการย่อยสลายฟีแนนทรีนโดยแบคทีเรีย

แบคทีเรียโดยส่วนมากจะออกซิไดซ์ (oxidize) วงอะโรมาติกของฟีแนนทรีนโดยอาศัยกิจกรรมของเอนไซม์ไดออกซีจีเนส (dioxygenase) เปลี่ยนฟีแนนทรีนไปเป็น ซิส-3,4-ไดไฮดรอกซี-3,4-ไดไฮโดรฟีแนนทรีน (cis-3,4-dihydroxy-3,4-dihydrophenanthrene) และผลิตภัณฑ์นี้จะถูกเปลี่ยนต่อไปเป็น 3,4- ไดไฮดรอกซีฟีแนนทรีน (3,4-dihydroxyphenanthrene) โดยอาศัยกิจกรรมของเอมไซม์ดีไฮโดรจีเนส (dehydrogenase) ซึ่งผลิตภัณฑ์ตัวนี้จะแตกตัวต่อไปทำให้วงอะโรมาติกแตกออกและเปลี่ยนไปเป็น กรด 1-ไฮดรอกซี-2-แนพโธอิก (1-hydroxy-2-naphthoic acid) ซึ่งจะถูกย่อยสลายต่อไปโดยวิถีเมตาบอลิสมที่แตกต่างกัน 2 วิถี คือ วิถีการย่อยสลายโดยใช้กระบวนการย่อยสลายเดียวกันกับที่ใช้ย่อยสลายแนพธาลีน โดยจะได้ผลิตภัณฑ์เป็น คาทีคอล (catechol) (Evans et al., 1965) หรือวิถีการย่อยสลายที่ถูกย่อยสลายไปเป็น กรดออโธพะธาลิก (0-phthalic acid) และเปลี่ยนต่อไปเป็นกรดโปรโตคาทีชูอิก (protocatechuic acid) (Kiyohara et al., 1976) ดังแสดงในรูปที่ 2.5 ซึ่งวิถีเมตาบอลิสมจะขึ้นอยู่กับสกุลของแบคทีเรีย โดยผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นจากทั้ง 2 วิถีนี้จะถูกย่อยสลายต่อไปกลายเป็นน้ำ ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ และส่วนประกอบของเซลล์แบคทีเรีย

Evans และคณะ (1965) รายงานว่า *Pseudomonas* sp. ย่อยสลายฟีแนนทรีนไปเป็นซิส-3,4-ไดไฮดรอกซี-3,4-ไดไฮโดรฟีแนนทรีน 1-ไฮดรอกซี-2-แนพธาลดีไฮด์ (1-hydroxy-2-napthaldehyde) กรด 1-ไฮดรอกซี-2-แนพโธอิก และ 1,2-ไดไฮดรอกซีแนพธาลีน (1,2-dihydroxynaphthalene) โดยที่ 1,2-ไดไฮดรอกซีแนพธาลีนจะถูกย่อยสลายต่อไปโดยวิถีเมตาบอลิสมที่ใช้ในการย่อยสลายแนพธาลีน

Kiyohara และคณะ (1976) พบว่า *Aeromonas* sp. ใช้กระบวนการย่อยสลายฟีแนนทรีนที่แตกต่างจาก *Pseudomonas* sp. โดยย่อยสลายฟีแนนทรีนไปเป็น 1-ไฮดรอกซี-2-แนพธาลดีไฮด์ 2-คาร์บอกซีเบนซาลดีไฮด์ (2-carboxybenzaldehyde) กรดออโทพะธาลิก และกรดโปรโตคาทีชูอิค โดยที่ Guerin และ Jones (1988) ได้รายงานว่า *Mycobacterium* sp. ใช้กระบวนการเดียวกันนี้ในการย่อยสลายฟีแนนทรีน



รูปที่ 2.5 วิถีเมตาบอลิสมที่แบคทีเรียใช้ในการย่อยสลายฟีแนนทรีน (Evans et al., 1965 ; Kiyohara et al.,1976)

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

แบคทีเรียสกุล *Rhodococcus* sp. และ *Arthrobacter polychromogenes* สามารถย่อยสลายฟีแนนทรีนไปเป็น กรดซิส-4-(1-ไฮดรอกซีแนพธ์-2-อิล)-2-ออกโซบิวท์-3-อีโนอิก (cis-4- (1-hydroxynapth-2-yl)-2-oxobut-3-enoic acid) (Keuth and Rehm, 1991; Walter et al., 1991)

Jerina และคณะ (1976) รายงานว่า *Beijerinckia* sp. สามารถย่อยสลายฟีแนนทรีนไปเป็น ซิส-1,2-ไดไฮดรอกซี-1,2-ไดไฮโดรไดออลฟีแนนทรีนได้

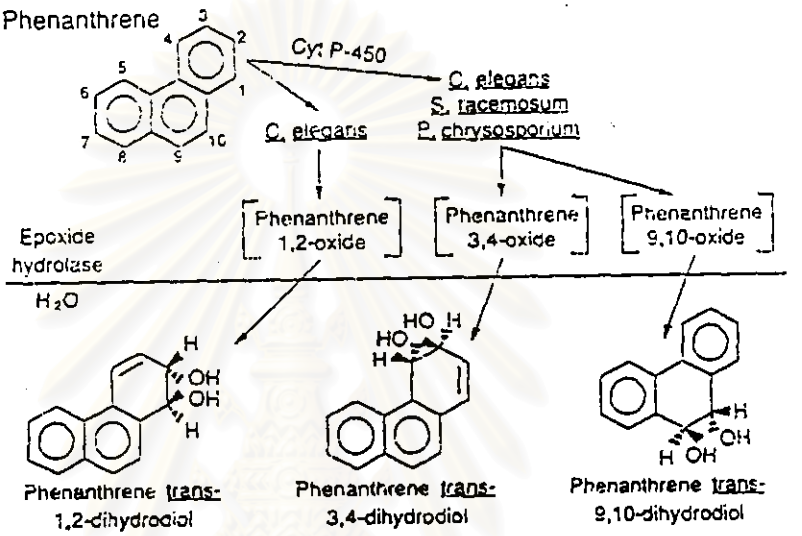
มีรายงานว่าแบคทีเรียกลุ่ม แอคติโนมัยสีท (Actinomyces) สามารถย่อยสลายฟีแนนทรีนได้เช่นกัน ตามรายงานของ Sutherland และคณะในปี ค.ศ. 1990 เสนอว่า *Streptomyces flavovirens* สามารถออกซิไดซ์ฟีแนนทรีนได้ที่บริเวณเคได้ผลิตภัณฑ์เป็น ทรานส-9,10-ไดไฮดรอกซี-9,10-ไดไฮโดรฟีแนนทรีน (trans-9,10-dihydroxy-9,10-dihydrophenanthrene) โดยใช้เอนไซม์และวิถีเมตาบอลิสมที่คล้ายกับที่รายงานไว้ในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมและเชื้อราบางชนิด

นอกจากนี้ยังมีรายงานว่าไซยาโนแบคทีเรีย (cyanobacteria) *Agmenellum guadruplicatum* สามารถย่อยสลายฟีแนนทรีนไปเป็น ทรานส-9,10-ไดไฮดรอกซี-9,10-ไดไฮโดรฟีแนนทรีน และ 1-เมธอกซีฟีแนนทรีน (1-methoxy phenanthrene) (Narro et al., 1992)

กระบวนการย่อยสลายฟีแนนทรีนโดยเชื้อราและยีสต์

เชื้อราโดยทั่วไปจะย่อยสลายฟีแนนทรีนโดยอาศัยกิจกรรมของเอนไซม์โมโนออกซีจีเนส (monooxygenase) และเอนไซม์อีพอกไซด์ไฮโดรเลส (epoxide hydrolases)ในการย่อยสลายฟีแนนทรีนไปเป็น ทรานส-1,2- ทรานส-3,4- และทรานส-9,10-ไดไฮโดรไดออล (trans-1,2-, 3,4-, 9,10- dihydrodiols) ก่อนจะถูกย่อยสลายต่อไปตามวิถีเมตาบอลิสมที่แตกต่างกันไปตามสกุลของรา

Cerniglia และ Yang (1984) รายงานว่า เชื้อรา *Cunninghamella elegans* สามารถย่อยสลายฟีแนนทรีนไปเป็น ฟีแนนทรีน ทรานส-1,2- ทรานส-3,4- และทรานส-9,10-ไดไฮโดรไดออล ได้ ดังแสดงในรูปที่ 2.6 โดยที่ Sutherland และคณะ (1993) รายงานว่า เชื้อรา *Syncephalastrum racemosum* ใช้วิถีเมตาบอลิสมเดียวกันนี้ในการย่อยสลายฟีแนนทรีนรวมทั้งเชื้อราสกุลนี้สามารถสร้างสารมัธยันต์ของฟีแนนทรีนชนิดที่มีน้ำตาลกลูโคสอยู่ในโมเลกุล หรือกลูโคไซด์คอนจูเกต (glucoside conjugate) ได้ด้วย



รูปที่ 2.6 วิถีเมตาบอลิสมที่เชื้อราและยีสต์ใช้ในการย่อยสลายฟีแนนทรีน

(Sutherland et al.,1993)

MacGillivray และ Shiaris (1993) พบว่า ยีสต์หลายสกุลสามารถย่อยสลายฟีแนนทรีนได้ โดยสกุลที่พบมากคือ *Lactiporus sulphureus* *Flammulina velutipes* และ *Murasmicllus* sp. สามารถย่อยสลายฟีแนนทรีนไปเป็นผลิตภัณฑ์ที่ยังไม่ทราบชนิด

Sack และ Gunther (1993) รายงานว่าเชื้อรา *Penicillium* sp. และ *Trichosporon penicillatum* และเชื้อราสกุลอื่น สามารถย่อยสลายฟีแนนทรีนไปเป็นผลิตภัณฑ์ที่ยังไม่ทราบชนิด

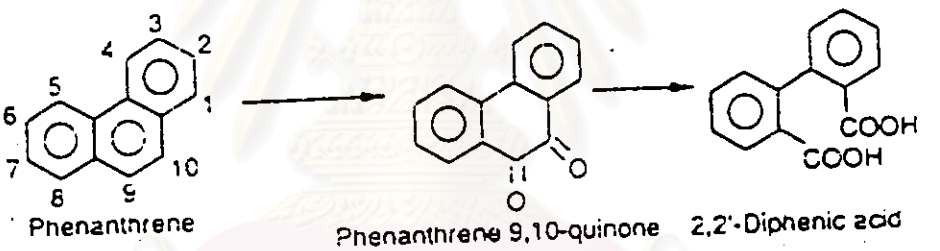
กระบวนการย่อยสลายฟีแนนทรีนโดยราไวท์รอท

กลุ่มราไวท์รอทใช้วิถีเมตาบอลิสมในการย่อยสลายฟีแนนทรีนที่แตกต่างไปจากจุลินทรีย์กลุ่มอื่น คือใช้กิจกรรมของเอนไซม์ลิกนินเพอออกซิเดส (lignin peroxidases, LiPs) แมงกานีสเพอออกซิเดส (manganes peroxidases, MnPs) และเอนไซม์แลคเคส (laccases) ในการ

ย่อยสลายฟีแนนทรีนไปเป็นก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์และผลิตภัณฑ์ที่ละลายน้ำได้ โดยที่ราไวท์รอทแต่ละสกุลจะใช้วิถีเมตาบอลิสมที่แตกต่างกัน (Harayama, 1997)

Hammel และคณะ (1986) รายงานว่าราไวท์รอท สกุล *Phanerochaete chrysosporium* *Trametes versicolor* และ *Pleurotus ostreatus* ใช้เอนไซม์ลิกนินเพอออกซิเดสในการย่อยสลายฟีแนนทรีนไปเป็นก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์และผลิตภัณฑ์อื่น ๆ เช่น ทรานส-ไดไฮโดรไดออลฟีแนนทรีน และสารประกอบฟีนอล (phenol)

Hammel และคณะ (1992) รายงานว่า *Phanerochaete chrysosporium* ใช้วิถีเมตาบอลิสมในการเปลี่ยนฟีแนนทรีนไปเป็น ฟีแนนทรีน -9,10-ควิโนน (phenanthrene-9,10-quinone) ซึ่งจะถูกย่อยสลายต่อไปเป็นกรด 2,2-ไดฟีนิก (2,2-diphenic acid) ดังแสดงในรูปที่ 2.7



รูปที่ 2.7 กระบวนการย่อยสลาย ฟีแนนทรีนโดย *Phanerochaete chrysosporium* (Hammel et al., 1992)

Bezalel และคณะ (1996) รายงานว่าราไวท์รอท *Pleurotus ostreatus* ออกซิไดซ์ฟีแนนทรีนไปเป็น ทรานส-9, 10-ไดไฮดรอกซี-9, 10-ไดไฮโดรฟีแนนทรีน โดยใช้เอนไซม์ไซโตโครมพี 450 โมโนออกซิจีเนส ในคอนเริ่มต้นของการย่อยสลายฟีแนนทรีน

อย่างไรก็ตาม การย่อยสลายทางชีวภาพโดยจุลินทรีย์ก็มีข้อจำกัด คือจุลินทรีย์ส่วนใหญ่ไม่สามารถย่อยสลาย PAHs ที่มีมวลโมเลกุลสูงได้เช่น PAHs ที่มีวงอะโรมาติกมากกว่า 4 วงขึ้นไปได้ เนื่องจาก PAHs ประเภทนี้มีโครงสร้างโมเลกุลที่เสถียรและความเป็นพิษสูง ทำให้ตกค้างอยู่ในบริเวณที่ปนเปื้อนได้เป็นเวลานาน (Cerniglia, 1992)

Heitkamp และ Cerniglia (1988) รายงานว่าการย่อยสลาย PAHs ที่มีมวลโมเลกุลสูงเช่น ชนิดที่มีวงอะโรมาติก 4 วงหรือมากกว่า จะเกิดการย่อยสลายในลักษณะที่เป็นโคเมตาบอลิสม (co-metabolism) ร่วมกับการย่อยสลาย PAHs ชนิดอื่นที่จุลินทรีย์ชนิดนั้นใช้ในการเจริญได้โดยตรง

Juhasz และคณะ (1997) สามารถกระตุ้นให้แบคทีเรีย *Burkholderia cepacia* ย่อยสลายไดเบนซ์[เอ, เอช]แอนทราซีน และเบนโซ[เอ]ไพรีน ซึ่งเป็น PAHs ที่มีมวลโมเลกุลสูง ซึ่งตามปกติแบคทีเรียชนิดนี้ไม่สามารถย่อยสลายเพื่อใช้เป็นแหล่งคาร์บอนและพลังงานได้โดยตรง โดยการเติมฟีแนนทรีนลงไปในอาหารเลี้ยงเชื้อร่วมกับสารทั้งสองชนิดนี้ ทำให้เกิดการย่อยสลายแบบโคเมตาบอลิสมขึ้น

การย่อยสลายทางชีวภาพในดิน

ดินเป็นแหล่งสำคัญในการย่อยสลายของสารพิษอันตรายต่าง ๆ ซึ่งการย่อยสลายของสารเหล่านี้อาจเกิดจากกระบวนการทางกายภาพ กระบวนการทางเคมีและกิจกรรมของจุลินทรีย์ในดิน กระบวนการย่อยสลายทางเคมีและทางกายภาพ เช่นการเกิดโฟโตยอกซิเดชั่น (photo-oxidation) หรือ การระเหยของสารพิษอันตรายที่มีความดันไอต่ำ (volatilization) สามารถลดปริมาณของสารพิษอันตรายลงได้ในระดับหนึ่ง อย่างไรก็ตามการย่อยสลายของสารพิษอันตรายเกิดจากกิจกรรมของจุลินทรีย์ในดินเป็นส่วนใหญ่ จุลินทรีย์ที่พบทั่วไปในดินสามารถย่อยสลายสารพิษต่าง ๆ ไปเป็นผลิตภัณฑ์สุดท้ายที่ไม่เป็นสารอันตรายเช่น แอลกอฮอล์ กรดไขมัน แอลดีไฮด์ คีโตน ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ และส่วนประกอบของเซลล์ (Shailubhai, 1986)โดยวิธีการที่มีประสิทธิภาพในการใช้จุลินทรีย์ย่อยสลายสารพิษอันตราย คือ การกระตุ้นให้จุลินทรีย์ท้องถิ่น (indigenous microorganism)ในบริเวณที่มีการปนเปื้อนมีประสิทธิภาพและเพิ่มกิจกรรมในการย่อยสลายสารพิษในบริเวณนั้นให้มากขึ้น (biostimulation) โดยการเติมสารอาหารลงไปในดินเช่น ไนโตรเจน และฟอสฟอรัส รวมทั้งการเติมอากาศลงไปในดินเพื่อให้จุลินทรีย์ที่อยู่ในบริเวณนั้นนำไปใช้ในการเจริญและย่อยสลายสารพิษ (Zhou and Crawford, 1995)

แต่อย่างไรก็ตาม ในกรณีที่ต้องการให้เกิดการย่อยสลายทางชีวภาพในดินบริเวณที่มีการปนเปื้อนจากสารพิษอันตรายชนิดที่จุลินทรีย์ท้องถิ่นในบริเวณนั้นไม่สามารถย่อยสลายได้เอง เนื่องจากขาดความสามารถในการย่อยสลายสารพิษเหล่านี้ หรือเพิ่งเกิดการปนเปื้อนได้ไม่นาน อาจจำเป็นต้องมีการเติมจุลินทรีย์ต่างถิ่น (exogenous microorganism) ที่มีคุณสมบัติที่เหมาะสมและสามารถย่อยสลายสารพิษชนิดนั้นได้ลงไปในดินบริเวณนั้น (bioaugmentation) เพื่อให้การย่อยสลายทางชีวภาพเกิดขึ้นได้ (Trzesicka - Mlynarz and Word, 1996)

Chatterjee และคณะ (1982) ทดลองเติม *Pseudomonas cepacia* AC 1100 ซึ่งสามารถย่อยสลายกรด 2, 4, 5 -ไตรคลอโรฟีนอกซีอะซีติก (2, 4, 5,-trichlorophenoxy acetic acid, 2,4,5-T) ได้ลงไปในดินที่มีการปนเปื้อนด้วย 2, 4, 5-T โดยใช้หัวเชื้อเริ่มต้นในปริมาณที่ต่ำมาก พบว่าแบคทีเรียสายพันธุ์นี้สามารถเพิ่มจำนวนขึ้นอย่างรวดเร็วควบคู่ไปกับการลดลงอย่างรวดเร็วของ 2, 4, 5-T ในดิน คณะผู้ทำการวิจัยนี้ได้อธิบายว่าแบคทีเรียสายพันธุ์นี้เป็นจุลินทรีย์เพียงชนิดเดียวในดินที่ใช้ในการทดลองนี้ที่สามารถย่อยสลาย 2,4,5-T ไปใช้เป็นแหล่งคาร์บอนและแหล่งพลังงานในการเจริญได้ ทำให้การเติมหัวเชื้อจุลินทรีย์ชนิดนี้เพียงเล็กน้อยลงไปในดินที่ปนเปื้อนก็สามารถทำให้การย่อยสลาย 2,4,5-T เกิดขึ้นได้อย่างมีประสิทธิภาพ

อย่างไรก็ตามปัญหาที่สำคัญที่สุดในการเติมจุลินทรีย์ต่างถิ่นที่สามารถย่อยสลายสารพิษที่ต้องการได้ลงในดิน คือการที่จุลินทรีย์ต่างถิ่นไม่สามารถดำรงชีวิตอยู่ได้ หรือสูญเสียความสามารถในการย่อยสลายสารพิษที่ปนเปื้อนในดินไป ซึ่งมีสาเหตุมาจากดินในบริเวณนั้นมีสภาวะการคัดเลือกทางนิเวศน์วิทยา (ecological selectivity)โดยในกรณีนี้จำเป็นต้องเติมหัวเชื้อจุลินทรีย์ต่างถิ่นที่ต้องการลงไปในดินในปริมาณเริ่มต้นที่สูงมาก เพื่อให้เกิดการย่อยสลายทางชีวภาพเกิดขึ้นอย่างมีประสิทธิภาพ โดยที่ความสามารถในการดำรงชีวิตและประสิทธิภาพในการย่อยสลายสารพิษของจุลินทรีย์จะขึ้นอยู่กับปัจจัยทางชีวภาพ และปัจจัยทางกายภาพของดินในแต่ละบริเวณ (Van Veen et al., 1995) ดังแสดงในตารางที่ 2.4 และ 2.5 ตามลำดับ

ตารางที่ 2.4 ปัจจัยทางชีวภาพที่มีผลต่อการดำรงชีวิตของแบคทีเรียในดิน (Van Veen et al.,1997)

ปัจจัย	ผลกระทบ
สภาวะพรีเดชั่น (predation)	ประชากรแบคทีเรียลดลงเนื่องจากถูกจับกินด้วยศัตรูในธรรมชาติ เช่นโปรโตซัว
การแก่งแย่ง	ประชากรแบคทีเรียลดลงเนื่องจากการแย่งอาหารกันระหว่างแบคทีเรียที่เติมลงไปกับแบคทีเรียที่มีอยู่แล้ว รวมทั้งอาจมีการสร้างสารพิษ ทำลายซึ่งกันและกัน
การเจริญของรากพืช	พืชจะปลดปล่อยสารอินทรีย์บางชนิดออกมาซึ่งแบคทีเรียสามารถนำไปใช้ในการเจริญ และการดำรงชีวิตได้ส่งผลให้ประชากรแบคทีเรียเพิ่มขึ้น

ตารางที่ 2.5 ปัจจัยทางกายภาพที่มีผลต่อการดำรงชีวิตของแบคทีเรียในดิน (Van Veen et al., 1997)

ปัจจัย	ผลกระทบ
แร่ธาตุในดินเหนียว (clay minerals)	ช่วยในการอยู่รอดของแบคทีเรียและป้องกันแบคทีเรียถูกจับกินโดยโปรโตซัว
ความตึงผิวของน้ำ	ในสภาวะที่มีความตึงผิวของน้ำสูงจะทำให้เกิดสภาวะขาดแคลนน้ำ และมีความดันออสโมติกสูง ในสภาวะที่มีความตึงผิวของน้ำต่ำจะทำให้เกิดสภาวะขาดอากาศขึ้นในดิน (anaerobism) แต่จะช่วยเพิ่มความสามารถในการแพร่กระจายของสารอาหารในดินได้มากขึ้น
สารอินทรีย์คาร์บอน	ชนิดของสารอินทรีย์คาร์บอนสามารถใช้คัดเลือกชนิดของแบคทีเรียที่ต้องการได้ การขาดสารอินทรีย์คาร์บอนจะส่งผลให้การเจริญหยุดชะงักและทำให้กิจกรรมของแบคทีเรียลดลง
ความเป็นกรดด่าง (pH)	ระดับความเป็นกรดด่างสามารถคัดเลือกกลุ่มของแบคทีเรียได้ รวมทั้งอาจมีผลต่อการปลดปล่อยสารอาหารบางชนิดในดินเช่น ฟอสฟอรัส หรือการปลดปล่อยของสารพิษที่มีอยู่ในดิน เช่น อลูมิเนียมไอออน (Al^{3+})
สารอาหารอนินทรีย์	การขาดไนโตรเจน และฟอสฟอรัส จะส่งผลให้แบคทีเรียหยุดการเจริญ
อุณหภูมิ	มีผลต่อกระบวนการเมตาบอลิสมและกิจกรรมของแบคทีเรีย
สารเคมี	สามารถยับยั้งจุลินทรีย์ที่ไวต่อสารชนิดนั้น และคัดเลือกแบคทีเรียกลุ่มที่มีความต้านทานสูงต่อสารเคมีชนิดนั้น

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Grosser และคณะ (1991) พบว่าเมื่อเติมแบคทีเรียที่สามารถย่อยสลายไพรีนได้ ลงไปในดินที่มีไพรีนปนเปื้อนอยู่ จะสามารถเพิ่มอัตราการย่อยสลายไพรีนในดินได้มากขึ้น 55 % เมื่อเปรียบเทียบกับดินที่ไม่ได้เติมเชื้อแบคทีเรียชนิดนี้ลงไป แต่ไม่ได้มีรายงานเกี่ยวกับการเจริญ และการอยู่รอดของแบคทีเรียชนิดนั้นในดิน

ในขณะที่ Erickson และคณะ (1993) รายงานว่า แบคทีเรียท้องถิ่น และแบคทีเรียต่างถิ่นที่เติมลงไปในดินที่มี PAHs ปนเปื้อนอยู่หลายชนิดไม่มีประสิทธิภาพในการกำจัด PAHs ในดินที่นำมาใช้ในการทดลอง ซึ่งคณะผู้วิจัยได้อธิบายว่าอาจเกิดจากการที่แบคทีเรียทั้งสองกลุ่มที่นำมาใช้ในการทดลองครั้งนี้มีความสามารถต่ำในการดัดแปลงกระบวนการเมตาบอลิสมที่จะนำมาใช้ในการย่อยสลาย PAHs

Juhasz และคณะ (1997) รายงานว่าแบคทีเรียสายพันธุ์ที่สามารถย่อยสลายไพรีนได้ดีในอาหารเหลวสามารถย่อยสลาย PAHs ที่มีมวลโมเลกุลสูงเมื่อทำการทดลองในดินได้อย่างมีประสิทธิภาพเช่นเดียวกัน โดย PAHs ที่ถูกย่อยสลายคือ ไพรีน ฟีแนนทรีน และฟลูออรีน

Trzsesicka-Mlynarz และ Ward (1996) พบว่าเมื่อเติมแบคทีเรียต่างถิ่นที่สามารถย่อยสลายฟลูออแรนธีนได้ลงในดินที่มีการปนเปื้อนของฟลูออแรนธีนสามารถเพิ่มประสิทธิภาพของการย่อยสลายทางชีวภาพให้สูงขึ้นได้ แต่อย่างไรก็ตามพบว่าแบคทีเรียที่เติมลงไปจำนวนลดลงต่ำกว่าจำนวนเริ่มต้นที่เติมลงไปหลังสิ้นสุดการทดลอง โดยคณะผู้วิจัยได้ให้ข้อสังเกตว่าจำเป็นต้องเติมแบคทีเรียในตอนเริ่มต้นเป็นปริมาณมากเพื่อที่จะให้การย่อยสลายของฟลูออแรนธีนเกิดขึ้นอย่างมีประสิทธิภาพ

ประสิทธิภาพในการย่อยสลาย PAHs ของจุลินทรีย์จะถูกควบคุมโดยปัจจัยจากสิ่งแวดล้อมในบริเวณนั้น Sim และคณะ (1990) ได้ทำการรวบรวมข้อมูลเกี่ยวกับปัจจัยทางกายภาพที่เหมาะสมต่อการย่อยสลาย PAHs ของแบคทีเรียในดินดังสรุปไว้ในตารางที่ 2.6

ตารางที่ 2.6 สภาวะของสิ่งแวดล้อมที่เหมาะต่อการย่อยสลายฟีแนนทรีนและ PAHs ชนิดอื่นที่ปนเปื้อนในดิน

พารามิเตอร์	ค่าที่เหมาะสมในการย่อยสลายฟีแนนทรีนและ PAHs ชนิดอื่น	เอกสารอ้างอิง (อ้างถึงใน Sim และคณะ, 1990)
ความชื้นของดิน	30-90 %	Dibble และ Bartha, 1979.
ความเป็นกรดด่างของดิน	7.5-7.8	Dibble และ Bartha, 1979.
ปริมาณออกซิเจน	10-40 %	Bauer และ Capone, 1985.
ปริมาณสารอาหาร	อัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน (C:N) เท่ากับ 60 ต่อ 1	Dibble และ Bartha, 1979.
	อัตราส่วนคาร์บอนต่อฟอสฟอรัส (C:P) เท่ากับ 800 ต่อ 1	Dibble และ Bartha, 1979.
	ความเข้มข้นของเกลือต่ำกว่า 4 %	Heitkamp และคณะ, 1988.
อุณหภูมิ (^{0}ซ)	24-30	Heitkamp และคณะ, 1988.

ในปัจจุบันวิธีการบำบัดทางชีวภาพได้ถูกนำมาใช้ในการกำจัดสารพิษต่างๆในสิ่งแวดล้อมและในโรงงานอุตสาหกรรมกันอย่างแพร่หลายในต่างประเทศ แต่การที่จะนำวิธีการบำบัดทางชีวภาพมาใช้ในประเทศไทย ซึ่งปัจจุบันกำลังประสบปัญหาการปนเปื้อนของสารพิษในสิ่งแวดล้อมในปริมาณสูงและกำลังทวีความรุนแรงมากขึ้นจำเป็นต้องมีการศึกษาความเป็นไปได้และแนวทางในการดำเนินการอย่างรอบคอบเสียก่อน สิ่งสำคัญที่ต้องตระหนักถึงอย่างแรกคือประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ที่จะนำมาใช้ในระบบการบำบัดทางชีวภาพภายในประเทศ เนื่องจากปัจจัยทางภูมิอากาศและภูมิประเทศของประเทศไทยแตกต่างจากต่างประเทศ จึงอาจเป็นไปได้ว่าวิธีดำเนินการและจุลินทรีย์ที่เคยมีประสิทธิภาพสูงในต่างประเทศ อาจใช้ไม่ได้ผลหรือมีประสิทธิภาพต่ำเมื่อนำมาใช้ในประเทศไทย ดังนั้นการนำจุลินทรีย์ที่มีในประเทศมาใช้ในการย่อยสลายสารพิษอันตรายต่างๆในของเสียที่ปนเปื้อน เช่น จากโรงงานอุตสาหกรรมต่าง ๆ และโรงกลั่นน้ำมันปิโตรเลียม น่าจะเป็น

แนวทางที่เหมาะสมแนวทางหนึ่งในการควบคุมสารพิษอันตรายที่ปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อมและกำลังเป็นปัญหาในประเทศได้

จากคุณสมบัติทางเคมีของฟีแนนทรีนซึ่งมีความเสถียรสูง มีความเป็นพิษไม่สูง และไม่มีสมบัติเป็นสารก่อมะเร็งแต่มีโครงสร้างโมเลกุลที่พบใน PAHs ที่เป็นสารก่อมะเร็ง รวมทั้งสามารถพบได้ทั่วไปในอุตสาหกรรมหลายประเภท ทำให้ฟีแนนทรีนเหมาะที่จะเป็นตัวแทนที่ใช้ในการคัดแยกและศึกษาการย่อยสลาย PAHs ของจุลินทรีย์ที่พบในแหล่งดินภายในประเทศ

ในการวิจัยนี้ได้ศึกษาว่าจุลินทรีย์ที่คัดแยกได้มีศักยภาพพอที่จะนำไปใช้ในกระบวนการย่อยสลายทางชีวภาพในสิ่งแวดล้อมที่มีการปนเปื้อนจากฟีแนนทรีนและ PAHs ชนิดอื่นได้จริง โดยศึกษาหาข้อมูลพื้นฐานของแบคทีเรียที่คัดแยกได้ ได้แก่ การเปรียบเทียบวิถีเมตาบอลิสมในการย่อยสลายฟีแนนทรีนของแบคทีเรียที่คัดแยกได้กับวิถีเมตาบอลิสมของแบคทีเรียชนิดอื่นที่มีรายงานไว้แล้ว เพื่อหาความแตกต่างของวิถีเมตาบอลิสมของจุลินทรีย์ในประเทศกับจุลินทรีย์ที่คัดแยกได้ในต่างประเทศซึ่งมีสภาพแวดล้อมทางกายภาพและชีวภาพที่แตกต่างกัน การหาวิธีเพิ่มความสามารถของแบคทีเรียที่คัดแยกได้ให้สามารถย่อยสลาย PAHs ที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูงได้โดยศึกษาวิธีการย่อยสลายแบบโคเมตาบอลิสมร่วมกับฟีแนนทรีน รวมทั้งการศึกษาอัตราการอยู่รอดและประสิทธิภาพในการย่อยสลายฟีแนนทรีนของแบคทีเรียที่คัดแยกได้ โดยการนำแบคทีเรียดังกล่าวที่มีการศึกษารายละเอียดที่จำเป็นทั้งหมดแล้วมาเติมลงในระบบนิเวศน์จำลองของดิน (soil microcosms) เพื่อที่จะใช้เป็นแนวทางในการนำแบคทีเรียที่คัดแยกได้ไปใช้ในกระบวนการบำบัดทางชีวภาพภายในประเทศต่อไปในอนาคต

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย