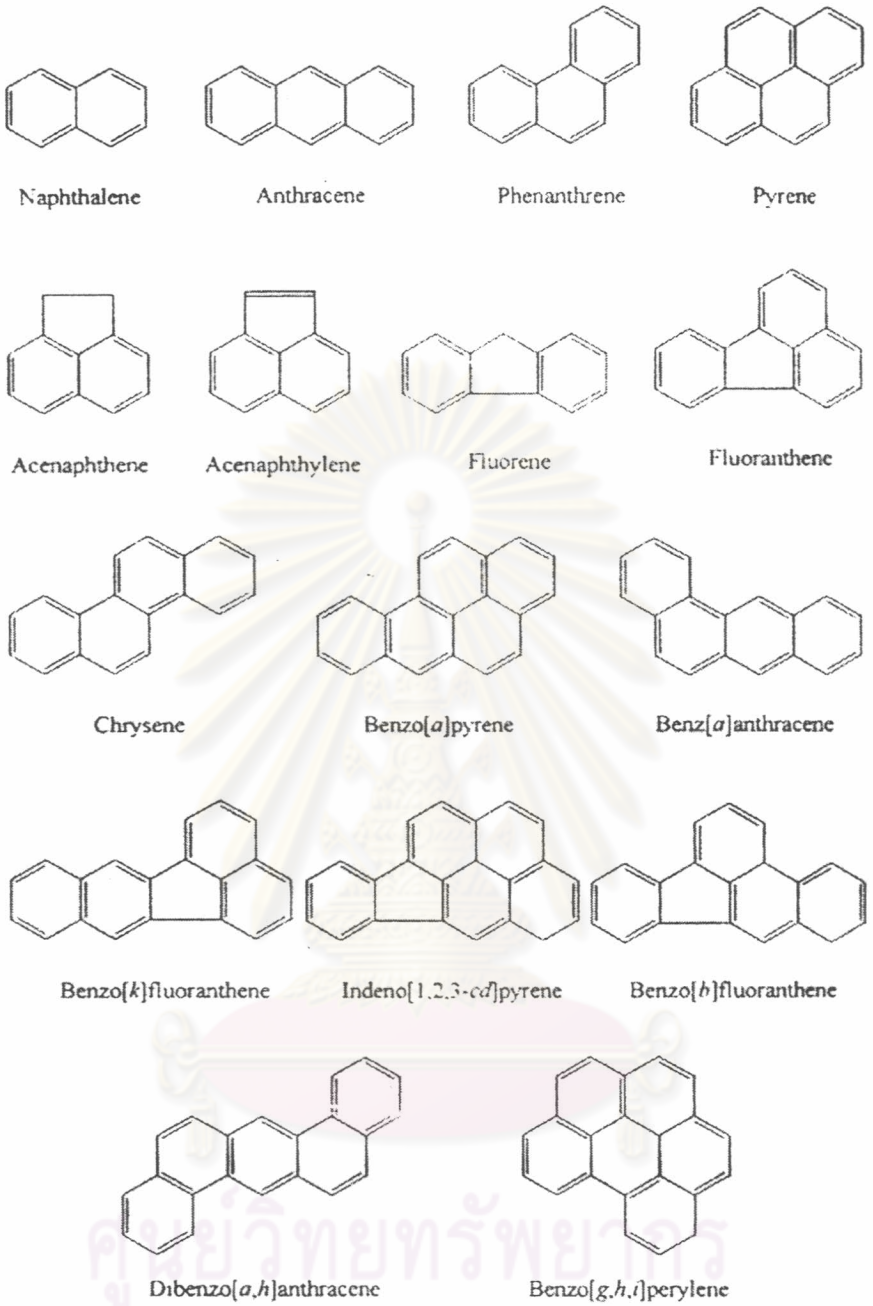
บทที่ 2

ปริทัศน์วรรณกรรม

สารประกอบพอลิไซคลิกอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอน (PAHs) เป็นสารประกอบอินทรีย์ ที่ปนเปื้อนกระจายอยู่ทั่วไปในสิ่งแวดล้อม ทั้งในดิน อากาศ แหล่งน้ำ หรือแม้แต่ในอาหาร สาเหตุการปนเปื้อนของสาร PAHs ที่สำคัญคือกิจกรรมต่างๆ ของมนุษย์ โดยเฉพาะอย่างยิ่งกระบวนการการเผาไหม้เชื้อเพลิงที่เกิดขึ้นไม่สมบูรณ์ กระบวนการสลายสารอินทรีย์ที่อุณหภูมิสูง (pyrolytic processes) การรั่วซึมของน้ำมันปิโตรเลียมระหว่างการจัดเก็บหรือขนส่ง การเผากำจัดขยะของเสีย การใช้ความร้อนในการประกอบอาหารภายในครัวเรือน นอกจากนี้ยังใช้เป็นส่วนประกอบหลักในครีโอโสท (ประมาณร้อยละ 85 ของสาร PAHs โดยน้ำหนัก) น้ำมันแอนทราซีน ซึ่งใช้เป็นยาฆ่าแมลงในการรักษาเนื้อไม้ มักนำมาใช้ในงานวิจัย การผลิตสี พลาสติก (ATSDR, 1990) และอาจเกิดจากกระบวนการทางธรรมชาติ เช่นการเกิดความร้อนในชั้นใต้ดิน การรั่วซึมของน้ำมันจากชั้นใต้ดิน ไฟไหม้ป่า ภูเขาไฟระเบิด เป็นต้น (Juhasz และ Naidu. 2000) ดังนั้นบริเวณที่พบว่ามีการปนเปื้อนสารเหล่านี้ส่วนใหญ่จะอยู่ในเขตชุมชนเมือง แหล่งอุตสาหกรรมต่างๆ และบริเวณใกล้เคียง (Johnsen และคณะ, 2005) สาร PAHs ตกค้างและสะสมในสิ่งแวดล้อมได้เป็นเวลานาน เนื่องจากมีโครงสร้างโมเลกุลที่เสถียรและละลายน้ำได้น้อยและดูดซับกับสารอินทรีย์อื่นที่อยู่ในดินได้อย่างรวดเร็ว ทำให้สาร PAHs สลายตัวได้ช้ามากและปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อมเป็นเวลานาน (Grosser และคณะ, 1991)

สำนักงานคุ้มครองสิ่งแวดล้อมแห่งสหรัฐอเมริกา (The U.S. environmental protection agency; USEPA) ได้จัดความสำคัญให้สารประกอบในกลุ่ม PAHs ทั้ง 16 ชนิดว่าเป็นสารที่ทำให้เกิดมลพิษในระดับต้นๆ (Habe และ Omori, 2003) ดังแสดงไว้ในรูปที่ 2.1

โครงสร้างโมเลกุลของสาร PAHs เกิดจากการรวมตัวกันระหว่างวงอะโรมาติก ตั้งแต่ 2 วงขึ้นไป การจัดเรียงตัวอาจเป็นเส้นตรง มุมงอหรือรวมเป็นกลุ่ม ซึ่งความหนาแน่นของหมอกอิเล็กตรอนพันธะไพของโมเลกุลนั้น มีผลต่อคุณสมบัติทางเคมีกายภาพ (ตารางที่ 2.1) ทำให้สาร PAHs มีความเสถียรและทนต่อการเกิดปฏิกิริยา รวมทั้งมีความสามารถในการละลายน้ำต่ำ ส่งผลต่อการนำสาร PAHs ไปใช้โดยสิ่งมีชีวิต (bioavailability) และส่งเสริมให้มีการสะสมในวัฏภาคของแข็งในสิ่งแวดล้อมเป็นเวลานาน (Johnsen และคณะ, 2005)



รูปที่ 2.1 โครงสร้างสาร PAHs ทั้ง 16 ชนิด (USEPA, 1990)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 2.1 สมบัติทางเคมีของสาร PAHs

สาร PAHs	ชื่อย่อ	สูตรทางเคมี	น้ำหนักโมเลกุล[a]	การละลายน้ำที่ 25°C (mg/L)[b]	log K_{ow} [b]
แนพธาลีน	NAP	$C_{10}H_8$	128.18	32	3.36
อะซีแนพธิลีน	ACT	$C_{12}H_8$	152.20	3.93	4.07
อะซีแนพธีน	ACN	$C_{12}H_8$	152.22	1.93	3.98
ฟลูออรีน	FLU	$C_{13}H_{10}$	166.23	1.68-1.98	4.18
ฟีแนนทรีน	PHE	$C_{14}H_{10}$	178.24	1.0–1.3	4.46
แอนทราซีน	ANT	$C_{14}H_{10}$	178.24	0.076	4.45
ฟลูออแรนทีน	FLR	$C_{16}H_{10}$	178.24	0.2-0.26	4.90
ไพรีน	PYR	$C_{16}H_{10}$	202.26	0.077	4.88
เบนโซ[เอ]แอนทราซีน	B[*a*]A	$C_{18}H_{12}$	228.30	0.01	5.61
ไครซีน	CHY	$C_{18}H_{12}$	228.30	0.0028	5.16
เบนโซ[บี]ฟลูออแรนธีน	B[*b*]F	$C_{20}H_{12}$	252.32	0.0012	6.04
เบนโซ[เค]ฟลูออแรนธีน	B[*k*]F	$C_{20}H_{12}$	252.32	0.00076	6.06
เบนโซ[เอ]ไพรีน	B[*a*]P	$C_{20}H_{12}$	252.32	0.0023	6.50
เบนโซ[จี,เอช,ไอ]เพอริลีน	BPe	$C_{22}H_{12}$	276.34	0.00026	7.00
อินดิโน[1,2,3-ซีดี]ไพรีน	I[*cd*]P	$C_{22}H_{12}$	276.34	0.062	6.58
ไดเบนซ์[เอ,เอช]แอนทราซีน	dBAn	$C_{22}H_{14}$	278.36	0.0005	6.84

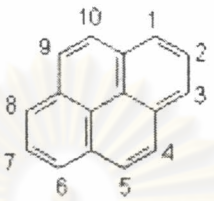
[a]Schirmer และคณะ, 1998.

[b]ATSDR, 1995.

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ไพรีน (pyrene)

ไพรีน เป็นหนึ่งในสารประกอบ PAHs มีชื่อเรียกทางเคมีว่า **เบนโซ[ดี, อี, เอฟ]ฟีแนนทรีน** (benzo[*d*,*e*,*f*]phenanthrene) ซึ่งเกิดจากการรวมตัวของวงอะโรมาติก 4 วง โดยมีการจัดเรียงตัวเป็นกลุ่ม (cluster arrangement) ดังแสดงในรูปที่ 2.2



รูปที่ 2.2 โครงสร้างโมเลกุลของไพรีน

สมบัติทางเคมีกายภาพ (ATSDR, 1995)

สูตรโมเลกุล	$C_{16}H_{10}$
น้ำหนักโมเลกุล	202.3
ลักษณะปรากฏ	ผลึกสีขาวหรือสีเหลืองอ่อน
อุณหภูมิหลอมเหลว	156 °ซ
อุณหภูมิการกลายเป็นไอ	393-404 °ซ
ความหนาแน่นที่ 14° ซ	1.271 กรัมต่อ ตร.ซม.
ความถ่วงจำเพาะที่ 23° ซ	1.271
การละลาย	
ในน้ำ	0.077 กรัมต่อลิตร ที่ 25°ซ
ในตัวทำละลาย	เบนซีน ไดเอทธิลอีเทอร์ อีเทอร์ ปิโตรเลียมอีเทอร์ โทลูอีน เอทธานอล คาร์บอนไดซัลไฟด์
สัมประสิทธิ์แบ่งการละลาย	
Log K_{ow}	4.88
Log K_{oc}	4.58
ความดันไอที่ 25°ซ	2.5×10^{-6} มม.ปรอท

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ความเป็นพิษของสาร PAHs

สารประกอบ PAHs สามารถกระจายทั่วไปในสิ่งแวดล้อมและคงตัวอยู่เป็นเวลานาน เป็นสารที่ก่อให้เกิดความเป็นพิษในระดับยีน (genotoxic) และเป็นสารที่ชักนำให้เกิดมะเร็ง (carcinogenic) (Shuttleworth และ Cerniglia, 1995)

ร่างกายมนุษย์สามารถดูดซึมสาร PAHs เข้าสู่ร่างกายและสะสมอยู่ในอวัยวะภายในได้ เนื่องจากการสูดดมอากาศอนุภาคฝุ่นละออง การรับประทานอาหารหรือเครื่องดื่มที่มีการปนเปื้อน หรือการสัมผัสโดยตรงทางผิวหนัง ทำให้สามารถตรวจพบสาร PAHs หรือเมตาบอไลท์ในเนื้อเยื่อและสิ่งขับถ่ายต่างๆ เช่น 1-ไฮดรอกซีไพรีน (1-hydroxy pyrene), เบนโซ[*เอ*]ไพรีน 7,-8- ไดออล (benzo[*a*]pyrene7,-8-diol) และ 3-ไฮดรอกซีเบนโซ[*เอ*]ไพรีน (3-hydroxybenzo[*a*]pyrene) เป็นต้น สารเหล่านี้มีสมบัติเป็นลิโปฟิลิก (lipophilic) เมื่อ PAHs เข้าสู่ร่างกายแล้วจะกระจายไปยังเนื้อเยื่อชั้นไขมันและอวัยวะภายในที่ประกอบด้วยเนื้อเยื่อที่มีกลุ่มของเซลล์ไขมัน (adipose tissues) อยู่เป็นจำนวนมาก เช่นตับ ไต เยื่อบุทางเดินหายใจ โดยเฉพาะบริเวณเยื่อบุทางเดินอาหารจะพบปริมาณสารไฮโดรคาร์บอนและสารเมแทบอไลต์สูงกว่าบริเวณอื่น สารเมแทบอไลต์ของ PAHs บางส่วน สามารถขับออกจากร่างกายผ่านทางปัสสาวะหรืออุจจาระ จึงถูกใช้เป็นตัวติดตามปริมาณ PAHs ทางชีวภาพ (biomarker) ที่ร่างกายได้รับ (Sul และคณะ, 2003) จากการศึกษาที่ผ่านมา พบว่าสาร PAHs ดังกล่าวมีความเป็นพิษทั้งแบบเฉียบพลันและแบบเรื้อรังต่อสิ่งมีชีวิต เป็นสารเหนี่ยวนำให้เกิดการกลายพันธุ์ (mutation) สารก่อให้เกิดมะเร็ง (carcinogen) และทำให้เกิดความผิดปกติของทารกในครรภ์ (teratogen) (Wilson และ Jones, 1993; ASDTR, 1990)

Samanta และคณะ (2002) รายงานว่า ฟีแนนทรีนเป็นสารที่ทำให้เกิดภูมิแพ้ที่ไม่รุนแรงและเหนี่ยวนำให้เกิดการกลายพันธุ์ในแบคทีเรีย เป็นสารที่ชักนำให้ sister chromatid เกิดการเปลี่ยนแปลงอย่างอ่อน อะซีแนพธีนเป็นสารที่ก่อให้เกิดมะเร็ง (Leaderer, 1985) และก่อให้เกิดการกลายพันธุ์ ซึ่งมีผลต่อเซลล์ตับและไตของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม ทำให้เกิดกลายพันธุ์ในแมลง *Candida scothii* (Imshenetskii และคณะ, 1985)

สำนักงานวิจัยมะเร็งนานาชาติ (The International Agency for Research Cancer; IARC, 1999) ได้แบ่งกลุ่มสาร PAHs ออกเป็น 3 กลุ่มตามการออกฤทธิ์ในการก่อมะเร็ง (อ้างโดย Sul และคณะ, 2003) ดังนี้

กลุ่ม 2A สารที่น่าจะก่อมะเร็งในมนุษย์ได้สูงกว่ากลุ่มอื่นๆ มี 3 ชนิด ได้แก่ เบนโซ[*เอ*]แอนทราซีน, เบนโซ[*เอ*]ไพรีน และไดเบนซ์[*เอ,เอช*]แอนทราซีน

กลุ่ม 2B สารที่อาจจะก่อมะเร็งในมนุษย์มี 11 ชนิด ได้แก่ แนพธาลีน, เบนโซ [*บี*] ฟลูออแรนธีน, เบนโซ[*เค*]ฟลูออแรนธีน, เบนโซ[*เจ*]ฟลูออแรนธีน, ไดเบนโซ[*เอ,เอช*]ไพรีน, ไดเบนโซ[*เอ,แอล*]ไพรีน, ไดเบนโซ[*เอ,อี*]ไพรีน, ไดเบนโซ[*เอ,ไอ*]ไพรีน, ไดเบนโซ[*เอ,เอช*]อะคริดีน, ไดเบนโซ[*เอ,เจ*]อะคริดีนและอินดิโน[*1,2,3-ซีดี*]ไพรีน

กลุ่ม 3 สารที่ไม่ก่อมะเร็งในมนุษย์มี 23 ชนิด ได้แก่ ไตรฟีนิลีน, ฟีแนนทรีน, แอนทราซีน, ฟลูออรีน, ฟลูออแรนธีน, ไพรีน, ไครซีน, โครินีน, เพอริลีน, เบนโซ[*เอ*]อะคริดีน, เบนโซ[*ซี*]อะคริดีน, เบนโซ [*จี,เอช,ไอ*]ฟลูออแรนธีน, เบนโซ [*เอ*]ฟลูออรีน, เบนโซ [*บี*]ฟลูออรีน, เบนโซ [*ซี*]ฟลูออรีน, เบนโซ [*จี,เอช,ไอ*]เพอริลีน, เบนโซ [*ซี*]ฟีแนนทรีน, เบนโซ[*อี*]ไพรีน, ไซโคลเพนทะ[*ซี,ดี*]ไพรีน, ไดเบนซ์[*เอ,ซี*]แอนทราซีน, ไดเบนโซ[*เอ,เจ*]แอนทราซีน, ไดเบนโซ[*เอ,อี*]ฟลูออแรนธีน และไดเบนโซ[*เอช,อาร์,เอส,ที*]เพนทะฟีน

ความเป็นพิษของไพรีน

แม้ว่าหน่วยงานคุ้มครองสิ่งแวดล้อมของสหรัฐอเมริกาไม่ได้ระบุให้ไพรีนเป็นที่สาเหตุก่อให้เกิดมะเร็งในมนุษย์ แต่สามารถทำให้เกิดการระคายเคืองผิวหนังบริเวณที่สัมผัสกับสารโดยตรง (skin irritant) มีรายงานในสัตว์ทดลอง โดย Kochevar และคณะ (1982) พบว่าไพรีนทำให้เกิดอาการแพ้แสงของผิวหนังอย่างรุนแรงในหนูตะเภา จากการศึกษาการแพ้แสงของสารประกอบ 8 ชนิดที่มีอยู่ในน้ำมันดิบ ความเข้มข้น 5 มิลลิไมโครโมล โดยการป้ายสารละลายเหล่านี้บนผิวหนังของหนูตะเภาแล้วฉายด้วยแสงอัลตราไวโอเลตพบว่าไพรีนทำให้เกิดอาการอักเสบบวมแดงของผิวหนังได้มากที่สุด นอกจากนี้ Randerath และคณะ (1997) พบว่าการป้อนไพรีนให้หนู mice ทำให้เกิดความผิดปกติของเลือด น้ำหนักไตลด น้ำหนักตับเพิ่ม และท่อกรวยไตเสื่อมสภาพ ทำให้ตับมีไขมันมาเกาะมาก แต่มีบางรายงานที่สามารถพบมะเร็งผิวหนัง และมีค่า oral LD_{50} เท่ากับ 800 มก.ต่อกก. (Patnaik, 1992)

การกระจายของ PAHs ในสิ่งแวดล้อม

สาร PAHs เข้าสู่สิ่งแวดล้อมได้หลายทางทั้งจากธรรมชาติ เช่น การรั่วซึมของน้ำมันดิบจากแหล่งน้ำมันใต้ดินทำให้สาร PAHs ปนเปื้อนในแหล่งน้ำธรรมชาติและดิน ไฟไหม้ป่า ภูเขาไฟระเบิด และจากการกระทำของมนุษย์ที่สำคัญคือ การเผาไหม้ที่เกิดไม่สมบูรณ์ นับเป็นกิจกรรมสำคัญที่เป็นสาเหตุการแพร่กระจายของสาร PAHs สู่สิ่งแวดล้อม โดยเฉพาะการใช้น้ำมันดิบ เชื้อเพลิงฟอสซิล การกลั่นน้ำมันปิโตรเลียม และผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ ที่ได้จากน้ำมันดิบ ซึ่งใช้เป็น

เชื้อเพลิงหลักในปัจจุบัน (Jones และคณะ, 1989) เขม่าควันจากท่อไอเสียรถยนต์นอกจากนี้พบว่าในควันบุหรี่ประกอบด้วยสาร PAHs ที่สำคัญหลายชนิด รวมทั้งสาร PAHs ที่เป็นสารก่อมะเร็ง ซึ่งเกิดจากการเผาไหม้ของกรดอะมิโนฟีนิลอะลานีนที่เป็นองค์ประกอบหลักในบุหรี่และชาที่ใช้ดื่ม (Grimmer และคณะ, 1977, Neurath, 1972, Wang และคณะ, 2004, Fiedler และคณะ, 2002)

โดยทั่วไป ไพรีนกระจายตัวอยู่ในวัฏภาคแก๊ส (gas phase) ในขณะที่เบนโซ[เอ]ไพรีนและเบนโซ[อี]ไพรีน เพียง 25% และ 21% เท่านั้นที่อยู่ในวัฏภาคดังกล่าว (Garivait และคณะ, 2002a.) สารประกอบ PAHs ที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำส่วนใหญ่มักจะอยู่ในวัฏภาคแก๊ส ในขณะที่สารประกอบ PAHs ที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูงจะอยู่ในรูปฝุ่นละอองเกือบทั้งหมด โดยพบว่า 30-60% โดยน้ำหนักสาร PAHs อยู่ในรูปฝุ่นละอองที่มีขนาดเล็กกว่า 0.43 ไมครอนและมากกว่า 70% เป็นฝุ่นละอองที่มีขนาดเล็กกว่า 2.1 ไมครอน (Garivait และคณะ. 2002b.)

อินทรียวัตถุในดินมีความสำคัญต่อการยึดเกาะระหว่าง PAHs ภายในอนุภาคดิน (Wilcke และคณะ, 1999) การดูดซับสาร PAHs มีความสัมพันธ์กับโมเลกุลที่ดูดซับอยู่กับอนุภาคดิน การดูดซับจะดีหรือไม่นั้นขึ้นอยู่กับสมบัติไฮโดรโฟบิกของสารและความเข้มข้นที่ละลายอยู่ในน้ำ PAHs จะถูกดูดซับเนื่องจากแร่ธาตุและอินทรีย์วัตถุที่ประกอบด้วยบริเวณที่ชอบน้ำและไม่ชอบน้ำ จึงสามารถจับกับสารประกอบที่มีขั้วหรือมีประจุและสารไม่มีขั้วได้

การปนเปื้อนสาร PAHs ในสิ่งแวดล้อมสำหรับประเทศไทย

ในประเทศไทย สาเหตุการปนเปื้อนของสาร PAHs ในสิ่งแวดล้อม พบว่ากว่า 91% เกิดจากกระบวนการสันดาปของน้ำมันเชื้อเพลิงที่ไม่สมบูรณ์ สาร PAHs กระจายอยู่ในอากาศ โดยสามารถรวมตัวกับฝุ่นละออง เขม่าควัน และสะสมอยู่ในอนุภาคดิน โดยเฉพาะบริเวณที่มีการจราจรหนาแน่น ย่านธุรกิจการค้าและอุตสาหกรรม จากการศึกษาตัวอย่างดินบริเวณริมถนนในตัวเมืองจังหวัดเชียงใหม่ ในปี 1999 สามารถตรวจวัดปริมาณไพรีนได้ที่ความเข้มข้น 168 นาโนกรัมในดิน 1 กรัม นอกจากนี้ยังพบฟลูออแรนทีน เบนโซ[จี,*เอช*,*ไอ*]เพอริลีนและโครินีน ได้ที่ความเข้มข้น 146, 97.7 และ 93.8 นาโนกรัมในดิน 1กรัม ตามลำดับ แต่ปริมาณสาร PAHs ในดินที่พบแตกต่างจากที่พบในอากาศ กล่าวคือ ปริมาณฟลูออแรนทีน ไพรีน ไครซีนและโครินีนที่พบในดินมีสูงกว่าในอากาศ ทั้งนี้เนื่องจากความแตกต่างในการเกิด photochemical reactivity และแหล่งกำเนิดของสาร PAHs (Amagai และคณะ, 1999)

Panther และคณะ (1996) เก็บตัวอย่างอากาศจากบริเวณจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพฯ ในระหว่างเดือน มีนาคม พ.ศ. 2536 จนถึงเดือน มีนาคม พ.ศ.2537 ตรวจพบไพรีนเฉลี่ย

0.55 นาโนกรัมต่อลบ.ม.และมีสาร PAHs ชนิดอื่นอีก 19 ชนิด ความเข้มข้นเฉลี่ยตั้งแต่ 0.125 – 1.875 นาโนกรัมต่อลบ.ม. โดยพบเบนโซ[เอ]ไพรีน อะซีแนพธิลีน อะซีแนพธีน และเบนโซ[จี,เอช,ไอ]เพอริลีน มีปริมาณเข้มข้นมากที่สุดตามลำดับ

Wilcke และคณะ (1999) ศึกษาตัวอย่างดินบริเวณถนนสายหลักในเขตกรุงเทพมหานคร พบสาร PAHs รวมทั้งหมดราว 20 ชนิด ที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 12-380 ไมโครกรัมในตัวอย่างดิน 1 กิโลกรัม โดยพบแนพธาลีนในปริมาณสูงสุด (145.2 ไมโครกรัมในตัวอย่างดิน 1 กิโลกรัม) รองลงมาได้แก่ เพอริลีน (136.4 ไมโครกรัมในตัวอย่างดิน 1 กิโลกรัม) เบนโซ[จี,เอช,ไอ]เพอริลีน (58.9 ไมโครกรัมในตัวอย่างดิน 1 กิโลกรัม) ฟีแนนทรีน (60.8 ไมโครกรัมในตัวอย่างดิน 1 กิโลกรัม) และไพรีน (48.3ไมโครกรัมในตัวอย่างดิน 1 กิโลกรัม)

Kim-Oanh และคณะ (2000) พบว่าตัวอย่างอากาศที่เก็บในเขตกรุงเทพมหานครและปริมณฑลมีความเข้มข้นของเบนโซ[จี,เอช,ไอ]เพอริลีนและโครินีนสูง ความเข้มข้นดังกล่าวสอดคล้องกับระยะห่างจากถนนที่มีการจราจรหนาแน่น

การปนเปื้อนสาร PAHs ในอนุภาคดิน

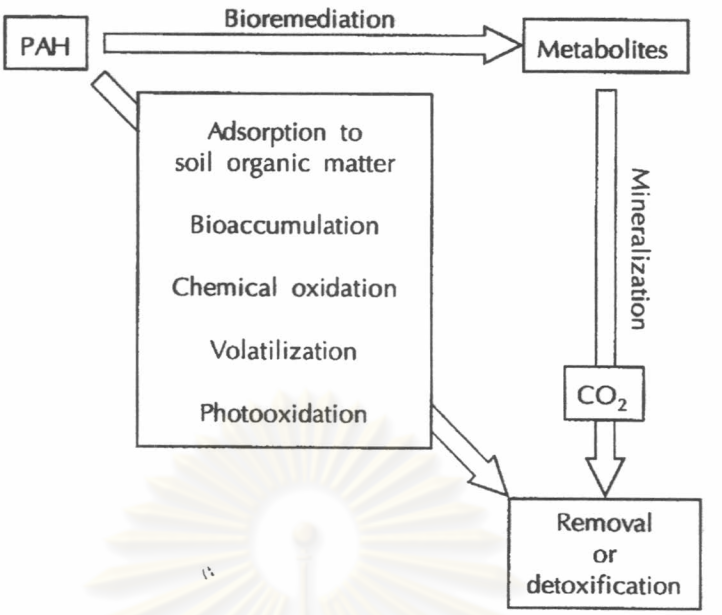
ดินเป็นแหล่งที่อยู่ของสิ่งมีชีวิตที่มีความซับซ้อนและมีความหลากหลายทางด้านปัจจัยทางเคมีและกายภาพ ซึ่งมีผลต่อการนำสารประกอบอินทรีย์ที่มีสมบัติไฮโดรโฟบิกไปใช้ประโยชน์โดยจุลินทรีย์ที่อาศัยอยู่ในดิน (Straube และคณะ, 1999) โดยการปนเปื้อนสาร PAHs หรือสารประกอบอินทรีย์ในดินมีรูปแบบการอยู่ร่วมกันภายในอนุภาคดินหรือฮิวมัสที่แตกต่างกันออกไป การปนเปื้อนในอนุภาคดินอาจเกิดจากสมบัติทางกายภาพ เช่น ส่วนที่เป็นของแข็งปะปนในอนุภาคดินหรือการที่อนุภาคดินถูกเคลือบด้วยของเหลว หรือดูดซับอยู่กับอนุภาคดิน ซึ่งสารปนเปื้อนจะสามารถถูกชะออกจากอนุภาคดินได้ง่ายโดยอาศัยตัวทำละลายอินทรีย์ หากมีการปนเปื้อนของสาร PAHsในดินเป็นเวลานาน ดินจะสามารถดูดซับสารปนเปื้อนนั้นไว้ โดยการดูดซึมและแทรกอยู่ระหว่างชั้นน้ำตามช่องว่างภายในอนุภาคดิน ทำให้สารปนเปื้อนถูกชะละลายออกมาได้น้อยและหากสารปนเปื้อนจับกับอนุภาคดินโดยอาศัยพันธะทางเคมี จะทำให้สารถูกชะออกมาได้ยากยิ่งขึ้น เนื่องจากอาจเกิดการเปลี่ยนแปลงลักษณะโครงสร้าง สมบัติทางเคมีของโมเลกุลสาร ทำให้สารอยู่ในรูป bound residue หรืออาจเกิดจากสารประกอบหรือสารที่ได้จากกระบวนการย่อยสลายรวมตัวกับสารที่เกิดจากกระบวนการภายในดินโดยกระบวนทางเคมีกายภาพ ซึ่ง bound residue ที่เกิดขึ้นนี้ทำให้จุลินทรีย์หรือสิ่งมีชีวิตในดินนำไปใช้ประโยชน์ได้น้อยกว่าในรูปแบบอื่นๆ (Verstraete และ Devliegher, 1996) แสดงให้เห็นว่ารูปแบบการปนเปื้อนของสาร PAHs มีผลต่อการบำบัดสาร PAHs โดยวิธีทางชีวภาพ

Kästner และคณะ (1999) สรุปสาเหตุการเกิด bound residues ไว้ดังนี้

1. สารเมตาบอไลท์ที่เกิดจากการย่อยสลายจะถูกออกซิไดส์และเข้ารวมตัวกับสารประกอบฟีนอลิก เกิดเป็นสารที่มีโมเลกุลขนาดใหญ่คล้ายกับกรดฮิวมิกในดิน
2. คาร์บอนไดออกไซด์ที่เกิดจากการย่อยสลายสาร PAHs อย่างสมบูรณ์เนื่องจากกิจกรรมของจุลินทรีย์ในดินอาจถูกตรึงอยู่ในอนุภาคดิน
3. สาร PAHs ที่ปนเปื้อนตั้งแต่เริ่มต้นจะถูกเกาะติดอยู่ในอนุภาคดิน

สาร PAHs ส่วนใหญ่สามารถดูดซับกับอินทรียวัตถุที่อยู่ในดิน ทำให้สาร PAHs ไม่ถูกย่อยสลายโดยกระบวนการทางชีวภาพ การดูดซับระหว่างสาร PAHs และอินทรียวัตถุจะเพิ่มขึ้น เมื่อวงอะโรมาติกของโมเลกุลสาร PAHs มีจำนวนมากขึ้น ทำให้โมเลกุลดังกล่าวมีสมบัติไลโปฟิลิกเพิ่มขึ้น นอกจากนี้ความสามารถในการถูกย่อยสลายและสกัดสาร PAHs ออกจากอินทรียวัตถุในดินเกิดยากขึ้น สาร PAHs จึงมีโอกาสสัมผัสกับอนุภาคดินได้นานขึ้น โดยสาร PAHs จะแพร่เข้าสู่อินทรียวัตถุอย่างช้าๆ และทำให้ถูกดูดซับกับอนุภาคดินได้แน่นขึ้น อาจเกิด bound residues และการตรึงสาร PAHs ภายในรูพรุนขนาดเล็กของอนุภาคดินหรืออินทรียวัตถุได้ ซึ่งเป็นเหตุผลที่ทำให้สาร PAHs ถูกสะสมอยู่ในสิ่งแวดล้อมได้เป็นเวลานาน (Wiessenfels และคณะ, 1992; Lundstedt, 2003) เมื่อไพรีนและสาร PAHs เข้าสู่สิ่งแวดล้อม อาจเกิดการเปลี่ยนแปลงโดยกระบวนการต่างๆ ทั้งทางด้านเคมีและกายภาพ (รูปที่ 2.3) ได้แก่ การระเหยกลายเป็นไอ (volatilization) การเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของแสง (photo-oxidation) การเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันทางเคมี (chemical oxidation) การสะสมสารอยู่ภายในสิ่งมีชีวิต (bioaccumulation) หรือการดูดซับโดยอนุภาคของดิน (adsorption) เป็นต้น (Cerniglia, 1992) ซึ่งสมบัติของดินที่แตกต่างกันเป็นปัจจัยสำคัญในการบำบัดสาร PAHs ที่ปนเปื้อนในดินด้วยวิธีทางชีวภาพ สมบัติดังกล่าวได้แก่ องค์ประกอบของอินทรียวัตถุในดิน โครงสร้างและอนุภาคของดิน ซึ่งมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงสาร PAHs ในสิ่งแวดล้อมและอัตราการย่อยสลายโดยจุลินทรีย์ (Wilson และ Jones, 1993)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 2.3 กระบวนการที่มีอิทธิพลต่อสาร PAHs ในสิ่งแวดล้อม (Cerniglia.1993)

Bollag และคณะ (1999) กล่าวว่าการย่อยสลายสารอินทรีย์สังเคราะห์โดยแบคทีเรีย จะได้สารเมตาโบไลท์ซึ่งมีลักษณะคล้ายกับกรดฮิวมิค (humic acid) และสามารถจับกับอินทรียวัตถุที่มีอยู่ในดินได้ดีกว่าสารตั้งต้นเดิม (parent chemical) ซึ่งการดูดซับระหว่างสารอินทรีย์สังเคราะห์กับอินทรียวัตถุในดิน ทำให้แบคทีเรียไม่สามารถนำสารดังกล่าวไปใช้ได้ (Ressler และคณะ, 1999)

Nieman และคณะ (1998) รายงานว่าไพรีนและผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการเปลี่ยนรูปของไพรีน จะรวมตัวกับอนุภาคของสารอินทรีย์เกิดกระบวนการสร้างสารฮิวมิกในดิน ทำให้ไพรีนถูกดูดซับอยู่ในดินและจุลินทรีย์ย่อยสลายได้ยากขึ้น นอกจากจะคำนึงถึงชนิดและความสามารถของจุลินทรีย์ที่นำมาใช้ในการบำบัดแล้ว ยังต้องคำนึงถึงระยะเวลาที่ไพรีนอยู่ในแหล่งปนเปื้อนนั้นด้วย เพราะหากปล่อยไว้นานก็จะทำให้การบำบัดยากขึ้น เนื่องจากไพรีนจะจับกับอนุภาคอินทรียวัตถุในดิน ด้วยพันธะโควาเลนซ์ได้แน่นยิ่งขึ้นตามเวลา (270 วัน) ทำให้สกัดออกมายากขึ้นและถูกย่อยสลายโดยจุลินทรีย์ได้น้อยลง เพราะโอกาสสัมผัสกันระหว่างจุลินทรีย์และไพรีนก็ลดลงตามเวลา รวมถึงสารมัธยันต์ที่เกิดจากการย่อยสลายไพรีนด้วยเช่นกัน (Gothrie และ Pfeaender, 1998)

สัมประสิทธิ์การดูดซับในดิน (soil adsorption coefficient)

การดูดซับสารเคมีในดินสามารถแสดงโดยค่าสัมประสิทธิ์การกระจายตัวของสารเคมีระหว่างดินและน้ำ (partition coefficient, K_d)

$$K_d = \frac{C_s}{C_d}$$

โดย C_s เป็นความเข้มข้นสารเคมีในดิน (ไมโครกรัมของสารที่ถูกดูดซับต่อกรัมของดิน)

C_d เป็นความเข้มข้นสารเคมีในน้ำ (ไมโครกรัมของสารที่ละลายน้ำต่อกรัมของน้ำ หรือ ไมโครกรัมของสารที่ละลายน้ำต่อลิตร)

เนื่องจากการดูดซับของสารเคมีในดิน ส่วนใหญ่เป็นการดูดซับโดยสารอินทรีย์ของธาตุคาร์บอน (organic carbon) ดินต่างชนิดกันจะมีส่วนประกอบที่แตกต่างกันอย่างมาก โดยเฉพาะส่วนประกอบที่เป็นสารอินทรีย์ของธาตุคาร์บอน ดินที่มีปริมาณสารอินทรีย์ของธาตุคาร์บอนสูงก็สามารถดูดซับสารเคมีที่ปนเปื้อนเอาไว้ได้มาก จึงทำให้ค่าสัมประสิทธิ์การกระจายตัวของสารเคมีระหว่างดินและน้ำในดินต่างชนิดกันมีค่าแตกต่างกัน ดังนั้นการหาค่าดูดซับสารเคมีในดินจึงนำเอาเปอร์เซ็นต์ของสารอินทรีย์ของธาตุคาร์บอนมาใช้ในการคำนวณได้เป็นค่าสัมประสิทธิ์การดูดซับ (adsorption coefficient, K_{oc})

$$K_{oc} = \frac{Kd \times 100}{\%\ oc}$$

โดย %oc เป็นร้อยละของสารอินทรีย์ของธาตุคาร์บอนที่มีอยู่ในดิน

สมบัติของแบคทีเรียที่มีผลต่อการย่อยสลายสาร PAHs ในสิ่งแวดล้อม

มีรายงานจำนวนมาก บ่งชี้ว่าแบคทีเรียหลายชนิดมีความสามารถในการปรับตัวให้เข้ากับสิ่งแวดล้อมที่มีสารเคมีที่มีสมบัติไฮโดรโฟบิก ซึ่งโดยทั่วไปการนำสารประกอบเหล่านี้ไปใช้ในการเจริญอาจจะไม่เหมาะสมหรือง่ายนัก จากหลักฐานทางการทดลองและทฤษฎีแสดงให้เห็นว่า การย่อยสลายสาร PAHs จำเป็นต้องอาศัยกลไกต่างๆ ของแบคทีเรียเพื่อช่วยส่งเสริมการนำสารไปใช้ประโยชน์ (Wick และคณะ, 2002) ได้แก่ระบบการนำสารผ่านเข้าออกเซลล์ที่มีสัมพรรคภาพสูง (high-affinity uptake systems) ความสามารถในการยึดเกาะกับสับสเตรทที่เป็นของแข็ง (adhesion to the solid substrate) และการสร้างและปลดปล่อยสารลดแรงตึงผิวทางชีวภาพ (biosurfactant excretion)

ในปี 2002 Wick และคณะ ได้ศึกษาการตอบสนองลักษณะทางกายภาพที่จำเพาะของ *Mycobacterium* sp. สายพันธุ์ LB501T เมื่อเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีผลึกของแอนทราซีนเป็นแหล่งคาร์บอน พบว่า *Mycobacterium* sp. สายพันธุ์ LB501T มีความจำเพาะต่อแอนทราซีนสูง สามารถสร้างแผ่นฟิล์มบางทางชีวภาพ (biofilm) บนผลึกของแอนทราซีนได้ ในกรณีที่มีการเติมกลูโคสในปริมาณที่มากเกินพอเป็นซับสเตรทลงในอาหารเลี้ยงเชื้อพบว่า *Mycobacterium* sp. สายพันธุ์ LB501T จะไม่สามารถผลิตแผ่นฟิล์มบางเคลือบผิวได้ ซึ่งความแตกต่างดังกล่าวเกี่ยวข้องกับการปรับเปลี่ยนผนังเซลล์ของแบคทีเรีย (modification of cell wall of bacteria) เซลล์ที่สามารถเจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีแอนทราซีน จะทำให้บริเวณผิวเซลล์มีสมบัติเป็นไฮโดรโฟบิกและมีประจุลบสูงกว่าเซลล์ที่เจริญในกลูโคส อีกทั้งมีความสามารถในการเกาะติดกับเทฟลอนได้ดีกว่าปกติถึง 1.5-8 เท่าและเกาะติดผลึกแอนทราซีนได้มากกว่า 70 เท่า ดังนั้นกล่าวได้ว่าการเกาะติดและการผลิตแผ่นฟิล์มบางทางชีวภาพของ LB501T มีความจำเพาะต่อซับสเตรท

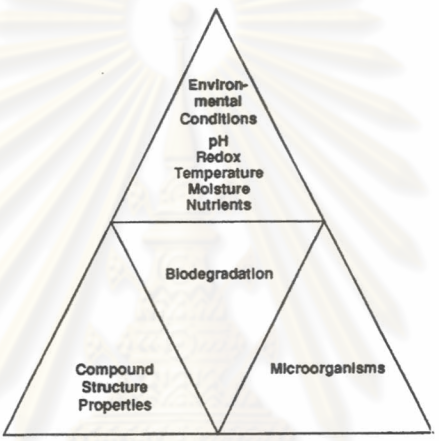
Straube และคณะ (1999) พบว่าการเติม light oil จะช่วยกระตุ้นการเจริญและการผลิตสารลดแรงตึงผิวของ *Pseudomonas aerugenosa* สายพันธุ์ 64 ในการย่อยสลายสาร PAHs ที่ปนเปื้อนอยู่ในดิน โดยมีบทบาทเป็นตัวทำละลายร่วม (co-solvent) ซึ่งจะเพิ่มการนำสารที่มีสมบัติไฮโดรโฟบิกไปใช้ประโยชน์โดยสิ่งมีชีวิต เนื่องจากสาร PAHs ละลายออกจากอนุภาคดินได้ดียิ่งขึ้น

การบำบัดสาร PAHs โดยวิธีทางชีวภาพ

ในสิ่งแวดล้อม สารพิษอันตรายมักจะสะสมอยู่ในดิน ตะกอนดิน น้ำ ฝุ่นละออง พืชและอากาศ โดยจะเกาะติดอยู่ในอนุภาคของดิน ตะกอนดิน หรือฝุ่น ซึ่งสามารถเกิดการเปลี่ยนแปลงได้โดยขบวนการต่าง ๆ ทั้งทางด้านกายภาพ เคมีและชีวภาพ (Cerniglia, 1992) โดยการสลายตัวของสาร PAHs จะเกิดขึ้นได้มากหรือน้อยเพียงใดขึ้นอยู่กับสมบัติทางกายภาพและทางเคมีของสาร PAHs นั้นๆ รวมทั้งขึ้นอยู่กับปัจจัยต่างๆ ในสิ่งแวดล้อม (Ashok และ Saxena, 1995) แม้ว่าการบำบัดสาร PAHs ที่ปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อมโดยวิธีทางเคมีกายภาพจะถูกนำมาใช้ แต่วิธีนี้ก็ยังมีข้อจำกัดอยู่หลายประการ (Samanta และคณะ, 2002)

การนำวิธีการบำบัดสิ่งแวดล้อมทางชีวภาพ โดยอาศัยกิจกรรมของจุลินทรีย์หรือสิ่งมีชีวิตที่มีอยู่ในธรรมชาติหรือมีการตัดแต่งพันธุกรรมแล้ว เพื่อเปลี่ยนโครงสร้างสารอินทรีย์อันตรายที่ปนเปื้อนให้มีระดับความเป็นพิษน้อยลงหรือหมดไป โดยจุลินทรีย์หรือสิ่งมีชีวิตจะสามารถใช้สารปนเปื้อนเป็นแหล่งอาหาร คาร์บอนและพลังงานสำหรับใช้ในการเจริญเติบโตและดำรงชีวิต (Maria, 1999; Dua และคณะ, 2002) วิธีการบำบัดด้วยวิธีดังกล่าวนั้น เป็นการกระตุ้นการเจริญของจุลินทรีย์ประจำถิ่นหรือเหนี่ยวนำจุลินทรีย์บริเวณนั้นให้เกิดการย่อยสลายสารปนเปื้อนหรือลด

ความเป็นพิษต่อสิ่งมีชีวิต ข้อได้เปรียบของวิธีการนี้คือ เป็นกระบวนการทางธรรมชาติที่ไม่เกิดอันตรายต่อสิ่งแวดล้อม มีการบำบัดสารปนเปื้อนตรงบริเวณที่ปนเปื้อนนั้น และค่าใช้จ่ายต่ำกว่าวิธีการบำบัดอื่นๆ (Korda และคณะ, 1997) ทั้งนี้ทั้งนั้นก็มีข้อจำกัดของวิธีการบำบัดดังกล่าว ที่อาจจะส่งผลต่อประสิทธิภาพของการย่อยสลายโดยสิ่งมีชีวิตนั้นๆ จึงต้องคำนึงถึงปัจจัยแวดล้อมหลายประการ อาทิเช่น ชนิดและสมบัติของสารปนเปื้อน อุณหภูมิ ความเป็นกรดด่าง ปริมาณออกซิเจนที่สามารถนำไปใช้ได้ ความชื้น สารอาหาร เป็นต้น ปัจจัยดังกล่าวมีผลต่อการทำงานของจุลินทรีย์โดยตรง (รูปที่ 2.4) นอกจากนี้ การย่อยสลายยังขึ้นอยู่กับกลุ่มแบคทีเรียและชนิดของสาร PAHs (Guo และคณะ, 2005)



รูปที่ 2.4 ความสัมพันธ์ระหว่างสิ่งแวดล้อมกับการย่อยสลายทางชีวภาพ (Suthersan, 1999)

วิธีการบำบัดสิ่งแวดล้อมทางชีวภาพนั้นประกอบด้วย 2 วิธีการหลัก (Suthersan, 1999) ได้แก่ วิธีการบำบัดสารเคมีที่ปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อม โดยการเติมสารอาหาร เช่น ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส การให้ออกซิเจน ลงในบริเวณที่มีการปนเปื้อน รวมถึงการเติมสารลดแรงตึงผิว จะช่วยเพิ่มการละลายสารไฮโดรคาร์บอน ทำให้แบคทีเรียสามารถย่อยสลายได้ง่ายขึ้น (Haigh, 1996) เพื่อกระตุ้นให้มีการเจริญเติบโตและเพิ่มความสามารถและประสิทธิภาพในการย่อยสลายโดยกิจกรรมของจุลินทรีย์ประจำถิ่น ซึ่งวิธีการดังกล่าวเรียกว่า "Biostimulation" ดังนั้น การเติมเศษวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร มูลสัตว์ จึงเป็นการเพิ่มปริมาณสารอาหารและปริมาณออกซิเจน ทำให้เกิดการถ่ายเทอากาศ ปรับสภาวะให้เหมาะสมต่อการดำรงชีวิตของสิ่งมีชีวิตบริเวณนั้น อีกทั้งยังช่วยลดความสามารถของสาร PAHs ในการเข้าจับกับอนุภาคดิน ทำให้สาร PAHs เคลื่อนที่แทรกเข้าสู่อนุภาคดินได้ช้าลง จุลินทรีย์จึงนำไปใช้ประโยชน์ได้รวดเร็ว (Käster และ Mahro, 1996) และการปนเปื้อนของสารเคมีในดินเป็นเวลานานจะทำให้จุลินทรีย์ประจำถิ่นมีประสิทธิภาพในการย่อยสลายสารปนเปื้อนนั้นๆ ได้ หากมีระบบการจัดการที่ดี (Vidali, 2001)

จากการศึกษาการใช้สารลดแรงตึงผิว เพื่อเพิ่มการละลายของสาร PAHs ในดิน พบว่าสามารถช่วยให้แบคทีเรียยึดเกาะกับอนุภาคดินที่มี PAHs และทำให้ระยะทางการแพร่ของ PAHs กับเซลล์แบคทีเรียสั้นลง (Tang และคณะ, 1998; Poeton และคณะ, 1999) จึงมีโอกาสจะนำสารเข้าสู่เซลล์ได้อย่างมีประสิทธิภาพมากกว่าแบคทีเรียที่อยู่ในรูปอิสระ (Bastiean และคณะ, 2000)

สารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตจากแบคทีเรียสามารถเพิ่มการละลายของ PAHs ได้เช่น แรมโนไลปิด (rhamnolipid) ที่ผลิตจาก *Pseudomonas aeruginosa* (Deschenes และคณะ, 1996; Noordman และคณะ, 1998; Mulligan และคณะ, 2001) bioemulsifier alasan ผลิตโดย *Acinetobacter radioresisten* สายพันธุ์ KA 53 พบว่าสามารถเพิ่มการละลายของฟีแนนทรีนได้ 6 เท่า ฟลูออแรนทีน 25.7 เท่าและไพรีน 19.8 เท่า (Barkay และคณะ, 1999) และสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตจาก *Rhodococcus* สายพันธุ์ H13-A มีประสิทธิภาพในการละลาย PAHs ไปสู่วัฏภาคน้ำได้ดีกว่า Tween 80 ถึง 35 เท่า (Page และคณะ, 1999)

Tayler และ Jones (2001) พบว่าการเติม biodiesel หรือ motor diesel สามารถกระตุ้นการย่อยสลายแนพธาลีนใน coal tar โดยจุลินทรีย์ที่อาศัยอยู่ในดินได้ ทำให้การย่อยสลายเพิ่มขึ้นจาก 52%เป็น 85% เมื่อเติม biodiesel และจาก 85% เป็น 96% เมื่อเติม motor diesel

Charoenchang และคณะ (2003) พบว่าการเติมวัสดุทางการเกษตรได้แก่ เปลือกถั่วลิสงและใบจามจุรี สามารถช่วยเร่งการย่อยสลายสาร PAHs ในดินได้อย่างมีประสิทธิภาพ โดยลดไพรีนจนตรวจไม่พบภายในเวลา 42 วันของการทดลอง ซึ่งคาดว่าเกิดจากการทำงานของแบคทีเรียที่อยู่บนวัสดุทางการเกษตรดังกล่าว

สุพินดา ศิริวราศิลป์ (2545) ใช้ใบไม้ของพืชตระกูลถั่วที่ร่วงหล่น (ใบจามจุรี ใบมะขาม และใบนนทรี) เติมในดินที่ถูกปนเปื้อนด้วยไพรีน พบว่าใบมะขามสามารถลดไพรีนได้หมด ภายใน 56 วัน รองลงมาคือ ใบจามจุรีและใบนนทรี และเมื่อปรับสภาวะให้เหมาะสมแล้ว พบว่าการย่อยสลายไพรีนเพิ่มขึ้นจาก 75 % เป็น 93 % อาจสรุปได้ว่าการลดของไพรีนและสาร PAHs ที่ปนเปื้อนในดินเกิดจากการทำงานของจุลินทรีย์ที่อยู่บนใบพืชที่เติมลงไป

อีกวิธีการหนึ่งที่ช่วยส่งเสริมหรือเพิ่มประสิทธิภาพในการย่อยสลายสารพิษที่ปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อมคือ วิธีที่เรียกว่า "Bioaugmentation" ซึ่งเป็นวิธีการส่งเสริมให้เกิดการย่อยสลายสารปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อม โดยการเติมจุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการเปลี่ยนโครงสร้าง (biotransformation) หรือย่อยสลายสารพิษ (biodegradation) ที่ต้องการหรือเป็นจุลินทรีย์ที่ได้รับการปรับปรุงสายพันธุ์โดยใช้เทคโนโลยีทางพันธุวิศวกรรม (genetically engineered microorganism, GEM) ลงในบริเวณที่มีการปนเปื้อนของสารนั้นๆ ซึ่งในบริเวณดังกล่าวอาจไม่พบจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายสารในพื้นที่บำบัด จึงจำเป็นต้องอาศัยกิจกรรมของจุลินทรีย์ต่างถิ่น (exogenous microorganisms) เพื่อกระตุ้นให้เกิดกระบวนการย่อยสลาย

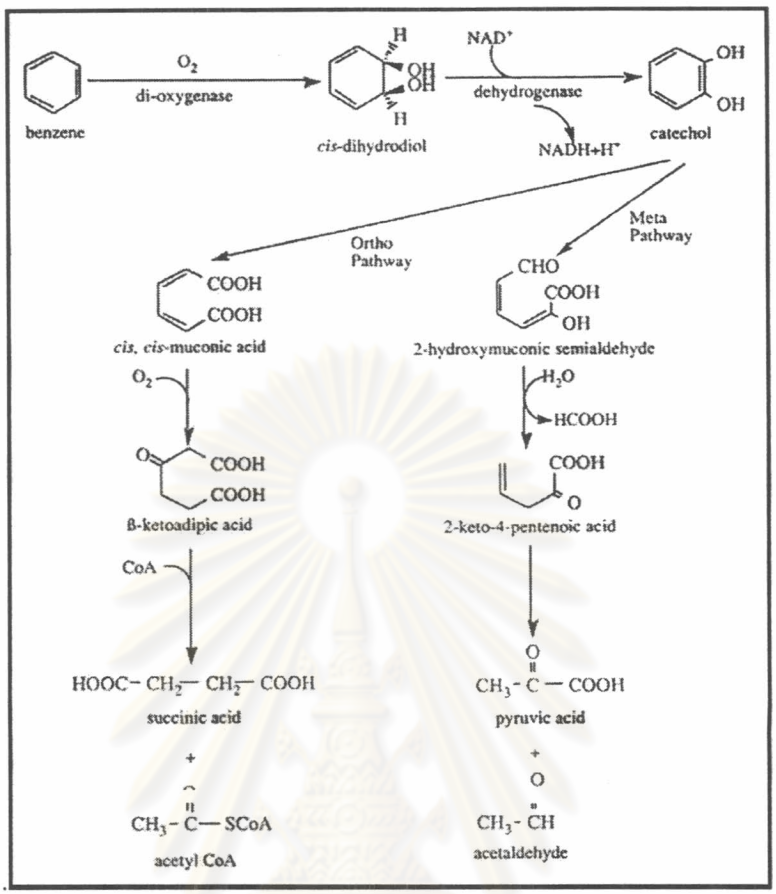
(Watanabe, 2001) โดยวิธีการนี้มีปัจจัยข้อจำกัดที่ควรคำนึงถึงสำหรับการนำจุลินทรีย์ดังกล่าวไปใช้ในสิ่งแวดล้อมจริง ได้แก่ จุลินทรีย์ที่จะนำไปใช้นั้นอาจไม่ใช่จุลินทรีย์ที่มีอยู่ในบริเวณที่ต้องการกำจัดสารพิษ ทำให้เกิดภาวะการแข่งขันระหว่างจุลินทรีย์ต่างถิ่นกับจุลินทรีย์ที่อยู่ประจำถิ่น (indigenous microorganisms) ดังนั้นจุลินทรีย์ต่างถิ่นจะต้องสามารถเพิ่มจำนวนและอยู่รอดได้ในสิ่งแวดล้อมนั้นๆ (Vidali, 2001)

การย่อยสลายและการเปลี่ยนรูปไพรีนและสาร PAHs ทางชีวภาพ

จุลินทรีย์ในธรรมชาติมีกระบวนการเมตาบอลิซึมที่ใช้ในการย่อยสลายสารประกอบทางธรรมชาติและสารสังเคราะห์ที่แตกต่างกัน โดยจุลินทรีย์จะปรับตัวเพื่อให้สามารถย่อยสลายสารที่ปนเปื้อนในบริเวณนั้นๆ อาจเกิดขึ้นโดยการเหนี่ยวนำให้มีการสร้างเอนไซม์ที่จำเป็นในการย่อยสลายหรือมีการเปลี่ยนแปลงในระดับยีนซึ่งเป็นผลทำให้จุลินทรีย์สามารถพัฒนาวิถีเมแทบอลิซึมขึ้นมาใหม่เพื่อใช้ในการย่อยสลายสารได้ (Madson, 1998)

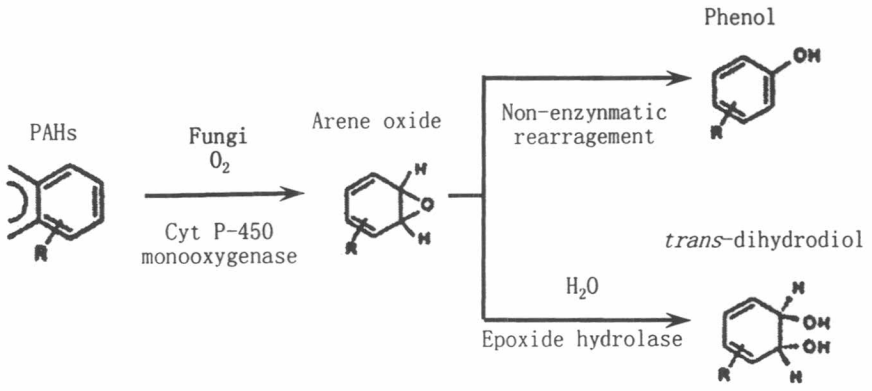
จุลินทรีย์แต่ละกลุ่มจะมีกลไกการย่อยสลายสาร PAHs ที่แตกต่างกันออกไป อย่างไรก็ตาม การย่อยสลายสาร PAHs โดยจุลินทรีย์เป็นกระบวนการที่มีความสำคัญในการบำบัดสารปนเปื้อน การย่อยสลายของจุลินทรีย์ในสิ่งแวดล้อมขึ้นอยู่กับสมบัติของสารปนเปื้อนทางกายภาพและเคมี ปริมาณและอัตราเร็วของการแพร่ในสิ่งแวดล้อมและความง่ายในการเข้าถึงและถูกใช้โดยจุลินทรีย์ ซึ่งสัมพันธ์กับประเภทและองค์ประกอบของดิน น้ำและออกซิเจนที่สามารถใช้ได้ สารอาหาร ความสามารถของจุลินทรีย์ ความคุ้นเคยกับสารปนเปื้อน พิษของตะกอน ความเป็นกรดด่าง อุณหภูมิ และผลกระทบตามฤดูกาลอื่น ๆ (Sutherland และคณะ, 1995)

ในสิ่งแวดล้อมทั้งแบคทีเรียและราสามารถย่อยสลาย PAHs ได้โดยแบคทีเรียย่อยสลาย PAHs ได้เป็น ซีส-ไดไฮโดรไดออล (*cis*-dihydrodiol) โดยเอนไซม์ไดออกซิจีเนส (dioxygenase) แล้ว ซีส-ไดไฮโดรไดออล จึงถูกสลายต่อได้เป็น คาทีคอล (catechol) โดยเอนไซม์ดีไฮโดรจีเนส (dihydrogenase) ปฏิกิริยาการเติมหมู่ไฮดรอกซี (hydroxylation) ทั้งสองให้กับ PAHs ถือเป็นปฏิกิริยาขั้นต้นของการเปิดวงอะโรมาติก (cleavage of the aromatic ring) ปฏิกิริยานี้ก็ยังถูกคาตะไลซ์โดยเอนไซม์ไดออกซิจีเนส การเปิดวงอะโรมาติกออกเกิดขึ้นได้ 2 วิถีคือ วิถีเมตา (*meta* pathway) และวิถีออโธ (*ortho* pathway) (Juhasz และ Naidu, 2000) ดังแสดงในรูปที่ 2.5



รูปที่ 2.5 วิถีการย่อยสลายสาร PAHs โดยแบคทีเรีย (Juhasz และ Naidu, 2000)

สำหรับการย่อยสลายสาร PAHs โดยรานั้น สาร PAHs จะถูกคาตะไลซ์โดยอาศัยการทำงานของเอนไซม์ไซโตโครม พี-450 (cytochrome P-450) เปลี่ยนเป็นอีพ็อกไซด์ (epoxide) หรือ แอรีน ออกไซด์ (arene oxide) จากนั้นจะถูกย่อยสลายต่อด้วยเอนไซม์อีพ็อกไซด์ ไฮโดรเลส (epoxide hydrolase) ได้เป็น *ทรานซ์*-ไดไฮโดรไดออล (*trans*-dihydrodiol) ผลของปฏิกิริยาที่ได้นี้ตรงข้ามกับการย่อยสลายโดยแบคทีเรีย ซึ่งได้ *ซีส*-ไดไฮโดรไดออล อีพ็อกไซด์ที่เกิดอาจจัดเรียงตัวภายในโมเลกุลโดยไม่ต้องอาศัยการทำงานของเอนไซม์ได้เป็นสารประกอบฟีนอล (phenol) จากนั้นจะจึงถูกกำจัดออกจากเซลล์ของรา ในรูปของ *O*-กลูโคไซด์ (*O*-glucoside), *O*-กลูคูโรไนด์ (*O*-glucuronide) หรือ *O*-ซัลเฟต (*O*-sulfate) ดังแสดงในรูปที่ 2.6



รูปที่ 2.6 วิถีการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของสาร PAHs โดยรา (Cerniglia, C.1993)

การย่อยสลายไพรีนโดยแบคทีเรีย

1. **แบคทีเรียบริสุทธิ์**

จากรายงานการวิจัยที่ผ่านมา มีการคัดแยกเชื้อบริสุทธิ์ที่ย่อยสลายสาร PAHs จากตัวอย่างดิน น้ำหรือตะกอนดินในแหล่งน้ำที่มีการปนเปื้อนสารประกอบในกลุ่มนี้ โดยพบว่าแบคทีเรียที่คัดแยกได้ส่วนใหญ่มีทั้งกลุ่มที่เป็นแกรมบวกเช่นกลุ่ม *Mycobacterium* sp. *Norcardia* sp.และกลุ่มที่เป็นแกรมลบ เช่น *Burkholderia cepacia*, *Pseudomonas* sp. *Sphingomonas* sp.เป็นต้น สำหรับแบคทีเรียบริสุทธิ์ที่สามารถย่อยสลายไพรีนได้ ส่วนใหญ่จัดอยู่ในสกุล *Mycobacterium* sp. ดังแสดงไว้ในตารางที่ 2.2

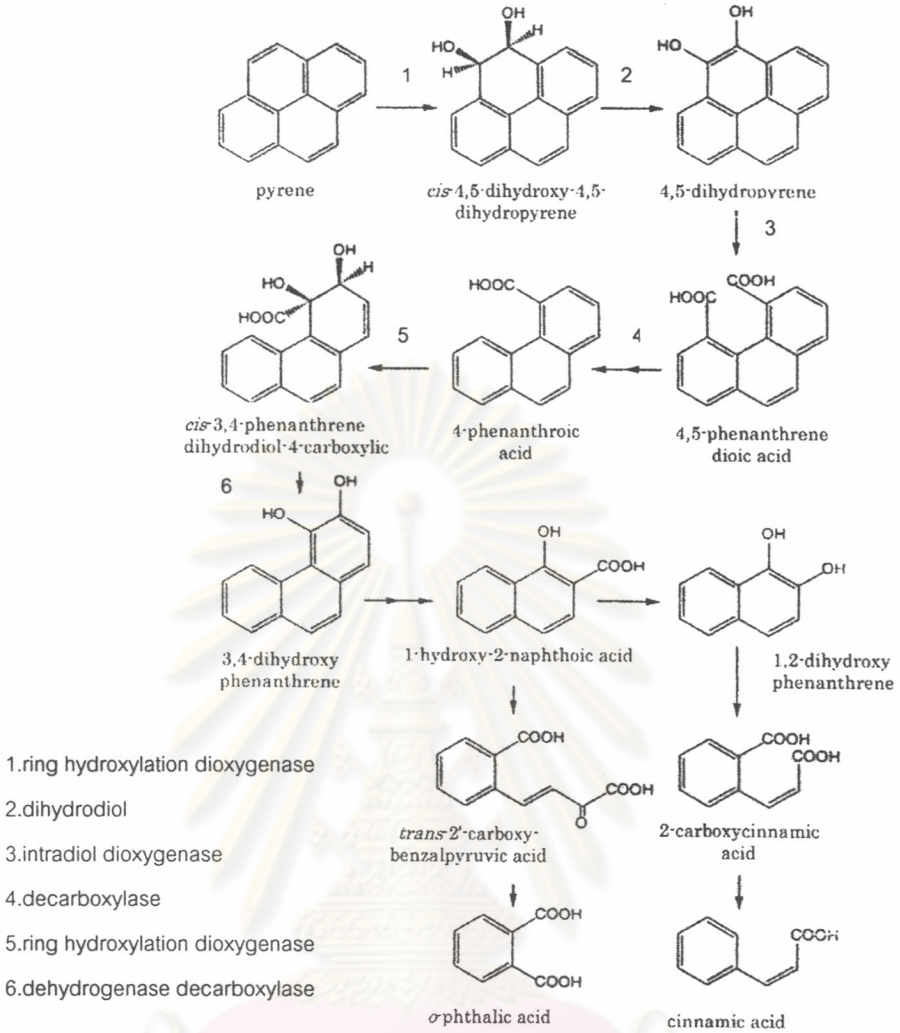
ตารางที่ 2.2 แบคทีเรียบริสุทธิ์ที่สามารถย่อยสลายไพรีนได้

ชนิดของแบคทีเรีย	เอกสารอ้างอิง
Mycobacterium sp. สายพันธุ์ BB1	Boldrin และคณะ (1993)
Mycobacterium sp. สายพันธุ์ AP1	Vila และคณะ (2001)
Mycobacterium sp. สายพันธุ์ KR2	Rehmann และคณะ (1998)
Mycobacterium sp. สายพันธุ์ LB208	Bastiaens และคณะ (2000)
Mycobacterium flavescens	Dean-Ross และ Cerniglia (1996)
Mycobacterium gilvum	Gauthier และคณะ (2003)
Rhodococcus sp. สายพันธุ์ UW1	Walter และคณะ (1991)
Rhodococcus sp.สายพันธุ์ S *Pyr Na* 1	Bouchez และคณะ (1995)
Burkholderia cepacia สายพันธุ์ VUN 10,010	Juhasz และคณะ (1997)
Gordona sp. สายพันธุ์ BP9	Kästner และคณะ (1994)

ผลที่ได้จากการย่อยสลายไพรีนที่สมบรูณ์โดยแบคทีเรียบริสุทธิ์ได้แก่มวลชีวภาพ น้ำและคาร์บอนไดออกไซด์ (Cerniglia, 1992; Wilson และ Jones, 1993) การย่อยสลายสาร PAHs ซึ่งเป็นสารที่ละลายน้ำได้น้อย แบคทีเรียทั่วไปจะสามารถย่อยสลายสารนี้ได้ยาก แบคทีเรียบางกลุ่มสามารถผลิตเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องในการย่อยสลายสาร PAHs เพื่อจะนำไปใช้เป็นแหล่งคาร์บอนและพลังงาน ส่วนใหญ่พบว่าแบคทีเรียสายพันธุ์บริสุทธิ์สามารถย่อยสลายสาร PAHs ที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำๆ กลไกนำสาร PAHs ไปใช้ เกิดขึ้นโดยการเข้าไปทำปฏิกิริยากับสารโดยการสัมผัสโดยตรงกับผลึกสาร PAHs แบคทีเรียบางชนิดสามารถสร้างสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ (biosurfactant) ซึ่งมีผลต่อการเพิ่มการละลายน้ำของสาร PAHs จึงทำให้แบคทีเรียเข้าสัมผัสกับสาร PAHs ได้ง่าย จากนั้นสาร PAHs จะเข้าสู่เซลล์ผ่านทางผนังเซลล์โดยอาศัยการแพร่ (passive diffusion) โดยไม่ใช้พลังงานจากเซลล์ (Bugg และคณะ, 2000) แบคทีเรียสามารถย่อยสลายสาร PAHs ได้หลายชนิด เนื่องจากออกซิจีเนส เป็นเอนไซม์ที่สามารถย่อยสลายสับสเตรตได้หลายชนิด (broad specificity enzyme) ซึ่งถือว่าเป็นลักษณะที่ดี เพราะในสิ่งแวดล้อมมีการปนเปื้อนสาร PAHs หลายชนิด (Baver และ Capone, 1988; Stringfellow และ Aitken, 1995)

วิถีการย่อยสลายไพรีนโดยแบคทีเรียบริสุทธิ์ (Habe และ Omori, 2003)

จากรายงานการศึกษา วิถีการย่อยสลายไพรีนโดยแบคทีเรีย *Mycobacterium* sp. สายพันธุ์ PYR-1 และ *Rhodococcus* sp. สายพันธุ์ UW1 สามารถย่อยสลายไพรีนโดยอาศัยกิจกรรมของเอนไซม์ไดออกซิจีเนส (dioxygenase) ทำให้เกิดการรวมตัวระหว่างวงอะโรมาติกกับอะตอมของออกซิเจน เปลี่ยนไพรีนให้เป็น 4,5-ไดไฮโดรไพรีน (4,5-dihydropyrene) และสารมัธยันต์นี้จะถูกเปลี่ยนต่อไปเป็น ซีส-3, 4-ไดไฮดรอกซีฟีแนนทรีน (*cis*-3, 4-dihydroxyphenanthrene) จากนั้นจะเกิดการจัดเรียงตัวของวงอะโรมาติก (rearomatization) ได้สารเมตาโบไลต์เป็น 3,4-ไดไฮดรอกซีฟีแนนทรีน (3,4-dihydroxyphenanthrene) ซึ่งเป็นสารมัธยันต์ที่สามารถย่อยสลายต่อไปอาศัยโดยวิถีการย่อยสลายฟีแนนทรีนจนในที่สุดสารมัธยันต์จะถูกย่อยสลายต่อและเข้าสู่วัฏจักรเครปส์ (Kreb's cycle) ต่อไป ดังแสดงในรูปที่ 2.7



รูปที่ 2.7 วิถีการย่อยสลายไพรีนโดยแบคทีเรียที่ใช้ออกซิเจน
(ที่มา; ดัดแปลงจาก Krivobok และคณะ, 2003; Habe และ Omori, 2003)

ในบางครั้งพบว่าการทำงานของแบคทีเรียบริสุทธิ์ ไม่สามารถใช้ไพรีนหรือสาร PAHs ที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูงได้โดยตรง อาจต้องอาศัยซับสเตรทร่วม (co-substrate) เป็นสารตั้งต้นให้เกิดการย่อยสลายและ/หรือใช้ในการเพิ่มจำนวนแบคทีเรีย หรือช่วยกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ที่ใช้ในปฏิกิริยาก่อน เพื่อให้เกิดการย่อยสลายแบบโคเมแทบอลิซึม (co-metabolism) โดยเกิดการเปลี่ยนโครงสร้างของสาร PAHs บางส่วน ซึ่งแบคทีเรียไม่สามารถใช้สารดังกล่าวเป็นแหล่งคาร์บอนและพลังงาน เมื่อในระบบมีซับสเตรทร่วมจึงมีการเปลี่ยนโครงสร้างของสาร PAHs ต่อไป (Cerniglia, 1992)

สาร PAHs ที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูงที่ประกอบด้วยวงอะโรมาติกตั้งแต่ 4 วงขึ้นไป จะมีความเสถียรสูง ทำให้ยากต่อการย่อยสลาย ดังนั้น แบคทีเรียบริสุทธิ์สายพันธุ์เดี่ยวส่วนใหญ่ไม่สามารถย่อยสลายสารดังกล่าวได้สมบูรณ์ การย่อยสลายสาร PAHs ที่มีโครงสร้างโมเลกุลซับซ้อนนั้นต้องอาศัยกระบวนการย่อยสลายแบบโคเมแทบอลิซึมหรืออาศัยการย่อยสลายโดยกลุ่มจุลินทรีย์ (Wilson และ Jones, 1993)

โคเมแทบอลิซึมไม่ใช่กระบวนการเมแทบอลิซึมแต่เป็นกระบวนการเปลี่ยนโครงสร้างของซับสเตรท ซึ่งจุลินทรีย์จำเป็นต้องได้พลังงานจากการย่อยสลายซับสเตรทเพื่อใช้ในการเจริญ โดยเอนไซม์ที่เกิดขึ้นในขั้นตอนนี้สามารถเปลี่ยนแปลงโครงสร้างซับสเตรทที่แตกต่างกัน ผลจากการเปลี่ยนโครงสร้างซับสเตรทนี้จะไม่มีผลต่อจุลินทรีย์ไม่ว่าจะเป็นแหล่งพลังงาน แหล่งคาร์บอน หรือกระบวนการอื่นๆที่ใช้ในการเจริญ (John และ Cookson, 1995) ซึ่งเชื่อว่าในสิ่งแวดล้อมกระบวนการนี้น่าจะเกิดขึ้นอยู่แล้ว เนื่องจากในสิ่งแวดล้อมจะมีการปนเปื้อนสาร PAHs หลายชนิด ถึงแม้ว่าจุลินทรีย์จะไม่สามารถนำสารที่เกิดจากกระบวนการโคเมแทบอลิซึมไปใช้ในการเจริญ แต่อาจมีจุลินทรีย์ชนิดอื่นในสิ่งแวดล้อมนั้น สามารถนำสารดังกล่าวใช้เป็นแหล่งคาร์บอน และพลังงานได้ การย่อยสลายสาร PAHs แบบโคเมแทบอลิซึมทำให้สามารถย่อยสลายสาร PAHs ได้หลายชนิด โดยเฉพาะสาร PAHs ที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูง ซึ่งยากต่อการย่อยสลายโดยจุลินทรีย์เพียงชนิดเดียว ซับสเตรทที่จุลินทรีย์ใช้ในการเจริญอาจเป็นสารอินทรีย์ชนิดต่างๆ ที่อยู่ในบริเวณนั้นหรืออาจเป็นสาร PAHs ที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ ซึ่งจุลินทรีย์จะเจริญและเพิ่มจำนวนมากขึ้นแล้วเข้าไปย่อยสลายสาร PAHs ที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูง

2. กลุ่มแบคทีเรีย

โดยทั่วไปสาร PAHs ที่ปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อมมีด้วยกันหลายชนิด ในบางกรณีการย่อยสลายสาร PAHs จึงจำเป็นต้องอาศัยการทำงานร่วมกันของจุลินทรีย์หลายๆ ชนิด จุลินทรีย์เหล่านั้นจะอยู่ร่วมกันแบบ synergism โดยปกติสาร PAHs ที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูงจะถูกย่อยสลายได้ยากโดยจุลินทรีย์เพียงชนิดเดียว การย่อยสลายโดยกลุ่มจุลินทรีย์จะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการย่อยสลาย PAHs ให้ดียิ่งขึ้น ทำให้อัตราเร็วในการย่อยสลายเพิ่มขึ้น ที่สำคัญยังทำให้เกิดการย่อยสลายสาร PAHs ได้อย่างสมบูรณ์ (mineralization) ความสัมพันธ์หรือกลไกที่เกิดขึ้นระหว่างการทำงานร่วมกันของจุลินทรีย์ต่อการย่อยสลายสาร PAHs นั้น สิ่งที่สำคัญ คือ ระบบเอนไซม์จุลินทรีย์ชนิดที่ 1 สามารถสร้างเอนไซม์ย่อยสลายสารตั้งต้นได้ แต่เนื่องจากไม่มีระบบเอนไซม์ที่สามารถย่อยสารให้สมบูรณ์ เมื่อจุลินทรีย์ไม่สามารถย่อยสลายสารมัธยันตร์ที่เกิดขึ้นภายในระบบได้ (dead-end metabolite) จึงทำให้เกิดการสะสมของสารมัธยันตร์ดังกล่าวและอาจเป็นพิษต่อจุลินทรีย์ชนิดที่ 1 ในขณะที่จุลินทรีย์ชนิดที่ 2 มีระบบเอนไซม์ที่สามารถย่อยสลายสารมัธยันตร์นั้น

ได้ อาจมีผลทำให้ความเป็นพิษของสารมัธยันตร์ลดลงหรือสามารถนำสารดังกล่าวใช้ในการเจริญได้ ผลจากการเจริญของจุลินทรีย์ชนิดที่ 2 อาจสร้างวิตามิน กรดอะมิโน หรือสารที่ช่วยให้มีการย่อยสลายสารตั้งต้นดีขึ้นเช่น สารลดแรงตึงผิวชีวภาพ (biosurfactant) ซึ่งเป็นปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญและการย่อยสลายสาร PAHs ของแบคทีเรียชนิดอื่น (Mueller และคณะ, 1989)

จากการศึกษาการย่อยสลายเบนโซ[เอ]ไพรีน โดยแบคทีเรียในปัจจุบันไม่สามารถแยกแบคทีเรียที่สามารถใช้เบนโซ[เอ]ไพรีน เป็นซับสเตรทสำหรับการเจริญ แต่การศึกษาการย่อยสลายเบนโซ[เอ]ไพรีน ด้วยเทคนิค enrichment liquid culture สามารถแสดงให้เห็นได้ว่าแบคทีเรียจะสามารถย่อยสลายเบนโซ[เอ]ไพรีนได้เมื่อมีซับเสตรทอื่นเป็นแหล่งคาร์บอนเช่น *Rhodococcus sp.* สายพันธุ์ UW1 *Burkholderia cepacia* *Mycobacterium sp.* นอกจากนี้ยังพบว่าการย่อยสลายเบนโซ[เอ]ไพรีนสามารถเกิดขึ้นได้โดยอาศัยการทำงานร่วมกันของแบคทีเรียสกุล *Pseudomonas sp.* ร่วมกับ *Flavobacterium* sp. (Kot-Wasik และคณะ, 2004)

Cerniglia และคณะ (1979) รายงานว่าการย่อยสลายไดเบนโซฟูแรน โดยแบคทีเรีย *Beijerinckia* sp. สายพันธุ์กลาย และรา *Cunningnamella elegans* ที่อาศัยอยู่ร่วมกัน พบว่ารา *Cunningnamella elegans* จะย่อยสลายไดเบนโซฟูแรนได้ *ทรานส์*-ไดไฮโดรไดออล จากนั้นแบคทีเรียจะย่อยสลาย*ทรานส์*-ไดไฮโดรไดออล ต่อจนได้คาทีคอล (catechol)

Juhasz และคณะ (1997) แยกแบคทีเรียจากดินจากแหล่งปนเปื้อนสาร PAHs ได้กลุ่มแบคทีเรีย ที่ประกอบด้วยแบคทีเรีย 3 สายพันธุ์ ได้แก่ *Burkholderia cepacia สายพันธุ์* VUN10,001 VUN10,002 และ VUN10,003 มาเลี้ยงร่วมกัน พบว่ากลุ่มแบคทีเรียนี้สามารถใช้ไพรีน ฟลูออรีน และฟีแนนทรีน เป็นแหล่งคาร์บอนและพลังงานได้ นอกจากนี้ยังสามารถย่อยสลายฟลูออแรนธีน เบนโซ[เอ]ไพรีน, ไดเบนซ์[เอ,เอช] แอนทราซีน ซึ่งมีโครงสร้างประกอบด้วยวงอะโรมาติก 5 วง โดยกระบวนการโคเมแทบอลิซึม ที่มีฟีแนนทรีนเป็นซับสเตรทเพื่อการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย

Boonchan และคณะ (2000) ศึกษาการย่อยสลายเบนโซ[เอ]ไพรีน โดย *Penicillium janthinellum* สายพันธุ์ VUN10,201 ผลจากการย่อยสลายทำให้เกิดสารมัธยันตร์ที่ไม่ถูกย่อยสลายได้ต่อไป แต่เมื่อเลี้ยง *Stenotrophomonas maltophilia* สายพันธุ์ VUN10,010 ร่วมกันกับรา *Penicillium janthinellum* สายพันธุ์ VUN10,201 พบว่ามีการเจริญของแบคทีเรียและเกิดการย่อยสลายเบนโซ[เอ]ไพรีนได้อย่างสมบูรณ์

Guo และคณะ (2005) พบว่ากลุ่มแบคทีเรียที่แยกได้จากตะกอนดินชายเลนโดยใช้ฟีแนนทรีนเป็นแหล่งคาร์บอนและพลังงาน สามารถย่อยฟีแนนทรีนและฟลูออแรนทีนได้ 90% ภายใน 7 วัน ซึ่งกลุ่มแบคทีเรียประกอบด้วยแบคทีเรียในสกุล *Rhodococcus* sp. สายพันธุ์ HCCS, *Sphingomonas* sp. สายพันธุ์ MWFG และ *Paracoccus* sp. สายพันธุ์ SPNT

Yu และคณะ (2005) ศึกษาการย่อยสลายสาร PAHs (ฟลูออรีน ฟีแนนทรีน และไพรีน) โดยกลุ่มแบคทีเรียที่แยกมาจากตะกอนดินชายเลน ซึ่งประกอบด้วยแบคทีเรียที่จัดอยู่ในสกุล *Rhodococcus* sp. *Acinetobacter* sp. และ *Pseudomonas* sp. พบว่าสามารถย่อยฟลูออรีนและฟีแนนทรีนได้ 100% ภายใน 4 สัปดาห์ และย่อยสลายไพรีนได้หมดใน 6 สัปดาห์

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย