

บทที่ 1

บทนำ

ความเจริญก้าวหน้าทางวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีของประเทศไทย ส่งผลให้ประเทศไทยมีการพัฒนาในด้านอุตสาหกรรม การคมนาคม และการเกษตรอย่างรวดเร็ว โดยจากข้อมูลของกรมควบคุมมลพิษ (2546) รายงานว่าปริมาณการนำเข้าสารอันตรายกลุ่มสารอินทรีย์และสารอนินทรีย์ สารอันตรายทางการเกษตร รวมถึงการผลิตเคมีภัณฑ์มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นโดยตลอด ความเจริญดังกล่าวส่งผลกระทบตามมาคือปัญหาสิ่งแวดล้อมเป็นพิษ ทั้งในดิน แหล่งน้ำ และอากาศ อันเนื่องมาจากของเสียมีพิษจากบ้านเรือนและโรงงานอุตสาหกรรมปนเปื้อนสู่สิ่งแวดล้อม ทั้งที่เกิดจากอุบัติเหตุและการกำจัดกากของเสียที่ไม่ถูกวิธี

กรมควบคุมมลพิษ (2545) รายงานว่า มีการเพิ่มขึ้นของอุบัติเหตุจากสารเคมีทั้งจากในกระบวนการผลิต การจัดเก็บและการขนส่ง ซึ่งคาดว่าสถานการณ์ในปี 2548 ปริมาณของเสียอันตรายจากชุมชนจะเกิดขึ้นประมาณ 0.4 ล้านตัน โดยร้อยละ 34 เกิดในกรุงเทพมหานครและปริมณฑล พบได้มากในดิน โดยแหล่งกำเนิดที่สำคัญได้แก่ ตู้ซอมรถ สถานบริการน้ำมัน และบ้านเรือน และสำหรับแนวโน้มของเสียอันตรายปี 2549 คาดว่ายังคงมีปริมาณใกล้เคียงกับปี 2548 ซึ่งปิโตรเลียมเป็นหนึ่งในของเสียอันตรายด้วยเช่นกัน โดยในขั้นตอนการผลิตปิโตรเลียมทำให้เกิดสารพิษ ส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม ทำให้น้ำและดินในบริเวณโรงงานมีสารปนเปื้อนน้ำมันสูง นอกจากนี้การรั่วไหลเมื่อมีอุบัติเหตุจากการขนส่งและการจัดเก็บก็เป็นปัญหาสำคัญถึงขั้นวิกฤต โดยส่งผลกระทบต่อคุณภาพอากาศและสภาพแวดล้อม (สำนักงานนโยบายและแผนสิ่งแวดล้อม, 2542) ปิโตรเลียมมีส่วนประกอบเป็นสารอินทรีย์หลายชนิด ที่สำคัญคือสารในกลุ่มพอลิไซคลิกอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอน (polycyclic aromatic hydrocarbons, PAHs)

PAHs เป็นสารประกอบอินทรีย์ที่มีโครงสร้างของอะตอมคาร์บอนและไฮโดรเจนประกอบกันเป็นวงแหวนอะโรมาติก มีการเรียงตัวเชื่อมต่อกันเป็นเส้นตรง มุมงอ หรือเป็นกลุ่ม ตั้งแต่ 2 วงขึ้นไป มีสมบัติละลายน้ำยากและการละลายน้ำของสารกลุ่มนี้จะลดลงเมื่อน้ำหนักโมเลกุลเพิ่มขึ้น ทำให้มีความทนทานต่อการย่อยสลาย (Trzesicka-Mlynarz และ Ward, 1996) จัดเป็นสารที่ก่อให้เกิดอันตรายร้ายแรงต่อสิ่งมีชีวิต อาจเหนี่ยวนำให้เกิดมะเร็ง เป็นสารที่ก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงในระดับยีน และอาจทำให้ทารกในครรภ์มีรูปร่างผิดปกติ (Wilson และ Jones, 1993) โดยสารเหล่านี้มีแหล่งกำเนิดมาจากกระบวนการผลิตในภาคอุตสาหกรรม น้ำมัน ถ่านหิน กระบวนการเผาไหม้ที่ไม่สมบูรณ์ของเชื้อเพลิงฟอสซิล (Volkering และคณะ, 1992) นอกจากนี้

PAHs ยังสามารถเกิดขึ้นจากผลกระทบตามธรรมชาติ เช่น ไฟไหม้ป่า (Chandra และคณะ, 1996) ภูเขาไฟระเบิด และการรั่วซึมของน้ำมันตามธรรมชาติ (Cerniglia, 1992)

ฟีนแอนทรีน (phenanthrene) จัดเป็น PAH ชนิดหนึ่ง ประกอบด้วยวงเบนซีน 3 วง เกิดจากการเผาไหม้ไม่สมบูรณ์ของเชื้อเพลิงฟอสซิลและเนื้อไม้ พบในน้ำมันดำจากถ่านหิน (U.S. EPA, 1988; IARC, 1983) และเป็น 1 ใน PAHs 16 ชนิดที่สำนักงานคุ้มครองสิ่งแวดล้อมสหรัฐอเมริกาให้ความสำคัญเป็นอันดับต้น (ATSDR, 1990; U.S. EPA, 1987) โดย The U.N. International Agency for Research on Cancer (IARC) รายงานว่าฟีนแอนทรีนไม่มีสมบัติเป็นสารก่อมะเร็งในมนุษย์ รวมทั้งสามารถพบได้ทั่วไปในอุตสาหกรรมหลายประเภท เช่น อุตสาหกรรมการผลิต phenanthrenequinone และการผลิต diphenic acid

การบำบัดสิ่งแวดล้อมที่มีการปนเปื้อนด้วย PAHs นั้นสามารถทำได้หลายวิธี และวิธีหนึ่งที่มีประสิทธิภาพ คือการบำบัดสารพิษโดยวิธีทางชีวภาพ (Bioremediation) ซึ่งเป็นเทคโนโลยีที่ใช้ศักยภาพของจุลินทรีย์ในกระบวนการย่อยสลายสารพิษ (Mueller และคณะ, 1989) ในปัจจุบันการบำบัดสารพิษโดยวิธีทางชีวภาพประสบความสำเร็จเป็นอย่างมาก เนื่องจากมีความปลอดภัยต่อสิ่งแวดล้อม และค่าใช้จ่ายในการดำเนินการต่ำ (Lee และ Cutright, 1996) จึงเป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพเมื่อเทียบกับวิธีทางกายภาพและเคมี อย่างไรก็ตามวิธีนี้ยังมีข้อจำกัด เช่น จุลินทรีย์ส่วนใหญ่ไม่สามารถย่อยสลาย PAHs ที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูงซึ่งมีความเป็นพิษสูง เนื่องจากสารในกลุ่มนี้มีความสามารถในการละลายน้ำต่ำและมีความคงตัวมาก (Wilson และ Jones, 1993)

มีการศึกษาความสามารถในการย่อยสลายสารที่ปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อมโดยประชาคมแบคทีเรีย (Cavalca และคณะ, 2000) โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อตรวจวิเคราะห์ประชาคมและหน้าที่ของประชาคมแบคทีเรียในกระบวนการย่อยสลายสาร อย่างไรก็ตามอุปสรรคในการศึกษาดังกล่าวคือแบคทีเรียส่วนใหญ่ในสิ่งแวดล้อมไม่สามารถเลี้ยงให้เจริญได้ในห้องปฏิบัติการ (Torsvik และคณะ, 2002) การใช้วิธีทางชีวโมเลกุลจึงเป็นประโยชน์ในการวิเคราะห์ความหลากหลายของจุลินทรีย์ที่สามารถย่อยสลายสารพิษ และพัฒนากลยุทธ์ในการปรับปรุงการย่อยสลายสารพิษโดยจุลินทรีย์ (Watanabe, 2001) วิธีการเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอโดยปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรส (Polymerase Chain Reaction, PCR) ร่วมกับวิธี Denaturing Gradient Gel Electrophoresis (DGGE) ถูกนำมาใช้ในการวิเคราะห์ประชาคมแบคทีเรีย (Rosado และคณะ, 1997) โดยมีเป้าหมายเพื่อวิเคราะห์ 16S rDNA เพื่อระบุความหลากหลายของจุลินทรีย์ในสิ่งแวดล้อม (Torsvik และคณะ, 2002) ซึ่งเทคนิคนี้สามารถแยกดีเอ็นเอสายคู่ที่มีความยาวเท่ากัน แต่มีลำดับเบสต่างกันโดยใช้เกรเดียนท์ (gradient) ของความเข้มข้นของสารเคมีทำลายพันธะไฮโดรเจนระหว่างดีเอ็นเอสายคู่ออกจากกัน (Felske และ Akkermans, 1998; Muyzer และคณะ,

1993) วิธีการนี้เป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพ สามารถวิเคราะห์หลายตัวอย่างพร้อมกัน และแสดงให้เห็นถึงการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างประชาคมแบคทีเรียที่ไม่สามารถตรวจวิเคราะห์ได้โดยการเลี้ยงเซลล์แบคทีเรียเพียงอย่างเดียว (Ogino และคณะ, 2001)

การย่อยสลาย PAHs โดยแบคทีเรียภายใต้สภาวะมีออกซิเจนนั้น เริ่มจากการเติมออกซิเจน 2 อะตอมเข้าสู่วงอะโรมาติกด้วยการเร่งปฏิกิริยาของเอนไซม์ไดออกซิจีเนส (dioxygenase) ซึ่งเอนไซม์ชนิดนี้มีหลายส่วนประกอบกัน (multicomponent) มีระบบขนส่งอิเล็กตรอนที่ประกอบด้วยเฟอร์ริดอกซิน รีดักเทสและเทอร์มินัลไดออกซิจีเนส (Gibson และ Parales, 2000) ไดออกซิจีเนสประกอบด้วย 2 หน่วยย่อย หน่วยย่อยแอลฟาเป็นส่วนในการเร่งปฏิกิริยา ประกอบด้วยส่วนอนุรักษ์ 2 ส่วนคือ $[Fe_2-S_2]$ Rieske center และ mononuclear iron ซึ่งจะทำงานโดย Rieske cluster รับอิเล็กตรอนจากเฟอร์ริดอกซินและส่งผ่านไปยัง mononuclear iron ในการเร่งปฏิกิริยา (Ferraro และคณะ, 2005; Parales, 2003) โดยมีรายงานว่ามีการแยกดีเอ็นเอจากบริเวณที่มีการปนเปื้อน PAH และใช้ดีเอ็นเอที่ได้เป็นแม่แบบในการเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอบริเวณ Rieske เพื่อตรวจหาการปรากฏของยีนไดออกซิจีเนส (Chadhain และคณะ, 2006)

ในปัจจุบันมีสิ่งแวดล้อมหลายแห่งซึ่งมีภาวะเป็นกรดและปนเปื้อนไปด้วย PAHs เช่น บริเวณอ่างเก็บน้ำที่ชะล้างเหมืองแร่ที่มีภาวะเป็นกรดและอุณหภูมิสูง ซึ่งแบคทีเรียกลุ่มที่ชอบกรด น่าจะถูกพบในสภาวะเหล่านี้ (Emerson และ Moyer, 1997; Harrison, 1984) อย่างไรก็ตามความรู้เกี่ยวกับการย่อยสลาย PAHs และสารปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนอื่นๆ ในภาวะเป็นกรดมีไม่มากนัก (Margesin และ Schinner, 2001) โดย Stapleton และคณะ (1998) ได้ศึกษาการย่อยสลายอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอนทางชีวภาพในบริเวณที่เก็บถ่านหินซึ่งมีภาวะเป็นกรดอย่างมาก พบว่าจุลินทรีย์ประจำถิ่นสามารถออกซิไดซ์ไฮโดรคาร์บอน แนพทาลิน และโทลูอินได้มากกว่า 40% ให้กลายเป็นคาร์บอนไดออกไซด์และน้ำ แต่สามารถย่อยสลายพีแนนทรีนและแนพทาลินเพียง 10-20% ทั้งนี้พบว่าอัตราการย่อยสลายแนพทาลินจะเพิ่มขึ้นเมื่อใช้กลุ่มจุลินทรีย์ที่ประกอบด้วยรายีสต์ และแบคทีเรียหลายชนิด

หลายพื้นที่ของประเทศไทยมีลักษณะดินเป็นดินเปรี้ยว (มีความเป็นกรด) และในปัจจุบันประเทศไทยยังมีโรงงานอุตสาหกรรมเพิ่มขึ้นหลายแห่ง จึงมีแนวโน้มที่จะเกิดการปนเปื้อนของ PAHs ในบริเวณแหล่งดินเปรี้ยวได้ นอกจากนี้ยังมีแนวโน้มการปนเปื้อนของ PAHs ในน้ำทิ้งที่เป็นกรดจากโรงงานอุตสาหกรรม การนำแบคทีเรียที่สามารถย่อยสลาย PAHs ในภาวะกรดมาใช้ในการย่อยสลายสารพิษที่ปนเปื้อนในบริเวณดังกล่าว เป็นแนวทางหนึ่งที่ลดหรือควบคุมการแพร่กระจาย PAHs สู่อากาศ สิ่งแวดล้อม งานวิจัยนี้จึงสนใจศึกษาการย่อยสลาย PAHs ทางชีวภาพในดินที่มีภาวะเป็นกรด รวมถึงการติดตามการเปลี่ยนแปลงประชาคมแบคทีเรียที่เกี่ยวข้องในระบบนิเวศ

จำลองดิน เพื่อเป็นข้อมูลเบื้องต้นสำหรับใช้พัฒนาวิธีบำบัดทางชีวภาพสำหรับสิ่งแวดล้อมที่ปนเปื้อนด้วย PAHs ในภาวะกรดต่อไป ทั้งนี้ได้เลือกพีแนทรีนเป็นสารต้นแบบในการศึกษา เนื่องจากเป็น PAH ที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ และเป็น PAH ขนาดเล็กที่สุดที่มีโครงสร้างโมเลกุลเป็นมวงอ ซึ่งเป็นการจัดตัวของ PAH ที่มีความเสถียรสูง (Blumer, 1976) นอกจากนี้พบว่าไม่มีสมบัติเป็นสารก่อมะเร็งในมนุษย์ รวมทั้งสามารถพบได้ทั่วไปในอุตสาหกรรมหลายประเภท

วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

ศึกษาการย่อยสลายพีแนทรีน และการเปลี่ยนแปลงของประชาคมแบคทีเรียในระบบนิเวศจำลองดินที่มีภาวะเป็นกรด

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ทราบปัจจัยที่ส่งเสริมการย่อยสลายพีแนทรีนทางชีวภาพในดินที่มีภาวะเป็นกรด และทราบชนิดของแบคทีเรียที่เกี่ยวข้อง เพื่อใช้เป็นข้อมูลในการพัฒนาวิธีการบำบัดแหล่งดินในภาวะเป็นกรดที่มีการปนเปื้อนพีแนทรีน และ PAHs อื่นๆ