

การสำรวจเอกสาร

2.1 สารฮิวมิก

สารอินทรีย์มีบทบาทสำคัญต่อสิ่งแวดล้อมในทะเล เป็นตัวให้อิเล็กตรอนช่วยในการเกิดปฏิกิริยารีดอกซ์ มีธาตุคาร์บอนไนโตรเจน ออกซิเจนฟอสฟอรัส หรือ ซัลเฟอร์ เป็นองค์ประกอบ สารอินทรีย์บริเวณป่าชายเลนแบ่งเป็น 3 รูปแบบ ได้แก่ สารอินทรีย์ที่มีในดิน (Soil organic matter, SOM), สารอินทรีย์ที่ละลายน้ำ (Dissolved organic matter, DOM) และ สารอินทรีย์แขวนลอย (Particulate organic matter, POM) สารอินทรีย์ที่มีอยู่ในดิน เช่น ซากพืช ซากสัตว์, สารอินทรีย์ที่สามารถละลายน้ำได้มีทั้งสารอินทรีย์ที่มีมวลโมเลกุลใหญ่ เช่น สารฮิวมิก และสารอินทรีย์ที่มีมวลโมเลกุลเล็ก เช่น กรดยูริก ยูเรีย กรดอะมิโน เป็นต้น ส่วนสารอินทรีย์แขวนลอย ได้แก่ ของเสี้ยวของสิ่งมีชีวิต DOMที่มีการรวมตัวกัน สิ่งมีชีวิต และเนื้อเยื่อ ของสิ่งมีชีวิตที่ตายแล้ว ซึ่งสารอินทรีย์ที่พบในป่าชายเลนทั้งสามชนิดส่วนหนึ่งที่สิ่งมีชีวิตจะนำไปใช้ บางส่วนที่สลายยากจะสะสมเป็นสารฮิวมิกต่อไป (Libes, 1996)

สารฮิวมิก คือสารอินทรีย์ที่เกิดจากการสลายตัวของซากพืชและสัตว์ เป็นสารที่มีสีเหลืองไปจนถึงสีดำ มีโครงสร้างที่ซับซ้อนและเป็นสารที่มีมวลโมเลกุลสูงพบในดิน ตะกอน และในน้ำ สารฮิวมิกเป็นสารโพลีเมอร์โครงสร้างภายในสารฮิวมิกมีหมู่ฟังก์ชันฟีนอลิก และคาร์บอกซิลิกประกอบอยู่ สารฮิวมิกมีความสำคัญต่อพืชทั้งนี้เนื่องจากภายในโมเลกุลสารฮิวมิกมีธาตุอาหารที่จำเป็นในการเจริญเติบโตของต่อพืช นอกจากนี้สารฮิวมิกยังมีความสามารถในการจับกับโลหะอีกด้วยจึงสามารถช่วยลดความเป็นพิษของโลหะหนักได้

สารฮิวมิกมีมวลโมเลกุลตั้งแต่ 500 ถึง > 250,000 ดาลตัน โมเลกุลที่อยู่ภายในสารฮิวมิกประกอบด้วย น้ำตาล กรดอะมิโน กรดไขมัน และ ลิกนิน ซึ่งสารเหล่านี้มีมวลโมเลกุลน้อยกว่า 500 ดาลตัน สารฮิวมิก แบ่งเป็น 4 ชนิดตามคุณสมบัติการละลายในตัวทำละลายต่างๆได้แก่ กรดฮิวมิก, กรดฟุลวิก, กรดเฮมาโตเมลานิก และ ฮิวมิน ซึ่งมีคุณสมบัติการละลายในตัวทำละลายแตกต่างกัน ดังตารางที่ 1 มวลโมเลกุลของกรดฟุลวิกมีค่าในช่วง 500-2000 ดาลตัน มีอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอนรวมน้อยกว่ากรดฮิวมิก ส่วนกรดฮิวมิกจะมีมวลโมเลกุลช่วง 2000-5000 ดาลตัน มีหมู่อะโรมาติกไฮโดรคาร์บอน และ กรดไขมันสายยาว มีหมู่ที่ชอบน้ำน้อยกว่ากรดฟุลวิก (Parson, 1988) สารฮิวมิกที่พบในธรรมชาติเกิดขึ้นจากสิ่งมีชีวิตและของผสมสารอินทรีย์เป็นสารประกอบเชิงซ้อน เนื่องจากสารฮิวมิกมีมวลโมเลกุลใหญ่กระบวนการเกิดสารฮิวมิกจึงขึ้นอยู่กับแหล่งที่มา

ของสารอินทรีย์ โดยเริ่มต้นจากโมโนเมอร์ที่เกิดจากการย่อยสลายสารอินทรีย์โดย จุลินทรีย์ (microbial degradation) เกิดปฏิกิริยาคอนเดนเซชัน รวมตัวกันเป็นสารโพลีเมอร์ที่มีมวลโมเลกุลสูงขึ้น

ตารางที่ 1 คุณสมบัติการละลายของสารชีวโมลในตัวทำละลายชนิดต่างๆ

ชนิด	การละลาย			สี
	น้ำ	แอลกอฮอล์	อัลคาร์ไลด์	
กรดฟูลวิก	ละลาย	ละลาย	ละลาย	สีเหลืองอ่อน
กรดเฮมาโตเมลานิก	ละลายได้น้อย	ละลาย	ละลาย	สีน้ำตาลปนเหลือง
กรดฮิวมิก	ละลายได้น้อย	ไม่ละลาย	ละลาย	สีน้ำตาลเข้มปนแดง
ฮิวมิน	ไม่ละลาย	ไม่ละลาย	ไม่ละลาย	สีดำ

ดัดแปลงจาก: Tan, 2003

สารชีวโมลสามารถพบได้ในดินตะกอนทั้งในป่าชายเลนและป่าบก เนื่องจากสารชีวโมลจะมีอยู่ในดิน ตะกอน และในน้ำ โดยทั่วไปบริเวณป่าชายเลนจะมีสารชีวโมลน้อยกว่าป่าบกเนื่องจากป่าชายเลนได้รับผลกระทบจากน้ำขึ้นน้ำลงทำให้เกิดการสะสมของซากพืชและสัตว์ได้ยากกว่าดินตะกอนในป่าบก ป่าชายเลนเป็นบริเวณที่อยู่ระหว่างบกกับทะเล ซึ่งสารชีวโมลที่พบในน้ำทะเลจะมีความแตกต่างกันกับสารชีวโมลในดิน (Libes, 1996) ดังแสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ความแตกต่างของสารชีวโมลในทะเลและในดิน

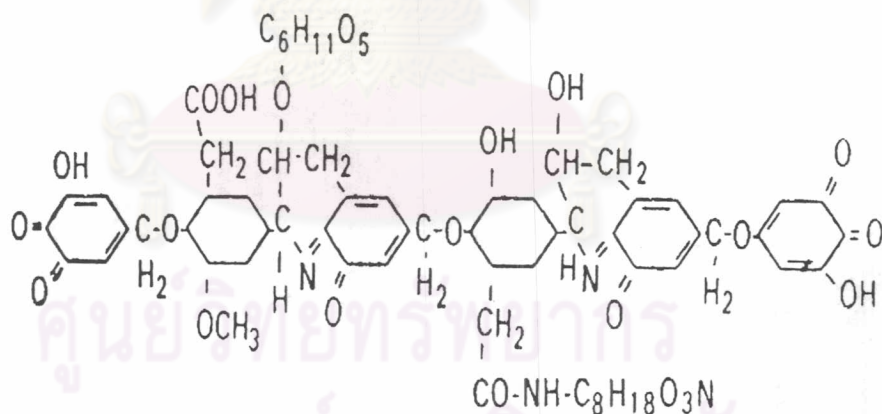
สารชีวโมลในทะเล	สารชีวโมลในดิน
องค์ประกอบโดยทั่วไป	
ประกอบด้วยพหุอะลิฟาติกคาร์บอนสูง	ประกอบด้วยพหุอะโรมาติกคาร์บอนสูง
ธาตุที่เป็นองค์ประกอบ	
คาร์บอนในกรดฟูลวิก 45-50 %, คาร์บอนในกรดฮิวมิก 50-55 %, มีไฮโดรเจนสูง มีสูง	มีคาร์บอนในโมเลกุลสูงกว่า 65 % มีไฮโดรเจนในโมเลกุลต่ำ มีไนโตรเจนต่ำ
ฟังก์ชันนอลกรุป	
Total acidity สูง แต่ต่ำกว่าในสารชีวโมลในดิน มีหมู่คาร์บอกซิลและฟีนอลิกไฮดรอกซิลต่ำ แอลกอฮอล์สูง ไฮดรอกซิลสูง	Total acidity สูง มีหมู่คาร์บอกซิล และฟีนอลิก เท่าๆกัน มีแอลกอฮอล์ไฮดรอกซิลต่ำ

ดัดแปลงจาก: Libes, 1996

2.2 โครงสร้างโมเลกุลของสารชีวโมเลกุล

การศึกษาโครงสร้างโมเลกุลของสารชีวโมเลกุลเริ่มจากการศึกษาคุณสมบัติทางฟิสิกส์และคุณสมบัติทางเคมีก่อน จากนั้นจึงนำไปสู่การออกแบบโมเดลโครงสร้างโมเลกุล ซึ่งอาศัยหลักเกณฑ์ 2 ข้อ ได้แก่ การอธิบาย และการคาดคะเน โดยคุณสมบัติฟิสิกส์และเคมีที่สามารถอธิบายได้จากการทดลองนำไปสู่การออกแบบโมเดล ส่วนคุณสมบัติฟิสิกส์และเคมีที่ยังไม่ทราบแน่ชัด จะใช้การคาดคะเนนำไปสู่การออกแบบโมเดลเพื่อหาโครงสร้างโมเลกุลสารชีวโมเลกุล และมีการพัฒนาโดยใช้การทดลอง (Thurman and Malcolm, 1983) โดยอาศัยเทคนิคการแยกสาร เช่น gel filtration, adsorption chromatography, pH gradient และ anion and cation exchange เป็นต้น นอกจากนี้ ยังใช้เทคนิค ^{13}C NMR จนในที่สุดได้ข้อมูลของธาตุต่างๆ ที่เป็นองค์ประกอบ และสามารถอธิบายฟังก์ชันของกรุปได้เป็นส่วนต่างๆ ดังนี้ ส่วนที่เป็นอะโรมาติก ส่วนที่เป็นอะลิฟาติก ปริมาณกรดอะมิโน คาร์โบไฮเดรต เป็นต้น โครงสร้างโมเลกุลสารชีวโมเลกุลที่ได้มีการเสนอมีอยู่หลายรูปแบบ ในที่นี้จะกล่าวถึงบางรูปแบบ เช่น

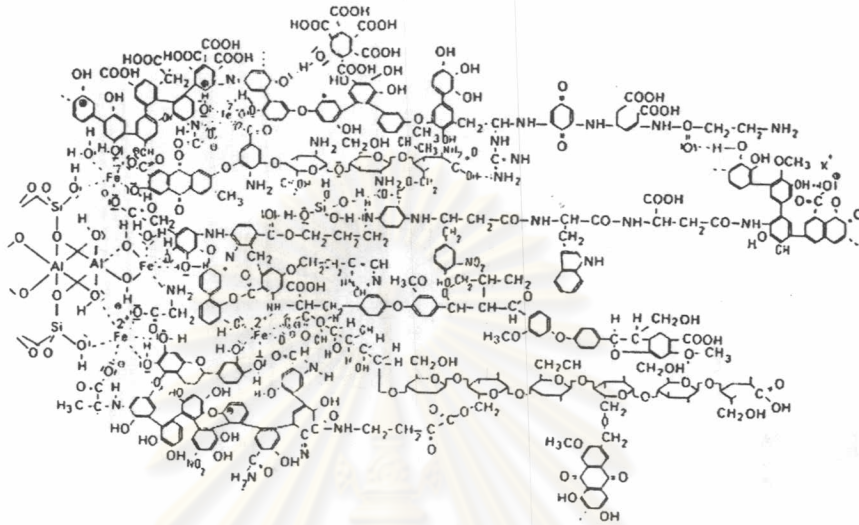
1. Dragunov et al. (1948) เสนอแบบจำลองโครงสร้างกรดชีวโมเลกุลว่าประกอบด้วย สารอะโรมาติก และควินโนนอยเชื่อมต่อกันเป็นสายยาว โดยโมเลกุลกรดชีวโมเลกุลมีสารพวก คาร์โบไฮเดรตและเปปไทด์เกาะติดอยู่ด้วย



รูปที่ 1 โครงสร้างกรดชีวโมเลกุลตามโมเดลของ Dragunov

จาก: Frimmel and Christman, 1988

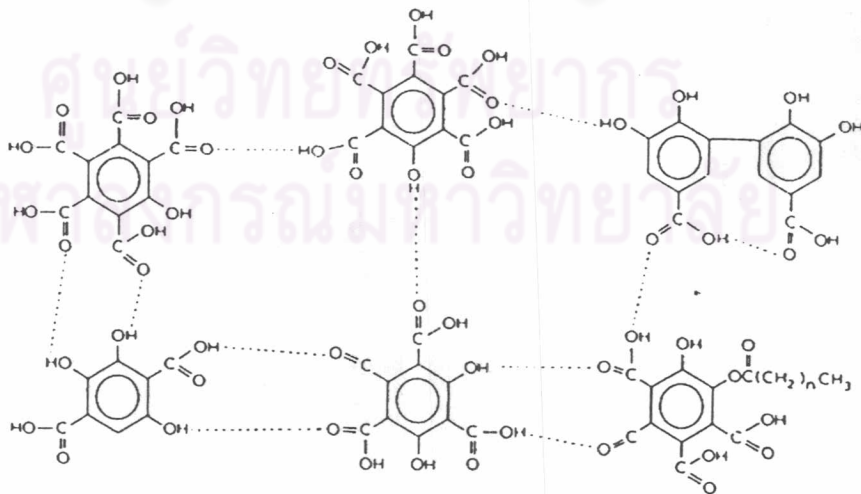
2. Kleinhempel (1970) ให้อายละเอียดของโครงสร้างโมเลกุลของสารชีวโมเลกุลมากขึ้นโดยกล่าวว่า สารชีวโมเลกุลมีความซับซ้อนมาก โครงสร้างสารชีวโมเลกุลประกอบด้วยวงแหวนเบนซีนหลายวงต่อกันโดยมีหมู่แทนที่เป็นคาร์บอกซิลิก และฟีนอลิก นอกจากนี้โมเลกุลสารชีวโมเลกุลยังมีการเชื่อมต่อกับสารประกอบอื่นที่ไม่ใช่สารชีวโมเลกุลด้วย ได้แก่ คาร์โบไฮเดรต เปปไทด์ โลหะหนัก



รูปที่ 2 การเชื่อมต่อกันของโมเลกุลในสารชีวโมเลกุลตามโมเดลของ Kleinhempel

จาก: Frimmel and Christman, 1988

3. Schnitzer (1972) เสนอโครงสร้างกรดฟูลวิกประกอบด้วยวงแหวนเบนซีนและมีการแทนที่คือหมู่ฟีนอลิก และ หมู่คาร์บอกซิลิก โดยมีการเชื่อมต่อกันระหว่างโมเลกุลด้วยพันธะไฮโดรเจน



รูปที่ 3 โครงสร้างกรดฟูลวิกตามโมเดลของ Schnitzer

จาก: Frimmel and Christman, 1988

2.3 กระบวนการเกิดสารชีวมีก

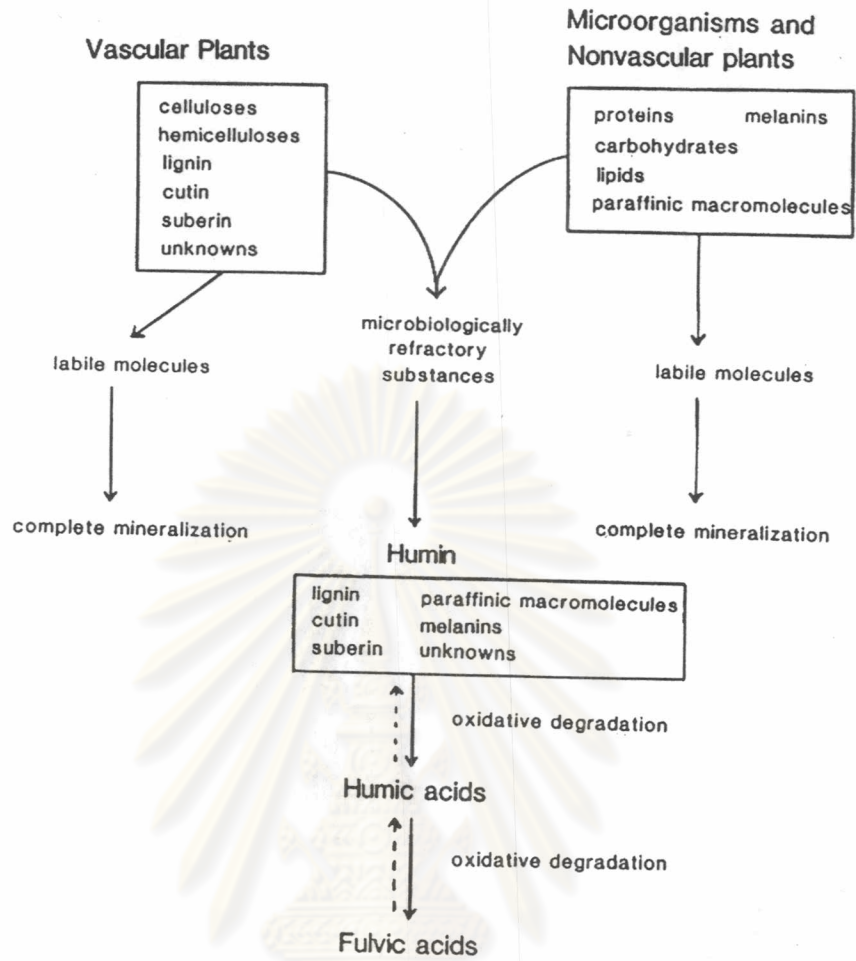
สารอินทรีย์ที่เป็นที่มาทำให้เกิดสารชีวมีกมีหลายชนิดได้แก่ ลิกนิน ฟีนอลิก โพลีแซ็กคาไรด์ น้ำตาลอะมิโน และกรดอะมิโน โดยสารเหล่านี้มาจากสิ่งมีชีวิต 2 กลุ่ม คือ กลุ่มแรกมาจากพืชที่มีท่อลำเลียง (vascular plants) ส่วนอีกกลุ่มหนึ่งมาจากจุลินทรีย์ (microorganisms) และพืชที่ไม่มีท่อลำเลียง (non vascular plants)

องค์ประกอบภายในของพืชที่มีท่อลำเลียงประกอบด้วย เซมิเซลลูโลส ลิกนิน คิวติน ชูเบอร์ริน และสารประกอบอื่นๆ ซึ่งเมื่อพืชตายหรือมีการผลัดใบ จุลินทรีย์ที่อยู่ในดินจะย่อยสลายสารอินทรีย์เหล่านี้ โดยที่สารประกอบบางส่วนสลายตัวง่ายจะถูกนำไปใช้โดยจุลินทรีย์ ในขณะที่สารโมเลกุลใหญ่ที่สลายตัวยากเช่น ลิกนิน คิวติน ชูเบอร์ริน และสารไบโอโพลีเมอร์อื่นๆ จะเกิดการสะสมในตะกอนดินแล้วเกิดกระบวนการคอนเดนเซชันเป็นสารชีวมีก

กรณีที่สองซึ่งเริ่มจากสารตั้งต้นจากจุลินทรีย์และพืชที่ไม่มีท่อลำเลียง ซึ่งภายในประกอบด้วยโปรตีน คาร์โบไฮเดรต ไขมัน เมลานิน และ สารพาราฟินิกโมเลกุลใหญ่ โดยสารอินทรีย์ที่มีโมเลกุลใหญ่แตกเป็นโมเลกุลเล็ก ผ่านกระบวนการคอนเดนเซชัน เป็นสารชีวมีก นอกจากนี้สารประกอบบางส่วนที่มีโมเลกุลขนาดเล็กจะถูกย่อยสลายโดยจุลินทรีย์จนหมดเช่นเดียวกับกรณีแรก

จากนั้นโมเลกุลของสารชีวมีกซึ่งประกอบด้วยลิกนิน คิวติน ชูเบอร์ริน เมลานิน สารพาราฟินิกโมเลกุลใหญ่และสารประกอบอื่นๆที่อยู่รวมกันด้วยกระบวนการคอนเดนเซชัน จะเกิดการสลายตัวโดยถูกออกซิไดซ์เกิดเป็นกรดชีวมีก และกรดชีวมีกสามารถสลายตัวโดยถูกออกซิไดซ์ไปเป็นกรดฟุลวิกได้เช่นกัน (รูปที่ 4)

ในการย่อยอินทรีย์สารโดยจุลินทรีย์ (ตารางที่ 3) อินทรีย์สารที่มีอนุภาคเล็กจะถูกย่อยก่อนโดยจุลินทรีย์มากชนิดด้วยกัน ต่อมาเมื่อเหลืออินทรีย์สารที่มีอนุภาคใหญ่ เช่น เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส ลิกนิน โพลีแซ็กคาไรด์ และอื่นๆ จะถูกย่อยในเวลาต่อมาโดยจุลินทรีย์ที่ค่อนข้างจำเพาะเจาะจง เนื่องจากจุลินทรีย์โดยทั่วไปไม่สามารถย่อยสารเหล่านี้ได้ ตัวอย่างเช่นจุลินทรีย์จำพวกรา (*Agalicus*, *Arimillalia*, *Ganoderma*, *Polyporus* เป็นต้น) สามารถย่อยสลายลิกนินได้ (สมศักดิ์ วังใน 2528)



รูปที่ 4 กระบวนการเกิดสารฮิวมิก

จาก: Frimmel and Christman, 1988

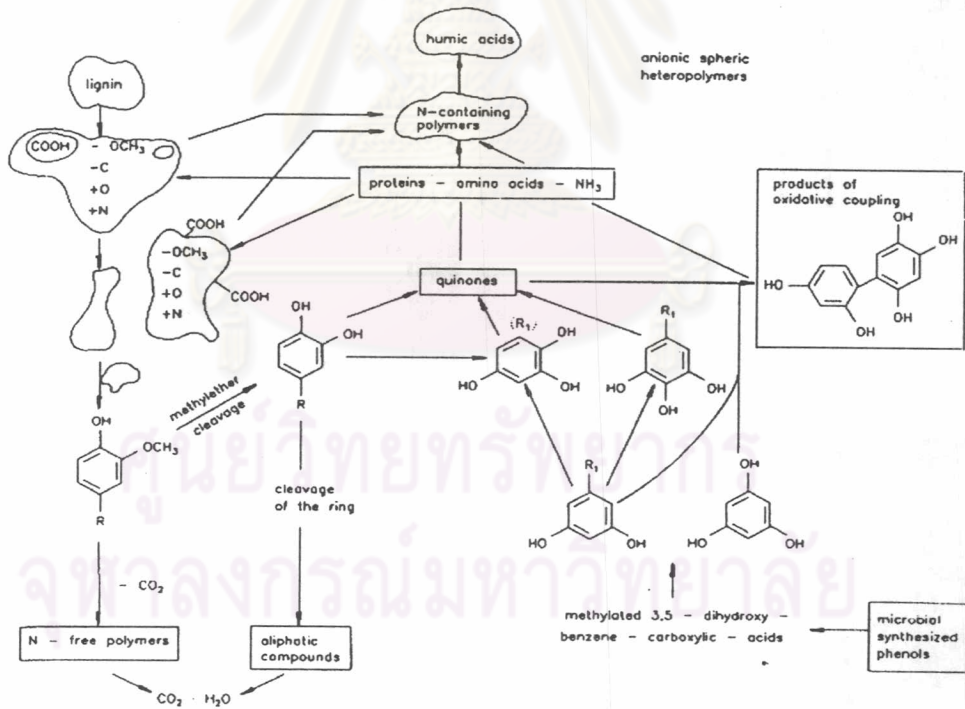
ตารางที่ 3 สารตั้งต้นและกระบวนการเกิดกรดฮิวมิก

สารตั้งต้น	ที่มาของสารตั้งต้น	กระบวนการ
ฟีนอลิก	ลิกนิน	การย่อยสลายของจุลินทรีย์
โพลีแซ็กคาไรด์	น้ำตาลและโพลีแซ็กคาไรด์	การสังเคราะห์ของจุลินทรีย์
น้ำตาลอะมิโน	พืช	การย่อยสลายของจุลินทรีย์
กรดอะมิโน	ดิน	การสังเคราะห์ของจุลินทรีย์
	เซลล์ขนาดเล็ก	การย่อยสลายของจุลินทรีย์
	พืช และโปรตีนในสิ่งมีชีวิตขนาดเล็ก	การย่อยสลายของจุลินทรีย์

ดัดแปลงจาก: Frimmel and Christman, 1988

การเกิดกรดฮิวมิกที่มาจากจากการสลายตัวของสารลิกนิน และการสังเคราะห์ของจุลินทรีย์ ซึ่งเมื่อสารลิกนินถูกจุลินทรีย์จำพวกราย่อยสลายจะได้สารประกอบโมเลกุลเล็กประเภทคาร์บอกซิลิก คาร์บอน ไนโตรเจน และ ออกซิเจน จากนั้นโมเลกุลขนาดเล็กเหล่านี้จะรวมตัวกันเป็น ฟีนอล อะคริลิก หรือ ฟีนอลคาร์บอกซิลิก โดยสารฟีนอลอะคริลิก หรือ ฟีนอลคาร์บอกซิลิกสามารถเกิดการแตกของหมู่เมทิลอีเทอร์ โมเลกุลของมันจึงมีหมู่ไฮดรอกซิลอย่างน้อย 2 หมู่ ในตำแหน่งออร์โท ซึ่งทำให้โมเลกุลของสารดังกล่าวไวต่อการเกิดปฏิกิริยา จากนั้นจะเปลี่ยนรูปเป็นเซมิควิโนโนนอยเรดิคัล (semi quinonoid radical) และมีการรวมตัวกับโปรตีน ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการสลายตัวอื่นๆ และสารโพลีเมอร์ที่มีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบก่อนที่จะเกิดกรดฮิวมิก (Haider, 1987)

ส่วนกรณีของกรดฮิวมิกที่มาจากจากการสังเคราะห์ของจุลินทรีย์นั้น จุลินทรีย์จะสังเคราะห์สารประกอบประเภทฟีนอลให้เป็น methylate 3, 5 - dihydroxy benzene - carboxylic acids และเปลี่ยนรูปเป็นสารประกอบประเภทฟีนอลิกที่มีหมู่ไฮดรอกซิล 2 หรือ 3 หมู่ และเปลี่ยนรูปเป็นควิโนโนนอยก่อนที่จะเกิดเป็นกรดฮิวมิก ซึ่งกรดฮิวมิกไปเป็นกรดฟูลวิกได้โดยกระบวนการ oxidative degradation (รูปที่ 4)



รูปที่ 5 การเกิดกรดฮิวมิกจากลิกนินและจากการสังเคราะห์ของจุลินทรีย์

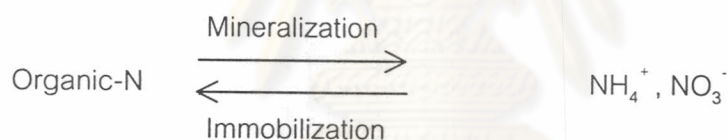
จาก: Frimmel and Christman, 1988

2.4 บทบาทของสารชีวมีกในสิ่งแวดล้อม

ภายในโมเลกุลของสารชีวมีกมีธาตุคาร์บอน และไนโตรเจน เป็นองค์ประกอบ ธาตุทั้งสองมีความสำคัญทางธรณีเคมีซึ่งทั้งคาร์บอนและไนโตรเจนเป็นสารที่มีการเปลี่ยนแปลงเป็นวัฏจักรในดินตะกอน

คาร์บอน เนื่องจากกรดชีวมีกมีธาตุคาร์บอนเป็นองค์ประกอบกรดชีวมีกจึงมีอิทธิพลโดยตรงกับสิ่งมีชีวิตขนาดเล็กที่อยู่ในดิน สารอินทรีย์ที่อยู่ในดินมีธาตุคาร์บอนเป็นองค์ประกอบประมาณร้อยละ 50 ซึ่งคาร์บอนที่อยู่ในดินแบ่งเป็นอินทรีย์คาร์บอน และอนินทรีย์คาร์บอน ซึ่งจุลินทรีย์สามารถย่อยสลายอินทรีย์คาร์บอนได้ นอกจากนี้สิ่งที่ได้จากการสลายตัวของอินทรีย์คาร์บอนยังเป็นประโยชน์ต่อการเพิ่มจำนวนของจุลินทรีย์ และถูกนำไปใช้ในการเติบโตของพืชได้อีกด้วย

ไนโตรเจน เป็นธาตุที่พบในองค์ประกอบของสารชีวมีก ซึ่งสารอินทรีย์ที่มีธาตุไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบ (organic-N) สามารถเปลี่ยนเป็นอนินทรีย์ไนโตรเจน (NH_4^+ , NO_3^-) โดยกระบวนการมิเนอรัลไรเซชัน (mineralization) และสามารถเกิดปฏิกิริยาแบบผันกลับได้โดยกระบวนการอิมโมบิไลเซชัน (immobilization) ดังสมการ



การสลายตัวของสารชีวมีกจะให้ไนโตรเจนซึ่งมีความจำเป็นต่อการเจริญเติบโตของพืชและจุลินทรีย์ ไนโตรเจนที่ว่่านี้อยู่ในรูปแบบไอออนและสารอินทรีย์ที่มีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบรูปแบบไอออนได้แก่ แอมโมเนียม และ ไนเตรตไอออน รูปแบบสารอินทรีย์ที่มีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบได้แก่ เอมีน กรดอะมิโน เปปไทด์ ไนโตรเจนเฮตเทอโรไซคลิก ไนโตรเจนที่ได้จากการสลายตัวของสารชีวมีกมีที่มาจาก การแลกเปลี่ยนประจุของสารประกอบเชิงซ้อน (charge-transfer complexes) การเกาะติดกันของกรดอะมิโนและเฮตเตอร์โรไซคลิก (Muller-Wegener, 1987) และพันธะโควาเลนต์ของอะมิโนไนโตรเจน (Stevenson, 1986)

การศึกษาความสัมพันธ์ของสารชีวมีกกับสิ่งมีชีวิตนั้น มีความซับซ้อนมากเพราะนอกจากสารชีวมีกจะมีผลต่อการผลิตขั้นต้นของพืช สัตว์ และสิ่งมีชีวิตขนาดเล็กแล้วยังมีความสัมพันธ์กับสสารที่สำคัญต่อสิ่งมีชีวิตอีกด้วย ดังนั้นสามารถแบ่งบทบาทสารชีวมีกต่อสิ่งแวดล้อมได้ดังนี้

2.4.1 บทบาทของสารชีวมีกต่อการเติบโตของพืช

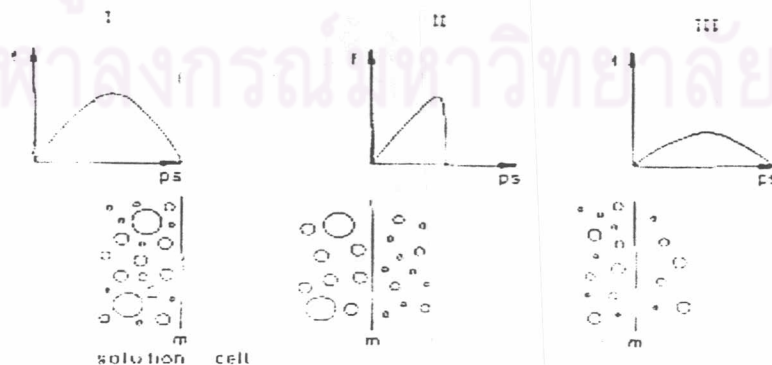
Khristeva and Manilova (1950) ทดลองหาความสัมพันธ์ระหว่างสารชีวมีกกับพืช โดยใช้พืชชนิดต่างๆ ปรากฏว่าสารชีวมีกมีผลต่อการเพิ่มผลผลิตของพืชโดยได้แบ่ง พืชที่นำมาทดลอง ออกเป็น 4 กลุ่มคือ กลุ่มที่สารชีวมีกมีผลต่อการเพิ่มผลผลิตมาก(+++) กลุ่มที่สารชีวมีกมีผลต่อการเพิ่มผลผลิตปานกลาง(++) กลุ่มที่สารชีวมีกมีผลต่อการเพิ่มผลผลิตน้อย(+) และกลุ่มที่สารชีวมีกมีผลต่อการเพิ่มผลผลิตน้อยมากดังตารางที่ 4

ตารางที่ 4 ผลของสารชีวมีกที่มีต่อการเพิ่มผลผลิตในพืชชนิดต่างๆ

ผลของสารชีวมีกที่มีต่อการเพิ่มผลผลิต	ชนิดของพืช
+++	มะเขือเทศ มันฝรั่ง บีท (sugar beet)
++	ธัญพืช
+	ถั่ว ฝ้าย
น้อยมาก	ทานตะวัน พักทอง

ดัดแปลงจาก: Khristeva and Manilova, 1950

Ziechmann (1980) ได้สร้างแบบจำลองแสดงความสามารถในการซึมผ่านของสารชีวมีกผ่านเมมเบรนดังรูปที่ 6 โดยอนุภาคของสารชีวมีกที่มีมวลโมเลกุลมากกว่า 100,000 (รูปที่ 6 I) จะไม่สามารถซึมผ่านรากพืช ส่วนสารที่มีอนุภาคขนาดเล็ก เช่น สารฟีนอลิก และ กรดชีวมีก (2000-5000 ดาลตัน) จะสามารถซึมผ่านเมมเบรนไปได้ (รูปที่ 6 II) การซึมผ่านเมมเบรนเป็นการสร้างสมดุลใหม่ของอนุภาคสารชีวมีกภายในเซลล์ (รูปที่ 6 III) โดยที่ f = frequency, ps = particle size และ m = membrane โมเดลดังกล่าวแสดงให้เห็นว่ากรดชีวมีกสามารถซึมผ่านเซลล์เมมเบรนของสิ่งมีชีวิตได้ ซึ่งกรดชีวมีกเคลื่อนที่เนื่องจากมีความเข้มข้นในดินสูงกว่าผิวรากพืชที่มีระดับความเข้มข้นต่ำ จึงเกิดการเคลื่อนที่ของกรดชีวมีกในสารละลายดินแพร่เข้าสู่ผิวรากพืชโดยตรง



รูปที่ 6 โมเดลแสดงความสามารถในการซึมผ่านของสารชีวมีกผ่านเมมเบรนของสิ่งมีชีวิต

จาก: Ziechmann, 1980

2.4.2 บทบาทของสารชีวมีกต่อจุลินทรีย์

สารชีวมีกมีอิทธิพลต่อการเติบโตของจุลินทรีย์ เช่น แบคทีเรีย รา และ ไวรัส ดังแสดงในตารางที่ 5

ตารางที่ 5 บทบาทของสารชีวมีกต่อจุลินทรีย์

หน้าที่ของสารชีวมีก	อ้างจากงานวิจัย
เมตาโบไลต์ (Metabolite)	Gunda (1970)
โคเมตาโบไลต์ (Co-metabolite)	De Haan (1974)
Indoleacetic acid-like molecule	Przemek (1962)
Detoxification agent	Tichy et al. (1964)
Regulator of membrane permeability	Chaminade and Blanchet (1953)
Decoupler of oxidative phosphorylation	Flaig (1970)
กระตุ้นการหายใจ (Respiratory catalyst)	Flaig (1970)

ดัดแปลงจาก: Muller-Wegener (1988)

ตัวอย่างการศึกษาบทบาทของสารชีวมีกที่มีต่อจุลินทรีย์ได้แก่งานวิจัยของ Vesser (1985) ใช้สารชีวมีก ความเข้มข้น 30 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำให้จุลินทรีย์ที่อยู่ในดินมีการเพิ่มจำนวนมากขึ้น เนื่องจากจุลินทรีย์ได้นำสารชีวมีกไปใช้ในการเจริญเติบโต กรดชีวมีกจะซึมผ่านเซลล์เมมเบรนของจุลินทรีย์ โดยรูปแบบของการซึมผ่านเช่นเดียวกับการซึมผ่านของสารชีวมีกไปสู่พืช

2.4.3 ผลของสารชีวมีกต่อการทำงานของเอนไซม์

สารชีวมีกเป็นสารอินทรีย์ที่มีผลต่อพืช และสัตว์ สารชีวมีกจะมีบทบาทต่อกระบวนการเมตาบอลิซึม (metabolism) ตัวอย่างการวิจัยความสัมพันธ์ของสารชีวมีกกับเอนไซม์ Ziechmann (1980) กล่าวว่าสารชีวมีกสามารถกระตุ้นหรือยับยั้งกิจกรรมต่างๆของเอนไซม์ในดิน ต่อมา มีการกล่าวถึงผลของสารชีวมีกที่มีต่อโปรติโอไลติกเอนไซม์ (proteolytic enzymes) ว่าสารชีวมีกยับยั้งกิจกรรมของคาร์บอกซีเปปติเดส (Carboxypeptidase A), ทริปซิน (trypsin) และ โปรเนส บี (pronase B) สารชีวมีกกระตุ้นพวปกปาเปอิน (papain), ซับไทโลเปปติเดส เอ (subtilopeptidase A), เทอร์โมไลซิน (termolysin), ฟิซิน (ficin) สารชีวมีกที่ไม่มีผลต่อการกระตุ้นหรือยับยั้งการ

ทำงานของเอนไซม์เหล่านี้ได้แก่ ไทโรซิน (tyrosin), พลาเซโอลิน (plaseolin) (Ladd and Butler, 1975)

สารฮิวมิกมีผลต่อการทำงานของเอนไซม์ดังนี้

1. เอนไซม์สามารถจับกับสารฮิวมิกได้โดยการดูดซับ (adsorptive) ที่อะตอมที่เกิดพันธะ (atomic bond) เช่น พันธะของกรดเอไมด์ หรือ พันธะของเอสเทอร์ โดยเอนไซม์ของโปรตีนจะเป็นตัวที่จับสารฮิวมิกทำให้เอนไซม์โปรตีนมีการเปลี่ยนรูปร่างของโครงสร้างเป็นแบบควอเทอร์นารี (quaternary) หรือโครงสร้างแบบเทอร์เชียรี (tertiary) ซึ่งสารฮิวมิกทำหน้าที่เป็นศูนย์กลางของการดูดซับ (active center) โดยเอนไซม์นอกจากนี้สารฮิวมิกยังสามารถทำหน้าที่เป็นแอคทีฟไซต์ (active site) โดยตรงได้อีกด้วย

2. เนื่องจากสารฮิวมิกเป็นสารที่มีโครงสร้างหลากหลาย โมเลกุลฮิวมิกอาจไปรบกวนสมดุลของปฏิกิริยาที่เกิดจากเอนไซม์

3. สารฮิวมิกที่มีคุณสมบัติในการแลกเปลี่ยนประจุบวก (cation) โดยไบวาเลนแคตไอออน (bivalent cation) มักจะเป็นโคแฟกเตอร์ (cofactor) ของคะตาลีสต์ของปฏิกิริยาที่เกิดจากเอนไซม์ หรือเป็นตัวที่ทำให้เกิดความสมดุล (stabilization) ในโครงสร้างของโปรตีน (Ladd and Butler, 1975)

2.4.4 บทบาทของสารฮิวมิกต่อไอออนของโลหะ (Metal Ion)

แคตไอออนเช่น Fe, Cu, Zn และ Mn จัดเป็นธาตุอาหารรอง โดยที่พืชจะนำไอออนเหล่านี้ไปใช้ได้ ไอออนต้องอยู่ในรูปสารประกอบเชิงซ้อน ซึ่งสารฮิวมิกจัดเป็นสารที่เกิดสารประกอบเชิงซ้อนได้ โดยที่สารฮิวมิกจะสามารถพาไอออนของเหล็กเข้าสู่พืชในรูปสารประกอบเชิงซ้อน ทั้งสารฮิวมิกและธาตุอาหารรองเป็นตัวกระตุ้นการเติบโตพืช เพราะในสารฮิวมิกมีธาตุไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบซึ่งเป็นธาตุอาหารที่จำเป็นต่อการเติบโต ส่วนธาตุอาหารรองพืชจะนำไปใช้ในการสร้างใบ ลำต้น เป็นต้น (Chen and Stevenson, 1986)

2.4.5 สารฮิวมิกกับสารอินทรีย์ที่มีผลต่อสิ่งแวดล้อม

สารอินทรีย์มีมากมายในสิ่งแวดล้อม สารอินทรีย์บางชนิดมีความเป็นพิษต่อสิ่งมีชีวิต สารอินทรีย์ดังกล่าวเมื่อจับกับสารฮิวมิกจะช่วยลดความเป็นพิษต่อสิ่งมีชีวิต ซึ่งกลไกการเกาะสารฮิวมิกกับสารอินทรีย์ที่เกี่ยวข้องกับสิ่งแวดล้อมถูกศึกษาโดย Hamaker and Thomson (1972) และ Muller-wagener (1983) กล่าวถึงกระบวนการเข้าจับสารอินทรีย์ที่เป็นพิษโดยสารฮิวมิก

โดยสาร ฮิวมิคจะสร้างพันธะในรูปแบบต่างๆ การเข้าจับดังกล่าวทำให้สารพิษลดความเป็นพิษได้ ดังตารางที่ 6

ตารางที่ 6 กลไกและโอกาสที่เป็นไปได้ในการจับระหว่างสารอินทรีย์ที่มีบทบาทในสิ่งแวดล้อมบางชนิดกับสารฮิวมิค

สารประกอบ	โอกาสที่เป็นไปได้ในการจับ
เอส-โทอะซีน (s-Triazine)	1. Charge-transfer complexes 2. พันธะไฮโดรคาร์บอน 3. Ligand exchange 4. พันธะโควาเลนต์
เอมีน	1. Charge-transfer complexes 2. พันธะไอออนิก
คลอรีนเนตเตตไฮโดรคาร์บอน (Chlorinated hydrocarbons)	1. Hydrophobic bonds 2. พันธะแรงแวนเดอร์วาล
โพลีไซคลิกไฮโดรคาร์บอน (Polycyclic Hydrocarbons)	1. พันธะแรงแวนเดอร์วาล 2. Hydrophobic bonds
ไบไพริเดียมแคตไอออน (Bipyridilium cations)	1. Charge-transfer complexes 2. Ligand exchange 3. พันธะไอออนิก
แคตไอออนิกเซอร์แฟกแทนต์ (Cationic surfactants)	1. พันธะไอออนิก

ดัดแปลงจาก: Muller-wagener, 1983

2.5 วิธีวิเคราะห์สารฮิวมิค (www.IHSS.com)

ในการสกัดสารฮิวมิคต้องกำจัดสารอินทรีย์ในดินออกก่อน เทคนิคที่ใช้ขึ้นอยู่กับธรรมชาติของสารที่ทดลอง ดังนั้นสารที่ไม่มีขี้ เช่น ไขมัน ขี้ผึ้ง เรซิน เป็นต้น จะสกัดได้ต้องใช้ตัวทำละลายเช่น เฮกเซน อีเทอร์ ของผสมของแอลกอฮอล์และเบนซีน เป็นต้น กระบวนการไฮโดรไลซิสใช้แยกโมโนเมอร์ที่เป็นกรดอะมิโนและน้ำตาล ก่อนการสกัดสารฮิวมิคจากดินควรทราบถึงประสิทธิภาพของตัวสกัดก่อนโดยพิจารณาตารางที่ 7

ตารางที่ 7 ประสิทธิภาพการสกัดสารฮิวมิกจากดิน

ตัวสกัด	เปอร์เซ็นต์ของสารที่ได้จากการสกัด
โซเดียมไฮดรอกไซด์	ประมาณ 80 %
Na ₄ P ₂ O ₄ และ อื่นๆ	ประมาณ 30 %
คีเลตสารอินทรีย์: อะซิโตน คัปเฟอร์รอน ไฮโดรควิโนน	ประมาณ 30 %
กรดฟอร์มิก	ประมาณ 55 %

2.5.1 การสกัดสารฮิวมิกด้วยเบส

วิธีที่ใช้แพร่หลายในการสกัดสารฮิวมิกในดินและน้ำ คือใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 0.1 ถึง 0.5 นอร์มอล อัตราส่วนของโซเดียมไฮดรอกไซด์ต่อดินหรือน้ำที่จะสกัดเป็น 1:2 ถึง 1:5 กรัมต่อมิลลิลิตร การสกัดซ้ำให้สารที่ได้จากการสกัดสูงขึ้น กรองดินด้วยกรดไฮโดรคลอริกเจือจางเพื่อกำจัดแคลเซียม และ polyvalent cation ตัวอื่นๆออก การสกัดวิธีนี้เป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพมากที่สุดโดยทั่วไปเมื่อใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 0.1-0.5 นอร์มอล ให้สาร 2/3 เท่า ของสารอินทรีย์ในดิน

ข้อควรระวังในการสกัดสารฮิวมิกด้วยเบส

1. สารละลายเบสที่มีซิลิกาปนอยู่จะกลายเป็นสารปนเปื้อนในสารอินทรีย์ที่ได้จากการสกัด
2. สารเบสไปละลาย protoplasmic และโครงสร้างที่สำคัญของเนื้อเยื่อสารอินทรีย์ใหม่จนเป็นส่วนที่ผสมกับ humified organic matter
3. หลีกเลี่ยงการสัมผัสอากาศระหว่างการสกัดเนื่องจากจะเกิดการ autooxidation ที่บางส่วนของสารอินทรีย์
4. การเปลี่ยนแปลงทางเคมีของสารละลายเบสเช่น คอนเดนเซชัน ระหว่างกรดอะมิโน และอัลดีไฮด์หรือ ควิโนน
5. สารละลายเบสที่มากเกินไป และระยะเวลาที่นานเกินไปอาจทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางเคมี สาร organic matter ทั้งหมดที่สกัดได้จากดินมีผลจากปริมาณเบสและระยะเวลาในการสกัด

2.5.2 การสกัดสารฮิวมิกด้วยโซเดียมไพโรฟอสเฟตและเกลือกลาง

Ca และ Polyvalent cations (Fe, Al) ที่มีใน organic matter จะเกิดการ flocculate อยู่ในสภาพที่ไม่ละลาย หรือมีการละลายเป็นสาร coordination complex การใช้ตัวสกัด เช่น

แอมโมเนียมออกซาลेट โซเดียมไฟโรฟอสเฟต และเกลือของกรดอินทรีย์อ่อน ทำให้ Ca และ Polyvalent cations เกิดการละลายที่ pH 7.0 วิธีนี้ให้ผล < 30 %

2.5.3 การสกัดสารฮิวมิกด้วยกรดฟอร์มิก

วิธีนี้ให้ผลประมาณ 55 % โดยใช้กรดฟอร์มิกผสมกับ LiF, LiB, หรือ HBF_4 ประโยชน์ของ anhydrous formic acid คือการสกัดสารอินทรีย์ที่มีขี้หรือไม้ก็ ออกซิไดซ์สารที่มีคุณสมบัติ hydrolytic นอกจากนี้กรดฟอร์มิกเป็นตัวทำละลายที่ดีของสารพวกโพลีแซ็กคาไรด์ พวก Ca, Fe, Al และสารอนินทรีย์ที่ละลายในดิน มีปริมาณมากไม่สามารถกำจัดสารอนินทรีย์ได้สมบูรณ์

2.5.4 การสกัดสารฮิวมิกด้วยสารอินทรีย์ที่เป็นคีเลตเอเจนต์

อะซีติลอะซิโตน คูเฟอร์รอน ไฮดรอกซีไฮโดรควิโนโนลิน สารเหล่านี้สามารถเกิดเป็น คีเลต แข็งซ้อนกับโลหะหนักได้ ซึ่งสามารถใช้สารเหล่านี้(อะซีติลอะซิโตน คูเฟอร์รอน ไฮดรอกซีไฮโดรควิโนโนลิน)สกัดสารอินทรีย์จากดินตะกอนที่มี Fe และ Al ได้

ศูนย์วิทยพัชยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย