บทที่ 2

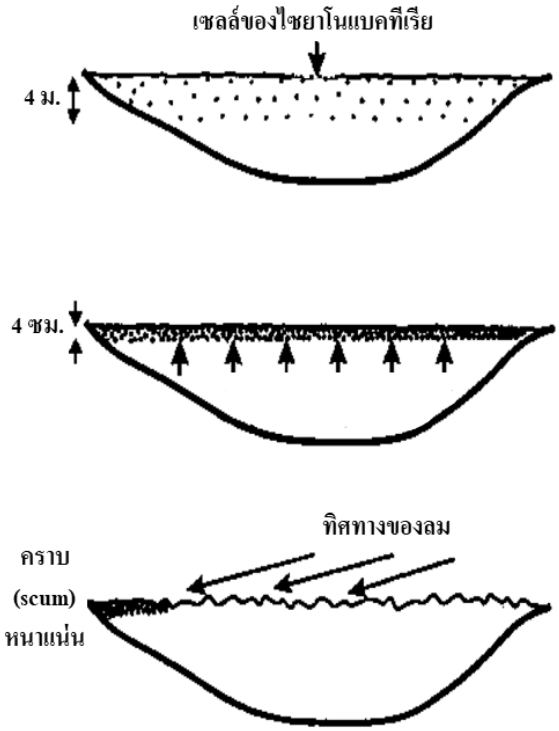
ทบทวนเอกสาร

2.1 การเจริญอย่างรวดเร็วของไซยาโนแบคทีเรียที่สร้างสารพิษ

ไซยาโนแบคทีเรีย เป็นสิ่งมีชีวิตที่มีลักษณะร่วมของทั้งแบคทีเรีย และสาหร่าย โดยไซยาโน-แบคทีเรียมีลักษณะของผนังเซลล์ นิวเคลียส ชนิดของไรโบโซม คุณสมบัติทางชีวเคมี และสามารถตรึงไนโตรเจนได้คล้ายคลึงกับแบคทีเรีย และไซยาโนแบคทีเรียมีคลอโรฟิลล์ รวมถึงรงควัตถุอื่น ๆ ที่ใช้ในการสังเคราะห์แสงได้เช่นเดียวกับสาหร่าย (Bold and Wynne, 1985; Herrero *et al*., 2001; Van-Apeldoorn *et al*., 2007; ยุวดี, 2549)

การเจริญอย่างรวดเร็วของไซยาโนแบคทีเรียในแหล่งน้ำ มีลักษณะได้หลายรูปแบบ ได้แก่ การรวมกลุ่มกันเป็นโคโลนี (forming colonies) แผ่น (mats) และคราบ (scums) เป็นต้น (Cheung *et al*., 2013) ไซยาโนแบคทีเรียบางชนิด สามารถควบคุมการลอยตัวของเซลล์ได้โดยการใช้ gas vesicle เพื่อเคลื่อนย้ายเซลล์ให้อยู่ในสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโต (Porat *et al*., 2001) ดังนั้น เมื่อเกิดการเจริญอย่างรวดเร็วของไซยาโนแบคทีเรียในแหล่งน้ำ จึงพบการสะสมของเซลล์ไซยาโนแบคทีเรียจำนวนมากที่บริเวณผิวน้ำ นอกจากนี้ การพัดพาของลมอาจทำให้เซลล์ของไซยาโนแบคทีเรียถูกพัดไปรวมตัวอยู่บริเวณชายฝั่ง และเกิดคราบ (scums) ของไซยาโนแบคทีเรียที่หนาแน่นได้ (ภาพที่ 1 และ 2) (Chorus and Bartram, 1999; WHO, 2003) ก่อให้เกิดปัญหาด้านสิ่งแวดล้อม เช่น แหล่งน้ำมีคุณภาพเสื่อมโทรม ลดปริมาณแสง และระดับออกซิเจนในชั้นน้ำ เกิดกลิ่น และรสที่ไม่พึงประสงค์ของน้ำ และทำให้ความสวยงามของแหล่งน้ำลดลงอีกด้วย (Havens, 2008; Liu *et al*., 2012; Ma *et al*., 2013) นอกจากนี้ เมื่อเกิดการสลายตัวของเซลล์ไซยาโนแบคทีเรีย สารต่าง ๆ ภายในเซลล์รวมถึงสารพิษจะถูกปลดปล่อยลงสู่แหล่งน้ำ และเป็นอันตรายต่อสิ่งมีชีวิตได้ เช่น ก่อให้เกิดการทำลายเซลล์ด้วยสภาวะเครียด และอนุมูลอิสระ รบกวนกระบวนการซ่อมแซมดีเอ็นเอ เกิดความเป็นพิษต่อตับ และระบบสืบพันธุ์ ส่งเสริมการเกิดมะเร็ง และอาจถึงขั้นเสียชีวิตได้ (Chen *et al*., 2016) โดยองค์การอนามัยโลก (WHO, 2003) ได้กำหนดระดับความรุนแรงของการเจริญอย่างรวดเร็วของไซยาโนแบคทีเรียที่สร้างสารพิษในแหล่งน้ำ ที่อาจส่งผลกระทบต่อสุขภาพ (ตารางที่ 1) เพื่อเป็นแนวทางในการอุปโภค และบริโภคน้ำได้อย่างปลอดภัย

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



1) การเจริญอย่างรวดเร็วของไซยาโนแบคทีเรียระดับปานกลาง

- มี Chlorophyll-*a* ประมาณ 50 µg/L
- มีไซยาโนแบคทีเรีย 100,000 cells/mL
- อาจมีความเข้มข้นของ microcystin ประมาณ 20 µg/L

ในช่วงความลึก 4 เมตร จากผิวน้ำ

2) การลอยตัวของเซลล์ทำให้ผิวน้ำมีความเข้มข้นของเซลล์มากขึ้น

- มี Chlorophyll-*a* ประมาณ 5,000 µg/L
- มีไซยาโนแบคทีเรีย 10,000,000 cells/mL
- อาจมีความเข้มข้นของ microcystin ประมาณ 2,000 µg/L

ในช่วงความลึก 4 เซนติเมตร จากผิวน้ำ

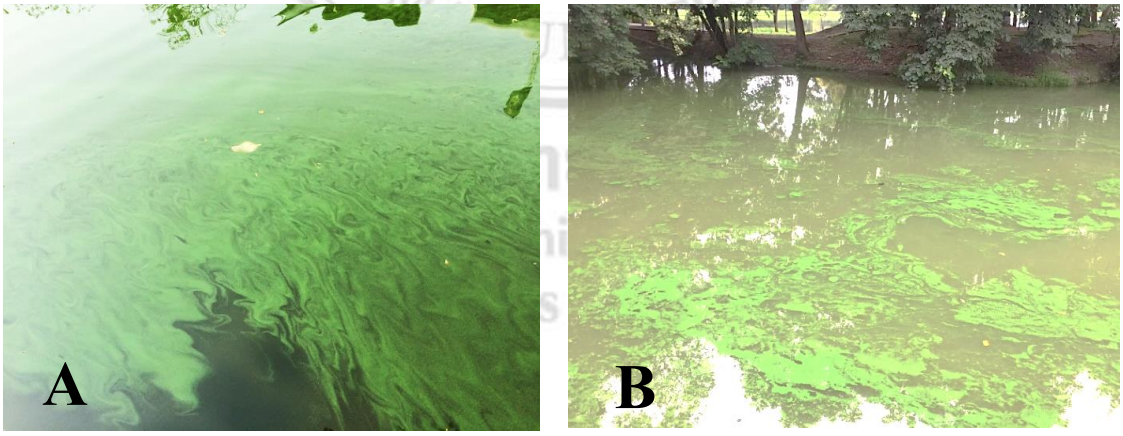
3) การพัดพาของลมทำให้เซลล์รวมอยู่บริเวณชายฝั่ง ส่งผลให้เกิดคราบหนาแน่น

- มี Chlorophyll-*a* ประมาณ 50,000 µg/L
- มีไซยาโนแบคทีเรีย 100,000,000 cells/mL
- อาจมีความเข้มข้นของ microcystin ประมาณ 20,000 µg/L

สะสมอยู่ในบริเวณดังกล่าว

ภาพที่ 1 การก่อตัวของคราบไซยาโนแบคทีเรีย และการสะสมไมโครซิสตินในแหล่งน้ำ

ที่มา : ดัดแปลงจาก WHO (2003)



ภาพที่ 2 การเจริญอย่างรวดเร็วของ *Microcystis* spp. **A)** คูเมืองเชียงใหม่ จังหวัดเชียงใหม่ (29 เมษายน 2559) **B)** อ่างแก้ว มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จังหวัดเชียงใหม่ (6 กันยายน 2560)

ตารางที่ 1 ระดับความรุนแรงของการเจริญอย่างรวดเร็วของไซยาโนแบคทีเรียที่สร้างสารพิษในแหล่งน้ำ ที่อาจส่งผลกระทบต่อสุขภาพ

ความน่าจะเป็นในการก่อให้เกิดผลกระทบต่อสุขภาพ	ความเข้มข้นของเซลล์ (cells/mL)	ความเข้มข้นของ Chlorophyll-*a* (µg/L)
ต่ำ	<20,000	<10
กลาง	20,000-100,000	10-50
สูง	>100,000 (scum)	scum

ที่มา : ดัดแปลงจาก WHO (2003)

2.1.1 ปัจจัยที่ก่อให้เกิดการเจริญอย่างรวดเร็วของไซยาโนแบคทีเรีย

การเจริญอย่างรวดเร็วของไซยาโนแบคทีเรียในแหล่งน้ำ จำเป็นต้องอาศัยปัจจัยในสิ่งแวดล้อมที่เหมาะสม โดยประกอบด้วยปัจจัยต่าง ๆ ดังนี้ (ภาพที่ 3)

1) สารอาหาร (nutrients) ฟอสฟอรัส (P) และไนโตรเจน (N) เป็นปัจจัยสำคัญที่ส่งเสริมการเจริญอย่างรวดเร็วของไซยาโนแบคทีเรียในแหล่งน้ำ โดยกิจกรรมของมนุษย์ เช่น น้ำทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรม ของเสียจากครัวเรือน การเกษตร และการปศุสัตว์ สามารถปลดปล่อยสารอาหารดังกล่าวลงสู่แหล่งน้ำได้เป็นจำนวนมาก และก่อให้เกิดการเจริญอย่างรวดเร็วของไซยาโน-แบคทีเรียได้ โดยพบว่า ฟอสฟอรัสมีอิทธิพลต่อการเจริญของไซยาโนแบคทีเรียมากกว่าไนโตรเจน เนื่องจากไซยาโนแบคทีเรียบางชนิดสามารถตรึงไนโตรเจนที่มีอยู่ในชั้นบรรยากาศ เพื่อตอบสนองความต้องการไนโตรเจนได้อย่างเพียงพอ อย่างไรก็ตาม หากในระบบน้ำจืดนั้น มีการเจริญอย่างรวดเร็วของไซยาโนแบคทีเรียที่ไม่สามารถตรึงไนโตรเจนได้ (non N_2-fixing cyanobacteria) พบว่าปัจจัยของไนโตรเจน และฟอสฟอรัสในแหล่งน้ำนั้นจะมีความสำคัญเท่า ๆ กัน (Schindler *et al*., 2008; Paerl *et al*., 2011)

2) ความเข้มแสง (light intensity) ไซยาโนแบคทีเรีย มีรงควัตถุแคโรทีนอยด์ (carotenoid) ในเซลล์ปริมาณมาก ซึ่งรงควัตถุเหล่านี้ ทำหน้าที่ป้องกันอันตรายจากแสงเมื่อเซลล์จำเป็นต้องสัมผัสกับความเข้มแสงสูง จึงเป็นข้อได้เปรียบที่ทำให้ไซยาโนแบคทีเรียสามารถเจริญเติบโตได้ดีกว่าสิ่งมีชีวิตสังเคราะห์แสงอื่น ๆ (Paerl *et al*., 1985) นอกจากนี้ พบว่า สารพิษในกลุ่มเปปไทด์ ที่ผลิตจากไซยาโนแบคทีเรียบางชนิด อาจมีบทบาทเกี่ยวข้องกับการป้องกันอันตรายจากแสง เช่นเดียวกัน (Kaebernick *et al*., 2000; Gerbersdorf, 2006) อย่างไรก็ตาม พบว่า ไซยาโนแบคทีเรียหลายชนิด เช่น *Microcystis* spp. และ *Aphanizomenon* spp. มีความสามารถในการดูดซับพลังงานแสงที่ต่ำ ทำให้ไซยาโนแบคทีเรียเหล่านี้เจริญได้ไม่ดีที่ความเข้มแสงต่ำ แต่เนื่องจากไซยาโนแบคทีเรีย

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

เหล่านี้มี gas vesicle ช่วยในการลอยตัวขึ้นสู่ผิวน้ำ ทำให้เซลล์สัมผัสกับความเข้มแสงที่สูงขึ้นได้ จึงสามารถลดผลกระทบจากข้อจำกัดดังกล่าว (Reynolds, 2006; Carey *et al*., 2012) ในขณะที่ไซยาโนแบคทีเรียบางชนิด เช่น *Cylindrospermopsis* spp. และ *Planktothrix* spp. สามารถเจริญได้ดีที่ความเข้มแสงต่ำ รวมทั้งความเข้มแสงที่สูงด้วย จึงทำให้เจริญได้ดีในชั้นน้ำที่ลึกกว่าได้ (Dyble *et al*., 2006; Wu *et al*., 2009)

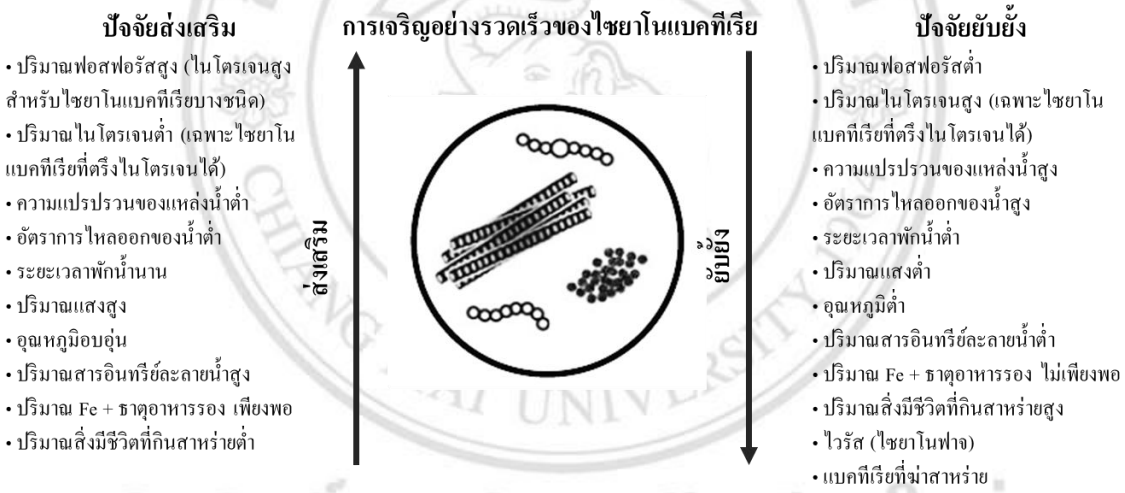
3) อุณหภูมิ (temperature) ถือเป็นปัจจัยที่สำคัญต่อการเจริญอย่างรวดเร็วของไซยาโนแบคทีเรีย ซึ่งไซยาโนแบคทีเรียส่วนใหญ่มักเจริญได้ดีในช่วงอุณหภูมิ 25-35 องศาเซลเซียส (Reynolds, 2006; Lurling *et al*., 2013) เช่น *Microcystis aeruginosa* และ *Aphanizomenon gracile* เจริญได้ดีที่ 30-32°C ในส่วนของ *Cynlindrospermopsis raciborskii* และ *Planktothrix agardhii* สามารถเจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 27.5°C ขณะที่ *Anabaena* spp. เจริญได้ดีที่ 25°C (Liu *et al*., 2011; Lurling *et al*., 2013) ด้วยอุณหภูมิที่สูงขึ้นเนื่องจากภาวะโลกร้อน อาจทำให้เกิดความเสี่ยงที่จะพบการเจริญอย่างรวดเร็วของไซยาโนแบคทีเรียเหล่านี้ในแหล่งน้ำต่าง ๆ เพิ่มมากขึ้น

4) ความแปรปรวน และระยะเวลาการพักน้ำ (turbulence and residence time) การเจริญอย่างรวดเร็วของไซยาโนแบคทีเรีย มีแนวโน้มเกิดขึ้นในช่วงที่แหล่งน้ำมีความสงบนิ่ง จนทำให้เกิดการแบ่งชั้นของน้ำ (stratification) ซึ่งมีความสัมพันธ์กับอุณหภูมิที่เพิ่มขึ้นด้วย โดยไซยาโนแบคทีเรียจะเจริญอย่างรวดเร็วบริเวณชั้นบนสุดของชั้นน้ำที่มีอุณหภูมิสูงขึ้น และจะไม่ผสมลงไปยังชั้นน้ำที่ต่ำกว่า ซึ่งมีแสงน้อย นอกจากนี้ การแบ่งชั้นของน้ำ เป็นสัญญาณของการมีระยะเวลาการพักน้ำเพิ่มขึ้น ซึ่งจะมีอัตราการไหลออก (water flushing) ของน้ำลดลง ส่งผลให้การสูญเสียมวลชีวภาพของไซยาโนแบคทีเรียออกจากระบบลดลง และช่วยให้ไซยาโนแบคทีเรียใช้สารอาหารที่มีอยู่ในชั้นน้ำได้ดีขึ้น (Jeppesen *et al*., 2007; Paerl and Huisman, 2009) อย่างไรก็ตาม ในช่วงที่แหล่งน้ำมีความแปรปรวนสูง อันเนื่องมาจากมีปริมาณฝนมาก อาจทำให้เกิดการชะสารอาหารจากหน้าดินลงสู่แหล่งน้ำได้ ซึ่งจะทำให้สารอาหารในแหล่งน้ำมีปริมาณเพิ่มขึ้น โดยในระยะสั้นอาจยังไม่เกิดการเจริญของไซยาโนแบคทีเรีย เนื่องจากปริมาณน้ำในแหล่งน้ำเพิ่มขึ้น และชั้นของน้ำมีการผสมกัน แต่เมื่อระยะเวลาผ่านไป แหล่งน้ำเริ่มมีความสงบนิ่ง และมีระยะเวลาการพักน้ำเพิ่มขึ้น อาจก่อให้เกิดการเจริญอย่างรวดเร็วของไซยาโนแบคทีเรียขึ้นได้ (Paerl *et al*., 2011)

5) ปัจจัยทางชีวภาพของแหล่งน้ำ (biological factor) มีการรายงานว่า สิ่งมีชีวิตจำพวกแพลงก์ตอนสัตว์ (zooplankton) ในกลุ่ม Cladocerans, Copepods และ Protists สามารถควบคุมจำนวนประชากรของไซยาโนแบคทีเรียในแหล่งน้ำได้โดยการกิน (ingestion) เซลล์ของไซยาโนแบคทีเรียเข้าไป (Paerl and Otten, 2013; Ger *et al*., 2016) อย่างไรก็ตาม ในแหล่งน้ำที่มีสารอาหารสูงจะทำให้จำนวนประชากรของไซยาโนแบคทีเรียมีจำนวนมาก จึงทำให้การกินโดยแพลงก์ตอนสัตว์เหล่านี้ ไม่ส่งผลต่อประชากรของไซยาโนแบคทีเรียมากนัก นอกจากนี้ ไซยาโนแบคทีเรียบางชนิดมี

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

การรวมกลุ่มเซลล์เป็นโคโลนีขนาดใหญ่ จึงทำให้ลดผลกระทบจากการกินโดยแพลงก์ตอนสัตว์เหล่านี้ด้วย และพบว่า ไซยาโนแบคทีเรียไม่ใช่แหล่งอาหารที่ดีสำหรับแพลงก์ตอนสัตว์ มีรายงานว่าเซลล์ของไซยาโนแบคทีเรียที่ถูกกินโดย *Daphnia* ไม่ถูกย่อยภายในระบบย่อยอาหาร และเซลล์ยังคงมีชีวิต สามารถดูดซึมอาหารได้ดีภายในระบบย่อยอาหารของแพลงก์ตอนสัตว์อีกด้วย (Porter, 1976; Elser, 1999; Vanderploeg *et al*., 2001; Paerl and Otten, 2013; Ger *et al*., 2016) นอกจากนี้ จากรายงานของ Manage *et al*. (2001) ได้พบความสัมพันธ์ระหว่างแบคทีเรีย และไซยาโนฟาจ กับจำนวนประชากรของ *Microcystis aeruginosa* ในแหล่งน้ำ โดยขณะที่เกิดการเจริญอย่างรวดเร็วของ *M. aeruginosa* พบปริมาณแบคทีเรีย และไซยาโนฟาจ เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ และภายหลังจากที่ประชากรของ *M. aeruginosa* ลดลง ปริมาณของแบคทีเรีย และไซยาโนฟาจ ก็ลดลงอย่างมีนัยสำคัญเช่นกัน แสดงให้เห็นว่า แบคทีเรีย และไซยาโนฟาจ อาจมีส่วนสำคัญในการควบคุมไซยาโนแบคทีเรียในแหล่งน้ำ ด้วยเช่นกัน



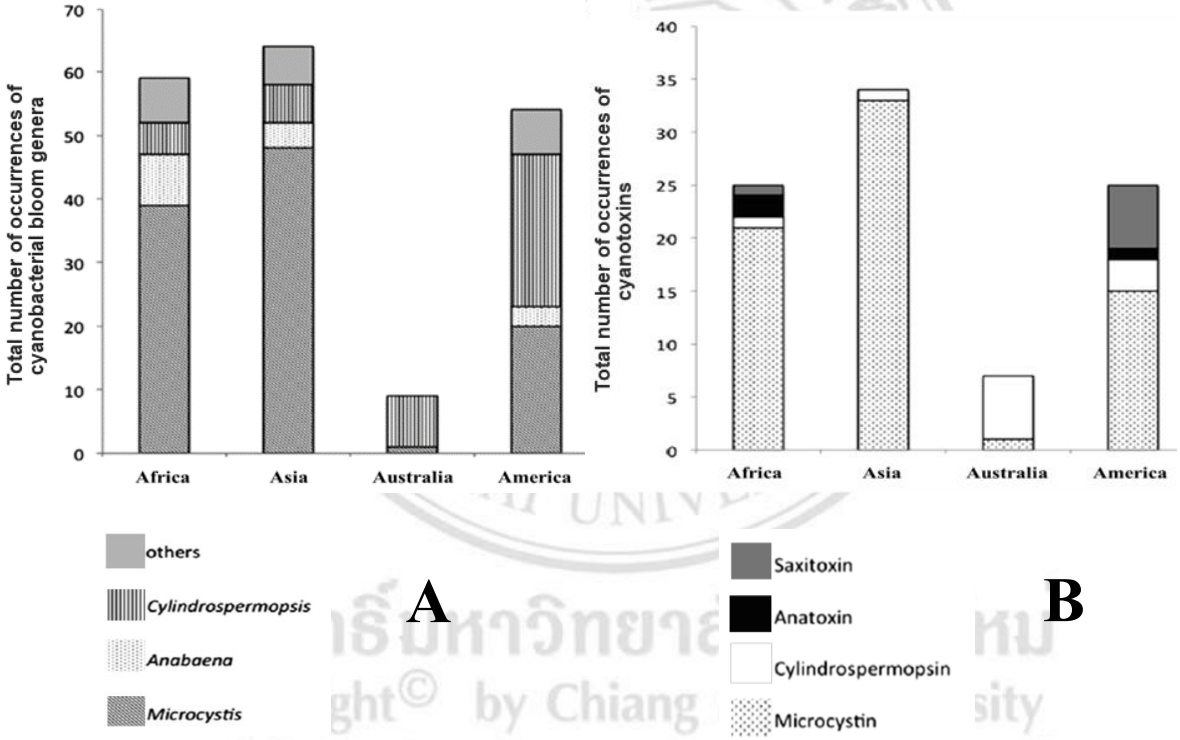
ภาพที่ 3 ปัจจัยที่ส่งเสริม และยับยั้งการเจริญอย่างรวดเร็วของไซยาโนแบคทีเรียในแหล่งน้ำ
ที่มา : ดัดแปลงจาก Paerl and Otten (2013)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

2.1.2 รายงานการเจริญอย่างรวดเร็วของไซยาโนแบคทีเรียที่สร้างสารพิษ

การเจริญอย่างรวดเร็วของไซยาโนแบคทีเรียที่สร้างสารพิษพบได้ทั่วโลก ทั้งในแหล่งน้ำจืด และน้ำทะเล โดยสกุลที่พบบ่อยในแหล่งน้ำจืด ได้แก่ *Microcystis*, *Cylindrospermopsis*, *Planktothrix*, *Synechococcus*, *Gloeotrichia*, *Anabaena* (*Dolichospermum*) , *Lyngbya*, *Nostoc*, *Aphanizomenon*, *Oscillatoria*, *Schizothrix* และ *Synechocystis* (WHO, 2003) จัดแบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม คือ 1) ไซยาโนแบคทีเรียที่สามารถตรึงไนโตรเจนได้ (N_2-fixing cyanobacteria) เช่น *Anabaena*, *Aphanizomenon*, *Cylindrospermopsis*, *Lyngbya* และ *Oscillatoria* และ 2) ไซยาโนแบคทีเรียที่ไม่

สามารถตรึงไนโตรเจนได้ (non N_2-fixing cyanobacteria) เช่น *Microcystis* และ *Planktothrix* (Paerl and Otten, 2013) โดยสกุลของไซยาโนแบคทีเรียที่พบ มีแนวโน้มที่จะแตกต่างกันไปตามเขตภูมิอากาศ และอุณหภูมิของแหล่งน้ำ (Mowe *et al*., 2015) ในทวีปเอเชีย และแอฟริกา พบการเจริญของ *Microcystis* เป็นหลัก ประมาณ 77% และ 66% ตามลำดับ รองลงมาคือ *Anabaena* และ *Cylindrospermopsis* ในส่วนของทวีปออสเตรเลีย และอเมริกา พบการเจริญของ *Cylindrospermopsis* ประมาณ 87% และ 47% ตามลำดับ รองลงมาคือ *Microcystis* และ *Anabaena* (ภาพที่ 4A) สำหรับสารพิษจากไซยาโนแบคทีเรียที่พบในแหล่งน้ำของทวีปเอเชีย แอฟริกา และอเมริกา ส่วนใหญ่ คือ microcystin ในขณะที่ทวีปออสเตรเลีย พบ cylindrospermopsin เป็นสารพิษหลัก (ภาพที่ 4B) (Mowe *et al*., 2015; Niamien-Ebrottie *et al*., 2015)



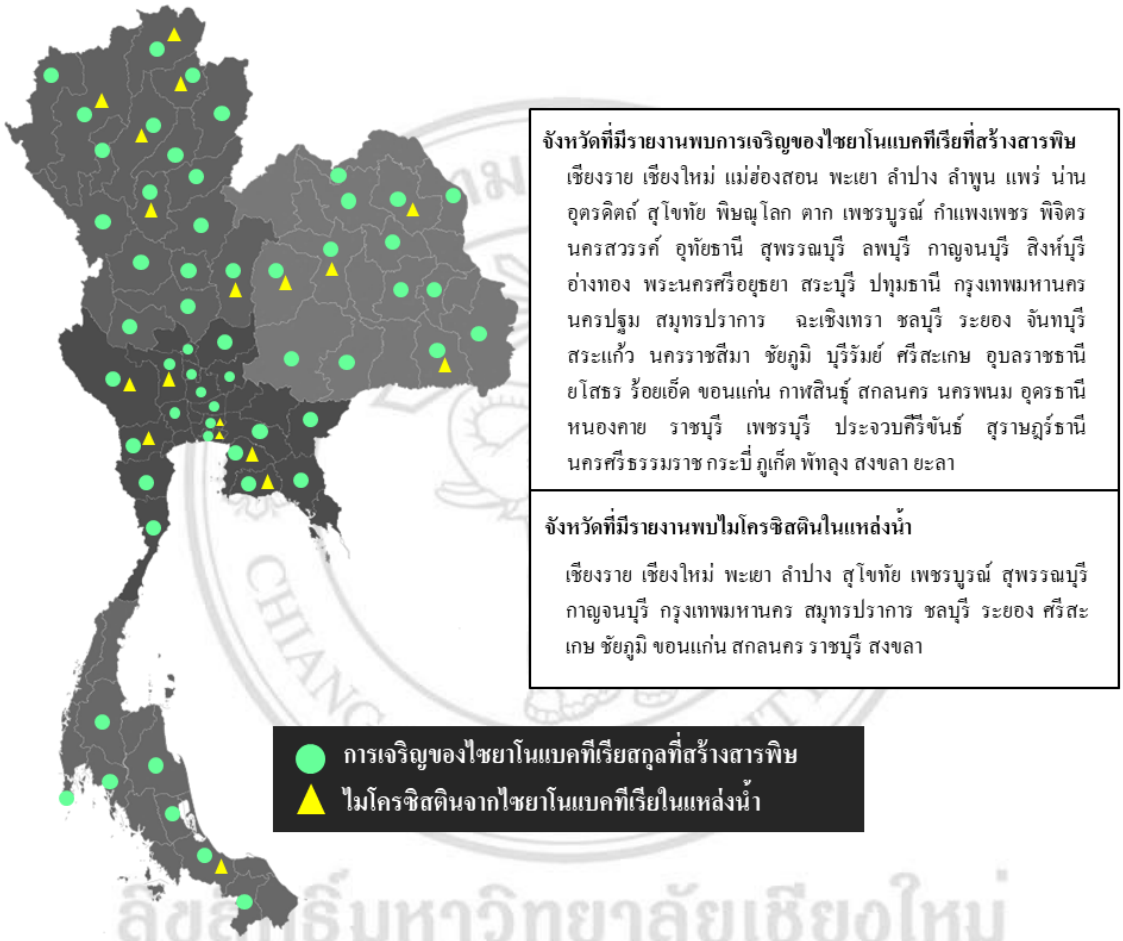
ภาพที่ 4 A) การเจริญอย่างรวดเร็วของไซยาโนแบคทีเรียที่สร้างสารพิษ และ **B)** การปรากฏของสารพิษไมโครซิสตินในแหล่งน้ำทั่วโลก

ที่มา : Mowe *et al*. (2015)

สำหรับปัญหาการเจริญอย่างรวดเร็วของไซยาโนแบคทีเรียที่สร้างสารพิษในประเทศไทย จากรายงานในช่วงปี 2544-2558 พบว่า แหล่งน้ำใน 56 จังหวัด ของประเทศไทยมีการเจริญของไซยาโนแบคทีเรียที่สร้างสารพิษ โดยสกุลที่พบบ่อยที่สุด คือ *Microcystis*, *Cylindrospermopsis*,

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
ght© by Chiang sity
All rights reserved

Dolichospermum (*Anabaena*) และ *Planktothrix* นอกจากนี้ พบว่าไซยาโนแบคทีเรียในแหล่งน้ำ 18 จังหวัด ของประเทศไทยสามารถสร้าง microcystins ได้ ในช่วงความเข้มข้น 0.91-12.96 µg/L (ภาพที่ 5) แสดงให้เห็นว่า ทั่วทุกภูมิภาคของประเทศไทย มีแนวโน้มที่จะเกิดปัญหาการเจริญอย่างรวดเร็วของไซยาโนแบคทีเรีย และการสะสมของไมโครซิสตินในแหล่งน้ำ



ภาพที่ 5 การเจริญอย่างรวดเร็วของไซยาโนแบคทีเรีย และไมโครซิสตินในแหล่งน้ำของประเทศไทย
ที่มา : Li *et al*. (2001); Suda *et al*. (2002); Ariyadej *et al*. (2004); Pekkoh (2008); Prommana *et al*. (2006); Sengpracha *et al*. (2006); Meesukko *et al*. (2007); Somdee *et al*. (2013); Whangchai *et al*. (2013); Ruangsomboon *et al*. (2014); Prasertsin and Peerapornpisal (2015); Rastogi *et al*. (2015); สิริแข และคณะ (2556); ณัฐวุฒิ และจีรพร (2558)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

2.1.3 ผลกระทบจากการเจริญอย่างรวดเร็วของไซยาแบคทีเรียในแหล่งน้ำ

1) ปริมาณแสงในชั้นน้ำ แหล่งน้ำที่มีการเจริญอย่างรวดเร็วของไซยาแบคทีเรียบริเวณผิวน้ำอย่างหนาแน่น และยาวนาน เซลล์ของไซยาโนแบคทีเรียจะบดบังแสงอาทิตย์ ทำให้แสงที่ส่องลงมาในชั้นน้ำมีปริมาณน้อยลง ส่งผลให้สิ่งมีชีวิตสังเคราะห์แสงที่ไม่สามารถเจริญอยู่บนผิวน้ำได้ เช่น แพลงก์ตอนพืชชนิดอื่น สาหร่ายจำพวกยึดเกาะ และพืชน้ำ มีการเจริญเติบโตได้น้อยลง (Havens, 2008)

2) คาร์บอนไดออกไซด์ และ pH การเจริญอย่างรวดเร็วของไซยาโนแบคทีเรียในแหล่งน้ำ ส่งผลให้มีอัตราการสังเคราะห์แสงสูงขึ้น ทำให้ปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) ในน้ำลดลง เนื่องจากไซยาโนแบคทีเรียจะใช้ CO_2 ในกระบวนการสังเคราะห์แสง โดยไซยาโนแบคทีเรียจะนำ CO_2 เข้าสู่เซลล์ และเก็บสะสมอยู่ในรูปของ HCO_3^- และจะใช้ H^+ ในการเปลี่ยน HCO_3^- กลับมาเป็น CO_2 และถูกตรึงโดย RuBisCO (Chi *et al*., 2011) จึงส่งผลให้น้ำมีค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เพิ่มสูงขึ้น และกลายเป็นข้อจำกัดในการเจริญเติบโตของแพลงก์ตอนพืชชนิดอื่น (Paerl *et al*., 2011) นอกจากนี้ พบว่าการที่ pH ในแหล่งน้ำสูงขึ้นอาจเป็นพิษต่อปลาบางชนิดอีกด้วย (Havens, 2008)

3) ระบบการผลิตน้ำดื่ม การเจริญอย่างรวดเร็วของไซยาโนแบคทีเรียในแหล่งน้ำที่ใช้ในการผลิตน้ำดื่ม อาจก่อให้เกิดปัญหาหลายประการ เช่น ทำให้น้ำดื่มมีกลิ่นเหม็น และรสชาติที่ไม่พึงประสงค์ และสารพิษจากไซยาโนแบคทีเรียในน้ำดื่มอาจส่งผลกระทบต่อสุขภาพของผู้บริโภคได้ ตัวอย่างเหตุการณ์ในปี 2007 จาก Qin *et al*. (2010) พบว่า ทะเลสาบ Taihu ประเทศจีน เกิดการเจริญอย่างรวดเร็วของ *Microcystis* spp. บริเวณใกล้โรงงานผลิตน้ำดื่ม ทำให้ประชาชนจำนวนมากขาดแคลนน้ำดื่มเป็นระยะเวลากว่า 1 อาทิตย์ โดยพบว่าการเจริญอย่างรวดเร็วของ *Microcystis* spp. ทำให้น้ำมีกลิ่นเหม็น และรสชาติไม่พึงประสงค์ และมีการปลดปล่อยไมโครซิสตินซึ่งก่อให้เกิดอันตรายได้ โดย WHO (1998) ได้กำหนดระดับความปลอดภัยของน้ำดื่มไม่ควรมี microcystin-LR เกิน 1 µg/L จึงจะมีความปลอดภัย ดังนั้น จึงต้องมีกระบวนการบำบัดน้ำให้มีความปลอดภัย เช่น การใช้สารเคมีจุลินทรีย์ ระบบฆ่าเชื้อ และย่อยสลายสารพิษ รวมถึงเทคโนโลยีสำหรับตรวจสอบสารพิษด้วย ซึ่งเป็นการเพิ่มต้นทุน และความลำบากในการผลิตน้ำดื่ม (Westrick *et al*., 2010; Cheung *et al*., 2013)

4) ผลกระทบหลังจากการเจริญอย่างรวดเร็วของไซยาโนแบคทีเรีย ในช่วงระยะสุดท้ายของการเจริญอย่างรวดเร็วของไซยาโนแบคทีเรียในแหล่งน้ำ เซลล์ของไซยาโนแบคทีเรียจะสลายตัวอย่างรวดเร็ว และปลดปล่อยสารอาหารต่าง ๆ ที่อยู่ภายในเซลล์ลงสู่แหล่งน้ำ จุลินทรีย์ที่อยู่ในแหล่งน้ำจะใช้สารอาหารเหล่านี้ในการเจริญเติบโต และเพิ่มจำนวน ปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ที่เกิดจากการหายใจของจุลินทรีย์จึงเพิ่มขึ้น และส่งผลให้ pH ของน้ำลดลง นอกจากนี้ยังพบว่า การสลายตัวของเซลล์ไซยาโนแบคทีเรีย ทำให้แหล่งน้ำมีปริมาณแอมโมเนียม (NH_4^+) เพิ่มขึ้น และปริมาณ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ออกซิเจนต่ำลง เนื่องจากขาดผู้ผลิตออกซิเจนอย่างกะทันหัน และการเจริญอย่างรวดเร็วของไซยาโนแบคทีเรียบนผิวน้ำเป็นเวลานาน อาจทำให้พืชน้ำ รวมถึงสิ่งมีชีวิตสังเคราะห์แสงอื่น ๆ ลดจำนวนลง ทำให้ผลิตออกซิเจนได้ไม่เพียงพอ ซึ่งอาจส่งผลอันตรายต่อสิ่งมีชีวิตในน้ำได้ (Chorus and Bartram, 1999; Havens, 2008; Ma *et al*., 2013)

5) การเกิดกลิ่น และรสที่ไม่พึงประสงค์ ไซยาโนแบคทีเรียบางชนิดสามารถผลิตสารประกอบอินทรีย์ระเหยได้ เช่น geosmin, 2-methylisoborneol (MIB), ß-cyclocitral, dimethyl sulfide (DMS) และ dimethyl trisulfide (DMTS) โดยมักพบการผลิต geosmin และ MIB ในระหว่างการเจริญของไซยาโนแบคทีเรีย และในช่วงระยะสุดท้ายของการเจริญของไซยาโนแบคทีเรีย พบว่ามีการผลิต ß-cyclocitral ขึ้น ซึ่งจะมีส่วนในการส่งเสริมการสลายตัวของเซลล์ไซยาโนแบคทีเรียด้วย นอกจากนี้พบว่า DMS และ DMTS จะถูกผลิตขึ้นในช่วงนี้เช่นกัน ซึ่งสารประกอบอินทรีย์ต่าง ๆ ดังที่กล่าวมา สามารถทำให้น้ำมีกลิ่นเหม็น และรสชาติที่ไม่พึงประสงค์ได้ (Ozaki *et al*., 2008; Ma *et al*., 2013)

6) ผลกระทบจากสารพิษที่สร้างโดยไซยาโนแบคทีเรีย ไซยาโนแบคทีเรียบางชนิดสามารถสร้างสารพิษที่ก่อให้เกิดอันตรายต่อสิ่งมีชีวิตในแหล่งน้ำได้ เช่น ยับยั้งการเจริญของแพลงก์-ตอนพืชชนิดอื่น (Suikkanen *et al*., 2004) ลดการเจริญเติบโต และอัตราการสืบพันธุ์ของแพลงก์ตอนสัตว์ (Gilbert, 1990; Ferrao-Filho *et al*., 2000) เกิดการสะสมสารพิษในเนื้อเยื่อของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง และปลา (Magalhaes, 2001; Lehtiniemi *et al*., 2002) และมีรายงานการตายของสุนัข นก และปศุสัตว์ หลังจากบริโภคน้ำที่มีการเจริญอย่างรวดเร็วของไซยาโนแบคทีเรียอีกด้วย (Van-Halderen *et al*., 1995; Harding and Paxton, 2001; Niamien-Ebrottie *et al*., 2015) สำหรับผลกระทบต่อสุขภาพของมนุษย์ ความรุนแรงจะขึ้นอยู่กับระดับความเข้มข้นของสารพิษ เส้นทางการสัมผัส และชนิดของสารพิษ โดยอาจเกิดผลกระทบได้ทั้งระยะยาว และระยะสั้น ตามระยะเวลาการสัมผัสสารพิษ ตัวอย่างเช่น ผลกระทบจากการสัมผัสไมโครซิสตินระยะสั้น เช่น ระบบทางเดินอาหารเป็นพิษ การอักเสบของตับ การทำงานของตับล้มเหลว โรคปอดอักเสบ และโรคผิวหนัง (Lopez *et al*., 2008; Cheung *et al*., 2013) ผลกระทบจากการสัมผัสไมโครซิสตินเป็นระยะเวลานาน เช่น ส่งเสริมการเกิดเนื้องอก และมะเร็ง (Davis *et al*., 2009; Niamien-Ebrottie *et al*., 2015)

2.2 สารพิษจากไซยาโนแบคทีเรีย

สารพิษจากไซยาโนแบคทีเรีย (cyanotoxins) เมื่อจัดแบ่งตามสูตรโครงสร้างทางเคมีสามารถจัดแบ่งออกเป็น 3 กลุ่มคือ cyclic peptides, alkaloids และ lipopolysaccharides และเมื่อจัดแบ่งตามกลไกการออกฤทธิ์สามารถแบ่งออกได้เป็น 3 กลุ่มหลัก คือ สารพิษที่มีผลต่อตับ (hepatotoxins)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

สารพิษที่มีผลต่อระบบประสาท (neurotoxins) และสารพิษที่ทำให้เกิดผิวหนังอักเสบ และระคายเคือง (dermatoxins) (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 2 สารพิษจากไซยาโนแบคทีเรีย ประเภทของสารพิษ และระดับความเป็นพิษ (LD_{50})

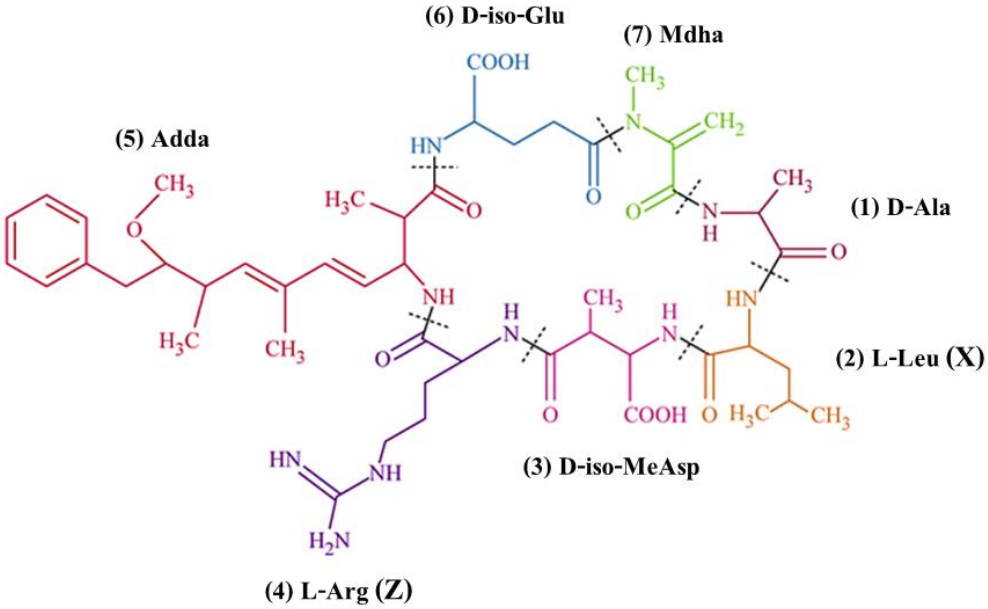
สารพิษ	ประเภทของสารพิษ	สกุลของไซยาโนแบคทีเรีย	LD_{50} (µg/kg)
Microcystins	Hepatotoxins	*Anabaena*, *Anabaenopsis*, *Cylindrospermopsis*, *Microcystis*, *Oscillatoria*, *Phormidium*, *Planktothrix* and others	25-150
Nodularins	Hepatotoxins	*Nodularia*	30-70
Cylindrospermopsins	Hepatotoxins	*Anabaena*, *Aphanizomenon*, *Cylindrospermopsis*, *Raphidiopsis*, *Umezakia*	2100
Anatoxin-a	Neurotoxins	*Anabaena*, *Aphanizomenon*, *Cylindrospermopsis*, *Lyngbya*, *Oscillatoria*, *Phormidium*, *Planktothrix*, *Raphidiopsis*, *Woronichinia*	375
Anatoxin-a(s)	Neurotoxins	*Anabaena*	31
Saxitoxins	Neurotoxins	*Anabaena*, *Aphanizomenon*, *Cylindrospermopsis*, *Lyngbya*, *Oscillatoria*, *Planktothrix*	10
ß-N-methylamino-L-alanine (BMAA)	Neurotoxins	*Anabaena*, *Cylindrospermopsis*, *Lyngbya*, *Microcystis*, *Trichodesmium* and others	301 (mg)
Lyngbyatoxin-a	Dermatotoxins	*Lyngbya*	250
Aplysiatoxins	Dermatotoxins	*Lyngbya*, *Schizothrix*, *Planktothrix*	100-120
Lipopolysaccharides	Dermatotoxins	Cyanobacteria in general	40-190 (mg)

หมายเหตุ : LD_{50} คือ ระดับความเป็นพิษของสารพิษ โดยคำนวณจากปริมาณสารพิษ (µg/kg น้ำหนักตัว) ที่มีผลต่อการฆ่าหนูทดลองจำนวน 50%

ที่มา : Paerl and Otten (2013); Merel *et al*. (2013); Zanchett and Oliveira-Filho (2013)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ไมโครซิสติน (Microcystins) เป็นสารพิษจากไซยาโนแบคทีเรียที่พบบ่อยที่สุดในแหล่งน้ำทั่วโลก โดยมีโครงสร้างเป็น cyclic heptapeptides ประกอบด้วยกรดอะมิโน 7 ชนิด โดยกรดอะมิโน Adda จะเกี่ยวข้องกับความเป็นพิษของโมเลกุล (Dawson, 1998) ในบริเวณ X และ Z ของโมเลกุล เป็นบริเวณที่สามารถมีกรดอะมิโนที่แตกต่างกันได้ (ภาพที่ 6) โดยกรดอะมิโนในบริเวณดังกล่าว จะเป็นตัวกำหนดชื่อของไมโครซิสติน ตัวอย่างเช่น ไมโครซิสตินที่มี leucine (L) อยู่บริเวณ X และ arginine (R) อยู่บริเวณ Z จะถูกจัดจำแนกให้เป็น microcystin-LR (Merel *et al*., 2013) ปัจจุบันมีไมโครซิสตินมากกว่า 100 ชนิด (Puddick *et al*., 2014) โดยชนิดที่มีความเป็นพิษสูงที่สุดคือ microcystin-LR ซึ่งมีค่า LD_{50} อยู่ในช่วง 25-150 µg/kg น้ำหนักตัว โดยทั่วไปแล้วในแหล่งน้ำธรรมชาติมักพบ microcystin-LR, -YR และ-RR (Cheung *et al*., 2013)



ภาพที่ 6 โครงสร้างทางเคมีของ microystin-LR
ที่มา : Chen and Xie (2016)

Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ไมโครซิสตินเป็นสารพิษที่มีความสามารถในการละลายน้ำ ทนต่ออุณหภูมิสูง และไม่ทำปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส หรือออกซิเดชันที่ความเป็นกรดด่างใกล้เคียงกับสภาวะธรรมชาติ และสามารถคงอยู่ได้ในระยะเวลาเป็นเดือนจนถึงหนึ่งปีในที่มืด เนื่องจากโครงสร้างของไมโครซิสตินมีลักษณะเป็นวงแหวนเปปไทด์ทำให้ย่อยสลายได้ยาก (Harada *et al*., 1998) เมื่อสารพิษไมโครซิสตินเข้าสู่ร่างกายของมนุษย์ จะมีผลยับยั้งการทำงานของเอนไซม์โปรตีนฟอสฟาเตสชนิด 1 (PP1) และ 2A (PP2A) ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการต่าง ๆ ภายในเซลล์ โดยจะทำงานร่วมกับโปรตีน

ไคเนส เพื่อควบคุมการทำงานของหมู่ฟอสเฟตที่เติมในโมเลกุลของโปรตีนให้อยู่ในสภาวะสมดุล โดยเอนไซม์โปรตีนไคเนสจะทำหน้าที่ในการเติมหมู่ฟอสเฟต ส่วนเอนไซม์โปรตีนฟอสฟาเตสจะเกี่ยวข้องกับการตัดหมู่ฟอสเฟต (ธีรศักดิ์, 2545) เอนไซม์ทั้งสองชนิดจึงมีความเกี่ยวข้องกับการควบคุมการทำงานของเซลล์ เช่น การเจริญของเซลล์ และการยับยั้งการเกิดเนื้องอก เมื่อเกิดการยับยั้งเอนไซม์โปรตีนฟอสฟาเตส จะก่อให้เกิดการแบ่งเซลล์ที่ผิดปกติ ทำให้มีโอกาสในการเกิดเนื้องอกและมะเร็งได้ นอกจากนี้ ไมโครซิสตินยังมีผลต่ออวัยวะ และระบบต่าง ๆ ของร่างกาย เช่น ทำให้ระบบทางเดินอาหารเป็นพิษ เกิดการอักเสบของตับ การทำงานของตับล้มเหลว โรคปอดอักเสบ โรคผิวหนัง ก่อให้เกิดความเสียหายต่อไต ม้าม หัวใจ รวมไปถึงอวัยวะอื่น ๆ และยังมีความเป็นพิษต่อสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม พืช ปลา รวมทั้งสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังอีกด้วย (Lopez *et al*., 2008; Ramani *et al*., 2012; Cheung *et al*., 2013; Merel *et al*., 2013; Niamien-Ebrottie *et al*., 2015; Chen and Xie, 2016)

2.3 วิธีการกำจัดไซยาโนแบคทีเรีย และสารพิษไมโครซิสติน

เนื่องจากแหล่งน้ำหลายแห่งทั่วโลก ประสบปัญหาการเจริญอย่างรวดเร็วของไซยาโนแบคทีเรีย จึงมีความพยายามในการศึกษาวิธีการกำจัดไซยาโนแบคทีเรีย และสารพิษในแหล่งน้ำอย่างแพร่หลาย โดยสามารถทำได้หลายวิธี ดังนี้

2.3.1 วิธีการทางกายภาพ (physical methods)

1) การกำจัดไซยาโนแบคทีเรียด้วยวิธีทางกายภาพ

1.1) การตกตะกอน (flocculation) เป็นการทำให้เซลล์ของไซยาโนแบคทีเรียตกตะกอนลงสู่ท้องน้ำ ส่งผลให้ไซยาโนแบคทีเรียสังเคราะห์แสงไม่ได้ และตายไปในที่สุด โดยอาจใช้สารเคมีเพื่อช่วยในการตกตะกอน เช่น เฟอร์ริกคลอไรด์ อลูมิเนียมซัลเฟต (ธีรศักดิ์, 2545) การใช้ silica nanoparticles ในการตกตะกอนไซยาโนแบคทีเรีย (Xiong *et al*., 2017) และการใช้ phosphatic clay ในการตกตะกอน (Beaulieu *et al*., 2003) อย่างไรก็ตามพบว่า ผลกระทบจากการขนส่งทางน้ำ การรบกวนตะกอนโดยสัตว์น้ำ ผลกระทบจากลม และกระแสน้ำ อาจทำให้ไซยาโนแบคทีเรียกลับมาเจริญอยู่ในชั้นน้ำได้อีกครั้ง (Li and Pan, 2015)

1.2) การเก็บเกี่ยวเซลล์ (cell harvesting) เป็นการกำจัดไซยาโนแบคทีเรียโดยวิธีการแยกเซลล์ของไซยาโนแบคทีเรียออกจากน้ำ วิธีการนี้มีขั้นตอนในการดำเนินงานที่ไม่ยุ่งยากซับซ้อน แต่อาจต้องใช้แรงงานจำนวนมาก ตัวอย่างเช่น การเก็บเกี่ยวโดยตรงโดยการช้อนเซลล์ของไซยาโนแบคทีเรียบริเวณผิวน้ำออกไป (Somdee *et al*., 2013) หรือใช้วิธีการที่อาศัยเครื่องทุ่นแรง แต่อาจมีค่าใช้จ่ายที่เพิ่มสูงขึ้น เช่น การกรองโดยใช้ปั๊ม และการปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็วสูง (Carmichael *et al*., 2000; Kidwell, 2014)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

1.3) การใช้คลื่นอัลตราโซนิค (ultrasonic irradiation) มีหลักการทำงานคือ คลื่นความถี่เสียงจะทำให้ฟองอากาศแตกออก และปลดปล่อยพลังงานออกมา เกิดเป็นสภาวะสุดขั้วคือ มีความดันสูง และอุณหภูมิมากกว่า 4,726 องศาเซลเซียส โดยจะทำให้เกิดผลกระทบต่อเซลล์ทั้งทางด้านกายภาพ และเคมี โดยทางกายภาพจะเกิดแรงสั่นสะเทือน และแรงเฉือนที่รุนแรงจากฟองอากาศ ส่วนทางเคมีจะทำให้เกิดอนุมูลอิสระของ OH^- และ H^+ จากการแตกของฟองอากาศ ซึ่งเป็นการทำลายเยื่อหุ้มเซลล์ และทำให้ผนังเซลล์แตกในที่สุด (Wu *et al.,* 2012) วิธีการนี้ มีประสิทธิภาพในการทำลาย gas vesicle ของไซยาโนแบคทีเรีย ทำให้เซลล์แตก และส่งผลกระทบต่อระบบการสังเคราะห์แสง ทำให้ไซยาโนแบคทีเรียไม่สามารถสังเคราะห์แสงได้อีกด้วย (Lee *et al*., 2001; Srisuksomwong, 2012)

1.4) การเจือจาง (dilution) เป็นการปรับปรุงคุณภาพน้ำโดยนำน้ำจากแหล่งน้ำอื่นที่มีสารอาหารปริมาณน้อยมาเจือจางเพื่อให้แหล่งน้ำมีสารอาหารลดลง ไม่เหมาะสมต่อการเจริญของไซยาโนแบคทีเรีย อย่างไรก็ตาม วิธีการนี้ไม่ค่อยได้รับความนิยมในแหล่งน้ำขนาดใหญ่ เนื่องจากมีค่าใช้จ่ายสูงในการขนส่งน้ำ (Welch, 1981)

2) การกำจัดสารพิษไมโครซิสตินด้วยวิธีทางกายภาพ

2.1) การใช้ถ่านกัมมันต์ (activated carbon) โดยปกติ ถ่านกัมมันต์ถูกนำมาใช้ในการดูดซับสารอินทรีย์ กลิ่น และรสในระบบบำบัดน้ำเสีย โดยวัตถุดิบที่นิยมนำมาใช้ทำถ่านกัมมันต์ คือ ถ่านหิน มะพร้าว หรือเนื้อไม้ ทำให้ถ่านกัมมันต์มีขนาดรูพรุนที่แตกต่างกัน สำหรับการนำมาใช้ดูดซับสารพิษจากไซยาโนแบคทีเรีย พบว่า ถ่านกัมมันต์ที่มีรูพรุนขนาดกลาง และรูปแบบที่เป็นผง สามารถดูดซับ microcystin-LR, -RR, -YR, -LA และ cylindrospermopsin ได้ดี (Westrick *et al*., 2010) อย่างไรก็ตาม เมื่อนำไปใช้ในแหล่งน้ำธรรมชาติอาจเกิดสภาวะการแข่งขันดูดซับสารอินทรีย์ในแหล่งน้ำได้ (Ho *et al*., 2006)

2.2) การกรอง (membrane filtration) ในการกรองด้วยระบบ reverse osmosis และ nanofiltration เป็นการกรองสารปนเปื้อนตามขนาด และประจุของสาร พบว่า ระบบ reverse osmosis และ nanofiltration สามารถลดปริมาณสารพิษไมโครซิสตินได้สูงที่สุด 82 เปอร์เซ็นต์ โดยทั้งสองระบบนี้สามารถกรองสารที่มีมวลโมเลกุลประมาณ 1,000 ดาลตันได้ เมื่อศึกษาการกรองสารพิษ microcystin-LR และ -RR ปริมาณ 10 และ 130 µg/L ตามลำดับ พบว่ามีประสิทธิภาพในการกรองมากกว่า 95 เปอร์เซ็นต์ (Lee and Walker, 2008; Westrick *et al*., 2010)

2.3) การใช้แสง (photodegradation) ไมโครซิสติน เป็นสารพิษที่มีความทนทานต่อการย่อยสลายโดยแสงจากธรรมชาติ อย่างไรก็ตาม มีรายงานว่าแสงในช่วง 1,530 ถึง 20,000 mJ/cm^2 สามารถย่อยสลาย microcystin, cylindrospermopsin และ anatoxin-a ได้ (ธีรศักดิ์,

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

2545; Westrick *et al*., 2010) นอกจากนี้ สามารถใช้แสงยูวีในการย่อยสลายสารพิษได้ โดยพบว่า microcystin-LR สามารถย่อยสลายได้อย่างสมบูรณ์ เมื่อสัมผัสแสงยูวีที่ 2,550 $\mu W/cm^2$ เป็นเวลา 10 นาที อย่างไรก็ตาม การใช้แสงเพื่อย่อยสลายไมโครซิสตินในแหล่งน้ำธรรมชาตินั้น มักมีข้อจำกัด เนื่องจาก ความขุ่นจากตะกอนดิน สารอินทรีย์ ความหนาแน่นของไซยาโนแบคทีเรีย พืชน้ำ และพืชชั้นสูงมีส่วนในการบดบังแสงยูวีได้ (Tsuji *et al*., 1995; Gagala and Mankiewicz-Boczek, 2012)

2.3.2 วิธีการทางเคมี (chemical methods)

1) การกำจัดไซยาโนแบคทีเรียด้วยวิธีทางเคมี

1.1) คอปเปอร์ (copper) สามารถควบคุมการเจริญของไซยาแบคทีเรียได้ โดยส่งผลรบกวนกระบวนการทางเคมีในการสังเคราะห์แสง และสามารถทำให้เซลล์ของไซยาโนแบคทีเรียแตกได้ มีการใช้คอปเปอร์ในการควบคุมการเจริญอย่างรวดเร็วของไซยาโนแบคทีเรียทั้งในน้ำทะเล และน้ำจืด (Kidwell, 2014) อย่างไรก็ตาม วิธีการนี้เป็นเพียงการทำลายเซลล์ของไซยาโนแบคทีเรียเท่านั้น ซึ่งจะทำให้เกิดการปลดปล่อยสารพิษที่อยู่ภายในเซลล์ของไซยาโนแบคทีเรียลงสู่แหล่งน้ำเพิ่มมากขึ้นได้ (Ramini *et al*., 2012) นอกจากนี้พบว่า คอปเปอร์เป็นอันตรายต่อสิ่งมีชีวิตได้หลายชนิดรวมถึงแพลงก์ตอนสัตว์ เช่น ไรน้ำ และโรติเฟอร์ (Clayton, 2009)

1.2) ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (hydrogen peroxide) สามารถควบคุมการเจริญอย่างรวดเร็วของไซยาโนแบคทีเรียได้ โดยจะทำให้เซลล์แตกสลาย และสามารถย่อยสลายสารพิษจากไซยาโนแบคทีเรียได้อีกด้วย (Barrington *et al*., 2013; Kidwell, 2014) อย่างไรก็ตาม หากต้องการย่อยสลายสารพิษจำนวนมากในแหล่งน้ำ จะต้องใช้ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ในปริมาณที่สูงขึ้นด้วย ซึ่งอาจจะเป็นอันตรายต่อสิ่งมีชีวิตอื่น เช่น แพลงก์ตอนสัตว์ (Lurling *et al*., 2014)

1.3) ฟางข้าวบาร์เลย์ (barley straw) สารจากฟางข้าวบาร์เลย์ที่ย่อยสลายแล้วสามารถควบคุมการเจริญของไซยาโนแบคทีเรียได้ โดยกลไกในการควบคุมนั้นมาจากการที่ฟางข้าวบาร์เลย์ถูกย่อยสลายโดยจุลินทรีย์ในน้ำ และหลั่งสารในกลุ่ม phenolic compounds ออกมา ซึ่งมีฤทธิ์ในการฆ่าไซยาโนแบคทีเรียได้ (Ball *et al*., 2001; Rajabi, 2010) ตัวอย่างเช่น รายงานการวิจัยของ Waybright *et al*. (2009) ได้สกัดสารจากฟางข้าวบาร์เลย์ (*Hordeum vulgare*) ซึ่งพบว่าเป็นสารในกลุ่มของ polyphenolics สามารถยับยั้งการเจริญของ *Microcystis aeruginosa* ได้

2) การกำจัดสารพิษไมโครซิสตินด้วยวิธีทางเคมี

วิธีการทางเคมี สามารถกำจัดสารพิษจากไซยาโนแบคทีเรียได้ โดยผ่านการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน (oxidation) กับโครงสร้างทางเคมีของสารพิษ และทำให้หมดความเป็นพิษลง โดยสาร oxidant ที่ใช้ มีตัวอย่างดังนี้

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

2.1) โอโซน (ozone) เป็นก๊าซที่ไม่เสถียร และมีประสิทธิภาพสูงในการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน มีการใช้โอโซนอย่างแพร่หลายในกระบวนการผลิตน้ำดื่ม โดยสามารถฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค กำจัดสี หรือกลิ่นในน้ำได้ดี สำหรับการกำจัดสารพิษจากไซยาโนแบคทีเรียนั้น โอโซนจะเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันกับโครงสร้างทางเคมีของสารพิษ และทำให้สารพิษหมดความเป็นพิษลง การเกิดปฏิกิริยาออกซิดันของโอโซนในน้ำมีอยู่ 2 แบบ คือ 1) การเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารประกอบโดยตรงด้วยโมเลกุลของโอโซน ซึ่งมักเกิดในสภาวะที่เป็นกรด และ 2) การเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารประกอบด้วย hydroxyl free radicals ที่เกิดจากการสลายตัวของโอโซนภายใต้สภาวะที่เหมาะสมบางประการ เช่น สภาวะที่น้ำมีความเป็นด่างสูง มีแสงยูวี หรือในสภาวะที่มี H_2O_2 แต่ประสิทธิภาพของวิธีการนี้จะขึ้นอยู่กับความเป็นกรด-ด่าง และชนิดของสารอินทรีย์ (Bober *et al*., 2008) จากรายงานของ Onstad *et al*. (2007) พบว่า โอโซนสามารถทำลายโครงสร้างทางเคมีของ microcystin-LR, cylindrospermopsin และ anatoxin-a และทำให้สารพิษดังกล่าวหมดความเป็นพิษได้

2.2) คลอรีน (chlorine) คลอรีนมักถูกใช้ในกระบวนการผลิตน้ำประปา เนื่องจากเป็นสารเคมีที่มีประสิทธิภาพในการทำลายเชื้อโรค สำหรับการกำจัดสารพิษจากไซยาโนแบคทีเรียนั้น คลอรีนจะทำให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันกับโครงสร้างทางเคมีของไมโครซิสติน และสามารถลดความเป็นพิษของไมโครซิสตินได้ การกำจัดสารพิษด้วยคลอรีนจะมีประสิทธิภาพดีที่สุดที่ pH ต่ำกว่า 8 (Acero *et al*., 2005; Ho *et al*., 2006) โดย Harada (1996) รายงานว่าคลอรีน และแคลเซียม-ไฮโปคลอไรท์ สามารถกำจัดสารพิษปริมาณ 1 mg/mL ได้มากกว่า 95 เปอร์เซ็นต์ในระยะเวลา 30 นาที แต่ข้อควรระวังสำหรับการใช้คลอรีนคือ สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่ไซยาโนแบคทีเรียสร้างขึ้นจะทำปฏิกิริยากับคลอรีนเกิดเป็นสารพวกไทรฮาโลมีเธน (thihalomethane) ซึ่งเป็นสารก่อมะเร็งอีกชนิดหนึ่ง (ธีรศักดิ์, 2545)

2.3.3 วิธีการทางชีวภาพ (biological methods)

วิธีการทางกายภาพ และเคมี สามารถการกำจัดไซยาโนแบคทีเรียได้อย่างมีประสิทธิภาพ แต่มักจะทำให้เซลล์ของไซยาโนแบคทีเรียแตกออก และปลดปล่อยสารพิษลงสู่แหล่งน้ำได้ ซึ่งจะเป็นอันตรายต่อสิ่งมีชีวิตต่อไป นอกจากนี้ ยังมีค่าใช้จ่ายที่สูง และอาจส่งผลข้างเคียงต่อสิ่งแวดล้อมได้ (Li *et al*., 2016) ดังนั้น วิธีการทางชีวภาพจึงเป็นทางเลือกที่น่าสนใจในการนำมาใช้ควบคุมไซยาโนแบคทีเรีย และไมโครซิสติน

1) ไซยาโนฟาจ (cyanophage) เป็นการใช้ไวรัสที่จำเพาะเจาะจงกับไซยาโนแบคทีเรีย ทำให้เซลล์ของไซยาโนแบคทีเรียแตก และตายได้ โดยพบว่า ไซยาโนฟาจ อาจใช้ phycobilisomes ภายในเซลล์ของไซยาโนแบคทีเรีย เป็นแหล่งของกรดอะมิโนสำหรับการสังเคราะห์โปรตีน (Yoshida-Takashima *et al*., 2012) จากรายงานของ Tucker and Pollard (2004) และ Yoshida *et al*.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

(2006) ได้มีการใช้ ไซยาโนฟาจในการควบคุมการเจริญอย่างรวดเร็วของ *Microcystis aeruginosa* และพบว่าสามารถควบคุมไซยาโนแบคทีเรียดังกล่าวได้อย่างมีนัยสำคัญ

2) ฟังไจ (fungi) ฟังไจสามารถควบคุมการเจริญของไซยาโนแบคทีเรียได้หลายกลไก เช่น งานวิจัยของ Gerphagnon *et al*. (2013) พบว่าเชื้อราในกลุ่ม chytrid สามารถเป็นปรสิตต่อ *Anabaena macrospora* ได้ โดยเชื้อราในกลุ่มนี้จะมี zoospores ที่สามารถเคลื่อนที่ได้ โดย zoospores จะเข้าติดเชื้อกับเส้นสายของไซยาโนแบคทีเรีย และส่งผลให้เกิดการตายของเซลล์ได้ งานวิจัยของ Jia *et al*. (2010) พบว่า เชื้อรา *Trichaptum abietinum* สามารถย่อยสลายเซลล์ของ *Microcystis aeruginosa* และ *M. flos-aquae* ได้ 100% ภายใน 48 ชั่วโมง ผ่านกลไกการควบคุมทางตรง โดยเส้นใยของเชื้อรามีการหลั่งเยื่อเมือกเพื่อห่อหุ้มเซลล์ของไซยาโนแบคทีเรีย และเกิดการย่อยสลายเซลล์ไซยาโนแบคทีเรียโดยตรง และ Li *et al*. (2017) พบว่า เชื้อรา *Aspergillus* sp. สามารถสร้าง และปลดปล่อยสาร diorcinal (3,3'-dihydroxy-5,5'-dimethyldiphenyl ether) ซึ่งมีฤทธิ์ในการย่อยสลายเซลล์ของ *Chattonella marina* ได้ นอกจากนี้ยังพบว่า เชื้อราบางชนิดสามารถย่อยสลายไมโครซิสตินได้ เช่น งานวิจัยของ Jia *et al*. (2012) พบว่าเชื้อรา *Trichaptum abietinum* สามารถย่อยสลาย microcystin-LR ได้ 100% ภายใน 12 ชั่วโมง และงานวิจัยของ Mohamed *et al*. (2014) พบว่าเชื้อรา *Trichoderma citrinoviride* สามารถย่อยสลายไมโครซิสตินได้ 100% ภายในวันที่ 5 ของการทดลอง

3) แพลงก์ตอน (plankton) มีรายงานว่า แพลงก์ตอนสัตว์ ในกลุ่ม Cladocerans, Copepods และ Protists สามารถกินเซลล์ของไซยาโนแบคทีเรียเป็นอาหารได้ จึงช่วยลดจำนวนประชากรไซยาโนแบคทีเรียในแหล่งน้ำได้ อย่างไรก็ตาม เนื่องมาจากการเจริญอย่างรวดเร็วของไซยาโนแบคทีเรียในแหล่งน้ำที่มีสารอาหารสูง ทำให้จำนวนประชากรของไซยาโนแบคทีเรียมีจำนวนมาก จึงทำให้การกินโดยแพลงก์ตอนสัตว์เหล่านี้ ไม่ส่งผลต่อประชากรของไซยาโนแบคทีเรียมากนัก (Paerl and Otten, 2013; Ger *et al*. 2016) นอกจากนี้ พบว่า แพลงก์ตอนในกลุ่ม heterotrophic flagellate มีความสามารถในการย่อยสลายไมโครซิสตินได้ เช่น งานวิจัยของ Mohamed and Al-Shehri (2013) พบว่า *Diphylleia rotans* สามารถกินเซลล์ของ *M. aeruginosa* และย่อยสลายไมโครซิสตินได้

4) แบคทีเรีย (bacteria) แบคทีเรียที่สามารถควบคุมการเจริญของไซยาโนแบคทีเรีย และย่อยสลายสารพิษได้นั้น มักพบว่าถูกคัดแยกมาจากแหล่งน้ำที่มีประวัติการเจริญอย่างรวดเร็วของไซยาโนแบคทีเรียอยู่ เช่นงานวิจัยของ Li *et al*. (2015) ที่ได้คัดแยกแบคทีเรียจากทะเลสาบ Taihu ประเทศจีน ซึ่งมีประวัติการเจริญของ *Microcystis aeruginosa* พบว่าแบคทีเรีย *Bacillus* sp. strain Lzh-5 สามารถควบคุมการเจริญของ *M. aeruginosa* ได้ นอกจากนี้พบว่ามีแบคทีเรียอีกหลายสกุลที่สามารถควบคุมการเจริญของไซยาโนแบคทีเรียได้ เช่น *Bacillus, Pseudomonas* และ *Streptomyces* (Hee-jin *et al.*, 2005; Shunyu *et al.*, 2006; Ren *et al.*, 2009; Zhang *et al.*, 2011; Somdee and Sumalai, 2013; Yu *et al*., 2014) แบคทีเรียบางชนิด มีความสามารถในการย่อยสลายไมโครซิสตินได้ เช่น แบคทีเรียใน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

สกุล *Acinetobacter, Bacillus*, *Stenotrophomonas* และ *Sphingomanas* (Valeria *et al.*, 2006; Alamri, 2010; Yang *et al*., 2014; Li *et al*., 2016) ซึ่งแบคทีเรียเหล่านี้จะใช้ไมโครซิสตินที่ประกอบไปด้วยกรดอะมิโนเป็นแหล่งของคาร์บอน และไนโตรเจนสำหรับการเจริญเติบโต (Harada, 1996; Li *et al*., 2016)

ปัจจุบัน มีงานวิจัยจำนวนมากที่ใช้แบคทีเรียในการควบคุมการเจริญของไซยาโนแบคทีเรียและสารพิษ อย่างไรก็ตาม มีงานวิจัยจำนวนน้อยที่สามารถคัดแยกแบคทีเรียที่มีคุณสมบัติในการควบคุมไซยาโนแบคทีเรีย พร้อมทั้งย่อยสลายไมโครซิสตินไปด้วยได้ เช่น งานวิจัยของ Yi *et al.* (2015) ได้คัดแยกแบคทีเรียจากทะเลสาบ Taihu ในประเทศจีน ที่มีการเจริญอย่างรวดเร็วของ *M. aeruginosa* พบว่าแบคทีเรีย *Acinetobactor guillouiae* สามารถควบคุม *M. aeruginosa* ได้ 91.6% ภายในระยะเวลา 7 วัน และลดปริมาณ microcystin-LR ภายในเซลล์ (intracellular) และภายนอกเซลล์ (extracellular) ได้ 51.4% และ 55.7% ตามลำดับ ภายใน 4 วัน และงานวิจัยของ Li *et al*. (2016) ได้คัดแยกแบคทีเรียจากทะเลสาบ Taihu ประเทศจีน พบว่าแบคทีเรีย *Acinetobacter* sp. CMDB-2 สามารถควบคุม *M. aeruginosa* ได้ 92% ภายในระยะเวลา 24 ชั่วโมง และลดปริมาณ microcystin-LR ได้ 91% ภายใน 24 ชั่วโมง

2.4 กลไกของแบคทีเรียในการควบคุมไซยาโนแบคทีเรีย และย่อยสลายไมโครซิสติน

2.4.1 กลไกของแบคทีเรียในการควบคุมไซยาแบคทีเรีย

โดยทั่วไปแบคทีเรียจะมีกลไกการทำงานที่ใช้ควบคุมการเจริญของไซยาโนแบคทีเรีย หรือแพลงก์ตอนพืชชนิดอื่น ๆ อยู่ 2 รูปแบบ คือ 1) การควบคุมทางตรง (direct control) โดยการเกาะติดกับเซลล์ของแพลงก์ตอนพืชโดยตรง และกระตุ้นให้เซลล์ของแพลงก์ตอนพืชเกิดการสลายตัว เช่น งานวิจัยของ Imai *et al*. (1993) พบว่า แบคทีเรียในกลุ่มไกลดิง (gliding bacteria) ในสกุล *Cytophaga* sp. สามารถเกาะติด และย่อยสลายเซลล์ของแพลงก์ตอนพืชในกลุ่ม raphidophycean flagellates, diatoms และ dinoflagellates ได้ และ Shunyu *et al*. (2006) พบว่า เมือกที่ถูกสร้างออกมาบริเวณผิวเซลล์ของ *Bacillus cereus* สามารถช่วยให้แบคทีเรียยึดติดกับเซลล์ของไซยาโนแบคทีเรีย และย่อยสลายเซลล์ของ *Aphanizomenon flos-aquae*, *Microcystis viridis*, *Microcystis wesenbergii*, *Microcystis aeruginosa*, *Chlorella ellipsoidea*, *Oscillatoria tenuis*, *Nostoc punctiforme*, *Anabaena flos-aquae*, *Spirulina maxima* และ *Selenastrum capricornutum* ได้ นอกจากนี้ Costerton and Irvin (1981) พบว่า แบคทีเรียจะใช้เมือก ไกโคคาลิกซ์ (glycocalyx) หรือ พิไล (pili) เพื่อช่วยในการเกาะติดกับเซลล์เจ้าบ้าน (host cells) โดยตรงได้ 2) การควบคุมทางอ้อม (indirect control) โดยการปล่อยสารที่มีฤทธิ์ในการทำให้เซลล์ของแพลงก์ตอนพืชแตกสลายได้โดยไม่มีการสัมผัสกันโดยตรง (Mayali and Azam, 2004) โดยสารออกฤทธิ์ดังกล่าวที่สร้างจากแบคทีเรียนั้นมีหลายกลุ่ม เช่น peptide, amino acid,

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

alkaloid, phenol compounds และ biosurfactants (ตารางที่ 3) โดยพบว่า แบคทีเรียที่ถูกคัดแยกเพื่อนำมาใช้ควบคุมไซยาโนแบคทีเรีย ส่วนใหญ่ประมาณ 70% มีกลไกการทำงานแบบการควบคุมทางอ้อม และแบคทีเรียอีกประมาณ 30% มีการควบคุมทางตรง (Roth *et al*., 2008)

ตารางที่ 3 สารออกฤทธิ์จากแบคทีเรียที่สามารถควบคุมแพลงก์ตอนพืชได้

แบคทีเรีย	สารที่มีฤทธิ์ในการควบคุมแพลงก์ตอนพืช	แพลงก์ตอนพืช	ที่มา
Pseudoalteromonas sp.	Protease	*Skeletonema costatum*	Lee *et al*. (2000)
Bacillus subtilis	Surfactine	*Microcystis aeruginosa* *Anabaena affinis*	Ahn *et al*. (2003)
Bacillus sp. SY-1	Bacillamide	*Cochlodinium* sp.	Jeong *et al*. (2003)
Aquimarina sp.	Amino acid	*Microcystis aeruginosa*	Chen *et al*. (2011)
Aeromonas sp.	Amino acids, Tripeptides, Clavulanate	*Microcystis aeruginosa*	Liu *et al*. (2013)
Stenotrophomonas sp.	Siderophore	*Microcystis aeruginosa* *Anabaena flos-aquae*	Liu *et al*. (2014)
Bacillus sp. Lzh-5	Cyclo (Gly-Pro), Cyclo (Pro-Val)	*Microcystis aeruginosa*	Li *et al*. (2015)
Acinetobacter guillouiae	4-hydroxyphenethylamine	*Microcystis aeruginosa*	Yi *et al.* (2015)
Stenotrophomonas sp.	Cyclo (Gly-Pro), Hydroquinone	*Microcystis aeruginosa* *Synechococccus* sp.	Lin *et al*. (2016)

2.4.2 กลไกของแบคทีเรียในการย่อยสลายสารพิษไมโครซิสติน

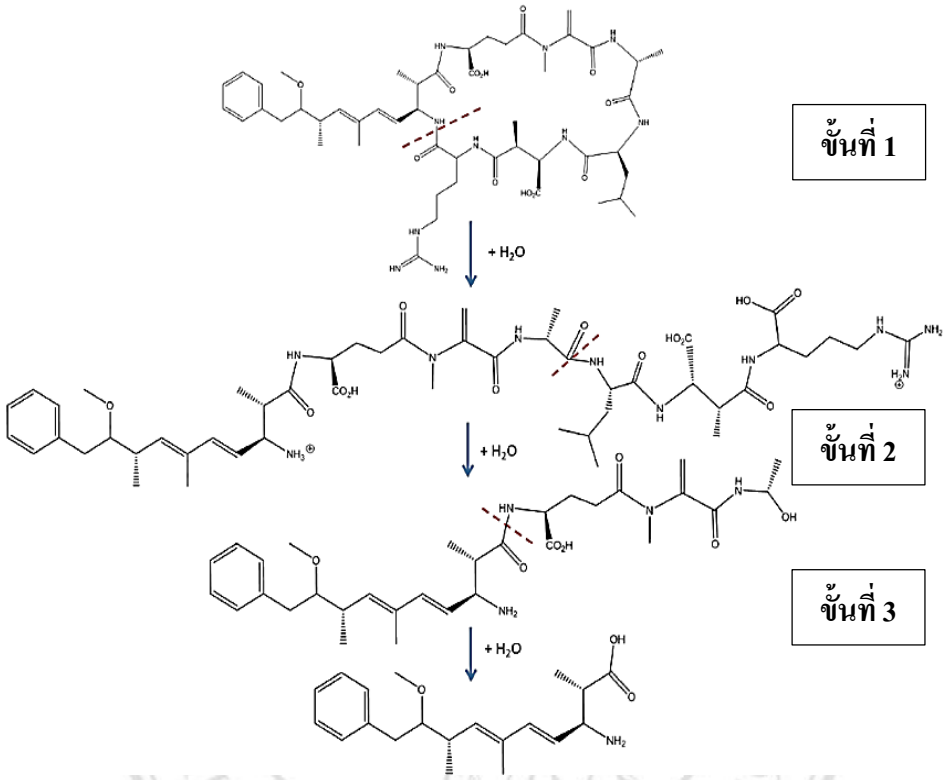
จากรายงานของ Bourne *et al*. (1996) และ Schmidt *et al*. (2014) ที่ได้ศึกษากลไกการย่อยสลาย microcystin-LR ของแบคทีเรีย *Sphingomonas* sp. พบว่า แบคทีเรียจะใช้เอนไซม์ 3 ชนิด ที่เรียกรวมว่า microcystinases ในการย่อยสลาย microcystin-LR โดยกระบวนการย่อยสลายประกอบด้วย 3 ขั้นตอน (ภาพที่ 7) ดังนี้

ขั้นที่ 1 เอนไซม์ชนิดที่ 1 ทำหน้าที่เป็นตัวเร่งในปฏิกิริยา hydrolysis และทำให้วงแหวนเปิดออกที่ตำแหน่ง Adda-Arg bond เกิดเป็น microcystin-LR ที่เป็นเส้นตรง ซึ่งมีรายงานว่าความเป็นพิษลดลงถึง 160 เท่า

ขั้นที่ 2 เอนไซม์ชนิดที่ 2 ทำหน้าที่เป็นตัวเร่งในปฏิกิริยา hydrolysis และตัดบริเวณตำแหน่ง Ala-Leu peptide bond ในโครงสร้างของ microcystin-LR

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ขั้นที่ 3 เอนไซม์ชนิดที่ 3 จะทำหน้าที่เป็นตัวเร่งในปฏิกิริยา hydrolysis ในการย่อยสลายผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นจากเอนไซม์ 2 ตัวแรก



ภาพที่ 7 การย่อยสลาย microcystin-LR โดยเอนไซม์จากแบคทีเรีย

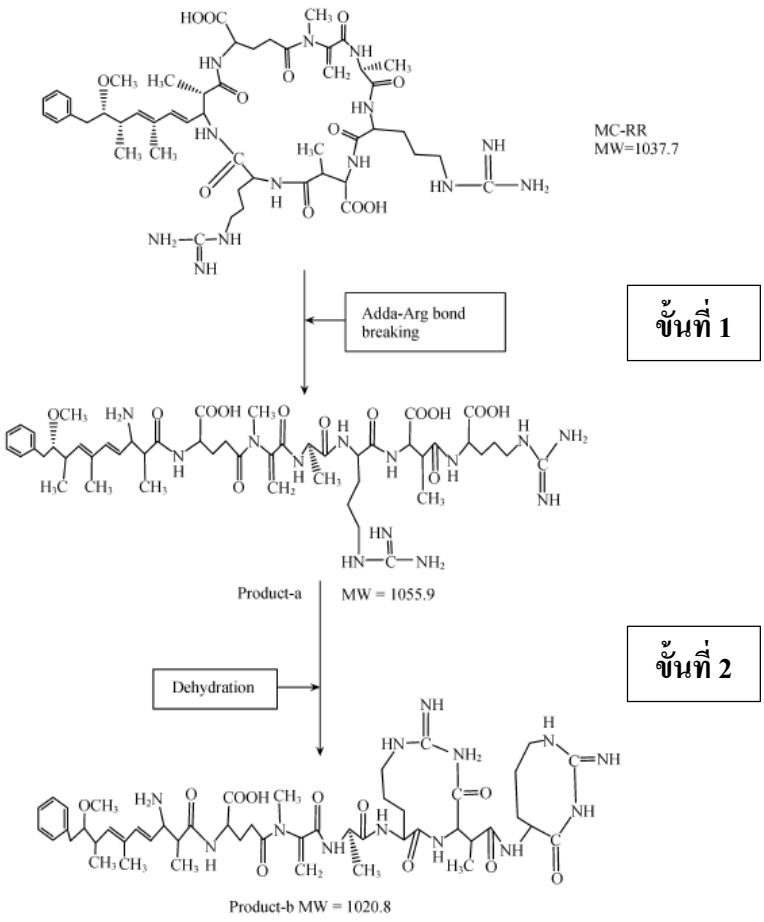
ที่มา : Schmidt *et al*. (2014)

จากรายงานของ Zhang *et al*. (2010) ได้ศึกษากลไกการย่อยสลาย microcystin-RR โดยใช้เอนไซม์ที่สกัดจาก *Sphingopyxis* sp. USTB-05 ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่มีความสามารถในการย่อยสลาย microcystin-RR ได้ดี โดยสามารถแบ่งขั้นตอนในการย่อยสลาย microcystin-RR โดยเอนไซม์จากแบคทีเรียได้ 2 ขั้นตอน (ภาพที่ 8) ดังนี้

ขั้นตอนที่ 1 เอนไซม์จากแบคทีเรียจะเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา hydrolysis และทำให้วงแหวนเปิดออกที่ตำแหน่ง Adda-Arg bond เกิดเป็นผลิตภัณฑ์ของ microcystin-RR ที่เป็นเส้นตรง (product-a) มีมวลโมเลกุลเท่ากับ 1055.9 ดาลตัน

ขั้นตอนที่ 2 จะเกิดปฏิกิริยา dehydration กับผลิตภัณฑ์จากขั้นตอนที่ 1 เกิดเป็นผลิตภัณฑ์สุดท้าย (product-b) ที่มีมวลโมเลกุลเท่ากับ 1020.8 ดาลตัน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



ภาพที่ 8 การย่อยสลาย microcystin-RR โดยเอนไซม์จากแบคทีเรีย

ที่มา : Zhang *et al*. (2010)

2.5 การตรึงเซลล์แบคทีเรีย

การนำแบคทีเรียไปใช้ในแหล่งน้ำธรรมชาติมักพบปัญหาบางประการ เช่น แบคทีเรียอาจได้รับผลกระทบในทางลบจากปัจจัยต่าง ๆในสิ่งแวดล้อม แบคทีเรียปรับตัวได้ไม่ดี เกิดการเจือจางของเซลล์ ส่งผลให้ประสิทธิภาพของแบคทีเรียลดลง (Li and Pan, 2015; Sun *et al*., 2015) การตรึงเซลล์แบคทีเรียก่อนนำไปประยุกต์ใช้ในสิ่งแวดล้อมเป็นแนวทางที่น่าสนใจ ซึ่งพบว่ามีข้อดีคือ ช่วยขจัดปัญหาการเจือจางของเซลล์ ทำให้มีความหนาแน่นของเซลล์สูง เพิ่มประสิทธิภาพของแบคทีเรียได้ ปกป้องเซลล์แบคทีเรียจากสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม ทนทานต่อการเปลี่ยนแปลงของ pH และอุณหภูมิ ทนต่อแรงกระทำจากน้ำ และสามารถนำเซลล์กลับมาใช้ใหม่ได้ เป็นต้น (Kang *et al*., 2012b; Bayat *et al*., 2015) โดยการตรึงเซลล์แบคทีเรียสามารถทำได้หลายวิธี เช่น การดูดซับ (adsorption) การยึดติดด้วยพันธะโควาเลนต์ (covalent binding) การดักจับ (entrapment) และการห่อหุ้ม (encapsulation)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

2.5.1 การดูดซับ (adsorption)

การดูดซับ เป็นการตรึงเซลล์แบคทีเรียกับวัสดุตรึงโดยอาศัยแรงดึงดูดระหว่างโมเลกุลอย่างอ่อน ๆ จากแรง Vander Waals, hydrogen bonds, ionic bonds และ hydrophobic bonds เป็นต้น (ภาพที่ 9A) วิธีการนี้เป็นที่นิยมใช้มากที่สุด เนื่องจากเป็นวิธีที่ง่าย รวดเร็ว ไม่ต้องใช้สารเคมีราคาถูก และเซลล์แบคทีเรียสามารถสัมผัสกับสารอาหารภายนอกได้โดยตรง อย่างไรก็ตาม เนื่องจากเป็นการยึดติดกันด้วยแรงอ่อน ๆ เซลล์แบคทีเรียที่ถูกตรึงติดกับวัสดุจึงมีโอกาสหลุดออกได้ง่าย ความเสถียร และคงทนของเซลล์ตรึงจึงน้อยเช่นกัน (Bayat *et al*., 2015) โดยทั่วไปวัสดุที่ใช้ตรึงเซลล์แบบ adsorption มักจะเป็นของแข็ง เช่น วัสดุอินทรีย์ ได้แก่ เซลลูโลส ไม้ ขี้เลื่อย เป็นต้น และวัสดุอนินทรีย์ ได้แก่ แร่ดิน เซรามิกพรุน แก้วพรุน เป็นต้น (Kourkoutas *et al.,* 2004) วิธีการนี้มีใช้งานอย่างแพร่หลายในงานด้านสิ่งแวดล้อม โดยเฉพาะกระบวนการบำบัดน้ำเสีย และสารพิษ เช่น งานวิจัยของ Feng *et al*. (1997) ได้ตรึงแบคทีเรีย *Pseudomonas* sp. strain M285 บนไดอะตอมไมต์เพื่อกำจัด 3,5,6-trichloro-2-pyridinol (TCP) ออกจากน้ำทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรม พบว่า สามารถกำจัดสาร TCP ได้อย่างมีประสิทธิภาพ และงานวิจัยของ Karimimiaae-Hamedaani *et al*. (2003) ได้ตรึงแบคทีเรีย *Acinetobacter* sp. บนวัสดุเซรามิกเพื่อบำบัดน้ำเสีย พบว่าสามารถลดค่า chemical oxygen demand (COD) ของน้ำลงได้อย่างมีประสิทธิภาพ เช่นกัน

2.5.2 การยึดติดด้วยพันธะโควาเลนต์ (covalent binding)

การตรึงเซลล์ด้วยวิธีนี้ เป็นการสร้างพันธะโควาเลนต์ระหว่างเซลล์แบคทีเรียกับวัสดุตรึงที่เป็นอนินทรีย์ โดยใช้ตัวเชื่อม (cross linking) ในการเพิ่มแรงยึดเกาะ ซึ่งส่วนใหญ่จะมาจากการดัดแปลงพื้นผิววัสดุโดยใช้สารเคมี (ภาพที่ 9B) วิธีการนี้มีพันธะที่แข็งแรง ส่งผลให้เซลล์มีความเสถียรสูง เช่น งานวิจัยของ Guoqiang *et al*. (1992) ได้ตรึงเซลล์ของ *Lactobacillus casei* บนเซรามิกที่มีการเสริมด้วย polyethylenimine (PEI) พบว่า แบคทีเรียสามารถยึดติดกับวัสดุได้ดี และทนทานเมื่อนำไปใช้การผลิตกรดแลคติกในระบบกวน อย่างไรก็ตาม พบว่าวิธีนี้มีข้อด้อยคือ สารที่ใช้เป็นตัวเชื่อมมักเป็นพิษต่อเซลล์แบคทีเรีย (Ramakrishna and Prakasham, 1999; Martins *et al*., 2013)

2.5.3 การดักจับ (entrapment)

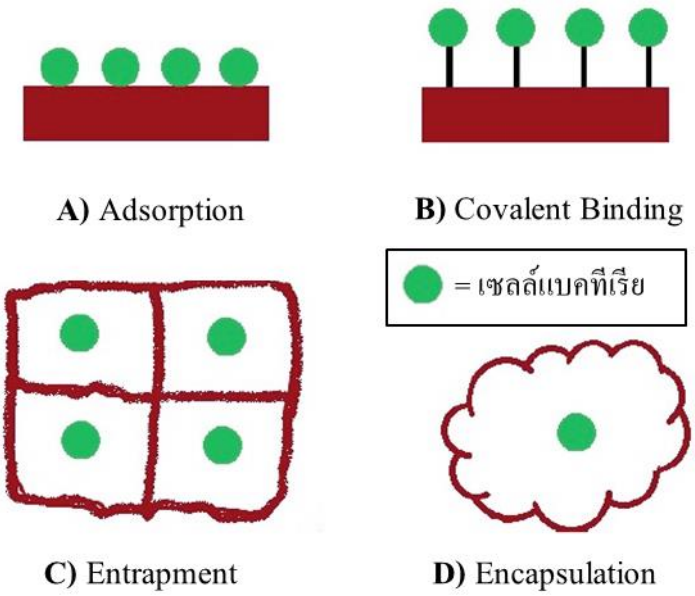
การดักจับเซลล์แบคทีเรียด้วยวัสดุตรึงประเภทพอลิเมอร์ หรือแผ่นเมมเบรน โดยเซลล์แบคทีเรียไม่ได้เกิดปฏิกิริยาโดยตรงกับวัสดุตรึง แต่จะถูกดักติดอยู่กับเส้นใย หรือช่องว่างของวัสดุ (ภาพที่ 9C) ซึ่งวิธีการนี้สารอาหารสามารถถ่ายเทผ่านช่องว่างของวัสดุได้สะดวก โดยวัสดุที่นิยมใช้ คือ agar, chitosan, alginate, carrageenan, cellulose, collagen, gelatin, epoxy resin, polyester, polystyrene และ acrylic polymers เป็นต้น เช่น งานวิจัยของ Hyde *et al*. (1991) ได้ตรึง *Saccharomyces cerevisiae* บนวัสดุ polytetrafluoroethylene (PTFE) และพบว่า เซลล์ของแบคทีเรียสามารถดักติดอยู่กับเส้นใยของวัสดุได้ดี และงานวิจัยของ Mirdamadi *et al*. (2008) ได้ตรึง *Lactobacillus casei* โดย

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

วิธีการดักจับด้วย barium alginate พบว่า สามารถหมักกรดแลคติกได้ดี และสามารถนำเซลล์แบคทีเรียกลับมาหมักซ้ำได้หลายรอบ

2.5.4 การห่อหุ้ม (encapsulation)

การห่อหุ้มเซลล์แบคทีเรียด้วยวัสดุ หรือเมมเบรนที่จำกัดการซึมผ่านเข้าออกของของเหลว ซึ่งขนาดรูพรุนของวัสดุเป็นปัจจัยสำคัญ (ภาพที่ 9D) วิธีการนี้สามารถป้องกันเซลล์จากสภาวะที่รุนแรงได้ดี ป้องกันการรั่วออกของเซลล์ได้ดี ทำให้วิธีนี้มีความเสถียร และคงทนของเซลล์ เช่น งานวิจัยของ Ivanova *et al.* (2002) ได้ตรึง *Enterococcus faecium* ด้วย alginate เพื่อผลิต bacteriocin พบว่า เซลล์แบคทีเรียมีความเสถียร คงทน และสามารถเพิ่มผลผลิต bacteriocin ได้ถึง 50% และงานวิจัยของ Young *et al.* (2006) ได้ *Bacillus subtilis* CC-pg104 ด้วย alginate เพื่อประยุกต์ใช้ในการส่งเสริมการเจริญของพืช พบว่า เซลล์แบคทีเรียสามารถคงอยู่ภายในเม็ด alginate ได้นานถึง 5 เดือน และยังมีกิจกรรมในการส่งเสริมการเจริญของพืชได้ดี อย่างไรก็ตาม วิธีการนี้เป็นการจำกัดการเคลื่อนย้ายของเซลล์แบคทีเรีย จึงอาจทำให้วัสดุเกิดความเสียหายเนื่องจากการเจริญเติบโตของแบคทีเรียได้ (Martins *et al.* 2013; Bayat *et al.*, 2015)



ภาพที่ 9 วิธีการตรึงเซลล์แบคทีเรีย **A)** การดูดซับ **B)** การยึดติดด้วยพันธะโควาเลนต์ **C)** การดักจับ และ **D)** การห่อหุ้ม

ที่มา : Bayat *et al.* (2015)

2.6 วัสดุแก้วพรุน (porous glass)

แก้วพรุน คือ วัสดุพรุนที่ได้จากการเผาผงแก้วรวมกับสารก่อฟองที่อุณหภูมิเผาผนึก สารก่อฟองจะเกิดการแตกตัวให้แก๊สซึ่งจะขยายตัว และดันแก้วหลอมทำให้เกิดรูพรุนขึ้น แก้วพรุนที่ได้จะมีน้ำหนักเบา ทนแรงกดอัดได้ดี ไม่ติดไฟ เฉื่อยต่อปฏิกิริยาเคมี และไม่เป็นพิษ ทนต่อการกัดเซาะในน้ำและสารละลาย ทนต่อแบคทีเรีย สามารถผลิตได้ง่าย และผลิตได้จำนวนมาก (วิทยา, 2555)

2.6.1 องค์ประกอบของแก้ว (Tooley, 1974)

แก้วประกอบด้วยออกไซด์ชนิดต่าง ๆ โดยแต่ละออกไซด์มีบทบาทในการเกิดเป็นแก้วที่แตกต่างกัน เช่น ออกไซด์บางชนิดเป็นโครงสร้างหลักของแก้ว บางชนิดเป็นสารปรับแต่งสมบัติบางอย่างของแก้ว และบางชนิดเป็นสารที่ช่วยทำให้การหลอมแก้วทำได้ง่ายขึ้น เมื่อนำออกไซด์หลายชนิดมารวมกันจะได้แก้วที่มีลักษณะเฉพาะ และสมบัติตามต้องการได้ เมื่อพิจารณาถึงหน้าที่ของออกไซด์แต่ละชนิดในองค์ประกอบแก้ว จะแบ่งออกไซด์ได้เป็น 3 กลุ่ม ได้แก่

1) ออกไซด์ที่ทำหน้าที่เป็นโครงสร้างแก้ว (glass network formers) ออกไซด์กลุ่มนี้เป็นออกไซด์ของโลหะที่มีประจุบวกสูง และขนาดอะตอมเล็ก เช่น SiO_2, B_2O_3 และ P_2O_5 ทำให้เกิดพันธะระหว่างประจุบวก และออกซิเจนได้หลายพันธะ (3-4 พันธะ) โดยพันธะที่เกิดขึ้นจะมีความแข็งแรงเพียงพอที่ทำให้แก้วมีโครงสร้างแข็งแรง

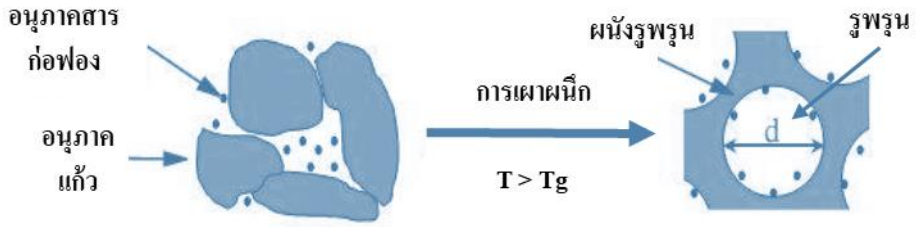
2) ออกไซด์ที่ทำหน้าที่เป็นสารช่วยหลอม (glass network modifiers) ออกไซด์กลุ่มนี้เป็นออกไซด์ที่หลอมตัวได้ง่าย จึงทำให้สามารถหลอมแก้วได้ที่อุณหภูมิต่ำ ได้แก่ ออกไซด์ของอัล-คาไลน์ เช่น Na_2O, K_2O, Li_2O และออกไซด์ของอัลคาไลน์เอิร์ธ เช่น CaO, MgO, BaO และ PbO ซึ่งออกไซด์ในกลุ่มนี้จะทำให้แก้วมีความแข็งแรงต่ำ ทนต่อสารเคมีได้น้อย และสามารถละลายน้ำได้

3) ออกไซด์ที่ทำหน้าที่เป็นสารเพิ่มความคงทน (glass stabilizers) ออกไซด์กลุ่มนี้เป็นออกไซด์ที่มีความแข็งแรง และคงทนต่อสารเคมีสูง เช่น Al_2O_3 และ ZnO ซึ่งทำให้แก้วมีความแข็งสูงตามไปด้วย นอกจากนี้ยังใช้ออกไซด์กลุ่มนี้เป็นสารปรับแต่งสมบัติของแก้วให้ได้สมบัติตามต้องการ เช่น การเติม Al_2O_3 จะทำให้แก้วมีความคงทนต่อสารเคมีมากขึ้น และละลายน้ำได้น้อยลง เนื่องจาก Al_2O_3 มีความแข็งแรง และทนไฟได้สูง

2.6.2 หลักการในการเกิดแก้วพรุน (Giovanni *et al*, 2005)

แก้วพรุนเกิดจากการผสมอนุภาคของเศษแก้วกับอนุภาคของสารก่อฟอง และเผาที่อุณหภูมิเผาผนึกซึ่งมีอุณหภูมิสูงกว่าอุณหภูมิแปรเปลี่ยนสภาพแก้ว โดยอนุภาคของแก้วจะเกิดการผนึก และอ่อนตัวเป็นแก้วเหลวที่มีความหนืดสูง ในขณะเดียวกัน สารก่อฟองจะเกิดการแตกตัวเป็นแก๊สที่มีแรงดันสูงค่าหนึ่ง เพียงพอที่จะขยายตัวในแก้วเหลว และดันแก้วเหลวให้เกิดช่องว่างขึ้นกลายเป็นรูพรุน ส่วนแก้วเหลวนั้นจะก่อตัวกลายเป็นผนังรูพรุน (glass shell) (ภาพที่ 10)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



ภาพที่ 10 กระบวนการเกิดรูพรุนของแก้ว (กำหนดให้ T = อุณหภูมิเผาผนึก และ Tg = อุณหภูมิแปรเปลี่ยนสภาพแก้ว)

ที่มา : ดัดแปลงจาก Giovanni *et al*. (2005)

2.6.3 กระบวนการผลิตแก้วพรุนด้วยวิธีเตรียมเป็นผง (Powder method) (เทิดพงษ์, 2524; วิทยา, 2555)

วิธีการนี้ทำได้โดยผสมผงเศษแก้วรวมกับสารก่อฟอง และสารช่วยประสาน นำไปบดผสมเป็นผง และขึ้นรูปด้วยการอัด จากนั้น นำไปเผาที่อุณหภูมิใกล้เคียงกับจุดอ่อนตัวของผงเศษแก้ว ซึ่งวิธีการนี้ทำได้ไม่ยากนัก สามารถควบคุมทั้งขนาด และปริมาณรูพรุนได้ อุณหภูมิที่ใช้เผาไม่สูง (ใกล้เคียงกับจุดอ่อนตัวของแก้วที่มีค่าในช่วง 800-1000 องศาเซลเซียส) แก้วพรุนที่ได้มีความแข็งแรง สามารถเลือกผลิตแก้วพรุนได้หลากหลายทั้งขนาด และรูปร่าง เพื่อประยุกต์ใช้กับงานด้านต่าง ๆ นอกจากนี้ยังสามารถทำวัสดุพรุนได้ในปริมาณมาก ๆ ได้ ทำให้ต้นทุนการผลิตไม่สูงมากนัก แต่พบว่าวิธีนี้มีปัจจัยที่จะต้องควบคุมให้เหมาะสม เช่น การเลือกสารก่อฟอง ซึ่งสารก่อฟองบางชนิดอาจก่อให้เกิดแก๊สพิษได้ สำหรับสารก่อฟองที่ใช้ในการวิจัยครั้งนี้ได้ใช้ โดโลไมท์ ($CaCO_3.MgCO_3$) เนื่องจากเป็นสารก่อฟองที่ หาได้ง่าย ราคาไม่แพง เกิดแก๊สที่ไม่เป็นพิษต่อร่างกาย และสิ่งแวดล้อม

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

2.7 การประยุกต์ใช้แบคทีเรียที่ตรึงบนวัสดุในงานด้านสิ่งแวดล้อม

วิธีการตรึงเซลล์แบคทีเรีย ถูกนำไปใช้อย่างแพร่หลายในงานด้านสิ่งแวดล้อม โดยเฉพาะกระบวนการบำบัดน้ำเสีย และย่อยสลายสารพิษ เช่น Karimimiaae-Hamedaani *et al*. (2003) ได้ตรึงแบคทีเรียที่คัดแยกมาจากน้ำเสียบนเซรามิกพรุน และนำไปบำบัดน้ำเสียในถังปฏิกรณ์ชีวภาพ พบว่าสามารถลดค่า Chemical Oxygen Demand (COD) ลงได้อย่างมีประสิทธิภาพ งานวิจัยของ Sasaki *et al*. (2013) ได้ตรึง *Rhodobacter sphaeroides* SSI บนเซรามิกพรุน และนำไปกำจัด Caesium (Cs) และ Strontium (Sr) ออกจากน้ำเสีย พบว่าสามารถกำจัด Cs และ Sr ที่ความเข้มข้นเริ่มต้น 5 mg/L ออกจากน้ำเสียได้ถึง 100% และ 51% ตามลำดับ ภายใน 3 วัน และงานวิจัยของ Yang *et al*. (2015) พบว่า *Mycobacterium* sp. TMAH-W0418 ที่ตรึงบนวัสดุ polyethylene glycol cubes มีประสิทธิภาพในการ

ย่อยสลาย tetra-methyl ammonium hydroxide ในน้ำเสียได้ดี อย่างไรก็ตาม ในปัจจุบัน มีงานวิจัยไม่มากนักที่ใช้การตรึงเซลล์แบคทีเรีย ในการควบคุมการเจริญอย่างรวดเร็วของไซยาโนแบคทีเรีย และไดอะตอม (ตารางที่ 4)

ตารางที่ 4 รายงานการใช้แบคทีเรียที่ตรึงบนวัสดุเพื่อควบคุมไซยาโนแบคทีเรีย และไดอะตอม

วัสดุที่ใช้ตรึงเซลล์แบคทีเรีย	**แบคทีเรีย**	**แพลงตอนก์พืช**	**% ยับยั้ง**	**ระยะเวลาในการควบคุม**	**ที่มา**
Biodegradable plastics	*Bacillus cereus*	*Microcystis*	99%	4 วัน	Nakamura *et al*. (2003)
Cellulose sponge	*Pseudomonas fluorescens*	*Stephanodiscus*	97%	10 วัน	Kang *et al*. (2012b)
APVAS	*Pseudomonas fluorescens*	*Stephanodiscus*	72%	6 วัน	Jung *et al*. (2013)
SA + Wheat bran	*Alcaligenes aquatilis*	*Microcystis*	88%	72 ชั่วโมง	Sun *et al*. (2015)
SA + Fe_3O_4	*Acinetobacter* sp. J25	*Microcystis*	89%	7 วัน	Su *et al*. (2017)

หมายเหตุ : APVAS = Activated carbon polyvinyl alcohol sponge, SA = Sodium alginate

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved