บทที่ 1

บทนำ

สารประกอบ Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) เป็นสารประกอบอินทรีย์ที่ประกอบด้วยวงอะโรมาติกมากกว่า 2 วงขึ้นไป มาเชื่อมต่อกัน มีคุณสมบัติละลายน้ำได้น้อย หรือไม่ละลายน้ำแต่ละลายในตัวทำละลายอินทรีย์ (Patnaik and Pratyot, 1992) PAHs สามารถพบได้ทั่วไปในสิ่งแวดล้อม อันเนื่องมาจากการปนเปื้อนจากโรงงานอุตสาหกรรมต่าง ๆ ซึ่งมีการเผาไหม้ไม่สมบูรณ์ของน้ำมันปิโตรเลียม ถ่านหิน เครื่องยนต์ และน้ำเสียจากโรงงานอุตสาหกรรม (Jonas, 1980) การปนเปื้อนของ PAHs ไปยังสิ่งแวดล้อมบริเวณอื่นๆ เกิดเนื่องจากการรวมตัวของสารประกอบ PAHs กับอนุภาคของฝุ่นละอองในอากาศ หรือตะกอนของน้ำเสียที่ถูกปล่อยออกมาจากโรงงานอุตสาหกรรม (Hoontley และคณะ 1993) และสารเหล่านี้มีการสะสมอยู่กับอินทรียวัตถุในดิน (Cerniglia และคณะ 1992) สารประกอบ PAHs เป็นสารพิษที่เป็นอันตรายต่อสิ่งมีชีวิตที่อาศัยอยู่ในน้ำ ถ้าหากมีการปนเปื้อนในปริมาณที่สูงมาก ๆ อาจทำให้สิ่งมีชีวิตที่อาศัยอยู่บริเวณใกล้เคียงตายได้ และพบว่าพืชสามารถดูดซับสารประกอบ PAHs จากดินเข้าไปสะสมในส่วนต่าง ๆ ของพืชได้ พืชที่มีองค์ประกอบของไขมันในปริมาณสูง สามารถดูดซับสารประกอบ PAHs ได้มากกว่าพืชที่มีไขมันน้อย ทั้งนี้อุณหภูมิยังมีผลต่อการดูดซับสารประกอบ PAHs โดยที่อุณหภูมิต่ำส่งผลให้พืชมีดูดซับสารประกอบ PAHs ได้ดีกว่าภาวะที่มีอุณหภูมิสูง (Simonich และ Hites, 1994) สารปนเปื้อนเหล่านี้หากมีการปนเปื้อนสู่พื้นที่เพาะปลูกทางการเกษตร เมื่อผู้บริโภค ๆ ผลผลิตที่มีการสะสมสารประกอบ PAHs เข้าไป จะทำให้เกิดความผิดปกติที่อวัยวะต่าง ๆ และก่อให้เกิดมะเร็งในคนได้ นอกจากนี้การได้รับโดยการสัมผัส การหายใจเอาฝุ่นละออง หรือ ไอระเหยของสาร PAHs ยังทำให้เกิดความผิดปกติของร่างกายได้เช่นกัน (Patnaik, 1992) ดังนั้นหน่วยงาน U.S. Environmental Protection Agency จึงได้ประกาศให้สารประกอบ PAHs 16 ชนิด เป็นสารที่ทำให้เกิดมลพิษทางน้ำ ทางดิน และในจำนวน 16 ชนิดนี้ มี 8 ชนิดที่เป็นสารมวลโมเลกุลสูงและเป็นสารก่อมะเร็ง (Menzic และคณะ 1992) สารประกอบ PAHs เหล่านี้ควรถูกกำจัดออกจากสิ่งแวดล้อมอย่างถูกวิธี

ในธรรมชาติสารประกอบ PAHs นั้น สามารถเกิดการย่อยสลายได้เองตามธรรมชาติ แต่ต้องใช้ระยะเวลาที่ยาวนาน จึงเกิดการสะสมอยู่ในห่วงโซ่อาหาร ซึ่งก่อให้เกิดอันตรายต่อมนุษย์และสิ่งมีชีวิตอื่น ๆ (Clements และคณะ 1994) ดังนั้น ปัจจุบันจึงมีวิธีการกำจัด PAHs อยู่หลายวิธี

แต่วิธีที่เป็นที่นิยมมี 4 วิธี (Manahan, 1993) ได้แก่ 1. วิธีทางกายภาพ เช่น การกรอง การทำให้แห้ง 2. วิธีทางเคมี เช่น ให้สารประกอบ PAHs ทำปฏิกิริยากับสารเคมีอื่น ๆ ให้เปลี่ยนเป็นสารใหม่ที่ไม่เป็นพิษ 3. วิธีการใช้ความร้อน เช่น การเผาที่อุณหภูมิสูง 4. การบำบัดทางชีวภาพ โดยใช้สิ่งมีชีวิต เช่น จุลินทรีย์ต่าง ๆ ที่มีความสามารถในการย่อยสาร PAHs ได้

การบำบัดโดยวิธีทางชีวภาพมีการศึกษากันอย่างกว้างขวาง เนื่องจากเป็นวิธีการที่ประหยัดและสามารถกำจัดสารประกอบ PAHs ได้ค่อนข้างสมบูรณ์โดยการทำงานร่วมกันของจุลินทรีย์หลายชนิดและเป็นกระบวนการที่เป็นอิสระต่อกันในการทำปฏิกิริยากับ PAHs และไม่ก่อให้เกิดสารที่เป็นอันตรายต่อสิ่งแวดล้อม (Heitkamp และคณะ 1987)

จุลินทรีย์หลายชนิดสามารถผลิตเอนไซม์ในการย่อยสลายลิกนินได้ ซึ่งลิกนินเป็นสารที่มีโครงสร้างเป็นวงอะโรมาติก คล้ายกับโครงสร้างของสารประกอบ PAHs โดยเฉพาะพวกเชื้อรากลุ่มไวท์รอทใน Class Basidiomycetes ซึ่งเชื้อราในกลุ่มนี้มีความสามารถในการผลิต ligninolytic enzymes ได้แก่ Lignin peroxidase (LiP) Manganese peroxidase (MnP) และ Laccase หรือ blue copper oxidase ตัวอย่างของเชื้อราในกลุ่มนี้ ได้แก่ *Phanerochaete* sp., *Ganoderma* sp., *Trametes* Versicolor เป็นต้น Laccase เป็นเอนไซม์ที่ทำหน้าที่เป็นตัว catalyze อิเล็กตรอนของฟีนอลให้เป็นอนุมูลฟีนอล phenol radicals ซึ่งทำให้เกิดการทำปฏิกิริยากับวงแหวนของฟีนิล (Kawi และคณะ 1998) ซึ่งแลคเคสไม่เป็น peroxidase ซึ่งต่างจาก Manganese peroxidase แต่ต้องมีสารตัวกลางที่ทำหน้าที่ส่งเสริมความสามารถในการทำปฏิกิริยากับลิกนิน ซึ่งเรียกสารเหล่านี้ว่า mediator (Call และ Mocke 1994)

การศึกษาความแตกต่างของการใช้ตัวช่วยยึดเกาะ เพื่อช่วยเพิ่มการเจริญเติบโตของเชื้อรา ได้แก่ polyurethane foam และ nylon sponge เพื่อการผลิตเอนไซม์ MnP และแลคเคส จากเชื้อรา *Phanerochaete chrysosporium* พบว่า nylon sponge สามารถผลิตแลคเคสได้ดีกว่า polyurethane foam (Rodriguez และคณะ1999) การใช้ mediator 3 ชนิด ได้แก่ ABTS (2,2'-azino-bis(3-ehylbenzthiazoline-6-sulfonic acid)) HBT (Hydroxybenzotriazole) และ phenothiazine ในการย่อย anthracene พบว่า phenothiazine ความเข้มข้น 2 และ 0.005 mM มีความสามารถในการย่อยได้ดีที่สุด (Johannase, 1996) นอกจากนี้ยังมีการศึกษาเรื่องการทำให้บริสุทธิ์ และสมบัติของเอนไซม์จากเชื้อรา *Ophiostoma novo-ulmi* (Thomas และ Giorgio, 1997) การศึกษาผลของพื้นที่ผิวอาหารที่สัมผัสอากาศ รอบการเขย่า อุณหภูมิ ความเป็นกรดด่างที่เหมาะสมในการเลี้ยง และปริมาณหัวเชื้อเริ่มต้น เพื่อดูทั้งการเจริญเติบโตของกลุ่มเส้นใยของเชื้อรา *Ganoderma lucidum* ในระดับห้องปฏิบัติการ (Yang และ Liau, 1992) พร้อมทั้งการทำให้บริสุทธิ์ และคุณสมบัติของแลคเคสที่ผลิตจากเชื้อรา *Ganoderma lucidum* (Ko และคณะ 2001)

วัตถุประสงค์

เพื่อศึกษาการเจริญของเชื้อ *Ganoderma* sp. บนอาหารแข็ง และอาหารเหลว ศึกษาความเข้มข้นของ Cu^{2+} ต่อการผลิตแลคเคส ตัวช่วยยึดเกาะที่มีผลต่อการผลิตแลคเคส ศึกษาการทำเอนไซม์ให้บริสุทธิ์บางส่วน ด้วยวิธีอัลตราฟิลเตชัน การตกตะกอนโปรตีน แอนไอออนเอกซ์เชนจ์โครมาโทกราฟี ศึกษาจลนพลศาสตร์ของแลคเคส โดยศึกษาความเป็นกรดด่างที่เหมาะสมต่อการทำงานของแลคเคส อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการทำงานของแลคเคส และการนำเอนไซม์ไปใช้ในการสลายทางชีวภาพสารประกอบ PAHs

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

เพื่อให้ได้ภาวะที่ดีในการผลิตแลคเคส และการทำให้บริสุทธิ์บางส่วน รวมถึงข้อมูลในการย่อยสลายสารประกอบ PAHs เพื่อนำไปประยุกต์ใช้ในการกำจัดสารประกอบระดับอุตสาหกรรม

ขอบเขตการวิจัย

คัดเลือกเชื้อรา *Ganoderma* sp. 5 สายพันธุ์ นำมาศึกษาสภาวะที่ดีในการผลิตแลคเคส การทำให้บริสุทธิ์บางส่วน เพื่อนำไปทดสอบการย่อยสลายสารประกอบ PAHs