



รายงานการวิจัย  
เรื่อง

การศึกษาศักยภาพการกำจัดแบคทีเรียดื้อยาปฏิชีวนะ รวมทั้งรูปแบบ  
การดื้อยาที่เปลี่ยนแปลงไป ภายใต้ถังปฏิกรณ์โฟโตคะตะไลติก  
โดยใช้ตัวเร่งปฏิกิริยาไทเทเนียมไดออกไซด์

The Removal of Antibiotic Resistance Bacteria and their  
Resistance Phenotypes using Photocatalytic Oxidation by  $\text{TiO}_2$

ดร.สิมนัส ตรีเดช

นางสาวจุฑารัตน์ ศรีชูเปี่ยม

นางสาวเพียงกมล ยუნานนท์

นายมณฑล สุวรรณประภา

นายอนิรุทธ์ ศรีเลขา

มหาวิทยาลัยสวन्दุสิต

2560

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยสวन्दุสิต





รายงานการวิจัย  
เรื่อง

การศึกษาศักยภาพการกำจัดแบคทีเรียดื้อยาปฏิชีวนะ รวมทั้งรูปแบบ  
การดื้อยาที่เปลี่ยนแปลงไป ภายใต้ถังปฏิกรณ์โฟโตคะตะไลติก  
โดยใช้ตัวเร่งปฏิกิริยาไทเทเนียมไดออกไซด์

The Removal of Antibiotic Resistance Bacteria and their Resistance  
Phenotypes using Photocatalytic Oxidation by  $\text{TiO}_2$

ดร.สินีส ตรีเดช  
นางสาวจุฑารัตน์ ศรีชูเปี่ยม  
นางสาวเพียงกมล ยუნานนท์  
นายมณฑล สุวรรณประภา  
นายอนิรุทธ์ ศรีเลขา

(ศูนย์สิ่งแวดล้อม คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยสวนดุสิต)

มหาวิทยาลัยสวนดุสิต

2560

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยสวนดุสิต

(งานวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนจากงบประมาณแผ่นดินด้านการวิจัย ปีงบประมาณ 2559)

หัวข้อวิจัย	การศึกษาศึกษภาพการกำจัดแบคทีเรียดื้อยาปฏิชีวนะ รวมทั้งรูปแบบการดื้อยาที่เปลี่ยนแปลงไป ภายใต้ถังปฏิกรณ์โฟโตคะตะไลติกโดยใช้ตัวเร่งปฏิกิริยาไทเทเนียมไดออกไซด์	
ผู้ดำเนินการวิจัย	ดร.สิมนัส ศรีเดช	หัวหน้าโครงการวิจัย
	นางสาวจุฑารัตน์ ศรีชูเปี่ยม นางสาวเพียงกมล ยუნานนท์ และคณะ	
ที่ปรึกษา	ผศ.ดร.ธรรมศักดิ์ โรจนวิรุฬห์	
หน่วยงาน	ศูนย์สิ่งแวดล้อม คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยสวนดุสิต	
ปี พ.ศ.	2560	

การศึกษาในครั้งนี้ดำเนินการขึ้นเพื่อศึกษารูปแบบการดื้อยาปฏิชีวนะจากระบบบำบัดน้ำเสียชุมชนรวมถึงกระบวนการฆ่าเชื้อด้วยคลอรีนและกระบวนการโฟโตคะตะไลติกที่ใช้ไทเทเนียมไดออกไซด์เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ซึ่งสรุปได้ว่าระบบบำบัดน้ำเสียดังกล่าวมีประสิทธิภาพสูงในการกำจัดอีโคไลซึ่งเป็นตัวแทนแบคทีเรียก่อโรค โดยสามารถกำจัดได้เฉลี่ยร้อยละ 98.7 อีกทั้งอีโคไลส่วนใหญ่ที่คัดแยกจัดเป็นอีโคไลที่ดื้อยาปฏิชีวนะ (ร้อยละ 92-98) โดยอีโคไลร้อยละ 76-88 เป็นอีโคไลที่ดื้อต่อยาปฏิชีวนะตั้งแต่ 2 ชนิดขึ้นไป ซึ่งส่วนใหญ่มีคุณสมบัติดื้อต่อยาปฏิชีวนะชนิด Tetracycline, Cefuroxime, Cefazidime และ Ampicillin ในระดับที่สูง (มากกว่าร้อยละ 50) ในภาพรวมพบว่าภายในถังเติมอากาศก่อให้เกิดการพัฒนาการดื้อยาเพิ่มมากขึ้น โดยอีโคไลจากน้ำเสียก่อนเข้าสู่ระบบมีค่า MAR index 0.238 และมีค่าเพิ่มขึ้นเป็น 0.273 เมื่ออยู่ในถังเติมอากาศ แต่อย่างไรก็ตามอีโคไลที่เหลือรอดและปนเปื้อนออกมากับน้ำเสียที่ผ่านการบำบัดกลับมีระดับการดื้อยาที่ลดลง (MAR index = 0.133) แสดงให้เห็นว่าระบบบำบัดที่ทำการศึกษามีประสิทธิภาพ/ควบคุมการแพร่กระจายของแบคทีเรียดื้อยาได้ โดยสภาวะภายในระบบบำบัดเป็นปัจจัยที่มีความสำคัญต่อรูปแบบการดื้อยาที่ปรากฏ เช่น กระบวนการเติมอากาศ กระบวนการดูดติด/เกาะติดผิวอนุภาคแขวนลอย การกักกักในถังตกตะกอน และความหนาแน่นของจุลินทรีย์ภายในถังเติมอากาศ ถึงแม้จะพบอีโคไลดื้อยาหลุดรอดออกจากระบบในปริมาณต่ำแต่ก็อาจเกิดโอกาสแพร่กระจายไปยังสิ่งแวดล้อมอื่น ๆ ได้ ดังนั้นจึงได้ทำการจำลองกระบวนการฆ่าเชื้อเพื่อศึกษาประสิทธิภาพในการกำจัดแบคทีเรียก่อโรคและรูปแบบการดื้อยาปฏิชีวนะที่เปลี่ยนแปลงไป ซึ่งพบว่ากระบวนการเติมคลอรีนและกระบวนการโฟโตคะตะไลติกที่ใช้ไทเทเนียมไดออกไซด์เป็นตัวเร่งปฏิกิริยามีประสิทธิภาพสูงในการกำจัดอีโคไล โดยชุดการทดสอบที่สภาวะเหมาะสมสามารถกำจัดอีโคไลได้มากกว่าร้อยละ 75 อาทิเช่น 1) กระบวนการเติมคลอรีนความเข้มข้น 1 และ 2 มิลลิกรัม/ลิตร และใช้ระยะเวลาในการทำปฏิกิริยา 30 และ 60 นาที (ร้อยละ 76.8-99.7) และ 2) กระบวนการโฟโตคะตะไลติกที่ใช้ไทเทเนียมไดออกไซด์เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ที่ระยะเวลา 30 และ 60 นาที (ร้อยละ 75.1-92.4) แต่อย่างไรก็ตามอีโคไลดังกล่าวก่อเกิดการพัฒนาการดื้อยาปฏิชีวนะในระดับที่เพิ่มสูงขึ้นโดยมีค่า MAR index เริ่มต้นที่ 0.473 ภายหลังผ่านกระบวนการฆ่าเชื้อมีค่าเพิ่มขึ้นอยู่ในช่วง 0.491-0.636 และ 0.436-0.491 สำหรับการทำปฏิกิริยากับคลอรีนและกระบวนการโฟโตคะตะไลติกที่ใช้ไทเทเนียมไดออกไซด์เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ตามลำดับ อีกทั้งเมื่อกักกักน้ำเสียที่ผ่านกระบวนการทั้งสองรูปแบบ (24 และ 48 ชั่วโมง) ส่งผลให้อีโคไลมีปริมาณ

ลดลงรวมทั้งมีระดับการดีด้อยาลดต่ำลงเช่นกันโดยมีค่า MAR index อยู่ที่ 0.327-0.545 และ 0.418-0.473 ตามลำดับ ทั้งนี้เมื่อพิจารณาในแง่ของการพัฒนารูปแบบการดีด้อยาสามารถสรุปได้ว่ากระบวนการโฟโตคะตะไลติกที่ใช้ไทเทเนียมไดออกไซด์เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาเป็นกระบวนการที่มีความเหมาะสมในการบำบัดน้ำเสียเป็นขั้นตอนสุดท้ายก่อนการปล่อยออกสู่แหล่งภายนอกเพราะลด/ควบคุมการแพร่กระจายของแบคทีเรียดีด้อยาได้อย่างมีประสิทธิภาพมากกว่า

<b>Research title</b>	The Removal of Antibiotic Resistance Bacteria and their Resistance Phenotypes using Photocatalytic Oxidation by TiO <sub>2</sub>
<b>Researcher</b>	Dr.Simanata Threedeach, Miss. Jutharat Srichoopium, Miss.Piangkamon Yuwananont
<b>Research Consultants</b>	Asst.Prof.Dr.Thammasak Rojviroon
<b>Organization</b>	The Environmental Center Faculty of Science and Technology Suan Dusit University
<b>Year</b>	2017

The aim of this study was investigated the fate of antibiotic resistant bacteria among wastewater treatment plant (WWTP) in community area and disinfectant processes included chlorination and photocatalytic oxidation by TiO<sub>2</sub>. The results indicated high efficiency of WWTP process to removal *E. coli* (98.7%) and almost of tested were antibiotic resistant *E. coli* (92-98%). Of 76-88% *E. coli* were resisted up to 2 antibiotic agents and highly resisted (>50%) to Tetracycline, Cefuroxime, Cetazidime and Ampicillin. Furthermore, *E. coli* were developed to high level of antibiotic resistant inside aeration tank, MAR index of influent wastewater was 0.238 and increased to 0.273 in aeration tank. However, survival *E. coli* in effluent wastewater decreased MAR index to 0.133, it indicated that the WWTP had affected to decreased/control the widespread of antibiotic resistant bacteria to environment source. The processes inside WWTP such as aeration, absorption, retention time, and density of bacteria (MLSS) might effect to antibiotic resistant profiles. Therefore, to protect the health risk from antibiotic resistant bacteria in environment sources, this study design the experiment to study efficiency of disinfectant processes. The data suggested that chlorination and photocatalytic oxidation by TiO<sub>2</sub> had high efficiency to removal *E. coli* (>75%) included 1) chlorination process with chlorine 1 and 2 mg/l for 30 and 60 min of contact time (76.8-99.7%) and 2) photocatalytic oxidation by TiO<sub>2</sub> process for 30 and 60 min (75.1-92.4%). Focusing on antibiotic resistant profile, it point out that tested *E. coli* had increased the resistant level from MAR index value 0.473 to 0.491-0.636 and 0.436-0.491 for chlorination and photocatalytic oxidation by TiO<sub>2</sub>, respectively. Moreover, MAR index of tested *E. coli* was decreased to 0.327-0.545 (chlorination) and 0.418-0.473 (photocatalytic oxidation by TiO<sub>2</sub>) after storage the treated wastewater for 24 and 48 hours. Therefore, considered on the results of antibiotic resistant bacteria it suggested that photocatalytic oxidation by TiO<sub>2</sub> process had suitable for used as

disinfectant process for treated community wastewater due to the process had efficiency to remove/control antibiotic resistant bacteria.

## กิตติกรรมประกาศ

การศึกษาวิจัยนี้สามารถสำเร็จลุล่วงไปด้วยดีโดยคณะผู้วิจัยได้รับความร่วมมือและความช่วยเหลือจากผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ธรรมศักดิ์ โรจนวิรุฬห์ อาจารย์ประจำสาขาวิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม ภาควิชาวิศวกรรมโยธา คณะวิศวกรรมศาสตร์มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี ที่ปรึกษาโครงการวิจัย ซึ่งเป็นผู้ให้คำแนะนำ ข้อเสนอแนะ และชี้แนะทางการแก้ไขปัญหาข้อบกพร่องต่างๆ ในทุกๆ ด้านด้วยความเอาใจใส่ และให้กำลังใจแก่คณะผู้วิจัยอย่างยิ่ง คณะผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูง มา ณ โอกาสนี้

นอกจากนี้คณะผู้วิจัยขอขอบคุณสาขาวิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม ภาควิชาวิศวกรรมโยธา มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี ที่อำนวยความสะดวก และให้ความอนุเคราะห์อุปกรณ์ในการศึกษาวิจัยในงานวิจัยครั้งนี้

คณะผู้วิจัยขอขอบพระคุณ สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (วช.) และมหาวิทยาลัยสวนดุสิต ที่ให้ทุนอุดหนุนการดำเนินการวิจัยในครั้งนี้ ขอขอบคุณศูนย์สิ่งแวดล้อมที่เอื้อเพื่อสถานที่อุปกรณ์ และเครื่องมือในการศึกษาวิจัย

คณะผู้วิจัยหวังเป็นอย่างยิ่งว่างานวิจัย เรื่อง”การศึกษาศักยภาพการกำจัดแบคทีเรียดื้อยาปฏิชีวนะ รวมทั้งรูปแบบการดื้อยาที่เปลี่ยนแปลงไป ภายใต้ถึงปฏิกรณณ์โฟโตคะตะไลติกโดยใช้ตัวเร่งปฏิกิริยาไทเทเนียมไดออกไซด์” คงเป็นประโยชน์สำหรับหน่วยงานที่เกี่ยวข้อง หากงานวิจัยนี้มีสิ่งใดขาดตกบกพร่องหรือผิดพลาดประการใด ก็ขออภัยมา ณ ที่นี้ด้วย

คณะผู้วิจัย

2560

## สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ค
กิตติกรรมประกาศ	จ
สารบัญ	ฉ
สารบัญตาราง	ช
สารบัญภาพ	ฌ
บทที่ 1 บทนำ	1
ความเป็นมาและความสำคัญ	1
วัตถุประสงค์ของการวิจัย	3
ขอบเขตการวิจัย	3
สมมติฐานการวิจัย	4
คำจำกัดความที่ใช้ในงานวิจัย	5
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	5
บทที่ 2 แนวคิด ทฤษฎี เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	6
ทฤษฎีที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการโฟโตคะตะไลติก	6
ทฤษฎีที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการฆ่าเชื้อในน้ำเสียโดยการเติมคลอรีน	13
ทฤษฎีที่เกี่ยวข้องกับยาปฏิชีวนะและแบคทีเรียดื้อยาปฏิชีวนะ	17
การศึกษาวิจัยที่เกี่ยวข้อง	28
กรอบแนวคิดในการวิจัย	29
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย	30
การศึกษาข้อมูลของแบคทีเรียดื้อยาปฏิชีวนะจากระบบบำบัดน้ำเสียชุมชน	30
กระบวนการฆ่าเชื้อด้วยคลอรีน	
การศึกษาการกำจัดแบคทีเรียดื้อยาด้วยกระบวนการโฟโตคะตะไลติกที่ใช้ไทเทเนียมไดออกไซด์เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา	35
บทที่ 4 ผลการวิจัย	38
การตรวจสอบคุณภาพน้ำทางเคมีและชีวภาพจากระบบบำบัดน้ำเสียชุมชน	38
การดื้อยาปฏิชีวนะของอีโคไลที่คัดแยกจากระบบบำบัดน้ำเสียชุมชน	39
การดื้อยาปฏิชีวนะของอีโคไลที่คัดแยกจากกระบวนการเติมคลอรีน	45

บทที่ 4 ผลการวิจัย (ต่อ)	
การดื้อยาปฏิชีวนะของอีโคไลที่คัดแยกจากกระบวนการฟิโตคะตะไลติกที่ใช้ ไทเทเนียมไดออกไซด์เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา	49
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัย อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ	55
สรุปผลการวิจัย	55
อภิปรายผล	56
ข้อเสนอแนะในการนำผลการวิจัยไปใช้	57
ข้อเสนอแนะในการทำวิจัยครั้งต่อไป	57
บรรณานุกรม	58
ประวัติผู้วิจัย	66

## สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
2.1 แสดงคุณสมบัติทางกายภาพและเคมีของไทเทเนียมไดออกไซด์	10
2.2 แสดงข้อมูลปริมาณองค์ประกอบต่างๆที่พบในผนังเซลล์ของแบคทีเรียแกรมบวกและ แกรมลบ	13
2.3 แสดงปริมาณคลอรีนที่ใช้ในการฆ่าเชื้อโรคในน้ำเสียประเภทต่างๆ	16
2.4 แสดงคุณสมบัติของเอนไซม์ ESBL และ AmpC beta-lactamase	27
3.1 แสดงรายละเอียดของยาปฏิชีวนะที่ใช้ในการทดสอบความไวต่อยาของอีโคไล	32
4.1 แสดงข้อมูลคุณภาพน้ำทางเคมีและชีวภาพจากระบบบำบัดน้ำเสียชุมชน	38
4.2 แสดงข้อมูลภาพรวมการดื้อยาปฏิชีวนะของอีโคไลจากระบบบำบัดน้ำเสียชุมชน	40
4.3 แสดงข้อมูลการดื้อยาปฏิชีวนะแต่ละชนิดในอีโคไลที่คัดแยกจากระบบบำบัดน้ำเสีย	44
4.4 แสดงข้อมูลระดับการดื้อยาปฏิชีวนะของอีโคไลที่คัดแยกจากระบบบำบัดน้ำเสียชุมชน ภายใต้กระบวนการฆ่าเชื้อด้วยการเติมคลอรีน	47
4.5 แสดงข้อมูลระดับการดื้อยาปฏิชีวนะของอีโคไลที่คัดแยกจากระบบบำบัดน้ำเสียชุมชน ภายใต้กระบวนการโฟโตคะตะไลติกที่ใช้ไทเทเนียมไดออกไซด์เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา	51
4.6 แสดงข้อมูลระดับการดื้อยาปฏิชีวนะของอีโคไลที่คัดแยกจากระบบบำบัดน้ำเสียชุมชน ภายใต้กระบวนการโฟโตคะตะไลติกที่ใช้ไทเทเนียมไดออกไซด์เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา	53
4.7 แสดงการเปลี่ยนแปลงค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางรอบเม็ดยาปฏิชีวนะ (Clear zone) ที่ใช้ทำการทดสอบความไวต่อยาในอีโคไล (E2) ภายหลังจากการทดสอบภายใต้ กระบวนการโฟโตคะตะไลติกที่มีการใช้ไทเทเนียมไดออกไซด์เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา	55

## สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
2.1 แผนภาพการประยุกต์ใช้กระบวนการโฟโตคะตะไลติกร่วมกับไทเทเนียมไดออกไซด์	6
2.2 แสดงถึงกลไกการเกิดปฏิกิริยาของกระบวนการโฟโตคะตะไลติก	9
2.3 แสดงขั้นตอนของเทคนิคโซล-เจลและผลิตภัณฑ์ต่างๆ	11
2.4 กระบวนการกำจัดแบคทีเรียด้วยโฟโตคะตะไลติก	12
2.5 แผนภาพแสดงองค์ประกอบเปรียบเทียบระหว่างผนังเซลล์ของแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบ	12
2.6 แสดงภาพจากกล้อง AFM ซึ่งแสดงลักษณะโครงสร้างของอีโคไลหลังการถูกกำจัดด้วยกระบวนการโฟโตคะตะไลติกที่ใช้ไทเทเนียมไดออกไซด์เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา	13
2.7 แสดงปฏิกิริยาคลอรีนในน้ำ ในรูปของการเกิด HOCl และ OCl <sup>-</sup> ที่เปลี่ยนแปลงไป	15
2.8 แสดง Breakpoint chlorination curve ของคลอรีนและแอมโมเนีย	16
2.9 แสดงลักษณะทางกายภาพของอีโคไลภายใต้กล้อง SEM ภายหลังจากผ่านกระบวนการฆ่าเชื้อด้วยคลอรีน	17
2.10 แสดงถึงโครงสร้างผนังเซลล์ และบริเวณที่ถูกกระบวนการสังเคราะห์ผนังเซลล์ด้วยฤทธิ์ของยาปฏิชีวนะ	18
2.11 แสดงกลไกการทำงานของ DNA gyrase และ DNA topoisomerase II ของอีโคไล โดยยาปฏิชีวนะกลุ่ม Quinolone จะรบกวนการทำงานของเอนไซม์ดังกล่าว	20
2.12 แสดงกระบวนการสังเคราะห์โปรตีนและขั้นตอนที่มีการถูกยับยั้งด้วยยาปฏิชีวนะต่างๆ	21
2.13 แสดงการยับยั้งการสังเคราะห์กรดโฟลิกด้วยยา Sulfanamide และ Trimethoprim	22
2.14 แสดงกลไกการถ่ายถอดยีนดีออยาระหว่างแบคทีเรีย	23
2.15 แสดงโครงสร้างหลักของยาในกลุ่ม beta-lactam ที่มีวงแหวน beta-lactam	27
2.16 แสดงภาพรวมของกระบวนการคิดและการดำเนินการวิจัย	29
3.1 ถึงปฏิกรณ์ในการทดสอบการกำจัดแบคทีเรียด้วยกระบวนการโฟโตคะตะไลติก	35
3.2 แสดงแผนผังสรูปแบบการดำเนินการศึกษาทั้ง 2 ส่วน	37
4.1 แสดงข้อมูลจำนวนชนิดยาปฏิชีวนะที่อีโคไลในแต่ละสายพันธุ์สามารถต้านทานฤทธิ์ของยาโดยแสดงค่าตั้งแต่ไม่ดื้อยา และดื้อยาตั้งแต่ 1-9 ชนิด	42
4.2 แสดงข้อมูลจำนวนชนิดยาปฏิชีวนะที่อีโคไลในแต่ละสายพันธุ์สามารถต้านทานฤทธิ์ของยาโดยแสดงค่าตั้งแต่ไม่ดื้อยา ดื้อยา 1 ชนิด 2-3 ชนิด 4-5 ชนิด และ 6 ชนิดขึ้นไป	42
4.3 แสดงผลการศึกษาประสิทธิภาพการกำจัดอีโคไลภายใต้กระบวนการเติมคลอรีน	47
4.4 แสดงผลการศึกษาประสิทธิภาพการกำจัดอีโคไลภายใต้กระบวนการโฟโตคะตะไลติกที่ใช้ไทเทเนียมไดออกไซด์เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา	52

# บทที่ 1

## บทนำ

### ความเป็นมาและความสำคัญ

ยาปฏิชีวนะนั้น ในปัจจุบันจัดเป็นยาที่มีการใช้กันวงกว้าง โดยมีวัตถุประสงค์การใช้งานที่แตกต่างกันออกไป อาทิเช่น การรักษาโรคติดเชื้อในคน และสัตว์ ซึ่งกรณีในสัตว์มักมีการใช้เพื่อส่งเสริมการเจริญเติบโต (Hirsch et al., 1999; Unno et al., 2010) สำหรับการเลี้ยงในระดับอุตสาหกรรมทั้งการประมง และปศุสัตว์ นอกจากนี้ยังมีการใช้ในกระบวนการแปรรูปอาหาร เนื่องจากการใช้ยากันอย่างไม่สมเหตุผล และใช้กันอย่างเกินจำเป็น จึงก่อให้เกิดปัญหาการดื้อยาปฏิชีวนะขึ้นโดยเฉพาะอย่างยิ่งในเชื้อแบคทีเรีย (Zhang and Zhang, 2011) ซึ่ง ณ ปัจจุบันถือเป็นโรคอุบัติใหม่ และจัดเป็นปัญหาใหญ่ในระดับนานาชาติ ส่งผลกระทบต่อสุขภาพ (Bouki et al., 2013; Rizzo et al., 2013b) และเศรษฐกิจตามมา โดยนอกจากจะพบการดื้อยาปฏิชีวนะตามโรงพยาบาลและในชุมชนแล้ว ยังพบการระบาดของแหล่งต่างๆในสิ่งแวดล้อมทั่วไป (Vieira et al., 2010; Rizzo et al., 2012) เช่น แหล่งน้ำ, ดิน, ระบบบำบัดน้ำเสีย, ฟาร์มเลี้ยงสัตว์, การประมง, หลุมฝังกลบขยะ เป็นต้น เนื่องจากการดำเนินกิจกรรมต่างๆล้วนแล้วแต่เกี่ยวข้องกับการใช้ยาปฏิชีวนะ จึงก่อให้เกิดการแพร่กระจายของแบคทีเรียดื้อยา (Antibiotic resistance bacteria, ARB), ยีนดื้อยา (Antibiotic resistance genes, ARGs) รวมทั้งยาปฏิชีวนะปนเปื้อนลงสู่สิ่งแวดล้อมดังกล่าว (Negreanu et al., 2012) โดยทั่วไปแล้วแบคทีเรียที่อาศัยอยู่ในระบบทางเดินอาหารของคน มักจะมีคุณสมบัติการดื้อยาปฏิชีวนะปะปนอยู่ถึงแม้ว่าแบคทีเรียดังกล่าวอาจไม่เคยได้รับยานั้นๆมาก่อน อาทิเช่น อีโคไลประมาณร้อยละ 40 พบการดื้อยาอย่างน้อยหนึ่งชนิด (Unno et al., 2010)

ภายใต้สภาวะที่มีการคงอยู่ของยาปฏิชีวนะ หรือแม้แต่กระทั่งสภาวะหรือสารเหนี่ยวนำต่างๆ นั้น จะก่อให้เกิดการคัดเลือกสายพันธุ์ของแบคทีเรียขึ้น โดยจะมีการพัฒนาและปรับตัวให้เหมาะสมเพื่อความอยู่รอดภายใต้สภาวะที่มีการปรากฏของสารเหล่านั้น ก่อให้เกิดการเปลี่ยนกลุ่มประชากรของแบคทีเรียที่มีอยู่ตามธรรมชาติ ก่อให้เกิดสายพันธุ์ใหม่ที่มีความทนทานต่อสภาวะกดดันมากยิ่งขึ้น โดยทั่วไปแบคทีเรียที่มีความทนทานต่อสภาวะต่างๆมักจะมีหลากหลายกระบวนการเมตาโบลิซึมเพื่อช่วยให้เซลล์อยู่รอด (Bahig et al., 2008) และในแบคทีเรียเหล่านั้นมักจะมีพลาสมิด (Plasmid) ซึ่งมีส่วนใหญ่ที่ควบคุมกระบวนการเหล่านั้นมักจะมีพลาสมิด และไม่ค่อยมีความสัมพันธ์กับยีนที่จำเป็นต่อการถ่ายทอดลักษณะทางพันธุกรรมไปสู่รุ่นถัดไป ซึ่งจะพบอยู่ที่โครโมโซม (chromosome) การที่แบคทีเรียมีการพัฒนาสายพันธุ์ให้มีความทนทานต่อยาปฏิชีวนะ เรียก แบคทีเรียดื้อยาปฏิชีวนะ ซึ่งแบคทีเรียดังกล่าวจะมีหลายกลไกในการต้านยาปฏิชีวนะ ซึ่งถูกควบคุมกลไกด้วยยีนดื้อยาปฏิชีวนะ โดยยีนส่วนใหญ่จะอยู่ที่พลาสมิดของแบคทีเรีย ซึ่งสามารถถ่ายทอดผ่านยีนจากแบคทีเรียที่ดื้อยาไปสู่แบคทีเรียที่ไม่มีคุณสมบัติดังกล่าวได้ หรืออาจมีการถ่ายทอดยีนจากแบคทีเรียทั่วไปในสิ่งแวดล้อมไปสู่แบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรค รวมถึงอาจเกิดการถ่ายทอดยีนระหว่างแบคทีเรียที่ดื้อต่อยาปฏิชีวนะด้วยกันเอง ก่อให้เกิดแบคทีเรียสายพันธุ์ที่มีคุณสมบัติดื้อต่อยาปฏิชีวนะหลายชนิดมากยิ่งขึ้น (Wellington et al., 2013) ซึ่งกระบวนการเหล่านี้เกิดขึ้นได้โดยไม่จำเป็นต้องใช้การสืบพันธุ์ แต่ส่วนใหญ่ใน

สิ่งแวดลอมจะเกิดผ่านกระบวนการที่เรียกว่าการถ่ายทอดยีนในแนวราบ (Horizontal gene transfer, HGT) ซึ่งทำให้เชื้อแบคทีเรียสามารถถ่ายทอดยีนข้ามสายพันธุ์กันได้ (Kelly et al., 2009) โดยถือเป็นกลไกสำคัญที่ทำให้เชื้อแบคทีเรียมีวิวัฒนาการอย่างรวดเร็ว และมีการแพร่กระจายยีนเหล่านี้ไปสู่กลุ่มแบคทีเรียในสิ่งแวดลอม

ในสิ่งแวดลอมนั้น ระบบบำบัดน้ำเสียทางชีวภาพถือเป็นแหล่งสำคัญแหล่งหนึ่งที่มีบทบาทต่อการแพร่กระจายแบคทีเรียดี้อยา (Martinez, 2009; Burch et al., 2013; Novo et al., 2013; Rizzo et al., 2013b) โดยมักจะมีการถ่ายทอดยีนดี้อยาแบบ HGT ซึ่งปัจจัยที่ส่งเสริมกระบวนการดังกล่าวในระบบฯ ได้แก่ ประชากรแบคทีเรียที่หนาแน่น, แหล่งอาหารอันอุดมสมบูรณ์ (น้ำเสียที่เข้าสู่ระบบฯ อย่างต่อเนื่องถือเป็นแหล่งอาหารที่สำคัญ), การปนเปื้อนของแบคทีเรียดี้อยา รวมทั้งยาปฏิชีวนะที่มีในระบบฯ เป็นต้น และรูปแบบของระบบบำบัดน้ำเสียที่แตกต่างกัน รวมทั้งสภาวะในการเดินระบบที่แตกต่างกันยังมีผลต่อรูปแบบการดี้อยาปฏิชีวนะที่ปรากฏของแบคทีเรีย (Bouki et al., 2013) โดยทั่วไปแล้วกระบวนการฆ่าเชื้อโรคมักถูกบรรจุเป็นขั้นตอนสุดท้ายของกระบวนการบำบัดน้ำเสีย เพื่อกำจัดหรือลดปริมาณจุลินทรีย์ก่อนปล่อยออกสู่สิ่งแวดล้อม โดยเฉพาะพวกก่อเกิดโรค ซึ่งวิธีการที่นิยมที่สุดคือการใช้คลอรีน (Chlorination) จัดเป็นวิธีการที่มีประสิทธิภาพ, ต้นทุนต่ำ และใช้ระยะเวลาสั้น โดยใช้ระยะเวลาสัมผัสประมาณ 20-60 นาที (Anastasi et al., 2013) แต่ถ้าพิจารณาในแง่ของแบคทีเรียดี้อยา พบว่าไม่มีประสิทธิภาพเพียงพอในการกำจัด (Rizzo et al., 2012) ในหลายงานวิจัยกลับพบว่าแบคทีเรียที่ทนต่อกระบวนการฆ่าเชื้อด้วยคลอรีน (Stress-tolerant) มักจะถูกเหนี่ยวนำให้กลายเป็นแบคทีเรียมีการดี้อยาปฏิชีวนะหรือมีระดับดี้อยาที่รุนแรงมากขึ้น (Silva et al., 2006; Bouki et al., 2013; Breazeal et al., 2013) หรืออาจเรียกได้ว่าเกิดกระบวนการ co-selection ระหว่างสารเคมีที่ใช้กำจัดแบคทีเรียกับยาปฏิชีวนะ (Taylor et al., 2011) ดังนั้น การฆ่าเชื้อโดยกระบวนการโฟโตคะตะไลติกด้วยตัวเร่งปฏิกิริยาไทเทเนียมไดออกไซด์ (TiO<sub>2</sub>) ถือเป็นอีกเทคโนโลยีทางเลือกที่น่าสนใจในการช่วยลดการแพร่กระจายของแบคทีเรียดี้อยาจากระบบบำบัดออกสู่สิ่งแวดล้อมภายนอก เนื่องจากมีงานวิจัยพบว่ามีประสิทธิภาพในการลดปริมาณแบคทีเรียดี้อยาได้ (Tsai et al., 2010) กระบวนการดังกล่าวเป็นกระบวนการออกซิเดชันขั้นสูง (Advance oxidation processes, AOPs) และจัดเป็นกระบวนการทางเคมีฟิสิกส์ที่นิยมใช้กันอย่างกว้างขวางในงานทางด้านสิ่งแวดล้อม เช่น การกำจัดสารกลุ่มไฮโดรคาร์บอน, สารมลพิษ และแบคทีเรีย (Nakata and Fujishima, 2012) โดยกระบวนการดังกล่าวใช้แสงอัลตราไวโอเล็ตร่วมกับตัวเร่งปฏิกิริยาไทเทเนียมไดออกไซด์ โดยมีข้อดีคือไม่ก่อให้เกิดสารผลิตภัณฑ์ (By-products) ที่มีความเป็นพิษเหมือนกับการใช้คลอรีนกำจัด รวมทั้งต้นทุนยังต่ำเช่นเดียวกัน นอกจากนี้ยังจัดเป็นเทคโนโลยีใหม่ที่นำประยุกต์ใช้ในการกำจัดแบคทีเรียดี้อยา

ด้วยความตระหนักถึงปัญหาทางด้านสาธารณสุขและระบบทางสิ่งแวดล้อม อันเนื่องมาจากการก่อเกิด, การแพร่กระจายแบคทีเรียดี้อยาปฏิชีวนะโดยมีแหล่งกำเนิดสำคัญมาจากระบบบำบัดน้ำเสียชุมชน ดังนั้น ทางคณะผู้วิจัยจึงสนใจที่จะการศึกษาถึงรูปแบบและปริมาณแบคทีเรียดี้อยาจากแต่ละหน่วยย่อยของระบบบำบัด โดยเฉพาะอย่างยิ่งระบบที่มีการฆ่าเชื้อด้วยคลอรีน เพื่อหาสภาวะของการเดินระบบที่ก่อให้เกิดการทวีความรุนแรงของการดี้อยา และประเมินการแพร่กระจายสู่แหล่งชุมชน รวมทั้งประเมินศักยภาพการกำจัดแบคทีเรียดี้อยาจากแหล่งดังกล่าวด้วยกระบวนการโฟโตคะตะไลติกที่ใช้ไทเทเนียมไดออกไซด์เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ซึ่งถือเป็นเทคโนโลยีหนึ่งที่มีความน่าสนใจ

ปัจจุบัน ซึ่งข้อมูลที่ได้จากการวิเคราะห์นับเป็นข้อมูลองค์ความรู้รูปแบบหนึ่ง ที่สามารถนำมาใช้เป็นแนวทางในการจัดการของแบคทีเรียดี้อย่างมีประสิทธิภาพต่อไป ซึ่งในการศึกษาค้นคว้าทางคณะผู้วิจัยมีความสนใจที่จะดำเนินการศึกษาภายใต้ข้อสมมติฐาน 3 ประการ ดังนี้ 1) แบคทีเรียจากระบบบำบัดน้ำเสียทางชีวภาพ รวมทั้งกระบวนการฆ่าเชื้อด้วยคลอรีน ทำให้คุณสมบัติการดีต่อยาปฏิชีวนะทวีความรุนแรงเพิ่มขึ้น, 2) สภาพต่างๆของกระบวนการฆ่าเชื้อด้วยคลอรีนที่มีประสิทธิภาพตามที่นิยมใช้กันทั่วไป เช่น ระยะเวลา และความเข้มข้น มีอิทธิพลต่อรูปแบบของการเกิด co-selection คือ พบทั้งการทนต่อคลอรีน และการดีต่อยาคู่กันไป และ 3) กระบวนการโฟโตคะตะไลติกที่ใช้ไทเทเนียมไดออกไซด์เป็นตัวเร่งปฏิกิริยามีประสิทธิภาพในการกำจัดแบคทีเรียดีหรือไม่ทำให้รูปแบบการดีต่อยาที่พบทวีความรุนแรงมากขึ้น ซึ่งการศึกษาในครั้งนี้ได้ใช้อีโคไล (*Escherichia coli*) เป็นตัวแทนในการศึกษา โดยได้แบ่งการดำเนินการศึกษาออกเป็น 2 ส่วน ประกอบด้วย ส่วนที่ 1 การศึกษาข้อมูลของแบคทีเรียดีจากระบบบำบัดน้ำเสียชุมชน รวมถึงกระบวนการฆ่าเชื้อด้วยคลอรีน พร้อมทั้งศึกษาปัจจัยที่มีอิทธิพล รวมทั้งประเมินความเสี่ยงของการแพร่กระจาย และส่วนที่ 2 การศึกษาการกำจัดแบคทีเรียดีด้วยกระบวนการโฟโตคะตะไลติกที่ใช้ไทเทเนียมไดออกไซด์เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ภายใต้ถึงปฏิกรณ์ ซึ่งเมื่อเสร็จสิ้นกระบวนการศึกษาทางคณะผู้วิจัยมีความคาดหวังว่า องค์ความรู้ที่ได้จะมีบทบาทในการเชื่อมโยงถึงปัญหาการกระจายตัวของแบคทีเรียดีในระบบทางสิ่งแวดล้อม ทราบถึงแนวทางที่เหมาะสมในการลดปัญหาดังกล่าว เพื่อให้เกิดผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมน้อยที่สุดเท่าที่จะเป็นไปได้ และน่าจะเป็นประโยชน์ต่อผู้ที่สนใจทำการศึกษาด้านนี้ และที่สำคัญเมื่อพิจารณาทางด้านสาธารณสุข การประเมินความเสี่ยงต่อสุขภาพว่ามีโอกาสความเป็นไปได้มากน้อยเพียงใดที่จะได้รับเชื้อแบคทีเรียดีที่ปนเปื้อนเข้าสู่ร่างกาย ซึ่งอาจส่งผลต่อการเกิดโรคติดต่ออุบัติใหม่ น่าจะเป็นอีกประเด็นหนึ่งที่น่าสนใจ และมีประโยชน์ต่อหน่วยงานต่างๆที่เกี่ยวข้อง

### วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. ศึกษารูปแบบ และปริมาณของแบคทีเรียดีจากระบบบำบัดน้ำเสียชุมชน รวมถึงกระบวนการฆ่าเชื้อด้วยคลอรีน
2. ศึกษาประสิทธิภาพการกำจัดแบคทีเรียดีด้วยกระบวนการโฟโตคะตะไลติกที่ใช้ไทเทเนียมไดออกไซด์เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา
3. ศึกษาปัจจัยภายใต้กระบวนการฆ่าเชื้อด้วยวิธีการต่างๆ ที่มีอิทธิพลต่อรูปแบบการดีต่อยาปฏิชีวนะของแบคทีเรีย

### ขอบเขตการวิจัย

1. ใช้ระบบบำบัดน้ำเสียชุมชน (ระบบบำบัดทางชีวภาพ) เป็นระบบต้นแบบในการดำเนินการศึกษารูปแบบการดีต่อยาปฏิชีวนะ

2. การตรวจวิเคราะห์คุณสมบัติพื้นฐานของน้ำเสียและตะกอนในระบบบำบัด ซึ่งประกอบด้วย การตรวจวิเคราะห์พารามิเตอร์ 2 ด้าน คือ 1) พารามิเตอร์พื้นฐานทั่วไปทางด้านเคมี และ 2) พารามิเตอร์ทางด้านชีววิทยา เช่น จำนวนประชากรแบคทีเรีย

3. การตรวจวิเคราะห์การดื้อยาปฏิชีวนะกลุ่มต่างๆ ซึ่งในที่นี้ใช้โคโลเป็นตัวแทนในการศึกษา โดยวิธีการแพร่ของยาจากแผ่นกระดาษที่มียาปฏิชีวนะ (Disk diffusion method) อิงตามมาตรฐานของ CLSI (Clinical and Laboratory Standard Institute) (CLSI, 2012) และผลการทดสอบจะแสดงค่า 3 ระดับ คือ ไวต่อยา (Sensitive, S), กำลังพัฒนาเป็นแบคทีเรียดื้อยา (Intermediate, I) และดื้อต่อยา (Resistance, R)

4. ยาปฏิชีวนะที่ใช้ในการทดสอบจะครอบคลุมตามการออกฤทธิ์ในการยับยั้งหรือกำจัดอีโคไล โดยยาที่ใช้ทดสอบจะครอบคลุมยาทั้งสิ้น 7 กลุ่ม ได้แก่ Aminoglycoside, Tetracycline, Phenicol, Fluoroquinolone, Sulfonamide, Fosfomycin และ Beta-lactam

5. รูปแบบการดื้อยาปฏิชีวนะกลุ่มต่างๆที่ต้องการศึกษา ประกอบด้วย จำนวนเชื้อที่ดื้อต่อยา (Resistant), จำนวนเชื้อที่น่าจะพัฒนาไปเป็นเชื่อดื้อยาในอนาคต (Intermediate), จำนวนเชื้อที่ไม่ดื้อต่อยา (Sensitive), รูปแบบการดื้อยา (เชื้อ 1 โคโลนี มีความสามารถในการดื้อยาได้กี่ชนิด, Antibiotic resistant pattern), และจำนวนเชื้อที่ดื้อต่อยามากกว่า 1 ชนิด ขึ้นไป (Multiple antibiotic resistance bacteria, MAR)

6. กระบวนการโฟโตคะตะไลติกในการศึกษา มีตัวเร่งปฏิกิริยาที่ใช้ คือ ไทเทเนียมไดออกไซด์ ซึ่งเตรียมโดยวิธีการโซล-เจล ส่วนแหล่งกำเนิดแสงที่ใช้ คือ หลอด UV-LED ที่มีความยาวคลื่นประมาณ 365 นาโนเมตร และทำการศึกษาในถังปฏิริยาแบบกะ (Batch Reactor) ที่เป็นระบบปิด

7. มีการวิเคราะห์ความทนทานของแบคทีเรียต่อการฆ่าเชื้อด้วยวิธีการต่างๆและรูปแบบการดื้อยาปฏิชีวนะที่เปลี่ยนแปลงไปจากกระบวนการใช้คลอรีน และการใช้กระบวนการโฟโตคะตะไลติก เพื่อศึกษาปัจจัยที่มีอิทธิพล เช่น ความเข้มข้นของสารเคมี ระยะเวลาที่ใช้ เป็นต้น

### สมมติฐานการวิจัย

1. แบคทีเรียจากระบบบำบัดน้ำเสียทางชีวภาพ รวมทั้งกระบวนการฆ่าเชื้อด้วยคลอรีน ทำให้คุณสมบัติการดื้อยาปฏิชีวนะทวีความรุนแรงเพิ่มขึ้น

2. สภาวะต่างๆของกระบวนการฆ่าเชื้อด้วยคลอรีนที่มีประสิทธิภาพตามที่นิยมใช้กันทั่วไป เช่น ระยะเวลา และความเข้มข้น มีอิทธิพลต่อรูปแบบของการเกิด co-selection คือ พบทั้งการทนต่อคลอรีน และการดื้อยาควบคู่กันไป

3. กระบวนการโฟโตคะตะไลติกที่ใช้ไทเทเนียมไดออกไซด์เป็นตัวเร่งปฏิกิริยามีประสิทธิภาพในการกำจัดแบคทีเรียดื้อยาปฏิชีวนะ หรือไม่ทำให้รูปแบบการดื้อยาที่พบทวีความรุนแรงมากขึ้น

## คำจำกัดความที่ใช้ในงานวิจัย

แบคทีเรียดื้อยาปฏิชีวนะ (Cloete, 2003) คือการที่แบคทีเรียชนิดนั้นๆแสดงคุณสมบัติดื้อต่อยาปฏิชีวนะทั้งแบบชั่วคราวและถาวร โดยคุณสมบัติดังกล่าวสามารถถ่ายทอดไปยังแบคทีเรียรุ่นถัดไป อีกทั้งแบคทีเรียดังกล่าวจะไม่มีควมไวต่อยาปฏิชีวนะชนิดต่างๆที่ใช้ในการรักษาโรคขึ้นอยู่กับคุณสมบัติของการดื้อยาที่มี

กระบวนการฆ่าเชื้อด้วยคลอรีน (Li et al., 2016) เป็นหนึ่งในกระบวนการฆ่าเชื้อในน้ำเสียชุมชนที่ผ่านออกมาจากระบบบำบัด โดยจัดเป็นกระบวนการที่มีประสิทธิภาพสูง ต้นทุนต่ำ นำไปประยุกต์ใช้ได้ง่าย แต่เป็นกระบวนการที่ก่อให้เกิด disinfection by-products (DBPs)

กระบวนการโฟโตคะตะไลติก คือ กระบวนการออกซิเดชันขั้นสูง (Advance oxidation processes, AOPs) ที่มีการกระตุ้นปฏิกิริยาโดยฉายแสงไปที่ตัวเร่งปฏิกิริยา (Catalyst) ทำให้ปฏิกิริยานั้นๆ เกิดได้เร็วขึ้น ซึ่งมี 2 กระบวนการย่อย ได้แก่ กระบวนการเกาะหรือดูดติดผิว (adsorption process) และกระบวนการเกิดโฟโตคะตะไลติก (photocatalytic process) ซึ่งกระบวนการโฟโตคะตะไลติกที่มีไทเทเนียมไดออกไซด์เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาเป็นที่นิยมใช้กันอย่างแพร่หลาย และในปัจจุบันมีการนำมาประยุกต์ใช้ในการจัดการคุณภาพน้ำ และอากาศเพิ่มมากขึ้น (Monteiro et al., 2015)

## ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ทราบข้อมูลที่เกี่ยวข้องกับการพัฒนาการดื้อยาในระบบบำบัดน้ำเสียทางชีวภาพ ซึ่งส่งผลต่อการเพิ่มระดับความรุนแรงของการดื้อยาปฏิชีวนะ
2. ทราบถึงประสิทธิภาพของระบบฆ่าเชื้อก่อนการปล่อยน้ำเสียที่ผ่านการบำบัดออกสู่สิ่งแวดล้อมภายนอก ทั้งในแง่ของปริมาณการกำจัด และรูปแบบการดื้อยาที่พบ
3. ทราบถึงปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการพัฒนาการดื้อยาปฏิชีวนะ ซึ่งอาจจะส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม สุขภาพ
4. จากข้อ 1-3 ทำให้ทราบถึงแนวทางในการป้องกันหรือลดผลกระทบจากการติดเชื้อดื้อยาปฏิชีวนะ อันถือเป็นโรคอุบัติใหม่ ซึ่งอาจจะส่งผลกระทบต่อสุขภาพและเศรษฐกิจ
5. เพื่อใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานสำหรับการศึกษาวิจัยในเรื่องการดื้อยาของแบคทีเรีย สำหรับตัวอย่างภายใต้ระบบบำบัดน้ำเสีย
6. มีการเผยแพร่ข้อมูลในรูปบทความในวารสารทางวิชาการ
7. ข้อมูลและองค์ความรู้ที่ได้น่าจะเป็นประโยชน์ต่อหน่วยงานทั้งภาครัฐและเอกชนที่มีบทบาทต่อการแก้ไขหรือลดปัญหาดังกล่าว รวมถึงบุคคลทั่วไปที่ให้ความสนใจ

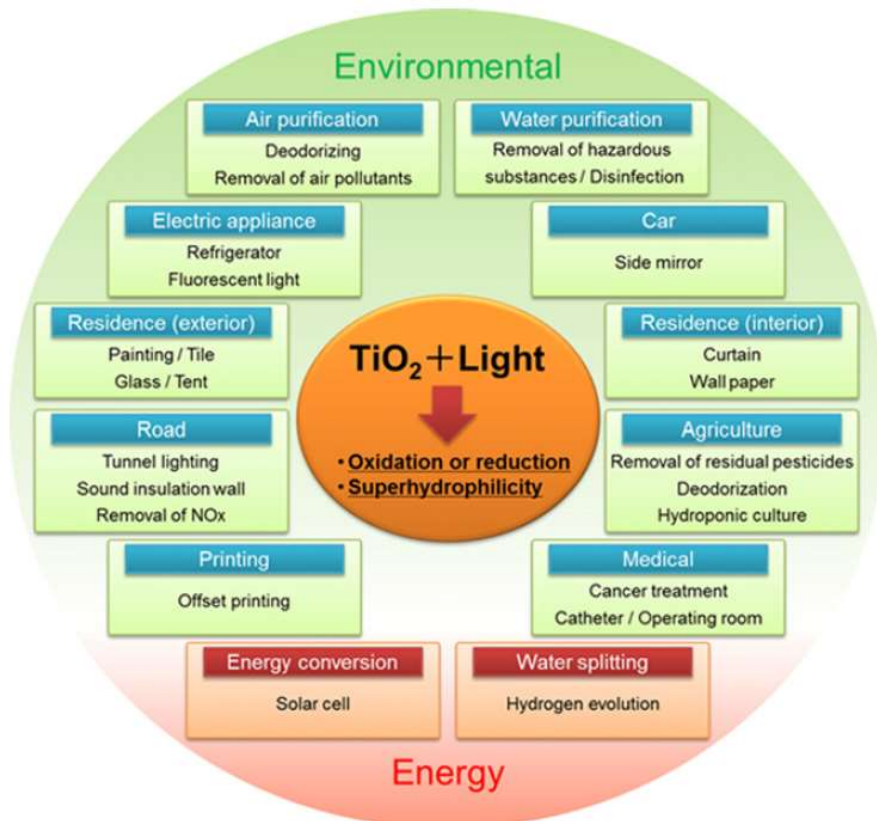
## บทที่ 2

### แนวคิด ทฤษฎี เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

#### ทฤษฎีที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการโฟโตคะตะไลติก

##### 1. หลักการของกระบวนการโฟโตคะตะไลติก

กระบวนการโฟโตคะตะไลติกที่มีไทเทเนียมไดออกไซด์เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาเป็นที่นิยมใช้กันอย่างแพร่หลาย (ภาพที่ 2.1) และในปัจจุบันมีการนำมาประยุกต์ใช้ในการจัดการคุณภาพน้ำ และอากาศเพิ่มมากขึ้น (Monteiro et al., 2015) โดยภายใต้แสง UV ที่ความยาวคลื่นมากกว่า 380 นาโนเมตร จะสามารถกระตุ้นการเกิดปฏิกิริยาได้ดี นอกจากนี้กระบวนการโฟโตคะตะไลติก ยังหมายถึงกระบวนการที่มีการกระตุ้นปฏิกิริยาโดยฉายแสงไปที่ตัวเร่งปฏิกิริยา (Catalyst) ทำให้ปฏิกิริยานั้นๆ เกิดได้เร็วขึ้น โดยกระบวนการโฟโตคะตะไลติก เป็นกระบวนการที่มีการใช้แสงร่วมกับการใช้ตัวเร่งปฏิกิริยา ซึ่งมี 2 กระบวนการย่อย ได้แก่ กระบวนการเกาะหรือดูดติดผิว (adsorption process) และกระบวนการเกิดโฟโตคะตะไลติก (photocatalytic process)



ภาพที่ 2.1 แผนภาพแสดงการประยุกต์ใช้กระบวนการโฟโตคะตะไลติกร่วมกับไทเทเนียมไดออกไซด์ (Nakata and Fujishima, 2012)

### 1.1 กระบวนการเกาะหรือดูดติดผิว (adsorption process)

กระบวนการเกาะหรือดูดติดผิวจะเกิดขึ้นขึ้นขึ้นอยู่กับความสามารถของสารบางชนิดในการดึงโมเลกุลหรือคอลลอยด์ซึ่งอยู่ในรูปของเหลวหรือก๊าซมาเกาะจับและติดบนผิวของตัวเร่งปฏิกิริยา กระบวนการนี้สามารถเกิดขึ้นที่สภาวะ 2 สภาวะใดๆ เช่น ของเหลวกับของเหลว ก๊าซกับของเหลว ก๊าซกับของแข็ง หรือของเหลวกับของแข็ง โดยโมเลกุลหรือคอลลอยด์ที่ดูดซับ เรียกว่า สารดูดซับ (adsorbent) โดยสำหรับงานวิจัยนี้จะศึกษากระบวนการติดผิวในสภาวะก๊าซกับของแข็ง สำหรับการศึกษาค่าความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการเกิดปฏิกิริยาดูดติดผิวกับขนาดของอนุภาคตัวเร่งปฏิกิริยาไทเทเนียมไดออกไซด์ พบว่า ในการเตรียมตัวเร่งปฏิกิริยาที่มีอนุภาคขนาด 6.6 และ 14.8 นาโนเมตร ส่งผลให้ปริมาตรของรูพรุนและความหนาแน่นของพื้นผิว OH- ลดลงและรูพรุนเฉลี่ยเพิ่มขึ้น ความสามารถในการดูดติดผิวของตัวเร่งปฏิกิริยาเมื่อทดสอบกับ AS (III) และ As (V) มีค่าเพิ่มขึ้นเป็นเส้นตรงสัมพันธ์กับ  $S_{BET}$  ของอนุภาค นอกจากนี้เมื่ออนุภาคของตัวเร่งปฏิกิริยามีขนาดเพิ่มขึ้นเป็น 30.1 นาโนเมตร จะส่งผลให้อัตราการเกิดปฏิกิริยาโฟโตคะตะไลติกลดลง (Xu and Meng., 2009) นอกจากนี้ในการทดสอบกระบวนการดูดติดผิวบนตัวเร่งปฏิกิริยาไทเทเนียมไดออกไซด์ซึ่งเตรียมโดยวิธีโซล-เจล ซึ่งมีขนาดอนุภาคเฉลี่ย 5.6 และ 7.6 นาโนเมตรสามารถทำให้เกิดพื้นที่ผิวสัมผัสได้ถึง 80 ตารางเมตรต่อน้ำหนักในหน่วยกรัมของตัวเร่งปฏิกิริยา (Zaki et al., 2010) อย่างไรก็ตามแม้ว่าการเพิ่มพื้นที่ผิวสัมผัสของตัวเร่งปฏิกิริยาจะช่วยเพิ่มอัตราการดูดติดผิวของสารที่ต้องการกำจัดโดยกระบวนการโฟโตออกซิเดชัน แต่ในรูพรุนของอนุภาคตัวเร่งปฏิกิริยาที่แสงไม่สามารถส่องถึงก็จะไม่ทำให้เกิดปฏิกิริยาโฟโตออกซิเดชันซึ่งการเพิ่มพื้นที่ผิวดังกล่าวจะเป็นเพียงปัจจัยช่วยสนับสนุน (Yamazaki et al., 2007)

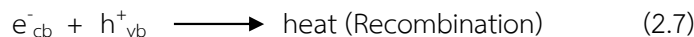
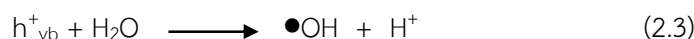
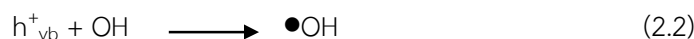
### 1.2 กระบวนการเกิดโฟโตคะตะไลติก (photocatalytic process)

กระบวนการโฟโตคะตะไลติก (Photocatalytic) เป็นกระบวนการที่มีบทบาทในการกำจัดสารปนเปื้อนต่างๆ ในสิ่งแวดล้อม เช่น สารอินทรีย์ สารอนินทรีย์ สี กลิ่น และจุลินทรีย์ เป็นต้น โดยกระบวนการดังกล่าวจะประกอบไปด้วยตัวเร่งปฏิกิริยา และมีการฉายแสงอัลตราไวโอเลตระหว่าง การเกิดปฏิกิริยาการย่อยสลายสารปนเปื้อน กระบวนการโฟโตคะตะไลติกของอนุภาคสารกึ่งตัวนำที่ถูกอนุภาคของแสง (Photon) ซึ่งมีพลังงานเท่ากับหรือสูงกว่าช่องว่างพลังงาน (Band Gap, Eg) ตกกระทบผิวหน้าอนุภาคสารกึ่งตัวนำ ทำให้อิเล็กตรอนถูกกระตุ้นเปลี่ยนที่อยู่จากแถบวาเลนซ์ไปยังแถบการนำไฟฟ้า ทำให้เกิดสภาวะขาดแคลนอิเล็กตรอนที่แถบวาเลนซ์ เรียกว่าโฮล (Hole) แทนด้วยสัญลักษณ์  $h^+_{vb}$  ส่วนอิเล็กตรอนที่ถูกกระตุ้นไปอยู่ในแถบการนำไฟฟ้าแทนด้วยสัญลักษณ์  $e^-_{cb}$  ซึ่ง  $h^+_{vb}$  และ  $e^-_{cb}$  สามารถที่จะกลับมาอยู่ในสภาวะเดิมได้อีก เรียกว่ารีคอมบิเนชัน (Recombination) ซึ่งเป็นปัญหาที่สำคัญของกระบวนการโฟโตคะตะไลติก และที่ผิวหน้าของตัวเร่งปฏิกิริยา อิเล็กตรอนสามารถที่จะเคลื่อนย้ายจากแถบการนำไฟฟ้าไปสู่ตัวรับอิเล็กตรอน (Acceptor) ในก๊าซ เรียกว่ารีดักชัน (Reduction) หรืออิเล็กตรอนจากผู้ให้ (Donor) ในก๊าซไปสู่โฮลในแถบวาเลนซ์ เรียกว่า ออกซิเดชัน (Oxidation) ซึ่งโฮลที่เกิดขึ้นในแถบวาเลนซ์เป็นตัวรับอิเล็กตรอนที่ดี (Strong Oxidant)

ตัวเร่งปฏิกิริยาในกระบวนการโฟโตคะตะไลติกนี้ เป็นวัสดุสารกึ่งตัวนำ ซึ่งมีแถบพลังงานที่น่าสนใจอยู่สองแถบ คือ แถบวาเลนซ์ (Valence Band) และแถบการนำไฟฟ้า

(Conduction Band) แลพบพลังงานทั้งสองนี้จะถูกแยกจากกันโดยมีแถบช่องว่างพลังงาน (Band Gap) ซึ่งมีความกว้าง  $E_g$  กันอยู่

กลไกการเกิดปฏิกิริยาต่างๆในกระบวนการโฟโตออกซิเดชันโดยมีไทเทเนียมไดออกไซด์ เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาสามารถแสดงได้ด้วยสมการ 2.1-2.7 (Al-Ekabi et al., 1991; Belapurkar et al., 2010)



เมื่อ

$h\nu$  = อนุภาคของแสง (Photon)

$h^+_{\text{vb}}$  = โฮลที่แถบวาเลนซ์

$e^-_{\text{cb}}$  = อิเล็กตรอนที่แถบการนำไฟฟ้า

$\bullet\text{OH}$  = ไฮดรอกซิลเรดิคัล (Hydroxyl radicals)

$\text{O}_2^-$  = ซูเปอร์ออกไซด์ไอออนเรดิคัล (Superoxide Ion Radicals)

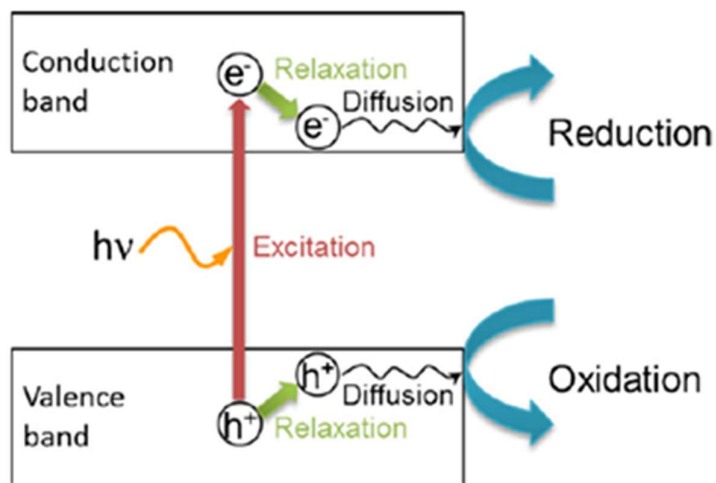
$\text{R}$  = โมเลกุลของสารอินทรีย์ (Organic Molecule)

### 1.3 กลไกในกระบวนการโฟโตคะตะไลติก

อิเล็กตรอนที่แถบการนำไฟฟ้า ( $e^-_{\text{cb}}$ ) ทำปฏิกิริยากับโมเลกุลออกซิเจน ( $\text{O}_2$ ) ที่ดูดติดผิวไทเทเนียมไดออกไซด์ทำให้โมเลกุลออกซิเจนเปลี่ยนไปเป็นซูเปอร์ออกไซด์ไอออนเรดิคัล ( $\text{O}_2^-$ ) ส่วนโฮลที่แถบวาเลนซ์ ( $h^+_{\text{vb}}$ ) สามารถรับอิเล็กตรอน (Oxidized) จากโมเลกุลสารอินทรีย์ที่ปนเปื้อนในก๊าซได้โดยตรง หรือไฮดรอกซิลไอออน (Hydroxyl ions :  $\text{OH}^-$ ) ทำให้เกิดไฮดรอกซิลเรดิคัล ( $\bullet\text{OH}$ ) และยังทำให้โมเลกุลของน้ำ ( $\text{H}_2\text{O}$ ) ที่ดูดติดผิวไทเทเนียมไดออกไซด์เปลี่ยนเป็นไฮดรอกซิลเรดิคัล ด้วยเช่นกัน ซึ่งไฮดรอกซิลเรดิคัล เป็นตัวรับอิเล็กตรอนที่แรง (Strong Oxidizing Agent) มีความไวในการทำปฏิกิริยาสูง (Highly Reactive) และทำหน้าที่สลายโมเลกุลสารอินทรีย์ในก๊าซที่ดูดติดผิวหรืออยู่ใกล้ผิวของตัวเร่งปฏิกิริยา ส่วนซูเปอร์ออกไซด์เรดิคัล สามารถที่ทำปฏิกิริยาต่อไปได้เป็นไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) ดังสมการที่ 2.8



ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่เกิดขึ้นเป็นตัวรับอิเล็กตรอนที่ดี ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์สามารถทำปฏิกิริยาต่อไปได้ โดยจะทำปฏิกิริยากับ  $e^-_{cb}$  ทำให้เกิดไฮดรอกซิลเรดิคัล ดังสมการที่ 2.9 และ 2.10



ภาพที่ 2.2 แสดงถึงกลไกการเกิดปฏิกิริยาของกระบวนการโฟโตคะตะไลติก (Nakata and Fujishima, 2012)

## 2. ตัวเร่งปฏิกิริยาแสงไทเทเนียมไดออกไซด์

ไทเทเนียมไดออกไซด์เป็นสารกึ่งตัวนำซึ่งพบว่ามีอยู่ 3 แบบตามลักษณะของโครงสร้างของผลึก คือ Anatase, Rutile และ Brookite สำหรับไทเทเนียมไดออกไซด์ ชนิด Anatase และ Rutile จะอยู่ในรูปผง โดยทั้ง 2 ชนิดนี้จะมีสมบัติใกล้เคียงกันมาก เช่น ความมันวาว ความแข็งและความหนาแน่น พบว่าที่อุณหภูมิ 915 องศาเซลเซียส ไทเทเนียมไดออกไซด์ ชนิด Anatase สามารถเปลี่ยนเป็นไทเทเนียมไดออกไซด์ ที่มีโครงสร้างเป็นแบบ Rutile ได้ คุณสมบัติทางกายภาพและเคมีของไทเทเนียมไดออกไซด์แสดงดังตารางที่ 1

ไทเทเนียมไดออกไซด์ที่มีอยู่ในธรรมชาติมีรูปแบบของผลึกอยู่ 3 รูปแบบ ได้แก่ รูปแบบที่ 1 รูไทล์ (Rutile) สามารถโน้มแนวให้มีเสถียรภาพมากที่สุดที่อุณหภูมิสูงๆ ชนิดของไทเทเนียมไดออกไซด์ที่ใช้ในอุตสาหกรรม ส่วนมากจะเป็นแบบรูไทล์เกือบทุกโรงงาน เช่น โรงงานสี, โรงงานทำเครื่องสำอาง, รูปแบบที่ 2 อนาเทส (Anatase) สามารถโน้มแนวให้มีเสถียรภาพมากที่สุดที่อุณหภูมิต่ำกว่ารูไทล์ ผลึกชนิดนี้นิยมใช้ในกระบวนการใช้แสงขั้นสูง รูปแบบที่ 3 บรูคโคด (Brookite) เป็นผลึกที่พบในแร่เท่านั้น และโครงสร้างผลึกเป็นแบบออร์ทอโรมบิก (Orthorhombic)

## ตารางที่ 2.1 แสดงคุณสมบัติทางกายภาพและเคมีของไทเทเนียมไดออกไซด์

คุณสมบัติทางกายภาพ	คุณสมบัติทางเคมี
1. มีลักษณะเป็นของแข็ง	1. จุดเดือด 2500-3000 °C
2. สีขาว	2. จุดหลอมเหลว 1840 °C
3. ไม่มีกลิ่น	3. ความถ่วงจำเพาะเท่ากับ 3.9
4. น้ำหนักโมเลกุลเท่ากับ 79.90	4. ไม่ละลายน้ำ
5. ความแข็ง 5.5-6	5. pH 7-8 ที่อุณหภูมิ 20 °C

ที่มา: Amethyst Galleries, Inc. (1996)

ไทเทเนียมไดออกไซด์ ( $\text{TiO}_2$ ) เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาที่นิยมใช้เนื่องจากไทเทเนียมไดออกไซด์มีคุณสมบัติที่มีเสถียรภาพต่อสารเคมี ไม่ละลาย สามารถนำกลับมาใช้ใหม่ได้ในปริมาณสูง มีประสิทธิภาพสูง ราคาถูก ไม่มีอันตราย และมีช่องว่างพลังงาน (Eg) ไม่สูง (Eg=3.2 อิเล็กตรอนโวลต์)

ไทเทเนียมไดออกไซด์ที่เป็นผลึกชนิดรูทิลและอนาเทสถูกนำมาใช้ในด้านการบำบัดน้ำเสีย โดยทั้งสองมีโครงสร้างเป็นแบบเตตระโกนอล (Tetragonal) ผลึกทั้งสองแบบถือว่าเป็นแบบธรรมดาที่พบได้ทั่วไป เพราะสามารถเกิดขึ้นได้ง่าย โดยทั่วไปไทเทเนียมไดออกไซด์ที่มีผลึกแบบอนาเทสจะมีจุดกระตุ้นด้วยแสงดีกว่าไทเทเนียมไดออกไซด์ที่มีผลึกแบบรูทิล เนื่องจากสามารถเกิดปฏิกิริยาดูดติดและหลุดออกของออกซิเจนในรูปแบบของ  $\text{O}_2^-$  และ  $\text{O}^-$  ได้ดีกว่า และมีอัตราการเกิดรีคอมบิเนชันของอิเล็กตรอนและโฮลที่ต่ำกว่า (Sclafani and Herrmann, 1996)

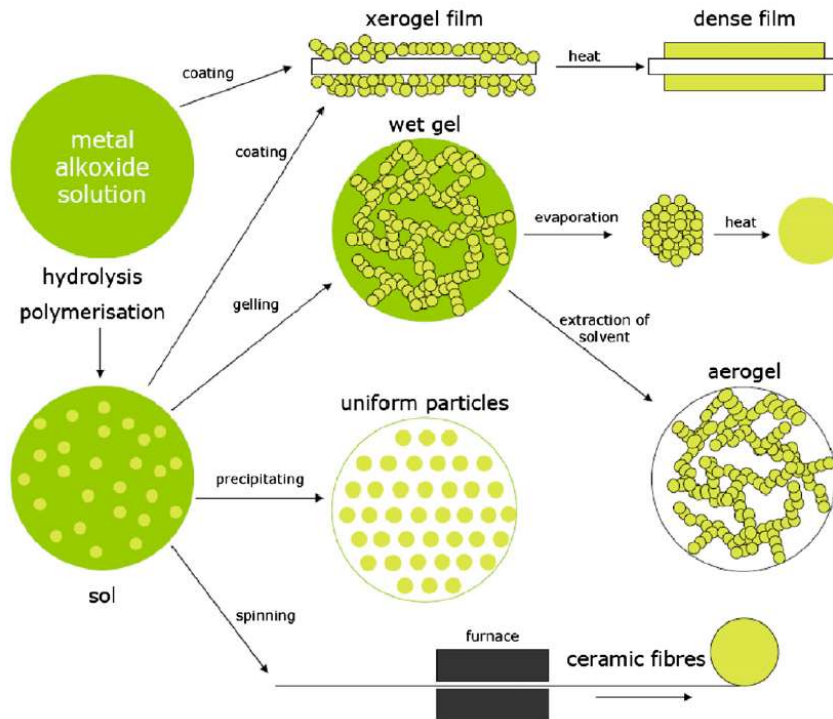
### 3. ทฤษฎีโซล-เจล (sol-gel)

กระบวนการโซล-เจล เป็นวิธีการที่ใช้เตรียมสารละลายในการสร้างวัสดุจำพวกเซรามิกและแก้ว หลักการพื้นฐานของกระบวนการ คือ สารที่นำมาใช้ในการเตรียมการเคลือบจะเป็นสารละลายของสารประกอบโลหะหรือสารแขวนลอยที่มีขนาดอนุภาคเล็กในของเหลว และจะเปลี่ยนสถานะจากของเหลว (sol) เป็นสถานะกึ่งของแข็งที่เรียกว่า เจล (gel) โดยการดึงน้ำออกหรือการเพิ่มอุณหภูมิ หลังจากนั้นนำไปผ่านความร้อนที่อุณหภูมิที่เหมาะสมจะได้เป็นผลิตภัณฑ์ที่ต้องการซึ่งมีอนุภาคขนาดเล็กมาก (ประมาณ 1- 1,000 นาโนเมตร) ดังขั้นตอนที่แสดงในภาพที่ 2.3

การเคลือบผิวด้วยวิธีโซล-เจล ซึ่งวิธีการเคลือบผิวมี 2 แบบที่นิยมใช้กันโดยทั่วไป คือการจุ่มเคลือบแบบกะ (batch dip coating) และการจุ่มเคลือบแบบต่อเนื่อง (continuous dip coating) โดยการจุ่มเคลือบแบบกะ (Batch dip coating) สามารถแบ่งขั้นตอนในขณะเคลือบได้ 5 ขั้นตอน ดังนี้ 1) ขั้นตอนการจุ่มชิ้นงาน (immersion) 2) ขั้นตอนการเริ่มต้นดึงชิ้นงานขึ้น (start up) 3) ขั้นตอนที่สารละลายเกาะที่ผิวชิ้นงานและเริ่มไหลย้อนกลับ (deposition and drainage) 4) ขั้นตอนที่สารละลายไหลแยกออกจากชิ้นงาน (drainage) และ 5) ขั้นตอนที่สารละลายระเหย (evaporation)

การเคลือบผิววัสดุด้วยวิธีโซล-เจลนั้น เป็นวิธีการที่นิยมใช้กับไทเทเนียมไดออกไซด์ เนื่องจากมีประสิทธิภาพ โดยมีผลการศึกษาพบว่า การเตรียมสารด้วยวิธีการดังกล่าวได้สารที่มีความ

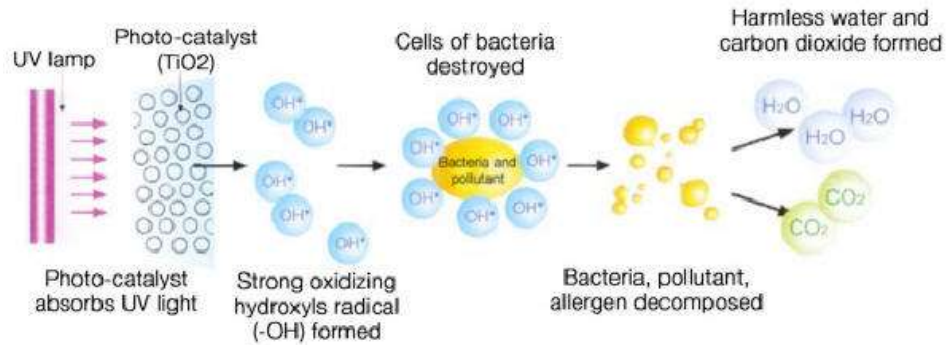
บริสุทธิ์ (High purity), เป็นเนื้อเดียวกัน (Homogeneous), สามารถควบคุมขนาดอนุภาค (Controlled size) และการกระจายตัว (Narrow size distribution) นอกจากนี้ยังสามารถเตรียมได้ที่อุณหภูมิต่ำ (Rahim et al., 2012)



ภาพที่ 2.3 แสดงขั้นตอนของเทคนิคโซล-เจลและผลิตภัณฑ์ต่างๆ (Cannavale. et al., 2010)

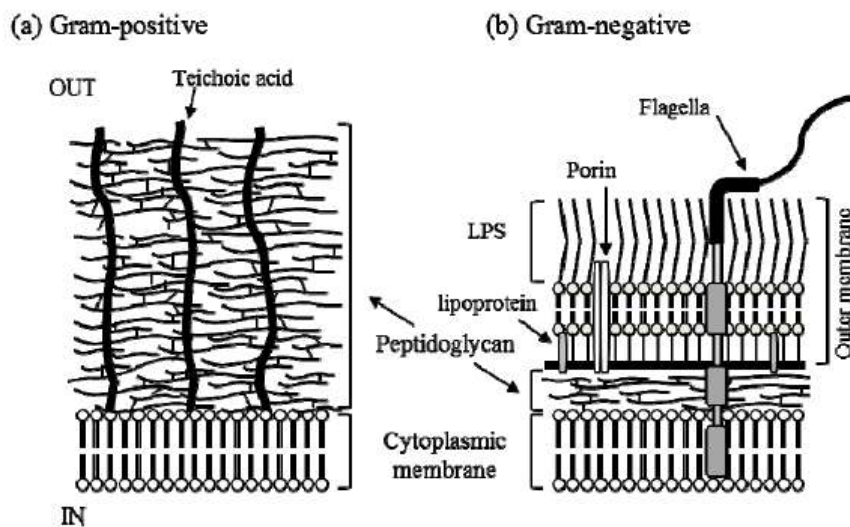
4. การกำจัดแบคทีเรียด้วยกระบวนการโฟโตคะตะไลติกที่ใช้ไทเทเนียมไดออกไซด์เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา

ในปัจจุบันนี้มีการประยุกต์ใช้กระบวนการโฟโตคะตะไลติกควบคู่กับการมีไทเทเนียมไดออกไซด์เป็นตัวเร่งปฏิกิริยากับการบำบัดสารมลพิษต่างๆอย่างกว้างขวาง ส่วนการใช้กระบวนการดังกล่าวในการกำจัดหรือยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ อาทิเช่น แบคทีเรีย, รา, ไวรัส, และสปอร์ (Venieri et al., 2014) เริ่มมีรายงานการวิจัยปรากฏ ทั้งนี้เนื่องจากในปัจจุบันมีการแพร่กระจายของแบคทีเรียก่อโรคไปสู่สิ่งแวดล้อม และก่อเกิดปัญหาทางด้านสาธารณสุขตามมา (Žvab et al., 2014) โดยกระบวนการโฟโตคะตะไลติกสามารถกำจัดแบคทีเรียได้อย่างมีประสิทธิภาพจึงถือเป็นวิธีการฆ่าเชื้อ (Disinfection) ทางเลือกอีกวิธีหนึ่งที่เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม (Xiong and Hu, 2013) โดยภายใต้กระบวนการดังกล่าวจะก่อให้เกิด Reactive oxygen species (ROS) ซึ่งสามารถฆ่าแบคทีเรียได้ โดยแบคทีเรียบางชนิดอาจถูกรบกวนกระบวนการสร้างผนังเซลล์ (Cell walls) หรือผนังเซลล์ถูกทำลาย ในขณะที่บางชนิดดีเอ็นเอ หรืออาร์เอ็นเอถูกทำลาย (Carré et al., 2014; Janus et al., 2012; Liou and Chang, 2012; Ye et al., 2013)



ภาพที่ 2.4 กระบวนการกำจัดแบคทีเรียด้วยโฟโตคะตะไลติก (AirOasis, 2015)

เนื่องจากการที่กลไกหลักในการทำลายแบคทีเรียจะมุ่งประเด็นไปที่ส่วนของผนังเซลล์ แต่จากการที่ผนังเซลล์ของแบคทีเรียแกรมบวก (Gram-positive bacteria) และแกรมลบ (Gram-negative bacteria) มีความแตกต่างกัน จึงส่งผลต่อกระบวนการดังกล่าว (ภาพที่ 2.5 และตารางที่ 2.2) โดยแบคทีเรียแกรมลบซึ่งรวมถึงอีโคไลมีองค์ประกอบของไขมันในผนังเซลล์สูงกว่า ซึ่งมักจะเกี่ยวข้องกับการทนทานต่อน้ำยาฆ่าเชื้อ (Disinfectants, antiseptics) และสารซักล้างต่างๆ (Detergents) (Nakano et al., 2013) ดังนั้น ผนังเซลล์น่าจะเป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่มีอิทธิพล และจำเป็นจะต้องคำนึงถึงเมื่อต้องการใช้กระบวนการโฟโตคะตะไลติกในการกำจัดแบคทีเรีย นอกจากนี้ลักษณะการอยู่รวมกลุ่มกันเป็นชั้นเมือกของแบคทีเรีย (Biofilm) ยังมีผลต่อการกำจัดด้วยโฟโตคะตะไลติกเมื่อเปรียบเทียบกับแบคทีเรียที่อยู่ในลักษณะแขวนลอย (Planktonic) (Polo et al., 2011)



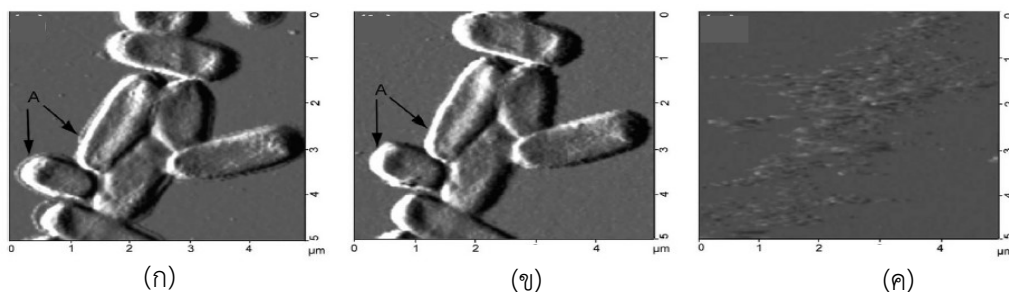
ภาพที่ 2.5 แผนภาพแสดงองค์ประกอบเปรียบเทียบระหว่างผนังเซลล์ของแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบ (Nakano et al., 2013)

ตารางที่ 2.2 แสดงข้อมูลปริมาณองค์ประกอบต่างๆที่พบในผนังเซลล์ของแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบ

ลักษณะ	แบคทีเรียแกรมบวก	แบคทีเรียแกรมลบ
ความหนาของผนังเซลล์	20-80 nm	10 nm
จำนวนชั้นของผนังเซลล์	1	2
Peptidoglycan	>50%	10-20%
Lipid และ Lipoprotein	0-3%	58%
Lipopolysaccharide	0%	13%

ที่มา: Nakano et al. (2013)

นอกจากนี้ยังมีการศึกษาเชิงลึกถึงลักษณะโครงสร้างของอีโคไลหลังการถูกกำจัดด้วยกระบวนการโฟโตคะตะไลติกที่มีไทเทเนียมไดออกไซด์เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ผ่านกล้อง Atomic force microscopy (AFM) (ภาพที่ 2.6) ซึ่งพบว่า ก่อนเข้าสู่กระบวนการอีโคไลมีลักษณะรูปร่างเป็นแท่ง (Cylindrical shape) แต่หลังจากผ่านกระบวนการดังกล่าวมาได้ระยะเวลา 24 ชั่วโมง โครงสร้างโดยทั่วไปยังมีลักษณะเหมือนเดิม เพียงแต่โครงสร้างผนังเซลล์ชั้นนอก (Outermost layer) เริ่มหายไป ซึ่งน่าจะเป็นผลมาจากฟิล์มไทเทเนียมไดออกไซด์ในกระบวนการ นอกจากนี้เมื่อระยะเวลาผ่านไปถึง 6 วัน จะพบว่าเซลล์อีโคไลหายไป ไม่พบในลักษณะเป็นรูปร่างดังเช่นช่วงก่อนหน้า แสดงให้เห็นว่ากระบวนการมีประสิทธิภาพในการกำจัดแบคทีเรีย (Karunnakaran, 2013)



ภาพที่ 2.6 แสดงภาพจากกล้อง AFM ซึ่งแสดงลักษณะโครงสร้างของอีโคไลหลังการถูกกำจัดด้วยกระบวนการโฟโตคะตะไลติกที่ใช้ไทเทเนียมไดออกไซด์เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา โดยภาพที่ 2.6 (ก) แสดงอีโคไลก่อนเข้าสู่กระบวนการ ภาพที่ 2.6 (ข) แสดงภาพอีโคไลหลังผ่านการกำจัด 1 วัน และภาพที่ 2.6 (ค) แสดงอีโคไลหลังผ่านการกำจัด 6 วัน (Karunnakaran, 2013)

### ทฤษฎีที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการฆ่าเชื้อในน้ำเสียโดยการเติมคลอรีน

การฆ่าเชื้อในน้ำเสียเป็นกระบวนการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ที่อาจเป็นสาเหตุของการเกิดโรคในคน และสัตว์ที่พบปนเปื้อนในน้ำที่ผ่านการบำบัดออกจากระบบบำบัดน้ำเสียโดยเฉพาะในน้ำเสียชุมชน

ก่อนที่จะมีการปล่อยออกสู่แหล่งน้ำธรรมชาติ ทั้งนี้เนื่องจากน้ำเสียในแหล่งดังกล่าวเกิดจากกิจกรรมประเภทต่างๆที่ล้นแล้วแต่ก่อให้เกิดการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ก่อโรค เช่น การชำระล้างร่างกาย การขับถ่าย เป็นต้น โดยกระบวนการฆ่าเชื้อมีหลากหลายวิธีการ เช่น การใช้รังสี (Radiation) การใช้ความร้อน (Heating) การใช้แสงแดด (Sun light) การเติมคลอรีน (Chlorination) และการใช้ออโซน (Ozonization) เป็นต้น (สันทัด, 2549) โดยการสืบค้นข้อมูลในครั้งนี้จะมุ่งเน้นที่การฆ่าเชื้อในน้ำเสียที่ผ่านระบบบำบัดด้วยวิธีการเติมคลอรีน เนื่องจากเป็นวิธีการที่นิยมใช้กันอย่างแพร่หลาย และประยุกต์ใช้ในวงกว้าง (Li et al., 2016)

คลอรีนเป็นสารเคมีฆ่าเชื้อที่จัดเป็นตัวออกซิไดซ์ที่แรง จึงมีความสามารถในการหยุดการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ โดยการฆ่าเชื้อด้วยคลอรีน เรียกว่า Chlorination โดยสารที่ใช้ในกระบวนการ ได้แก่ ก๊าซคลอรีน สารประกอบไฮโปคลอไรต์ (Hypochlorites) และคลอรีนไดออกไซด์ (ClO<sub>2</sub>) นอกจากนี้ในปัจจุบันยังพบว่าการใช้คลอรีนในการฆ่าเชื้อก่อให้เกิดสารประกอบ Disinfection by-products (DBPs) ที่เป็นอันตรายต่อสุขภาพของผู้ใช้น้ำ (มันสิน และมันรักษ์, 2547; Li et al., 2016)

### 1. ปฏิกริยาของคลอรีนในน้ำเสีย

การทบทวนวรรณกรรมในส่วนนี้จะกล่าวถึงเฉพาะปฏิกริยาที่เกิดจากการใช้คลอรีนในรูปของสารประกอบไฮโปคลอไรต์ เช่น โซเดียมหรือแคลเซียมไฮโปคลอไรต์ โดยภายหลังจากการเติมสารประกอบในน้ำสะอาดจะก่อให้เกิดปฏิกริยาไฮโดรไลซิส (Hydrolysis) ได้กรดไฮโปคลอรัส (HOCl) แสดงดังสมการที่ 2.11-2.12 (Metcalf & Eddy/Aecom, 2014)



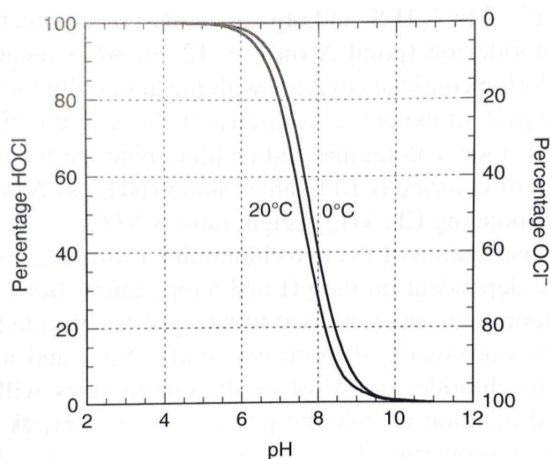
ในปฏิกริยาดังกล่าวก่อให้เกิดสารประกอบ HOCl และ OCl<sup>-</sup> รวมเรียกว่าคลอรีนพร้อมใช้อิสรระ (Free available chlorine) ซึ่งมีบทบาทสำคัญในการฆ่าเชื้อโรคในน้ำ โดยระดับการแตกตัวเป็นไอออนขึ้นอยู่กับค่าพีเอช (ภาพที่ 2.7) โดยพีเอชต่ำจะมีการแตกตัวของไอออน HOCl ในปริมาณที่สูง ดังนั้น กระบวนการ Chlorination ภายใต้อิสรระที่พีเอชต่ำจะมีประสิทธิภาพมากกว่าที่พีเอชสูง (มันสิน และมันรักษ์, 2547)

กรณีที่มีน้ำมีสารละลายหรือตะกอนแขวนลอย อาทิเช่น น้ำที่ผ่านการบำบัดจากระบบบำบัดน้ำเสียชุมชน พบว่าปฏิกริยาทางเคมีของคลอรีนมีเพิ่มขึ้น เนื่องจากคลอรีนสามารถทำปฏิกริยากับสารประกอบประเภทต่างๆในน้ำ โดยเฉพาะแอมโมเนีย ซึ่งกรดไฮโปคลอรัส (HOCl) จะทำปฏิกริยากับแอมโมเนียก่อให้เกิดสารประกอบโมโนคลอรามิน (NH<sub>2</sub>Cl) ไดคลอรามิน (NHCl<sub>2</sub>) และไตรคลอรามิน (NCl<sub>3</sub>) ดังแสดงในสมการที่ 2.13-2.15





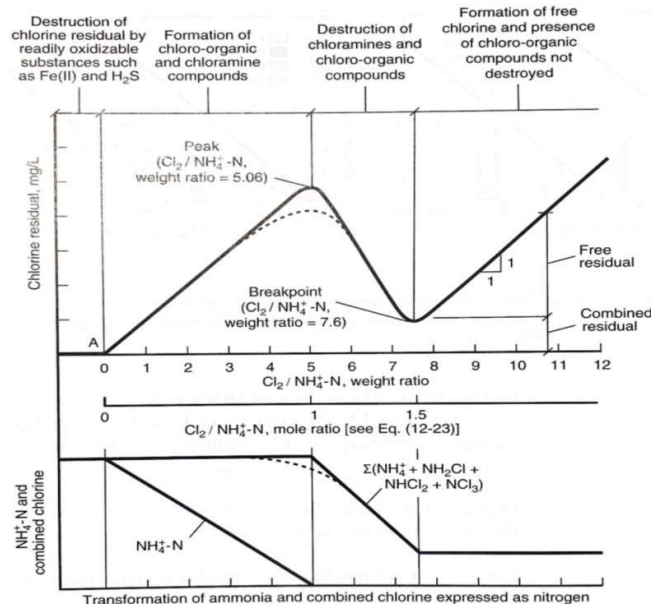
นอกจากแอมโมเนียแล้ว คลอรีนยังสามารถทำปฏิกิริยากับสารประกอบอื่นๆ ได้แก่  $\text{H}_2\text{S}$ ,  $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{SO}^{2-}$  และ  $\text{NO}^{2-}$  เป็นต้น อย่างไรก็ตาม คลอรีนในรูปของ HOCl และ  $\text{OCl}^-$  ยังสามารถทำปฏิกิริยากับสารอินทรีย์จากธรรมชาติที่อยู่ในน้ำ เช่น กรดฮิวมิก ก่อให้เกิดสาร Trihalomethane (THMs) และ Disinfection by-products (DBPs) ที่เป็นสารก่อมะเร็ง (มันลิน และมันรักซ์, 2547)



ภาพที่ 2.7 แสดงปฏิกิริยาคลอรีนในน้ำ ในรูปของการเกิด HOCl และ  $\text{OCl}^-$  ที่เปลี่ยนแปลงไปตามค่าพีเอชที่อุณหภูมิ 0 และ 20 องศาเซลเซียส (Metcalf & Eddy/Aecom, 2014)

ปริมาณของคลอรีนที่ใช้ทำปฏิกิริยากับสารต่างๆในน้ำเรียก ความต้องการคลอรีน (Chlorine demand) โดยปริมาณคลอรีนที่เติมเพื่อฆ่าเชื้อโรคในน้ำมีค่าเท่ากับค่าความต้องการคลอรีนรวมกับปริมาณคลอรีนที่ต้องการให้ตกค้างไว้ฆ่าเชื้อโรคในน้ำ ซึ่งความต้องการคลอรีนขึ้นกับลักษณะทางกายภาพและเคมีของน้ำ เช่น น้ำที่มีความขุ่น สารอินทรีย์ สารรีดิวซิงเอเจนต์ต่างๆต้องการคลอรีนในความเข้มข้นสูง เป็นต้น สำหรับการฆ่าเชื้อด้วยคลอรีนจะมีประสิทธิภาพสูงเมื่อมีการเติมคลอรีนจนกระทั่งมีคลอรีนอิสระตกค้าง (Free chlorine residual) ในน้ำ ซึ่งวิธีการเช่นนี้เรียก Breakpoint chlorination หรือ Super chlorination กรณีที่ในน้ำมีแอมโมเนียหรือสารรีดิวซิงเอเจนต์ต่างๆปนเปื้อน (ภาพที่ 2.8) ช่วงแรกของการเกิดปฏิกิริยาจะมีปริมาณคลอรีนตกค้างต่ำเนื่องจากคลอรีนจะทำปฏิกิริยากับสารต่างๆ เช่น สารประกอบอินทรีย์  $\text{Fe}^{2+}$   $\text{Mn}^{2+}$  และ  $\text{H}_2\text{S}$  จากนั้นจะเกิดปฏิกิริยาระหว่างคลอรีนกับแอมโมเนียได้สารผลิตภัณฑ์เป็นสารประกอบคลอรามินซึ่งจัดเป็นคลอรีนในรูปคลอรีนรวม (Combined chlorine) เมื่อมีการเติมคลอรีนอย่างต่อเนื่องจะเกิดปฏิกิริยาอย่างต่อเนื่อง แต่เป็นการเปลี่ยนสารประกอบคลอรามินให้เป็นไนโตรเจนออกไซด์ ปริมาณคลอรีนตกค้างจึงลดลงโดยแอมโมเนียและสารประกอบคลอรามินจะลดลงจนเหลือน้อยที่สุดเรียกจุดนี้ว่า Breakpoint ซึ่งเป็นจุดที่แสดงให้เห็นว่าปฏิกิริยาระหว่างคลอรีนและสารประกอบต่างๆในน้ำถึงจุดสิ้นสุด โดยตั้งแต่จุด

น้ำคลอรีนตกค้างจะอยู่ในรูปของคลอรีนอิสระซึ่งใช้ในการฆ่าเชื้อโรค (มันลิน และมันรักซ์, 2547; Metcalf & Eddy/Aecom, 2014)



ภาพที่ 2.8 แสดง Breakpoint chlorination curve ของคลอรีนและแอมโมเนีย (Metcalf & Eddy/Aecom, 2014)

นอกจากนี้ยังมีการศึกษาถึงปริมาณคลอรีนที่ใช้ในการฆ่าเชื้อโรคในน้ำเสียประเภทต่างๆ โดยมีรายละเอียดแสดงดังตารางที่ 2.3

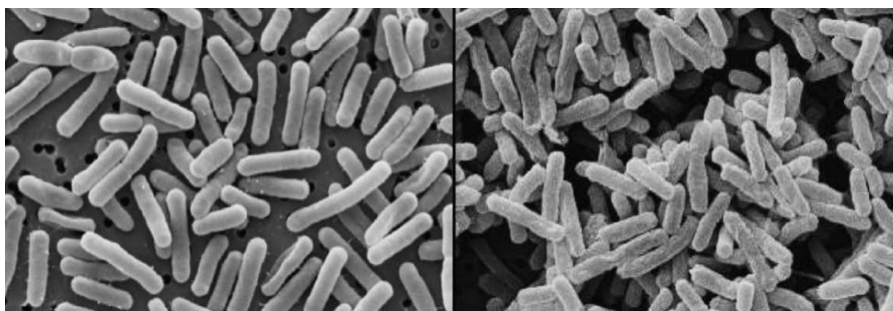
ตารางที่ 2.3 แสดงปริมาณคลอรีนที่ใช้ในการฆ่าเชื้อโรคในน้ำเสียประเภทต่างๆ

ประเภทน้ำเสีย	ปริมาณคลอรีน (มิลลิกรัม/ลิตร)
น้ำเสียที่ยังไม่ผ่านการบำบัด	6-25
ระบบบำบัดเบื้องต้นแล้ว	5-20
การตกตะกอนด้วยสารเคมี	2-6
ระบบกรองชีวภาพ (Trickling filter)	3-15
ระบบเลี้ยงตะกอนเร่ง (Activated sludge)	2-8
ผ่านการกรองหลังการบำบัดด้วยระบบเลี้ยงตะกอนเร่ง	1-5

ที่มา: สันทัด (2549)

## 2. กลไกการกำจัดแบคทีเรียด้วยปฏิกิริยาของคลอรีน

ภายหลังจากการกำจัดแบคทีเรียด้วยการเติมคลอรีนในน้ำ ภายใต้การศึกษาของ Diao et al. (2004) ที่ทำการใช้คลอรีน 5 มิลลิกรัม/ลิตร เป็นเวลา 30 นาที พบว่าลักษณะทางกายภาพของอีโคไล ที่ศึกษาผ่านกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning electron microscope, SEM) มีการเปลี่ยนแปลงที่ผิวเซลล์ (Cell surface) เพียงเล็กน้อย โดยมีลักษณะขรุขระเพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับเซลล์อีโคไลก่อนการทดสอบ (ภาพที่ 2.9) ซึ่งแสดงให้เห็นว่าการฆ่าเชื้อด้วยคลอรีนในระดับความเข้มข้นต่ำไม่มีผลกระทบต่อการทำลายเซลล์



(ก)

(ข)

**ภาพที่ 2.9** แสดงลักษณะทางกายภาพของอีโคไลภายใต้กล้อง SEM ภายหลังจากผ่านกระบวนการฆ่าเชื้อด้วยคลอรีน โดยภาพที่ 2.9 (ก) แสดงอีโคไลก่อนการฆ่าเชื้อ และภาพที่ 2.9 (ข) แสดงอีโคไลภายหลังจากการฆ่าเชื้อด้วยคลอรีน 5 มิลลิกรัม/ลิตร เป็นเวลา 30 นาที

โดยทั่วไปภายหลังจากเกิดปฏิกิริยาของคลอรีน คลอรีนจะซึมผ่านผนังเซลล์ก่อให้เกิดการทำงานของเอนไซม์ในเซลล์อย่างผิดปกติส่งผลให้เกิดการยับยั้งการทำงานของเซลล์ นอกจากนี้ยังมีรายงานวิจัยที่พบว่า คลอรีนทำปฏิกิริยากับผนังเซลล์ โดยเกิดการออกซิไดซ์กรดอะมิโนปลายเอ็น (N-terminal amino groups) ที่อยู่บริเวณผนังเซลล์ส่งผลให้ผนังเซลล์ถูกทำลายและเซลล์ตายในที่สุด (Diao et al., 2004)

## ทฤษฎีที่เกี่ยวข้องกับยาปฏิชีวนะและแบคทีเรียคือยาปฏิชีวนะ

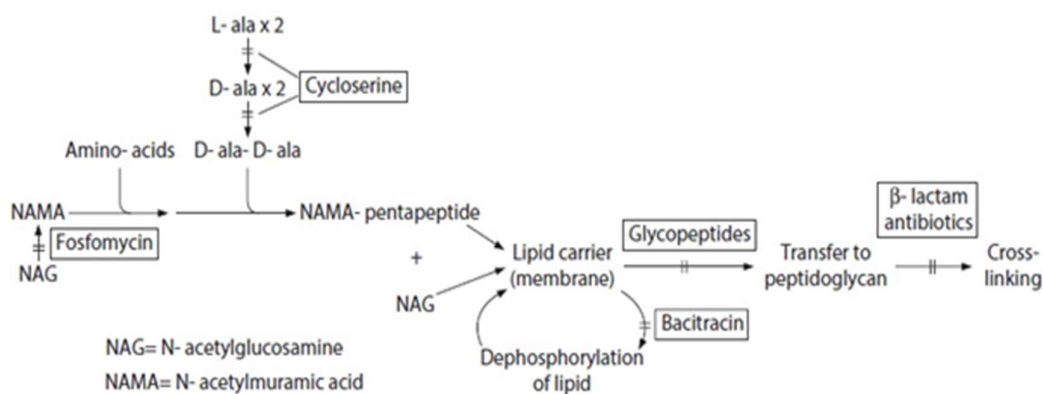
### 1. ยาปฏิชีวนะ (Antibiotics)

ยาปฏิชีวนะ จัดเป็นยาที่มีการใช้บ่อยที่สุดชนิดหนึ่งทางการแพทย์ โดยจัดเป็นสารเคมีประเภทหนึ่งที่เกิดโดยแบคทีเรีย, รา หรือ Actinomycetes (Mascaretti, 2003) จากข้อมูลสถานการณ์ยาปฏิชีวนะระหว่างปี พ.ศ. 2548 - 2552 ในโรงพยาบาลระดับทุติยภูมิถึงตติยภูมิ จาก 5 ภูมิภาค รวม 16 แห่ง ในเครือข่ายเฝ้าระวังเชื้อดื้อยาต้านจุลชีพแห่งชาติ เมื่อพิจารณาการแบ่งกลุ่มยาตาม ATC code (Anatomical therapeutic chemical classification) และวัดปริมาณการใช้ยาในหน่วย defined daily doses/ 1000 patient-days (DDDs/1000 PDs) และมูลค่าในหน่วยบาทพบว่า กลุ่มยาสำหรับโรคติดเชื้อจัดอยู่ใน 3 อันดับแรก ของกลุ่มยาที่มีมูลค่าการสั่งใช้สูงสุด โดย

โรงพยาบาลส่วนใหญ่มีแนวโน้มของปริมาณการสั่งใช้เพิ่มสูงขึ้นทุกปี เป็น 1.1-2 เท่าในระยะเวลา 5 ปี ซึ่งในภาพรวมของประเทศ กลุ่มยาปฏิชีวนะที่มีมูลค่าการสั่งใช้รวมสูงเป็นอันดับต้น ได้แก่ carbapenems, cephalosporin, penicillin และ penicillins and enzyme inhibitors (แผนงานสร้างกลไกเฝ้าระวังและพัฒนาระบบยา, 2554) โดยการออกฤทธิ์ของยาปฏิชีวนะมีผลทั้งยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ (Bacteriostatic) และแบบกำจัดเชื้อ (Bactericidal) (Mascaretti, 2003) นอกจากนี้เมื่อแบ่งตามประเภทของกลไกการออกฤทธิ์ของยา (นพรัตน์, 2554; ภัทรชัย, 2549) (ในการทบทวนวรรณกรรมครั้งนี้จะกล่าวถึงเฉพาะยาปฏิชีวนะที่นำมาใช้ในการศึกษา) สามารถแบ่งได้ดังนี้

### 1.1 ยาปฏิชีวนะออกฤทธิ์ที่ระดับผนังเซลล์ (Cell wall synthesis inhibitors)

เป็นยาที่มีกลไกยับยั้งการสร้างผนังเซลล์ ส่วนใหญ่เป็นพวกที่ยับยั้งการสังเคราะห์ peptidoglycan ซึ่งเป็นส่วนประกอบสำคัญของผนังเซลล์ ทำให้ผนังเซลล์ไม่แข็งแรง แบคทีเรียแบ่งตัวไม่ได้ โดยรบกวนการทำงานของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้อง (Dzidic et al., 2008) (ภาพที่ 2.10) ยาในกลุ่มนี้ได้แก่ ยากลุ่ม beta-lactams, glycopeptides, bacitracin, fosfomycin, cycloserine และยายับยั้ง beta-lactamase (ฉวีรัฐ และคณะ, 2559)



ภาพที่ 2.10 แสดงถึงโครงสร้างผนังเซลล์ และบริเวณที่ถูกรบกวนการสังเคราะห์ผนังเซลล์ด้วยฤทธิ์ของยาปฏิชีวนะ (Finch et al., 2002)

Beta-lactams: ยากลุ่มนี้มีโครงสร้างที่สำคัญ คือ ส่วนวงแหวน beta-lactam ยาออกฤทธิ์โดยการเข้าจับ/ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ carboxypeptidase และ transpeptidase ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องการสร้างสาย peptidoglycan รวมเรียกเอนไซม์กลุ่มนี้ว่า penicillin-binding protein (PBP) โดยยาในกลุ่มนี้ประกอบด้วย penicillins, carbapenems, monobactams และ cephalosporins

Penicillins: โครงสร้างหลักของยากลุ่มนี้ คือ กรด 6-amino penicillanic ซึ่งประกอบด้วยวงแหวน beta-lactam เชื่อมต่อกับวงแหวน thiazolidine โดยแบ่งได้ 2 กลุ่มใหญ่ ได้แก่ กลุ่มแรกกลุ่มที่สกัดจากธรรมชาติ เช่น Penicillin G และ Penicillin V ส่วนใหญ่ออกฤทธิ์ได้ดีต่อเชื้อแกรมบวก และกลุ่มที่ 2 กลุ่มยากึ่งสังเคราะห์ ซึ่งแบ่งออกเป็นหลายกลุ่มย่อย มีประสิทธิภาพ

ในการออกฤทธิ์แตกต่างกันไป แต่ครอบคลุมในกลุ่มเชื้อแกรมบวกมากยิ่งขึ้น ยาที่จัดอยู่ในกลุ่มนี้ได้แก่ Penicillinase-resistant penicillins, Isoxazolyl penicillins และ Extended-spectrum penicillins

Cephalosporins: โครงสร้างหลักของยาในกลุ่มนี้ คือ กรด 7-amino cephalosporanic ซึ่งประกอบด้วยวงแหวน beta-lactam เชื่อมต่อกับวงแหวน dihydrothiazine ยาในกลุ่มนี้ออกฤทธิ์ต่อเชื้อได้หลากหลาย ยกเว้นกับ enterococci ซึ่งดื้อต่อยาในกลุ่มนี้โดยธรรมชาติ และนอกจากนี้ยังแบ่งยาออกได้เป็น 5 generations

### 1.2 ยาปฏิชีวนะออกฤทธิ์ที่ระดับเยื่อหุ้มเซลล์ (Cell membrane function inhibitors)

เยื่อหุ้มเซลล์ของแบคทีเรียประกอบด้วยชั้น โพรตีน-ไลปิด-โพรตีน นอกจากนี้ด้านนอกของเยื่อหุ้มเซลล์ยังมี polysaccharide ยึดกับโพรตีนด้วย ยาปฏิชีวนะในกลุ่มนี้จะเข้าไปแทรกระหว่างโพรตีนกับไลปิด ทำให้เยื่อหุ้มเซลล์ฉีกขาด สารใน cytoplasm ไหลออกมาทำให้เซลล์ตาย เนื่องจากเยื่อหุ้มเซลล์แบคทีเรียมีโครงสร้างคล้ายเยื่อหุ้มเซลล์ของยูคาริโอต ทำให้ยาที่มีผลข้างเคียงสูง หากเข้าสู่ร่างกาย ยาปฏิชีวนะในกลุ่มนี้ได้แก่ polymyxins, gramicidins และ tyrocidin

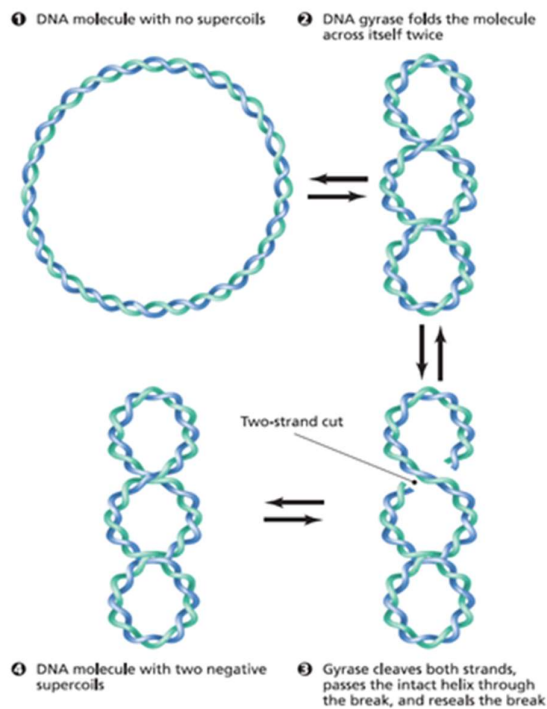
Polymyxins: สร้างจากเชื้อ *Bacillus polymyxa* ออกฤทธิ์ต่อแบคทีเรียแกรมลบ มีผลข้างเคียงต่อสิ่งมีชีวิตสูง เช่น ระบบประสาท และไต จึงนิยมใช้รักษาเฉพาะโรคติดเชื้อที่รุนแรง หรือใช้เป็นยาทาภายนอก

Gramicidins และ Tyrocidin: สร้างจากเชื้อ *Bacillus* spp. ใช้ทำลายแบคทีเรียแกรมบวกมากกว่าโดยทำให้องค์ประกอบภายในเซลล์รั่วไหลออกมา แต่ยาไม่มีความเป็นพิษต่อเนื้อเยื่อ การใช้ยาในกลุ่มนี้จึงอยู่ในวงจำกัด (นงลักษณ์ และปรีชา, 2550)

### 1.3 ยาปฏิชีวนะออกฤทธิ์ยับยั้งการสังเคราะห์กรดนิวคลีอิก (Nucleic acid synthesis inhibitors)

ยาในกลุ่มนี้จะออกฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการสร้างกรดนิวคลีอิก หรือเข้าจับกับกรดนิวคลีอิกโดยตรงเพื่อขัดขวางการเพิ่มปริมาณในการแบ่งเซลล์ โดยจัดเป็นยาปฏิชีวนะที่ออกฤทธิ์กว้างต่อแบคทีเรีย (Broad spectrum) ซึ่งยาเข้าสู่เซลล์แบคทีเรียโดย passive diffusion ทาง porins ซึ่งอยู่ที่ outer membrane แล้วเกิดการยับยั้งเอนไซม์ topoisomerase II หรือ DNA gyrase และ topoisomerase IV ดังนั้น จึงเกิดการปิดกั้นการสังเคราะห์ DNA และรบกวนกระบวนการ DNA replication และ transcription ในแบคทีเรีย (ณัฐวธ และคณะ, 2559) โดยตัวอย่างยาปฏิชีวนะในกลุ่มนี้ ได้แก่ Quinolones, Rifamycins และ Metronidazoles

Quinolones หรือ Fluroquinolones: เป็นสารสังเคราะห์ซึ่งออกฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ DNA gyrase และ topoisomerase II ทำให้ไม่เกิดการสังเคราะห์กรดนิวคลีอิก ส่งผลให้แบคทีเรียตาย ยาแบ่งออกได้หลายกลุ่มตามการออกฤทธิ์ ตัวอย่างเช่น 1) Narrow spectrum ออกฤทธิ์ต่อแบคทีเรียแกรมลบ เช่น Nalidixic acid และ Cinoxacin, 2) Broad spectrum ยาในกลุ่มนี้เกิดจากการเพิ่มอะตอมฟลูออรีนเข้าไปที่โครงสร้างของ Nalidixic acid จึงเรียกรวมกันว่า Fluoroquinolones ออกฤทธิ์ต่อเชื้อทั้งแกรมบวกและลบ เช่น Norfloxacin, Ofloxacin, Enoxacin, Ciprofloxacin, Lomefloxacin และ Fleroxacin เป็นต้น



ภาพที่ 2.11 แสดงกลไกการทำงานของ DNA gyrase และ DNA topoisomerase II ของอีโคไล โดยยาปฏิชีวนะกลุ่ม Quinolone จะรบกวนการทำงานของเอนไซม์ดังกล่าวในขั้นตอนที่ 3 (Guilfoile, 2007)

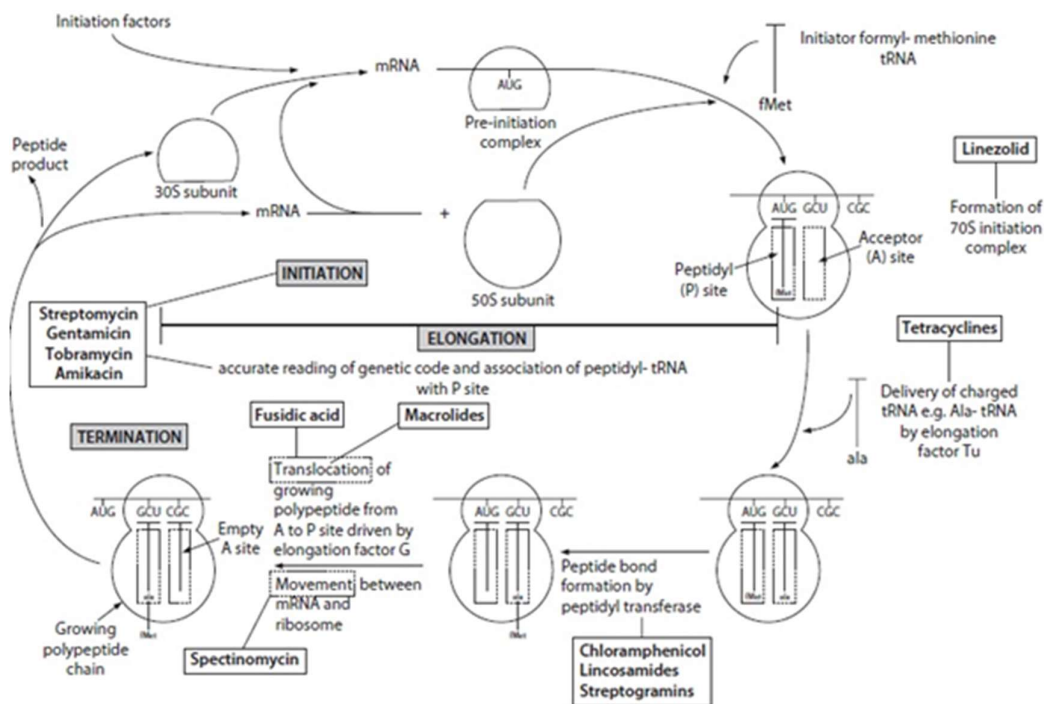
#### 1.4 ยาปฏิชีวนะออกฤทธิ์ยับยั้งการสังเคราะห์โปรตีน (Protein synthesis inhibitor)

โดยยาในกลุ่มนี้จะออกฤทธิ์ยับยั้งการสังเคราะห์โปรตีนของเซลล์ที่ไรโบโซม ซึ่งจะมีการออกฤทธิ์จับกับไรโบโซม 70S ของแบคทีเรียที่ตำแหน่งต่างๆ และตัวยาไม่มีผลกระทบต่อกระบวนการดังกล่าวในคนแต่ถ้าให้ยาในขนาดสูงแก่คนก็อาจทำให้เกิดพิษได้เช่นกัน เพราะไมโตคอนเดรียของเซลล์ eukaryotic มีไรโบโซมที่คล้ายแบคทีเรีย (ณัฐรุจ และคณะ, 2559) ตัวอย่างยาในกลุ่มนี้ได้แก่ Aminoglycosides, Tetracyclines, Macrolides, และ Chloramphenicol

Aminoglycosides: ออกฤทธิ์ยับยั้งการสังเคราะห์โปรตีนโดยการจับตัวอย่างถาวรกับไรโบโซมหน่วยย่อย 30S ทำให้ไรโบโซมทำงานผิดปกติ เซลล์ไม่สังเคราะห์โปรตีน จึงตายในที่สุด ยามีบทบาทต่อเชื้อแกรมลบ รวมถึงเชื้อแกรมบวกบางชนิด ตัวอย่างยาในกลุ่มนี้ เช่น Kanamycin, Gentamicin, Tobramycin, Streptomycin, Netilmicin และ Amikacin เป็นต้น

Tetracyclines: ยาออกฤทธิ์โดยการจับตัวแบบชั่วคราวกับไรโบโซมหน่วยย่อย 30S มีผลยับยั้งการเข้าร่วมตัวกับ tRNA จึงขัดขวางการสังเคราะห์โปรตีน โดยยาในกลุ่มนี้มีฤทธิ์กว้างต่อทั้งเชื้อแกรมบวกและแกรมลบ โดยยาที่จัดอยู่ในกลุ่มนี้ ได้แก่ Tetracycline, Doxycycline, Chlortetracycline, Oxytetracycline, Minocycline เป็นต้น

Chloramphenicol: ยาจะจับตัวแบบชั่วคราวกับเอนไซม์ peptidyltransferase ซึ่งเป็นส่วนประกอบของไรโบโซมหน่วยย่อย 50S โดยเอนไซม์ดังกล่าวมีบทบาทต่อการสร้างสายโปรตีนจัดเป็นยาที่มีผลต่อเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบ



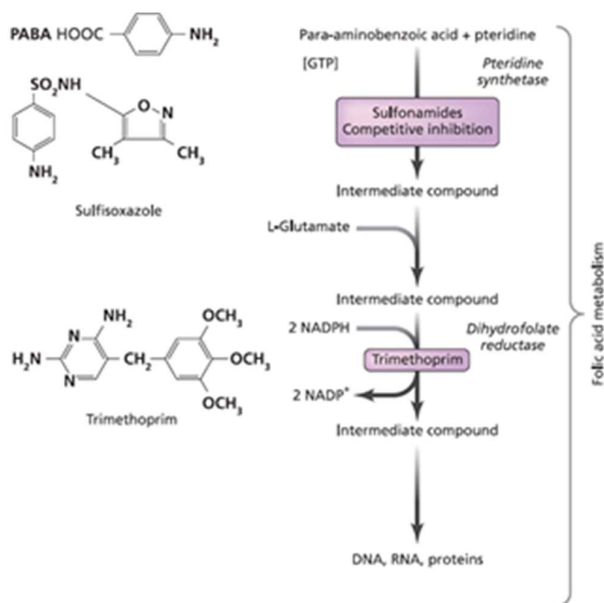
ภาพที่ 2.12 แสดงกระบวนการสังเคราะห์โปรตีน และขั้นตอนที่มีการถูกยับยั้งด้วยยาปฏิชีวนะชนิดต่างๆ (Finch et al., 2002)

### 1.5 ยาปฏิชีวนะออกฤทธิ์รบกวนเมตาบอลิซึม (Antimetabolites)

ยาปฏิชีวนะที่ออกฤทธิ์ในลักษณะเช่นนี้ส่วนใหญ่ มีลักษณะโครงสร้างคล้ายสารที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการเมตาบอลิซึม จึงแย่งจับเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องได้ และการยับยั้งของยาดังกล่าวสามารถฟื้นกลับสู่สภาพเดิมเมื่อปริมาณยาลดลง หรือยาหมดฤทธิ์ หรือมีสารตั้งต้นที่เอนไซม์ไปแย่งจับในปริมาณมากกว่าปกติ โดยรายละเอียดของยาในกลุ่มนี้ ได้แก่

**Sulfonamide:** เป็นยาที่ยับยั้งการเมตาบอลิซึมกรดโฟเลตในแบคทีเรีย โดยยาเป็น analog ที่มีโครงสร้างคล้ายสารตั้งต้นของการสร้างกรด (para-aminobenzoic acid, PABA) จึงสามารถแย่งจับเอนไซม์ dihydropteroate synthetase แบบแข่งขัน (ฉันทูจ และคณะ, 2559) ซึ่งมีบทบาทในการสร้างกรดดังกล่าวทำให้แบคทีเรียขาดกรดโฟเลตในการสังเคราะห์ DNA

**Trimethoprim:** เป็นยาที่มีกลไกการทำงานคล้าย Sulfonamide แต่ต่างกันที่ Trimethoprim ออกฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ dihydrofolate reductase ซึ่งมีบทบาทในการสร้างกรดโฟเลตเช่นกัน ซึ่งเมื่อมีการใช้ร่วมกับ Sulfonamide จะออกฤทธิ์เสริมกันมากขึ้น



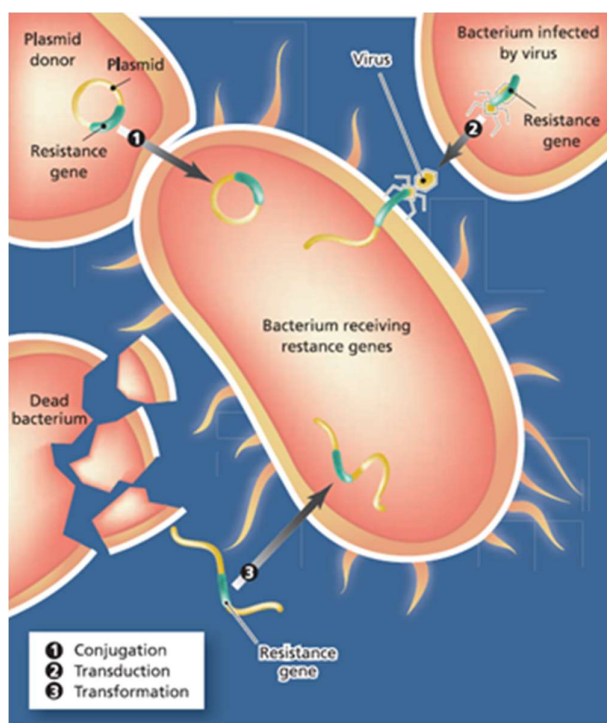
ภาพที่ 2.13 แสดงการยับยั้งการสังเคราะห์กรดโฟลิกด้วยยา Sulfanomide และ Trimethoprim (Guilfoile, 2007)

## 2. แบคทีเรียดื้อยา (Antibiotic resistance bacteria)

ยาปฏิชีวนะนั้น ในปัจจุบันจัดเป็นยาที่มีการใช้กันกว้าง เนื่องจากมีการใช้กันอย่างไม่สมเหตุสมผล และใช้กันอย่างเกินจำเป็น จึงก่อให้เกิดปัญหาการดื้อยาปฏิชีวนะขึ้นโดยเฉพาะอย่างยิ่งในเชื้อแบคทีเรีย (Zhang and Zhang, 2011) ซึ่ง ณ ปัจจุบันถือเป็นโรคอุบัติใหม่ และจัดเป็นปัญหาใหญ่ในระดับนานาชาติ ส่งผลกระทบต่อสุขภาพ (Bouki et al., 2013; Rizzo et al., 2013b) และเศรษฐกิจตามมา

ภายใต้สภาวะที่มีการคงอยู่ของยาปฏิชีวนะ หรือแม้แต่กระทั่งสภาวะหรือสารเหนี่ยวนำต่างๆ นั้น จะก่อให้เกิดการคัดเลือกสายพันธุ์ของแบคทีเรียขึ้น โดยจะมีการพัฒนาและปรับตัวให้เหมาะสมเพื่อความอยู่รอดภายใต้สภาวะที่มีการปรากฏของสารเหล่านั้น ก่อให้เกิดการเปลี่ยนกลุ่มประชากรของแบคทีเรียที่มีอยู่ตามธรรมชาติ ก่อให้เกิดสายพันธุ์ใหม่ที่มีความทนทานต่อสภาวะกดดันมากยิ่งขึ้น โดยทั่วไปแบคทีเรียที่มีความทนทานต่อสภาวะต่างๆ มักจะมีหลากหลายกระบวนการเมตาโบลิซึมเพื่อช่วยให้เซลล์อยู่รอด (Bahig et al., 2008) และในแบคทีเรียเหล่านั้นมักจะพบพลาสมิด (Plasmid) ซึ่งมีส่วนใหญ่ที่ควบคุมกระบวนการเหล่านั้นมักจะพบที่พลาสมิด และไม่ค่อยมีความสัมพันธ์กับยีนที่จำเป็นต่อการถ่ายทอดลักษณะทางพันธุกรรมไปสู่รุ่นถัดไป ซึ่งจะพบอยู่ที่โครโมโซม (chromosome) การที่แบคทีเรียมีการพัฒนาสายพันธุ์ที่มีความทนทานต่อยาปฏิชีวนะ เรียก แบคทีเรียดื้อยาปฏิชีวนะ ซึ่งแบคทีเรียดังกล่าวจะมีหลายกลไกในการต้านยาปฏิชีวนะ ซึ่งถูกควบคุมกลไกด้วยยีนดื้อยาปฏิชีวนะ โดยยีนส่วนใหญ่จะอยู่ที่พลาสมิดของแบคทีเรีย ซึ่งสามารถถ่ายทอดผ่านยีนจากแบคทีเรียที่ดื้อยาไปสู่แบคทีเรียที่ไม่มีคุณสมบัติดังกล่าวได้ หรืออาจมีการถ่ายทอดยีนจากแบคทีเรียทั่วไปในสิ่งแวดล้อมไปสู่แบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรค รวมถึงอาจเกิดการถ่ายทอดยีนระหว่างแบคทีเรียที่ดื้อต่อยาปฏิชีวนะด้วย

กันเอง ก่อให้เกิดแบคทีเรียสายพันธุ์ที่มีคุณสมบัติต่อต้านยาปฏิชีวนะหลายชนิดมากยิ่งขึ้น (Wellington et al., 2013) ซึ่งกระบวนการเหล่านี้เกิดขึ้นได้โดยไม่จำเป็นต้องใช้การสืบพันธุ์ แต่ส่วนใหญ่ในสิ่งแวดล้อมจะเกิดผ่านกระบวนการที่เรียกว่าการถ่ายถอดยีนในแนวราบ (Horizontal gene transfer, HGT) ซึ่งทำให้เชื้อแบคทีเรียสามารถถ่ายถอดยีนข้ามสายพันธุ์กันได้ (Kelly et al., 2009) โดยถือเป็นกลไกสำคัญที่ทำให้เชื้อแบคทีเรียมีวิวัฒนาการอย่างรวดเร็ว และมีการแพร่กระจายยีนเหล่านี้ไปสู่กลุ่มแบคทีเรียในสิ่งแวดล้อม โดยยีนดื้อยาที่ได้รับขนถ่ายมานี้จะอยู่ในรูปแบบต่างๆ ที่สำคัญ คือ naked DNA, phage หรือ plasmids ซึ่งมีผลทำให้เกิดปัญหาการเพิ่มขึ้นของเชื้อดื้อยาและเมื่อเชื้อดื้อยาก่อโรคและเมื่อเกิดการดื้อของเชื้อต่อยาชนิดหนึ่งอาจจะมีการดื้อต่อยาหลายๆ กลุ่มไปด้วย ทำให้มียาให้เลือกใช้น้อยลง (นพรัตน์, 2554)



ภาพที่ 2.14 แสดงกลไกการถ่ายถอดยีนดื้อยาระหว่างแบคทีเรีย (Guilfoile, 2007)

## 2.1 การเกิดการดื้อยาด้วยตัวแบคทีเรียเองเกิดขึ้นได้ 2 แนวทาง คือ

1) เกิดจากการเลือกสรรตามธรรมชาติ (Natural selection) แบคทีเรียแต่ละชนิดจะมียีนดื้อยาอยู่ในตัวอยู่แล้วตามธรรมชาติ แต่เป็นจำนวนน้อย เมื่อแบคทีเรียชนิดดังกล่าวมีการสัมผัสกับยาปฏิชีวนะมากและนานขึ้น ยาจะทำลายเชื้อที่ไม่ดื้อยาจนหมด และไม่สามารถทำลายส่วนที่ดื้อต่อยาได้ ดังนั้นจะมีการเจริญเพิ่มจำนวนและแสดงออกเป็นแบคทีเรียดื้อยาอย่างสมบูรณ์

2) เกิดจากการเหนี่ยวนำให้เกิดโดยการใช้ยาปฏิชีวนะ แต่ละชนิดจะมีความไวต่อยาปฏิชีวนะ แต่เมื่อใดมีโอกาสสัมผัสกับยาปฏิชีวนะ โดยเฉพาะในขนาดและระยะเวลาในการให้ที่ไม่เหมาะสมที่จะทำลายเชื้อได้หมด เชื้อก็จะพัฒนาการเปลี่ยนแปลงสารพันธุกรรมให้สามารถทนทานต่อ

การทำลายของยาได้ เชื่อว่ายาล่าช้าอาจเกิดจากการได้รับยีนหรือ DNA ต่อยาจากเชื้ออื่นอาจด้วยกระบวนการต่างๆ

## 2.2 กลไกการต่อยาปฏิชีวนะของแบคทีเรียมี 4 วิธี คือ

### 1) การเปลี่ยนแปลงเป้าหมายในการออกฤทธิ์ของยา (Target site alteration)

การต่อยาโดยวิธีนี้ในระยะเริ่มแรกพบว่าเชื่อมีการสร้างเป้าหมายใหม่ทำให้ยาไม่สามารถจับกับเป้าหมายเดิมได้ การต่อยาวิธีนี้มีแยกออกเป็นการสร้างเป้าหมายใหม่ รวมทั้งการเปลี่ยนแปลงเส้นทางเมตะบอลิก การสร้างเป้าหมายให้มากเกินไป รวมทั้งการสร้างเส้นทางเมตะบอลิกที่มากเกินไป และการป้องกันไม่ให้ยาเข้าสู่เป้าหมาย (target protection) ซึ่งการเปลี่ยนแปลงเป้าหมายในการออกฤทธิ์ของยาเป็นวิธีการต่อยาที่สำคัญของยาปฏิชีวนะกลุ่ม Beta-lactam (โดยเฉพาะ Penicillin) , Quinolone, Tetracycline, Trimethoprim, Sulfonamide, Vancomycin, Streptomycin และ Spectinomycin

### 2) การสร้างเอนไซม์มาทำลายยา (Enzymatic deactivation)

แบคทีเรียหลายชนิดสามารถทำลายยาต้านจุลชีพ โดยทำให้ยาเปลี่ยนแปลงสภาพไปทำให้ไม่สามารถออกฤทธิ์ได้ เช่น แบคทีเรียบางชนิดที่ต่อยา Penicillin จะทำลายยาให้เปลี่ยนเป็น penicilloic acid ในกรณีของ Cephalosporins ก็เกิดขึ้นทำนองเดียวกัน ซึ่งเป็นผลมาจากเอนไซม์ Beta-lactamase ที่สร้างโดยแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบหลายชนิด ทำให้เชื่อต่อยาในระดับที่สูงได้ โดยเอนไซม์ lactamase แบ่งเป็นหลายประเภทตามชนิดของยา และเป็นเอนไซม์ที่สร้างโดยยีนบนโครโมโซม หรือพลาสมิด หรือทรานส์โปซอน และอาจเป็นเอนไซม์ที่สร้างตลอดเวลาหรือสร้างเฉพาะเมื่อมีสารตั้งต้น (substrate)

การต่อยากลุ่ม Aminoglycosides โดยเอนไซม์ aminoglycosides-modifying จะย่อยสลายยากกลุ่ม Aminoglycosides ที่กลุ่ม amino และกลุ่ม hydroxy เช่น acetyltransferase (AAC) ทำหน้าที่ย่อยสลายยาด้วยกระบวนการ acetylation ที่กลุ่มอะมิโนเอนไซม์ที่สำคัญ คือ AAC(6) ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่พบบ่อยที่สุดจากเชื้อแบคทีเรียทรงแท่งแกรมลบโดย AAC(6) ทำลายกลุ่ม amino ที่วงแหวนที่ 2 ของยาในตำแหน่งที่ 6 ตำแหน่งนี้พบใน Aminoglycosides ทุกตัว จึงย่อยสลาย Aminoglycosides ทุกตัว ซึ่งเอนไซม์ทั้ง 3 กลุ่ม พบในแบคทีเรียทรงแท่งแกรมลบ (นพรัตน์, 2554)

### 3) การลดการนำยาเข้าสู่เซลล์ของแบคทีเรีย (Decreased Uptake)

ยาปฏิชีวนะจะออกฤทธิ์ได้ตัวยาคงต้องผ่านเข้าสู่เซลล์ (entry) ก่อน โดยช่องทางที่ยาปฏิชีวนะจะเข้าสู่เซลล์ของแบคทีเรียที่สำคัญ ได้แก่ outer membrane protein ซึ่งเรียกว่า porin ในเชื้อแบคทีเรียแกรมลบจะมี porin ที่สำคัญอย่างน้อย 5 ชนิด คือ OmpC, OmpF, LamD, PhoE และโปรตีน K แต่ OmpF จะมีความสำคัญมากที่สุด ช่องทาง porin เป็นทางเข้าที่สำคัญของยาปฏิชีวนะส่วนใหญ่ โดยเฉพาะกลุ่ม Beta-lactam และ Quinolone นอกจากนั้นยาปฏิชีวนะกลุ่ม Aminoglycosides ไม่เข้าทาง porin แต่จะเข้าสู่เซลล์ของแบคทีเรียที่ทางเชื่อมระหว่าง LPS ด้วยวิธี self-promoted uptake

การลดการนำเข้ายาของแบคทีเรียอาจเกิดขึ้นโดยธรรมชาติ ตัวอย่างเช่น เชื้อแบคทีเรียไม่ต้องการออกซิเจนจะติดต่อ Aminoglycoside เนื่องจากไม่มีระบบขนส่งอิเล็กตรอน

ชนิด cytochrome-mediate electron transport การดื้อยาโดยธรรมชาติเกิดจากการลดการนำยาเข้าเซลล์เป็นวิธีที่สำคัญและเกิดภายหลัง พบได้บ่อยในเชื้อบางชนิด เช่น *P. aeruginosa* และ *E. cloacae* ซึ่งมักนำยาเข้าเซลล์น้อยอยู่แล้วโดยธรรมชาติ เมื่อมีพัฒนาการดื้อยาได้ไว้ชั้นยาปฏิชีวนะบางตัวมักไม่สามารถออกฤทธิ์ได้จากการดื้อยาโดยวิธีนี้และเกิดชั่วคราว พบได้จากการดื้อยาแบบ functional ของเชื้อต่อ Aminoglycoside เมื่อมีการสัมผัสกับยาครั้งแรก การดื้อยาแบบนี้ไม่มีการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีแบบถาวร และไม่มีการควบคุมทางพันธุกรรมที่ผิดไปจากเดิม (นพรัตน์, 2554) ส่วนการลดการนำเข้าเซลล์ของแบคทีเรียเกิดได้ 2 วิธี

(1) การลดการซึมผ่าน (Decreased permeability) การดื้อยาโดยการลดการนำยาเข้าเซลล์ของจุลินทรีย์ อาจเกิดโดยวิธีการลดการซึมผ่าน หรือการขับยาจากจุลินทรีย์ เช่น เชื้อ *P. aeruginosa* ดื้อต่อยากลุ่ม Beta-lactam โดยการซึมผ่าน เชื้อแบคทีเรียส่วนใหญ่ดื้อต่อ tetracycline โดยวิธี active efflux ส่วนการดื้อยากลุ่ม Quinolone มักเกิดจาก 2 วิธีร่วมกัน โดยทั่วไป การดื้อยาโดยการลดการนำยาเข้าเซลล์ทำให้เกิดการดื้อยาโดยวิธี decreased permeability ร่วมกับ active efflux จะทำให้เกิดการดื้อยาระดับสูง (high-level resistance) ยาปฏิชีวนะที่ไม่สามารถออกฤทธิ์ได้โดยจุลินทรีย์ลดการซึมผ่านของยาเข้าเซลล์ ได้แก่ Beta-lactam, Chloramphenicol, Quinolone, Tetracycline และ Trimethoprim การดื้อยาแบบนี้ไม่ใช่กลไกหลักของยาเหล่านี้ยกเว้นที่เกี่ยวกับเชื้อบางตัว เท่านั้น เช่น *P. aeruginosa* ดื้อต่อ Beta-lactam และ Aminoglycosides ส่วนใหญ่การดื้อยาแบบนี้จะเป็นกลไกรอง เชื้อที่ดื้อต่อยา ปฏิชีวนะด้วยวิธีนี้ที่สำคัญ คือ *P. aeruginosa* ดังกล่าวแล้ว *N. gonorrhoeae* ที่ดื้อต่อ Beta-lactam, *Enterobacter sp.* ที่ดื้อยา Beta-lactamase, อีโคไลที่ดื้อยา Chloramphenicol, Tetracycline และ Quinolone

(2) การขับยาออกจากเชื้อ (Active efflux) กลไกนี้เป็นกลไกการดื้อยาที่สำคัญของยา 3 กลุ่ม ต่อไปนี้ คือ

- การดื้อยากลุ่ม Tetracycline ในปัจจุบัน ยากลุ่ม Tetracycline เป็นยาที่มีประโยชน์สำหรับจุลชีพที่ไม่ใช่แบคทีเรียเป็นสำคัญ แบคทีเรียหลายชนิดดื้อยากลุ่มนี้โดยวิธี active efflux เป็นสำคัญ การดื้อยาแบบ active efflux ในยากลุ่ม tetracycline ถูกควบคุมโดยยีนหลายกลุ่ม เรียกว่า ynf tet จะเห็นได้ว่าเชื้อแบคทีเรียที่ดื้อยาโดยวิธี efflux เป็นส่วนใหญ่ ส่วนเชื้อ Mycoplasma และ Ureaplasma ดื้อต่อยาโดยวิธีการเปลี่ยนแปลงเป้าหมาย การดื้อยากลุ่ม Tetracycline มีการควบคุมทางพันธุกรรมโดยพลาสมิด

- การดื้อยากลุ่ม Quinolone โดยปกติหลังจากจุลชีพมี uptake ของ quinolone แล้วมักมี efflux เกิดขึ้นโดยธรรมชาติ แต่การมี efflux ที่เพิ่มมากขึ้นเป็นกลไกอย่างหนึ่งที่ทำให้มีการดื้อยานี้ จากการศึกษาพบว่าเชื้อ *S. aureus* มี efflux ที่เพิ่มมากขึ้นและมีความสัมพันธ์กับการดื้อยา การดื้อยาโดยวิธีนี้เป็นการดื้อยาในระดับต่ำก็จริง แต่ระดับ MIC ที่เพิ่มขึ้นก็เพียงพอที่จะทำให้มีเชื้อดื้อยาจากการกลายพันธุ์เกิดขึ้นใน ระหว่างการรักษาได้ เชื้อ *S. aureus* ที่ดื้อยาโดยวิธีนี้จะเกิดกับยาที่ละลายน้ำได้ดี เช่น Norfloxacin, Enoxacin, Ofloxacin และ Ciprofloxacin มากกว่าดื้อยาที่ละลายน้ำไม่ดี การดื้อยากลุ่มแรกจะมี MIC เพิ่มขึ้น 32 เท่า แต่ยาในกลุ่มหลังจะมี MIC เพิ่มขึ้นเพียง 2 เท่า ส่วนการศึกษาในแบคทีเรียแกรมลบนั้นพบว่า มี efflux ในระดับปกติ และยังไม่พบว่า efflux ระดับปกติในเชื้อแบคทีเรียแกรมลบเป็นสาเหตุของการดื้อยา

การควบคุมทางพันธุกรรมเกิดโดยทางโครโมโซมแต่อาจกลายเป็นพลาสมิดได้ในอนาคต เพราะยีนที่กำกับการดื้อยาอยู่บนจุดที่ไว้มากของโครโมโซม

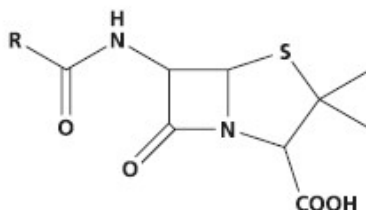
#### 4) การเปลี่ยนแปลงขบวนการเมตะบอลิซึม

การเปลี่ยนแปลงขบวนการเมตะบอลิซึมของตัวแบคทีเรียโดยใช้ขบวนการอื่นที่ไม่ใช่ขบวนการเดิมที่ยาเคยออกฤทธิ์ขัดขวางได้ ตัวอย่างเช่น การดื้อต่อยา Sulfamethoxazole และ Trimethoprim เป็นต้น

### 3. คุณสมบัติของเอนไซม์ Extended beta-lactamase (ESBL)

ยาในกลุ่ม beta-lactam ประกอบด้วยยาในกลุ่มย่อยหลายกลุ่ม ได้แก่ penicillin , cephem (cephalosporin และ cephamycin), monobactam และ carbapenem โดยที่ยาหลายชนิดสามารถออกฤทธิ์ต้านแบคทีเรียแกรมบวก และแกรมลบ จัดเป็นยาด้านแบคทีเรียกลุ่มใหญ่ที่สุด และใช้มากที่สุดในด้านเวชปฏิบัติ เนื่องด้วยยามีฤทธิ์ฆ่าแบคทีเรีย (bactericidal effect) อีกทั้งมีความปลอดภัยในการใช้ และยาหลายชนิดมีฤทธิ์กว้าง (broad spectrum) แต่ถ้ามีการใช้ในปริมาณที่มากอาจทำให้มีการคัดเลือกตามธรรมชาติ (natural selection) ของสายพันธุ์ที่ดื้อยา หรือมีการกลายพันธุ์ที่เพิ่มความสามารถในการดื้อยา จึงทำให้มีเชื้อดื้อยาเพิ่มขึ้นและแพร่กระจายต่อไป ปัญหาการดื้อยาในกลุ่ม beta-lactam จึงพบได้มากขึ้น และส่งผลให้เกิดความล้มเหลวในการรักษา

การดื้อยาในกลุ่ม beta-lactam เกิดขึ้นได้จากหลายกลไก กลไกสำคัญที่สุดในแบคทีเรียแกรมลบ คือ การสร้างเอนไซม์เพื่อทำลายยา ที่เรียกว่าเอนไซม์ beta-lactamase ซึ่งมีความสามารถในการออกฤทธิ์ทำลายพันธะเคมีของวงแหวน beta-lactam (beta-lactam ring) ที่เป็นส่วนแกนของโครงสร้างทางเคมีของยา (ภาพที่ 2.15) ทำให้ยาไม่สามารถออกฤทธิ์ฆ่าเชื้อได้ อย่างไรก็ตามเอนไซม์ beta-lactamase มีความหลากหลายทางโครงสร้างโมเลกุล กลไกการออกฤทธิ์และประสิทธิภาพในการทำลายยา ซึ่งมีรายงานชนิดของเอนไซม์เพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง เอนไซม์ ESBL ส่วนใหญ่เป็นเอนไซม์ beta-lactamase ใน class A ตามโครงสร้างโมเลกุล ซึ่งคุณสมบัติหลักของเอนไซม์ คือ สามารถทำลายยาในกลุ่ม penicillin, cephalosporin (รวมถึง oxyimino-cephalosporin) และ monobactam ได้ แต่ไม่มีฤทธิ์ทำลายยาในกลุ่ม cephamycin และ carbapenem รวมถึงสามารถต้านฤทธิ์ได้ด้วยสารยับยั้งเอนไซม์ beta-lactamase เช่น กรด clavulanic คุณสมบัติดังกล่าวมีความสำคัญในการใช้จำแนกระหว่างเอนไซม์ ESBL และ AmpC beta-lactamase ซึ่งเป็นเอนไซม์ beta-lactamase ใน class C เอนไซม์ทั้งสองกลุ่มนี้พบได้บ่อยในเชื้อวงศ์ Enterbacteriaceae เช่นเดียวกัน โดยมีข้อเปรียบเทียบคุณสมบัติดังแสดงในตารางที่ 1 เอนไซม์ beta-lactamase ที่มีคุณสมบัติเป็น ESBL มีจำนวนมาก ซึ่งมีความแตกต่างทางโครงสร้างโมเลกุลและคุณสมบัติบางประการ โดยชนิดที่พบระบาดอยู่ในปัจจุบันส่วนใหญ่เป็นสมาชิกของวงศ์ CTX-M, TEM และ SHV ส่วนวงศ์อื่นๆ พบได้น้อย เช่น VEB, OXA, PER, GES, IBC, BES, SFO (ภัทรชัย และอนุชา, 2555)



ภาพที่ 2.15 แสดงโครงสร้างหลักของยาในกลุ่ม beta-lactam ซึ่งประกอบไปด้วยวงแหวน beta-lactam (Guilfoile, 2007)

ตารางที่ 2.4 แสดงคุณสมบัติของเอนไซม์ ESBL และ AmpC beta-lactamase

คุณสมบัติของเอนไซม์	ESBL	AmpC beta-lactamase
การจัดกลุ่มตามโครงสร้างโมเลกุล	Class A	Class C
การจัดกลุ่มตามความสามารถในการออกฤทธิ์	Group 2be	Group 1
การทำลายยาในกลุ่ม cephalosporin รุ่นที่ 3	ได้	ได้
การทำลายยาในกลุ่ม cephalosporin รุ่นที่ 4	ได้	ไม่ได้
การทำลายยา aztreonam	ได้	ได้
การทำลายยาในกลุ่ม cephamycin	ไม่ได้	ได้
การทำลายยาในกลุ่ม carbapenem	ไม่ได้	ไม่ได้
การถูกต้านด้วยสารยับยั้งเอนไซม์ beta-lactamase	ได้	ไม่ได้

ที่มา: ภัทรชัย และอนุชา (2555)

ในวันสุขภาพโลก ปี พ.ศ. 2554 องค์การอนามัยโลกได้นำประเด็นปัญหาแบคทีเรียที่ดื้อต่อยาปฏิชีวนะ (Antibiotic resistance bacteria) มารณรงค์ สื่อให้เห็นว่า ณ สถานการณ์ปัจจุบัน เรื่องดังกล่าวถือเป็นปัญหาทางด้านสาธารณสุขที่มีความสำคัญในระดับนานาชาติ และเป็นวาระเร่งด่วนที่นานาชาติประเทศควรมีมาตรการในการป้องกันและควบคุมก่อนที่สถานการณ์จะทวีความรุนแรงยิ่งขึ้น โดยปัญหาการดื้อยาปฏิชีวนะนั้นได้ส่งผลกระทบต่อสุขภาพของมนุษยชาติ รวมถึงความสูญเสียทางด้านเศรษฐกิจจากการที่มีค่าใช้จ่ายในการรักษาโรคที่เพิ่มมากขึ้น เนื่องจากแบคทีเรียดื้อยาจัดได้ว่าเป็นโรคติดต่ออุบัติใหม่ (Emerging infectious diseases) มีระดับความรุนแรงของการก่อโรคที่เพิ่มขึ้น ในบางกรณีอาจมีระดับความรุนแรงมากจนถึงขั้นเป็นอันตรายต่อชีวิต จากอุบัติการณ์ดังกล่าวจำเป็นต้องมีการใช้ยาปฏิชีวนะ (Antibiotic) ที่มีประสิทธิภาพสูงกว่าเดิมในการรักษา ซึ่งอาจจะเป็นยาที่มีมูลค่าสูงขึ้น หรือในอนาคตหากปัญหาดังกล่าวทวีความรุนแรงยิ่งขึ้น โรคติดต่อบางชนิดก็อาจจะไม่สามารถหายาปฏิชีวนะมารักษาได้ โดยทั่วไปแล้วยาปฏิชีวนะนั้น จัดเป็นกลุ่มยาที่มีการใช้กันอย่างแพร่หลาย ทั้งในแง่ของการรักษาโรคติดต่อ โดยเฉพาะจากแบคทีเรียในมนุษย์

และสัตว์ รวมถึงใช้เป็นวัตถุดิบในอาหารสัตว์เพื่อเร่งการเจริญเติบโต สำหรับการใชยาปฏิชีวนะในสัตว์ นั้นครอบคลุมทั้งอุตสาหกรรมปศุสัตว์ ประมง หรือแม้แต่กระทั่งการรักษาโรคติดเชื้อในสัตว์เลี้ยงตาม บ้านเรือน

สถานการณ์ปัญหาแบคทีเรียดื้อยาในประเทศไทยนั้น ถ้าพิจารณาจากการใชยาปฏิชีวนะใน มนุษย์ เรื่องนี้จัดเป็นปัญหาทางด้านสาธารณสุขที่สำคัญในระดับชาติ โดยพบว่ามียาปฏิชีวนะใน สัตว์ที่เพิ่มสูงขึ้นอย่างต่อเนื่องทุกปี ประกอบกับมีการใชอย่างไม่สมเหตุผลผลทั้งในโรงพยาบาล และชุมชน รวมถึงการที่สามารถหาซื้อได้ง่ายโดย บางครั้งไม่จำเป็นต้องมีใบสั่งยา (แผนงานสร้างกลไก เฝ้าระวังและพัฒนาระบบยา, 2554) ปัจจัยต่างๆเหล่านี้ล้วนแล้วแต่ส่งเสริมให้แบคทีเรียทั้งสายพันธุ์ที่ ก่อโรค และสายพันธุ์ประจำถิ่น มีการพัฒนาและปรับตัวให้เหมาะสมเพื่อความอยู่รอดภายใต้สภาวะที่ มีการปรากฏของยาปฏิชีวนะ หรืออาจเรียกได้ว่าการคัดเลือกสายพันธุ์แบคทีเรียที่ดื้อยาขึ้น นอกเหนือจากนี้ ด้านการใชยาปฏิชีวนะในสัตว์เชิงพาณิชย์ พบปัญหาการเลือกใชชนิดยา, ปริมาณยา, และระยะเวลาการใชอย่างไม่เหมาะสม ซึ่งอาจเป็นปัจจัยส่งเสริมการเกิดแบคทีเรียดื้อยา และบาง กรณีอาจพบการตกค้างของยาปฏิชีวนะในเนื้อสัตว์ด้วย สำหรับการใชยาปฏิชีวนะในสัตว์เลี้ยง สาเหตุ ของการก่อเกิดแบคทีเรียดื้อยา อาจมาจากการที่เจ้าของซื้อยามารักษาเอง หรือเมื่อนำไปรักษาอาจมี การให้ยาหรือนำมารักษาไม่ต่อเนื่อง (สถาบันวิจัยระบบสาธารณสุข, 2555)

### การศึกษาวิจัยที่เกี่ยวข้อง

#### 1. งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการกำจัดแบคทีเรียด้วยกระบวนการเติมคลอรีน

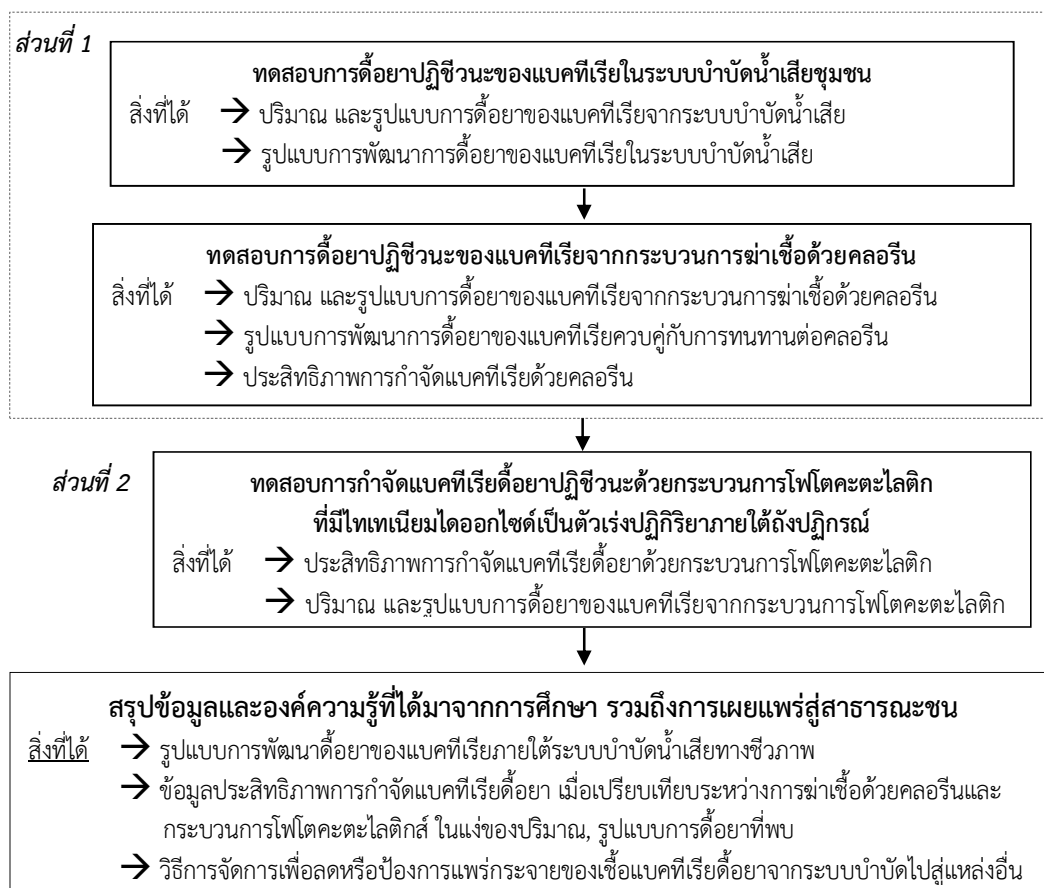
Pak et al. (2016) ได้ทำการทดสอบการกำจัดแบคทีเรียดื้อยาปฏิชีวนะ *E. coli* DH5 $\alpha$  ด้วย การเติมคลอรีนที่ความเข้มข้นต่างๆ (3.0, 7.5, 20 และ 75 มิลลิกรัม/ลิตร) โดยมีระยะเวลาสัมผัส 1, 3, 5 และ 10 นาที ซึ่งพบว่า การเติมคลอรีนในระดับความเข้มข้นสูงและใช้ระยะเวลาการทำปฏิกิริยา นานจะมีประสิทธิภาพในการกำจัดแบคทีเรียดื้อยาถึงร้อยละ 90 นอกจากนี้ในงานวิจัยของ Lin et al. (2016) ที่ทำการทดสอบการกำจัดแบคทีเรียในน้ำเสียที่ผ่านออกมาจากระบบบำบัดน้ำเสียชุมชน โดย การเติมคลอรีนความเข้มข้น 0.5, 1.0, 2.0 และ 4.0 มิลลิกรัม/ลิตร เป็นเวลา 30 นาที พบว่ายีนดื้อยา ส่วนใหญ่ (119 ชนิด) ที่ทำการติดตามตรวจสอบมีปริมาณลดลง ในขณะที่ยีนดื้อยาบางชนิด เช่น *dfpA1*, *tetPB-03*, *tetPA*, *ampC-04*, *tetA-02* และ *erm(36)* มีปริมาณเพิ่มขึ้น ส่วน mobile genetic elements 12 ชนิด ที่ทำการศึกษามีปริมาณลดลงหลังจากที่มีกระบวนการฆ่าเชื้อด้วย คลอรีนเกิดขึ้น ซึ่งสื่อให้เห็นว่ากระบวนการดังกล่าวน่าจะมีส่วนสำคัญในการลดการแพร่กระจายของ ยีนดื้อยามากกว่าที่จะเกิดกระบวนการเปลี่ยนถ่ายยีน (co-selection) แต่อย่างไรก็ตาม มีรายงานวิจัย พบว่า กระบวนการฆ่าเชื้อด้วยคลอรีนในระดับความเข้มข้นต่ำจะส่งเสริมการถ่ายทอดยีนดื้อยา (Conjugative transfer) (Jia et al., 2015)

#### 2. งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการกำจัดแบคทีเรียด้วยกระบวนการโฟโตคะตะไลติก

งานวิจัยของ Tsai et al. (2010) ที่ทำการใช้กระบวนการโฟโตคะตะไลติกด้วยรังสี UV-A ที่มี ไทเทเนียมไดออกไซด์เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ในที่นี้ใช้ methicillin-resistant *Staphylococcus*

*aureus* (MRSA), multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* (MDRAB) และ vancomycin resistant *Enterococcus faecalis* (VRE) ซึ่งผลการศึกษพบว่าระยะเวลาในการทำปฏิกิริยามีผลต่อการอยู่รอดของแบคทีเรีย นอกจากนี้ Rizzo et al. (2014) ได้ทำการทดสอบเช่นเดียวกัน โดยใช้ไอโคไลที่คัดเลือกจากน้ำเสียชุมชนที่ผ่านการบำบัดด้วยกระบวนการทางชีวภาพ โดยพบว่าเมื่อเก็บตัวอย่างตามระยะเวลาไม่พบการดื้อยาของไอโคไลที่เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญในยา tetracycline และ vancomycin แต่ในยา ciprofloxacin พบระดับการดื้อยาลดลงอย่างมีนัยสำคัญ และไม่พบการดื้อยา cefuroxime เกิดขึ้น สำหรับงานวิจัยของ Xiong and Hu (2013) ที่ทำการศึกษการดื้อยาของไอโคไลในน้ำ ภายใต้กระบวนการฆ่าเชื้อด้วยโฟโตคะตะไลติกด้วยแสง UV-A/LED และมีการเคลือบผิวด้วยไทเทเนียมไดออกไซด์ การศึกษามีการปรับความเข้มแสงหลายความยาวคลื่น ผลการทดสอบพบว่าที่ค่าความยาวคลื่นสูงจะยับยั้งการเจริญเติบโตของไอโคไลได้ดีกว่า และภายใต้ความยาวคลื่นแสงเดียวกันสามารถลดปริมาณไอโคไลได้ตามระยะเวลาที่เดินระบบ โดยที่ระยะเวลามากกว่า 90 นาที เป็นต้นไปสามารถกำจัดไอโคไลได้ดี

### กรอบแนวคิดในการวิจัย



ภาพที่ 2.16 แสดงภาพรวมของกระบวนการคิดและการดำเนินการวิจัย

### บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย

ในการศึกษาครั้งนี้ทางคณะผู้วิจัยมีความสนใจที่จะดำเนินการศึกษาภายใต้ข้อสมมติฐาน 3 ประการ ดังนี้ 1) แบคทีเรียจากระบบบำบัดน้ำเสียทางชีวภาพ รวมทั้งกระบวนการฆ่าเชื้อด้วยคลอรีน ทำให้คุณสมบัติการดื้อยาปฏิชีวนะทวีความรุนแรงเพิ่มขึ้น, 2) สภาวะต่างๆของกระบวนการฆ่าเชื้อด้วยคลอรีนที่มีประสิทธิภาพตามที่นิยมใช้กันทั่วไป เช่น ระยะเวลา และความเข้มข้น มีอิทธิพลต่อรูปแบบของการเกิด co-selection คือ พบทั้งการทนต่อคลอรีน และการดื้อยาควบคุมกันไป และ 3) กระบวนการโฟโตคะตะไลติกที่ใช้ไทเทเนียมไดออกไซด์เป็นตัวเร่งปฏิกิริยามีประสิทธิภาพในการกำจัดแบคทีเรียดื้อยาปฏิชีวนะ หรือไม่ทำให้รูปแบบการดื้อยาที่พบทวีความรุนแรงมากขึ้น ซึ่งการศึกษาในครั้งนี้ได้ใช้อีโคไล (*Escherichia coli*) เป็นตัวแทนในการศึกษา โดยได้แบ่งการดำเนินการศึกษาออกเป็น 2 ส่วน ประกอบด้วย ส่วนที่ 1 การศึกษาข้อมูลของแบคทีเรียดื้อยาปฏิชีวนะจากระบบบำบัดน้ำเสียชุมชน รวมถึงกระบวนการฆ่าเชื้อด้วยคลอรีน พร้อมทั้งศึกษาปัจจัยที่มีอิทธิพลรวมทั้งประเมินความเสี่ยงของการแพร่กระจาย และส่วนที่ 2 การศึกษาการกำจัดแบคทีเรียดื้อยาปฏิชีวนะจากระบบการโฟโตคะตะไลติกที่ใช้ไทเทเนียมไดออกไซด์เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาภายใต้ถึงปฏิกรณ์ โดยรายละเอียดการดำเนินงานมีดังนี้

1. การดำเนินงานในส่วนที่ 1: การศึกษาข้อมูลของแบคทีเรียดื้อยาปฏิชีวนะจากระบบบำบัดน้ำเสียชุมชน และกระบวนการฆ่าเชื้อด้วยคลอรีน โดยมีรูปแบบการวางแผนการศึกษาดังนี้

#### 1.1 การเก็บและวิเคราะห์ตัวอย่างน้ำเสีย

1) การเก็บตัวอย่างน้ำ และตะกอนจากระบบบำบัดน้ำเสียทางชีวภาพซึ่งในที่นี้ใช้ตัวแทนจากระบบบำบัดน้ำเสียทางชีวภาพแบบ Activated sludge จากอาคารที่พักอาศัยขนาด 10,560 ตารางเมตร จำนวน 872 ยูนิต มีปริมาณน้ำเสียเข้าระบบ 990 ลูกบาศก์เมตร/วัน โดยทำการเก็บข้อมูลตัวอย่างน้ำเสียระหว่างเดือนกันยายน-ธันวาคม พ.ศ. 2559 จำนวน 3 จุด ได้แก่ บริเวณจุดรวบรวมน้ำเสียก่อนเข้าระบบ ตะกอนแขวนลอย (Mixed liquor suspended solids, MLSS) ในถังเติมอากาศ และน้ำเสียที่ผ่านการบำบัด โดยมีการรักษาสภาพน้ำตัวอย่างไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และทำการวิเคราะห์ภายใน 24 ชั่วโมง

2) การวิเคราะห์ข้อมูลจากตัวอย่างน้ำ ในที่นี้จะแบ่งการวิเคราะห์ออกเป็น 2 ส่วน โดยส่วนแรกนำไปวิเคราะห์ข้อมูลพื้นฐานทางด้านเคมี และชีววิทยา โดยเน้นที่พารามิเตอร์ที่มีบทบาทกับการศึกษา และส่วนหลังนำไปคัดแยกเชื้ออีโคไลเพื่อนำไปศึกษาการดื้อยาปฏิชีวนะต่อไป

3) การวิเคราะห์คุณภาพน้ำทางเคมีในการศึกษานี้ประกอบด้วย การวิเคราะห์ค่าพีเอช (pH), ของแข็งแขวนลอย (Suspended solids, SS), ของแข็งละลายน้ำ (Total dissolved solids, TDS), ตะกอนจุลินทรีย์แขวนลอย (MLSS), บีโอดี (Biological oxygen demand, BOD), ซีโอดี (Chemical oxygen demand, COD), ทีเคเอ็น (Total Kjeldahl nitrogen, TKN), ซัลไฟด์ (Sulfide) และฟอสฟอรัสทั้งหมด (Total phosphate) โดยใช้วิธีการวิเคราะห์อ้างอิงตาม Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater (APHA, 2012)

4) การวิเคราะห์คุณภาพน้ำทางด้านชีวภาพจะทำการวิเคราะห์ปริมาณแบคทีเรียก่อโรค โดยในที่นี้จะใช้อีโคไลซึ่งเป็นแบคทีเรียกลุ่มโคลิฟอร์ม (Coliform bacteria) เป็นดัชนีชี้วัด ซึ่งแบคทีเรียกลุ่มนี้จัดเป็นแบคทีเรียแกรมลบ (Gram negative bacteria) อยู่ในวงศ์ (Family) *Enterobacteriaceae* มีถิ่นอาศัยประจำอยู่ที่บริเวณลำไส้ (Gastrointestinal tract) ของคน และสัตว์เลือดอุ่น โดยทั่วไปนิยมใช้เป็นแบคทีเรียตัวแทนในการศึกษาการปนเปื้อนของสิ่งขับถ่ายจากสิ่งมีชีวิตดังกล่าวสู่สิ่งแวดล้อม เนื่องจากมีช่วงกว้างในการเจริญเติบโต สามารถอยู่รอดได้ภายใต้สภาวะกดดัน (Ishii and Sadowsky, 2008; Luczkiewicz et al., 2010) การศึกษานี้ทำการทดสอบเพื่อหาปริมาณอีโคไลโดยใช้วิธีการกรองน้ำตัวอย่างบนแผ่น Sterile membrane filters ขนาด 0.45  $\mu\text{m}$  (Sartorius) และนำไปเพาะเลี้ยงบนอาหาร Chromocult Coliform agar ES® (Merck Microbiology) ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ภายหลังจากบ่มจะทำการตรวจสอบโคโลนีที่ปรากฏ โดยโคโลนีสีน้ำเงิน คือ อีโคไล และโคโลนีสีชมพู คือ แบคทีเรียกลุ่มโคลิฟอร์มสายพันธุ์อื่น และนับจำนวนโคโลนีอีโคไลที่ปรากฏ สำหรับโคโลนีของอีโคไลจะทำการตรวจสอบซ้ำ โดยการเขี่ยตัวอย่างเชื้อลงบนอาหาร Methylene Blue agar (EMB, Biomark Laboratory) และทำการบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ซึ่งถ้าปรากฏโคโลนีที่มีลักษณะเลื่อมเงา สีเขียวโลหะ (Metallic sheen) แสดงว่าตัวอย่างดังกล่าวจัดเป็นอีโคไล

#### 1.2 การวิเคราะห์ความไวต่อยาปฏิชีวนะด้วยวิธี Disk diffusion method (CLSI, 2012)

1) การทดสอบความไวต่อยาปฏิชีวนะของอีโคไลด้วยวิธี Disk diffusion method (CLSI, 2012) ซึ่งการศึกษานี้จะใช้ยาในการทดสอบจำนวน 11 ชนิด แบ่งออกเป็นยาจำนวน 9 กลุ่ม โดยรายละเอียดแสดงดังตารางที่ 3.1 นอกจากนี้จะทำการคัดเลือกอีโคไลจำนวน 100 โคโลนี จากตัวอย่างน้ำแต่ละจุดมาศึกษาในรูปแบบการดื้อยา

2) การทดสอบเริ่มจากการนำโคโลนีเดี่ยวๆของอีโคไลมาเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ TS broth (HIMEDIA) บ่มที่ 37 องศาเซลเซียส จนระดับความขุ่นของอาหารมีค่าเท่ากับ McFarland Standard เบอร์ 0.5 ซึ่งมีปริมาณเชื้อเทียบเท่า  $1.5 \times 10^8$  โคโลนี/มิลลิลิตร (CFU/ml) จากนั้นทำการ swap เชื้อให้ทั่วอาหารเลี้ยงเชื้อ Muller Hinton agar (Difco™) ด้วยไม้พันสำลี จากนั้นทำการวางแผ่นยาปฏิชีวนะ (BBL™) บนอาหาร นำไปบ่มที่ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 16-18 ชั่วโมง

3) อ่านผลการทดสอบโดยการวัดเส้นผ่านศูนย์กลางของเคลียร์โซนรอบแผ่นยาปฏิชีวนะในหน่วยมิลลิเมตร แล้วแปรผลเป็นค่า S, I, R จากการเทียบกับค่ามาตรฐานของ Clinical and Laboratory Standards Institute, CLSI (2012)

โดย S = Sensitive	เชื้อแบคทีเรียไม่ดื้อต่อยาปฏิชีวนะชนิดที่ทำการทดสอบ
I = Intermediate	เชื้อแบคทีเรียอาจมีการพัฒนาจนดื้อต่อยาปฏิชีวนะชนิดที่ทำการทดสอบ
R = Resistant	เชื้อแบคทีเรียดื้อต่อยาปฏิชีวนะชนิดที่ทำการทดสอบ

4) ข้อมูลรูปแบบการดื้อยาปฏิชีวนะของอีโคไลจากแต่ละจุดเก็บตัวอย่างที่จะทำการแปลผล ได้แก่ เช่น จำนวนเชื้อที่ดื้อต่อยา (Resistant), จำนวนเชื้อที่น่าจะพัฒนาไปเป็นเชื้อดื้อยาในอนาคต (Intermediate), จำนวนเชื้อที่ไม่ดื้อต่อยา (Sensitive), รูปแบบการดื้อยา (เชื้อ 1 โคโลนี มีความสามารถในการดื้อยาได้กี่ชนิด, Antibiotic resistant pattern), และจำนวนเชื้อที่ดื้อต่อยา

มากกว่า 1 ชนิด ขึ้นไป (Multiple antibiotic resistance bacteria, MAR) โดยวิธีการคำนวณการดื้อยาแสดงดังสมการที่ 3.1-3.3

**ตารางที่ 3.1** แสดงรายละเอียดของยาปฏิชีวนะที่ใช้ในการทดสอบความไวต่อยาของอีโคไล

ยาปฏิชีวนะ	ตัวย่อ	ความเข้มข้นใน แผ่นยา ( $\mu\text{g}$ )	ค่ามาตรฐาน		
			S	I	R
Aminoglycoside					
- Gentamicin	GM	10	$\geq 15$	13-14	$\leq 12$
Tetracycline					
- Tetracycline	TC	30	$\geq 15$	12-14	$\leq 11$
Phenicol					
- Chloramphenicol	CP	5	$\geq 18$	13-17	$\leq 12$
Fluoroquinolone					
- Norfloxacin	NOR	10	$\geq 17$	13-16	$\leq 12$
- Ciprofloxacin	CIP	5	$\geq 21$	16-20	$\leq 15$
Folate pathway inhibitors					
- Sulfamethoxazole /Trimethoprim	SXT	1.25/23.75	$\geq 16$	11-15	$\leq 10$
Fosfomycin					
- Fosfomycin	FOS	200	$\geq 16$	13-15	$\leq 12$
Cephalosporins 2 <sup>nd</sup> generation					
- Cefuroxime	CXM	30	$\geq 18$	15-17	$\leq 14$
Cephalosporins 3 <sup>rd</sup> generation					
- Cefotaxime	CTX	30	$\geq 26$	23-25	$\leq 22$
- Cetazidime	CAZ	30	$\geq 21$	18-20	$\leq 17$
Penicillin					
- Ampicillin	AMP	10	$\geq 17$	14-16	$\leq 13$

ที่มา: CLSI (2012)

$$\% \text{ การดื้อยา} = \frac{\text{จำนวนอีโคไลที่ดื้อยา}}{\text{จำนวนอีโคไลทั้งหมดที่ทดสอบ}} \times 100 \quad (3.1)$$

(% Resistance)

$$\% \text{ การเริ่มพัฒนาการดื้อยา} = \frac{\text{จำนวนอีโคไลที่เริ่มการพัฒนาการดื้อยา}}{\text{จำนวนอีโคไลทั้งหมดที่ทดสอบ}} \times 100 \quad (3.2)$$

(% Intermediate)

$$\% \text{ ความไวต่อการต้านการดื้อยา} = \frac{\text{จำนวนอีโคไลที่ไวต่อการต้านการดื้อยา}}{\text{จำนวนอีโคไลทั้งหมดที่ทดสอบ}} \times 100 \quad (3.3)$$

(% Sensitive)

นอกจากนี้ยังมีการหาค่า MAR index (multiple antibiotic resistance index) ซึ่งเป็นค่าที่บ่งบอกระดับการดื้อยาในภาพรวมของแต่ละตัวอย่าง โดยคำนวณจากสูตร “ $a/b$ ” โดยที่ “ $a$ ” แทนจำนวนแผ่นยาทดสอบทั้งหมดที่แสดงผลว่าอีโคไลดื้อต่อยานั้นๆ และ “ $b$ ” แทนจำนวนแผ่นยาทดสอบทั้งหมดที่ใช้ในการทดสอบ (Krumperman 1983) เมื่อค่า “ $a/b$ ” ของตัวอย่างใดเข้าใกล้ 1 แสดงว่าอีโคไลในตัวอย่างนั้นมีระดับการดื้อยารุนแรง คือเป็นอีโคไลที่ดื้อยาหลายชนิดนั่นเอง

### 1.3 การทดสอบการผลิตเอนไซม์เบต้าแลคตาเมสชนิด Extended spectrum beta-lactamase (ESBL) ในอีโคไลที่คัดแยก

อีโคไลที่ทำการคัดแยกทั้งหมดจำนวน 300 โคโลนี เพื่อใช้ทดสอบความไวต่อยาปฏิชีวนะในหัวข้อก่อนหน้า (1.2) จะนำมาทดสอบการผลิตเอนไซม์ Extended spectrum beta-lactamase (ESBL) ควบคู่กันไป โดยเอนไซม์ดังกล่าวจะพบมากในแบคทีเรียวงศ์ *Enterobacteriaceae* และสามารถยับยั้งการออกฤทธิ์ของยาในกลุ่ม beta-lactam เช่น penicillin, cephalosporin และ aztreonam โดยการย่อยสลายวงแหวนของยา (Mesa et al., 2006; Rupp and Fey, 2003) ในการทดสอบนั้น วิธีการเตรียมอีโคไลก่อนการ Swap ลงบนอาหาร Muller Hinton agar ใช้วิธีการเช่นเดียวกันกับหัวข้อ 1.2 ส่วนแผ่นยาปฏิชีวนะที่ใช้ในการทดสอบประกอบด้วยแผ่นยา AMC (20/10 µg), CTX (30 µg) และ CAZ (30 µg) โดยแผ่นยา AMC จะวางตำแหน่งตรงกลางจานเพาะเชื้อ ส่วนแผ่นยา CTX และ CAZ วางห่างจากจุดศูนย์กลางของยา AMC ประมาณ 15-20 เซนติเมตร ทำการบ่มที่ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 16-18 ชั่วโมง เมื่อครบเวลาอ่านผลการทดสอบจาก Clear zone รอบแผ่นยา AMC กับแผ่นยา CTX หรือ CAZ ที่ออกฤทธิ์เสริมกัน ซึ่งถ้าพบปรากฏการณ์ดังกล่าว แสดงว่าเกิดการผลิตเอนไซม์ ESBL ขึ้น (Jarlier et al., 1988)

### 1.4 การศึกษากระบวนการฆ่าเชื้อด้วยการเติมคลอรีน

ในส่วนของการศึกษากระบวนการฆ่าเชื้อด้วยการเติมคลอรีนในน้ำเสียที่ผ่านออกจากระบบบำบัดในกรณีนี้ไม่สามารถดำเนินการศึกษาในสถานที่จริงได้ จึงได้ทำการจำลองสภาวะดังกล่าวในระบบทดลองขนาดเล็กภายใต้ห้องปฏิบัติการเพื่อทำการทดสอบ โดยมีรูปแบบการดำเนินงานดังนี้

1) การศึกษานี้มีการใช้น้ำเสียสังเคราะห์ที่มีคุณสมบัติใกล้เคียงกับน้ำเสียที่ผ่านออกจากระบบบำบัดเป็นตัวแทน โดยใช้แหล่งธาตุอาหารหลักจาก Glucose 25 มิลลิกรัม/ลิตร,  $\text{NH}_4\text{Cl}$  0.58 กรัม/ลิตร,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0.2 กรัม/ลิตร,  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  0.2 กรัม/ลิตร,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0.25 กรัม/ลิตร และ  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  0.3 กรัม/ลิตร แหล่งธาตุอาหารรองจาก  $\text{H}_3\text{BO}_3$  50 มิลลิกรัม/ลิตร,  $\text{ZnCl}_2$  50 มิลลิกรัม/ลิตร,  $\text{CuCl}_2$  30 มิลลิกรัม/ลิตร,  $\text{MnSO}_4$  500 มิลลิกรัม/ลิตร,  $\text{CoCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$  50 มิลลิกรัม/ลิตร และ  $(\text{NH}_4)_6\text{MoO}_{24} \cdot \text{H}_2\text{O}$  50 มิลลิกรัม/ลิตร สุดท้ายจะทำการปรับค่าพีเอชของน้ำเสียสังเคราะห์ให้อยู่ที่  $7.0 \pm 0.1$  ด้วย  $\text{NaHCO}_3$

2) อีโคไลตัวแทนจำนวน 3 สายพันธุ์ ที่ทำการทดสอบ ได้แก่ อีโคไล TISTR780 (สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย) และอีโคไลที่ทำการคัดเลือกได้จากน้ำเสียที่ผ่านการบำบัดออกจากระบบบำบัดน้ำเสียชุมชนที่ใช้เป็นตัวแทน จำนวน 2 สายพันธุ์

3) การทดสอบเริ่มต้นจากนำอีโคไลที่เก็บรักษาไว้มาทำการเพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ TS broth (HIMEDIA) บ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลาดำคืน (Overnight) จากนั้นทำการ sub-culture อีโคไลดังกล่าวลงในน้ำเสียสังเคราะห์ปริมาณ 5 มิลลิลิตร โดยปรับให้มีปริมาณอีโคไลอยู่เริ่มต้นในช่วง  $10^6$  โคโลนี/มิลลิลิตร

4) หลังจากนั้นทำการเติมคลอรีนในรูปสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ (Sodium hypochlorite,  $\text{NaOCl}$ ) ให้มีความเข้มข้นอยู่ในช่วง 0.5, 1.0, 2.0, 5.0 และ 10.0 มิลลิกรัม/ลิตร โดยใช้ระยะเวลาในการทำปฏิกิริยาที่ 1, 2, 5, 10, 30 และ 60 นาที รวมทั้งหมด 90 ชุดการทดสอบ ระหว่างทำปฏิกิริยาเก็บชุดทดสอบไว้ในที่มืด เมื่อเสร็จสิ้นกระบวนการทำการหยุดปฏิกิริยาด้วยสารละลายโซเดียมไทโอซัลเฟต (Sodium thiosulfate,  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ ) ให้มีความเข้มข้นร้อยละ 15

5) ทำการล้างเซลล์อีโคไลที่ทำการทดสอบด้วยสารละลาย Phosphate buffer saline (PBS) จำนวน 2 รอบ และเจือจางใน PBS ปริมาตร 5 มิลลิลิตร

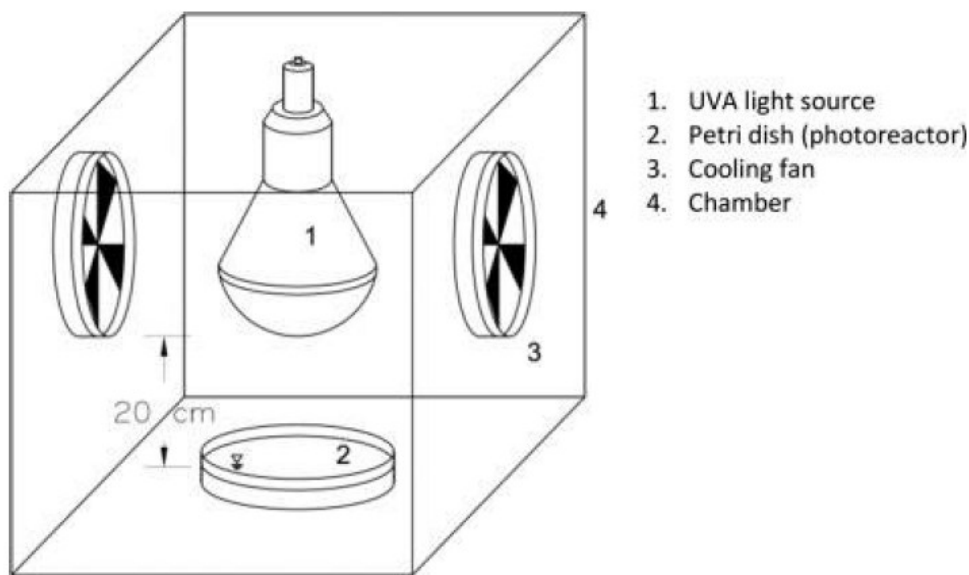
6) วิเคราะห์ปริมาณอีโคไลที่คงเหลือในชุดการทดสอบด้วยวิธีการ Plate count agar โดยเจือจางอีโคไลดังกล่าวในน้ำเกลือ ( $\text{NaCl}$ ) ร้อยละ 0.85 ให้อยู่ในช่วง  $10^{-1}$ - $10^{-3}$  (10 fold dilution) นำไปเพาะเลี้ยงในอาหาร Nutrient agar (HIMEDIA) และบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ก่อนที่จะนำมานับจำนวนเซลล์ที่อยู่รอด

7) วิเคราะห์ผลการศึกษากำจัดแบคทีเรียตัวแทนด้วยกระบวนการเติมคลอรีน และคัดเลือกสถานะที่มีประสิทธิภาพในการกำจัดแบคทีเรียมาทำการศึกษารูปแบบการดื้อยาปฏิชีวนะต่อไป

8) ชุดทดสอบที่ทำการคัดเลือกจะทำการศึกษารูปแบบการดื้อยาปฏิชีวนะจำนวน 3 รูปแบบ ได้แก่ รูปแบบภายหลังจากผ่านกระบวนการเติมคลอรีนทันที รูปแบบภายหลังจากผ่านกระบวนการเติมคลอรีน 24 และ 48 ชั่วโมง โดยทำการทดสอบในอีโคไล TISTR780 และอีโคไลที่ทำการคัดเลือกได้จากน้ำเสียที่ผ่านการบำบัดออกจากระบบบำบัดน้ำเสียชุมชนที่ใช้เป็นตัวแทน จำนวน 1 สายพันธุ์ รวมจำนวน 12 ชุดทดสอบ ซึ่งวิธีการในการคัดเลือกเชื้อ และวิธีการศึกษาความไวต่อยาปฏิชีวนะจะอ้างอิงตามวิธีการในหัวข้อที่ 1.2 ซึ่งในที่นี้จะสุ่มคัดเลือกอีโคไลจำนวน 5 โคโลนีต่อชุดการทดสอบมาทำการศึกษา และใช้ยาปฏิชีวนะชนิดเดียวกันชุดการทดสอบอีโคไลจากระบบบำบัดน้ำเสียชุมชน

2. การดำเนินงานในส่วนที่ 2: การศึกษาการกำจัดแบคทีเรียด้วยกระบวนการโฟโตคะตะไลติกที่ใช้ไทเทเนียมไดออกไซด์เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา

1) การศึกษาในส่วนนี้จะทำการทดลองในรูปแบบกะ (Batch Test) ด้วยถังปฏิกรณ์ (Batch reactor) โดยมีชุดอุปกรณ์แหล่งกำเนิดแสงอัลตราไวโอเล็ตจากหลอด UVA ชนิดหลอดกลม (300 W) ดังแสดงในภาพที่ 3.1 ซึ่งที่ผิวด้านในของถังปฏิกรณ์ซึ่งทำมาจากงานเพาะเชื้อแบบแก้ว จะทำการเคลือบด้วยนาโนไทเทเนียมไดออกไซด์ซึ่งเตรียมโดยวิธีการโซล-เจล ที่ทำการจำลองระบบด้วยลักษณะดังกล่าวนั้น สืบเนื่องมาจากการให้น้ำไหลผ่านแหล่งกำเนิดแสงในลักษณะฟิล์มบางจะเพิ่มประสิทธิภาพในการกำจัดแบคทีเรียด้วยกระบวนการโฟโตคะตะไลติก ซึ่งลักษณะของถังปฏิกรณ์ต้นแบบที่นำมาประยุกต์ใช้ให้เหมาะสมกับการศึกษาการกำจัดแบคทีเรียด้วยวิธีนี้ เป็นองค์ความรู้ที่มีการต่อยอดงานวิจัยมาจากงานวิจัยของทางห้องปฏิบัติการสาขาวิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม ภาควิชาวิศวกรรมโยธา คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี ซึ่งมีการศึกษาถึงกระบวนการโฟโตคะตะไลติกในการจัดการสิ่งแวดล้อมประเภทต่างๆ อาทิเช่น โทลูอิน สีย้อม และสารอินทรีย์ในรูปของซีโอติ เป็นต้น (Rojviroon et al., 2012; Rojviroon et al., 2014, Rojviroon et al., 2015; Rojviroon and Sirivithayapakorn, 2013)



ภาพที่ 3.1 ถังปฏิกรณ์สำหรับการทดสอบการกำจัดแบคทีเรียด้วยกระบวนการโฟโตคะตะไลติก (Rojviroon et al., 2015)

2) การทดสอบกระบวนการฆ่าเชื้อแบคทีเรียด้วยกระบวนการโฟโตคะตะไลติกที่มีไทเทเนียมไดออกไซด์เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ใช้อีโคไลตัวแทนจำนวน 3 สายพันธุ์เช่นเดียวกันกับในหัวข้อ 1.4 (อีโคไล TISTR780 และอีโคไลที่ทำการคัดแยกได้จากน้ำเสียที่ผ่านการบำบัดออกจากระบบบำบัดน้ำเสียชุมชนที่ใช้เป็นตัวแทน จำนวน 2 สายพันธุ์) และใช้น้ำเสียสังเคราะห์ตามสูตรที่กล่าวถึงในช่วงก่อนหน้า (หัวข้อ 1.4)

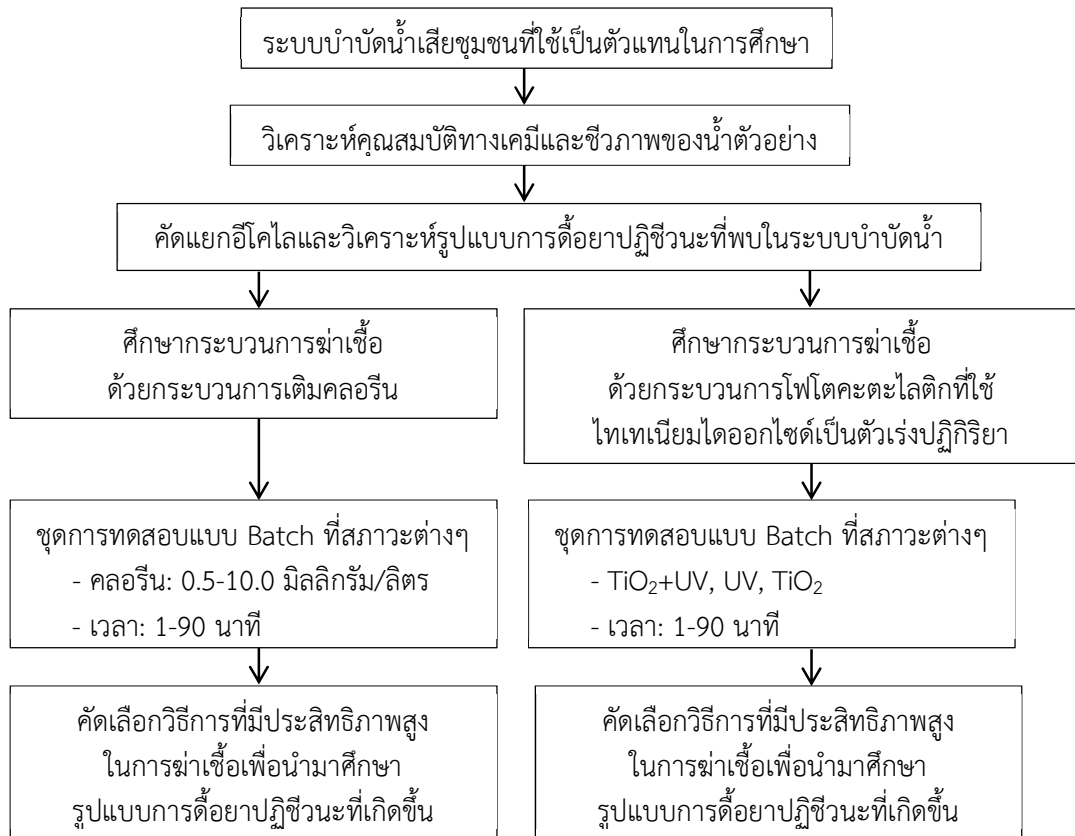
3) ในการทดสอบเตรียมอีโคไลเริ่มต้นและน้ำเสียสังเคราะห์ดังเช่นในหัวข้อ 1.4 โดยใช้น้ำเสียเริ่มต้นปริมาตร 20 มิลลิลิตร กำหนดระยะเวลาในการทำปฏิกิริยาอยู่ในช่วง 1, 2, 5, 10, 30, 60 และ 90 นาที รวมจำนวน 21 ชุดการทดสอบ นอกจากนี้ยังมีชุดควบคุมการทดลอง ได้แก่ ชุดทดสอบที่มีเฉพาะการให้แสงอัลตราไวโอเล็ต (21 ชุดการทดสอบ) ซึ่งเมื่อทำการทดสอบแล้วเสร็จจะทำการวิเคราะห์ปริมาณอีโคไลคงเหลือเพื่อประเมินประสิทธิภาพกระบวนการกำจัดต่อไป ด้วยวิธีการ Plate count agar ดังในหัวข้อ 1.4

4) วิเคราะห์ผลการศึกษาการกำจัดแบคทีเรียตัวแทนด้วยกระบวนการโฟโตคะตะไลติกที่ใช้ไทเทเนียมไดออกไซด์เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาและคัดเลือกสภาวะที่มีประสิทธิภาพในการกำจัดแบคทีเรียมาทำการศึกษารูปแบบการดื้อยาปฏิชีวนะต่อไป

5) ชุดทดสอบที่ทำการคัดเลือกจะทำการศึกษารูปแบบการดื้อยาปฏิชีวนะจำนวน 3 รูปแบบ ได้แก่ รูปแบบภายหลังจากผ่านกระบวนการโฟโตคะตะไลติกที่ใช้ไทเทเนียมไดออกไซด์เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาทันที รูปแบบภายหลังจากผ่านกระบวนการ 24 และ 48 ชั่วโมง โดยทำการทดสอบในอีโคไล TISTR780 และอีโคไลที่ทำการคัดแยกได้จากน้ำเสียที่ผ่านการบำบัดออกจากระบบบำบัดน้ำเสียชุมชนที่ใช้เป็นตัวแทน จำนวน 1 สายพันธุ์ รวมจำนวน 12 ชุดทดสอบ ซึ่งวิธีการในการคัดแยกเชื้อ และวิธีการศึกษาความไวต่อยาปฏิชีวนะจะอ้างอิงตามวิธีการในหัวข้อที่ 1.2 ซึ่งในที่นี้จะสุ่มคัดเลือกอีโคไลจำนวน 5 โคโลนีต่อชุดการทดสอบมาทำการศึกษา และใช้ยาปฏิชีวนะชนิดเดียวกันชุดการทดสอบอีโคไลจากระบบบำบัดน้ำเสียชุมชน

จากการดำเนินงานทั้ง 2 ส่วน ได้แก่ ส่วนที่ 1 การศึกษาข้อมูลของแบคทีเรียดื้อยาปฏิชีวนะจากระบบบำบัดน้ำเสียชุมชน และกระบวนการฆ่าเชื้อด้วยคลอรีน และส่วนที่ 2: การศึกษาการกำจัดแบคทีเรียดื้อยาด้วยกระบวนการโฟโตคะตะไลติกที่ใช้ไทเทเนียมไดออกไซด์เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาสามารถสรุปรูปแบบการดำเนินการศึกษาดังแสดงในภาพที่ 3.2

เมื่อนำข้อมูลทั้ง 2 ส่วน ตามที่กล่าวมา มาผนวกเข้าด้วยกันจะทราบถึงปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการดื้อยาปฏิชีวนะของอีโคไลภายใต้ระบบบำบัดน้ำเสียทางชีวภาพ รวมทั้งจากระบบการฆ่าเชื้อด้วยคลอรีน และข้อมูลเหล่านี้นำมาใช้ในการประเมินโอกาสในการแพร่กระจายของเชื้อแบคทีเรียดื้อยาไปสู่สิ่งแวดล้อมบริเวณอื่น รวมทั้งแนวโน้มความเสี่ยงทางสุขภาพของคนและสัตว์ นอกจากนี้ยังทราบถึงแนวทางในการลดแบคทีเรียดื้อยาผ่านเทคนิคการกำจัดด้วยกระบวนการโฟโตคะตะไลติกที่ใช้ไทเทเนียมไดออกไซด์เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ซึ่งถือเป็นอีกเทคนิคหนึ่งที่น่าสนใจ



ภาพที่ 3.2 แสดงแผนผังสรุปรูปแบบการดำเนินการศึกษาทั้ง 2 ส่วน

## บทที่ 4 ผลการวิจัย

### การติดตามตรวจสอบคุณภาพน้ำทางเคมีและชีวภาพจากระบบบำบัดน้ำเสียชุมชน

การเก็บตัวอย่างน้ำ และตะกอนจากระบบบำบัดน้ำเสียทางชีวภาพซึ่งในที่นี่ใช้ตัวแทนจากระบบบำบัดน้ำเสียทางชีวภาพแบบ Activated sludge จากอาคารที่พักอาศัยขนาดใหญ่ จำนวน 3 จุด ได้แก่ บริเวณจุดรวบรวมน้ำเสียก่อนเข้าระบบ ตะกอนแขวนลอย (Mixed liquor suspended solids, MLSS) ในถังเติมอากาศ และน้ำเสียที่ผ่านการบำบัด โดยมีผลการศึกษาแสดงดังตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 แสดงข้อมูลคุณภาพน้ำทางเคมีและชีวภาพจากระบบบำบัดน้ำเสียชุมชน

พารามิเตอร์ <sup>ก</sup>	ระบบบำบัดน้ำเสีย		
	ก่อนเข้าระบบ	ถังเติมอากาศ	หลังผ่านระบบ
พีเอช	7.8 (7.7-7.9)	-	7.3 (7.2-7.4)
ของแข็งแขวนลอย (mg/l) <sup>ข</sup>	54.8 (46-64)	2,275 (2,670-2,880)	20.8 (15-27)
ของแข็งละลายน้ำ (mg/l)	397.5 (348-446)	-	351.0 (314-390)
บีโอดี (mg/l)	100.0 (85-114)	-	12.8 (11-14)
ซีโอดี (mg/l)	211.3 (203-222)	-	27.8 (25-32)
ทีเคเอ็น (mg/l)	59.9 (53.2-66.4)	-	12.3 (5.0-19.6)
ซัลไฟด์ (mg/l)	0.40 (0.35-0.45)	-	0.04 (0.03-0.04)
ฟอสฟอรัสทั้งหมด (mg/l)	0.57 (0.56-0.59)	-	0.27 (0.26-0.27)
อีโคไล (CFU/ml)	2.86x10 <sup>3</sup> (2.1x10 <sup>3</sup> -4.4x10 <sup>3</sup> )	1.57x10 <sup>3</sup> (7.5x10 <sup>2</sup> -2.5x10 <sup>3</sup> )	3.64x10 <sup>1</sup> (1.1x10 <sup>1</sup> -7.0x10 <sup>1</sup> )

หมายเหตุ <sup>ก</sup> มีการเก็บตัวอย่างจำนวน 4 รอบ และ <sup>ข</sup> ของแข็งแขวนลอยภายในถังเติมอากาศในรูปของตะกอนจุลินทรีย์แขวนลอย (MLSS)

ซึ่งผลจากการติดตามตรวจสอบคุณภาพน้ำ พบว่าระบบบำบัดน้ำเสียชุมชนแบบ Activated sludge ที่ทำการศึกษามีประสิทธิภาพสูงในการกำจัดสารอินทรีย์เมื่อพิจารณาในรูปของบีโอดีเป็นหลัก โดยมีความสามารถเฉลี่ยอยู่ที่ร้อยละ 87.2 ซึ่งน้ำเสียก่อนเข้าสู่ระบบมีค่าอยู่ในช่วง 85-114 มิลลิกรัม/ลิตร ในขณะที่ภายหลังผ่านออกจากระบบบำบัดมีค่าลดลงอยู่ในช่วง 11-14 มิลลิกรัม/ลิตร นอกจากนี้เมื่อพิจารณาในภาพรวมจะพบว่าคุณภาพน้ำทิ้งที่ออกจากระบบบำบัดของอาคารที่ทำการศึกษาซึ่งจัดเป็นอาคารประเภท ก มีค่าต่ำกว่าค่ามาตรฐานควบคุมการระบายน้ำทิ้งจากอาคารบางประเภทและบางขนาด ตามประกาศกระทรวงวิทยาศาสตร์ เทคโนโลยีและสิ่งแวดล้อม แต่อย่างไรก็ตามเมื่อพิจารณาคุณภาพน้ำในพารามิเตอร์ทางชีวภาพซึ่งในที่นี่ได้ทำการศึกษาอีโคไลเป็นตัวแทน

แบคทีเรียก่อโรค โดยจัดเป็นแบคทีเรียกลุ่มโคลิฟอร์ม (Coliform bacteria) ทั่วไปนิยมใช้เป็นแบคทีเรียตัวแทนในการศึกษาการปนเปื้อนของสิ่งขับถ่ายจากสิ่งมีชีวิตดังกล่าวสู่สิ่งแวดล้อม (Ishii and Sadowsky, 2008; Łuczkiwicz et al., 2010) ซึ่งในระบบบำบัดที่ทำการศึกษามีปริมาณอีโคไลก่อนเข้าระบบเฉลี่ยอยู่ที่  $2.86 \times 10^3$  CFU/ml นอกจากนี้ยังพบการสะสมของอีโคไลอยู่ในตะกอนจุลินทรีย์แขวนลอย (MLSS) ภายในถังเติมอากาศเฉลี่ยร้อยละ 45.1 เมื่อเปรียบเทียบกับปริมาณอีโคไลในน้ำเสียก่อนเข้าระบบ โดยภายในถังเติมอากาศจัดเป็นจุดที่มีค่าความหนาแน่นของแข็งแขวนลอยสูง ซึ่งส่วนใหญ่จะอยู่ในรูปของจุลินทรีย์สายพันธุ์ต่างๆที่ทำหน้าที่ร่วมกันในการย่อยสลายสารอินทรีย์ภายในระบบ อีกทั้งยังพบว่าระบบบำบัดน้ำเสียดังกล่าวมีประสิทธิภาพสูงในการกำจัดอีโคไล โดยสามารถกำจัดได้เฉลี่ยร้อยละ 98.7 ซึ่งผลการศึกษานี้ไปในทิศทางเดียวกันกับงานวิจัยของ Reinthaler et al. (2003) ที่พบการสะสมตัวของอีโคไลในถังเติมอากาศ ( $3.2 \times 10^3$  -  $2.1 \times 10^4$  CFU/ml) และระบบ Activated sludge ดังกล่าวยังมีประสิทธิภาพในการกำจัดอีโคไลออกจากระบบ โดยมีค่าเริ่มต้นอยู่ในช่วง  $2.0 \times 10^4$  -  $6.1 \times 10^4$  CFU/ml และถูกกำจัดจนลดปริมาณลงเหลือ  $2.2 \times 10^2$  -  $2.4 \times 10^2$  CFU/ml

นอกจากนี้การที่อีโคไลลดจำนวนลงภายใต้การเดินระบบบำบัดน้ำเสีย อาจเนื่องมาจากปัจจัยต่างๆที่สำคัญ ได้แก่ 1) ปริมาณสารอาหารซึ่งอยู่ในรูปของสารอินทรีย์ในน้ำเสีย ในการศึกษาพบค่าบีโอดีในปริมาณที่ต่ำ (ค่าบีโอดีน้ำเสียก่อนเข้าระบบ 100.0 มิลลิกรัม/ลิตร และออกจากระบบ 12.8 มิลลิกรัม/ลิตร) โดยการเจริญเติบโตของอีโคไลนั้น จะต้องมีสารอาหารที่เพียงพอ (Blaustein et al., 2013) และองค์ประกอบของสารอาหารดังกล่าวยังมีผลต่อรูปแบบ/อัตราการเจริญเติบโตอีกเช่นกัน (Rysz et al., 2013) และ 2) อนุภาคที่แขวนลอยในระบบบำบัดโดยเฉพาะในถังเติมอากาศ ซึ่งตรวจพบในปริมาณสูง (ค่า MLSS 2,275 มิลลิกรัม/ลิตร) เป็นการเพิ่มโอกาสในการเกาะติดผิวกับอีโคไลโดยเฉพาะที่บริเวณ Fimbriae (Lyautey et al., 2011; Zita and Hermanansson, 1997)

### การดื้อยาปฏิชีวนะของอีโคไลที่คัดแยกจากระบบบำบัดน้ำเสียชุมชน

จากการศึกษาข้อมูลการกำจัดอีโคไลของระบบบำบัดน้ำเสียตัวแทนดังในตารางที่ 4.1 พบว่าระบบมีประสิทธิภาพสูงมากในการกำจัดอีโคไล โดยคงเหลืออีโคไลปนเปื้อนออกมากับน้ำเสียที่ผ่านการบำบัดในระดับต่ำ (ค่าเฉลี่ย  $3.64 \times 10^1$  CFU/ml) ดังนั้น การดำเนินการในส่วนนี้จึงออกแบบขึ้นภายใต้สมมติฐานที่ต้องการพิจารณาอิทธิพลของกระบวนการบำบัดน้ำเสียชุมชนด้วยระบบ Activated sludge ว่ามีผลกระทบต่อเปลี่ยนแปลงรูปแบบการดื้อยาปฏิชีวนะหรือไม่ ซึ่งในที่นี้ได้ออกแบบการทดลองไว้ว่า จะทำการศึกษารูปแบบการดื้อยาของอีโคไลจำนวน 3 จุด คืออีโคไลที่คัดแยกจากน้ำทิ้งก่อนเข้าสู่ระบบ อีโคไลภายในระบบ และอีโคไลที่ปนเปื้อนออกมาจากระบบ รวมจำนวนอีโคไลที่ใช้ทดสอบทั้งหมด 300 สายพันธุ์ โดยในที่นี้กำหนดให้

1) อีโคไลที่คัดแยกจากน้ำเสียก่อนเข้าสู่ระบบบำบัดน้ำเสียเป็นตัวแทนอีโคไลที่ปนเปื้อนมาจากการดำเนินกิจกรรมประเภทต่างๆของผู้คนในอาคารชุด ซึ่งหมายรวมถึงอีโคไลดังกล่าวอาจมีโอกาสสัมผัสกับยาปฏิชีวนะหรือสารที่ออกฤทธิ์ฆ่าเชื้อประเภทต่างๆมาก่อน

2) อีโคโลยีที่คัดแยกจากระบบบำบัดน้ำเสียในที่นี้กำหนดจุดเก็บตัวอย่างเฉพาะอีโคโลยีที่มาจากตะกอนแขวนลอยของถังเติมอากาศซึ่งจัดเป็นจุดที่มีการรวมตัวกันอย่างหนาแน่นของจุลินทรีย์สายพันธุ์ต่างๆ อีกทั้งการเติมอากาศอย่างต่อเนื่องยังเป็นการส่งเสริมให้เกิดการกวนผสม จุลินทรีย์และสารอินทรีย์ในน้ำเสียมีโอกาสสัมผัสกันมากขึ้นเกิดการย่อยสลายอย่างมีประสิทธิภาพ แต่อย่างไรก็ตามคณะผู้วิจัยคาดการณ์ว่ากระบวนการดังกล่าวอาจส่งผลกระทบต่อพัฒนาการดื้อยาปฏิชีวนะของอีโคโลยีที่เป็นไปได้ เพราะความหนาแน่นของจุลินทรีย์เป็นหนึ่งในปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการถ่ายทอดยีนดื้อยาระหว่างแบคทีเรียที่มีสายพันธุ์ใกล้เคียงกัน (Taylor et al., 2011) อีกทั้งระบบบำบัดน้ำเสียทางชีวภาพยังถือเป็นแหล่งสำคัญที่มีบทบาทต่อการแพร่กระจายแบคทีเรียดื้อยา (Martinez, 2009; Burch et al., 2013; Novo et al., 2013; Rizzo et al., 2013b)

3) อีโคโลยีที่คัดแยกจากน้ำเสียที่ผ่านการบำบัดด้วยระบบบำบัดน้ำเสีย เป็นอีโคโลยีที่เหลืรอดจากระบวนการดังกล่าว ซึ่งระบบบำบัดที่ทำการศึกษานี้ที่มีประสิทธิภาพสูงในการกำจัดแบคทีเรียก่อโรคในรูปของอีโคโลยี แต่อย่างไรก็ตามอีโคโลยีที่คงอยู่ทางคณะผู้วิจัยได้คาดการณ์ว่าสถานะต่างๆภายในระบบบำบัดแบบ Activated sludge น่าจะส่งผลต่อรูปแบบการดื้อยาปฏิชีวนะที่เปลี่ยนแปลงไปตามที่ได้กล่าวไว้หัวข้อก่อนหน้า อีกทั้งภายใต้สภาวะที่มีการคงอยู่ของยาปฏิชีวนะ (Martinez, 2009) หรือสารเคมีอื่น ๆ ที่มีคุณสมบัติในการเหนี่ยวนำ เช่น ไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ (hydrogen peroxide), โทลูอิน (toluene), เอทานอล (ethanol), ไนโตรเบนซีน (nitrobenzene) คลอรีน (Chlorine) และโลหะหนัก (heavy metals) (Bouki et al., 2013; Darcan and Kahyaoğlu, 2012; Taylor et al., 2011) จะก่อให้เกิดการคัดเลือกสายพันธุ์ของแบคทีเรียขึ้น โดยจะมีการพัฒนาและปรับตัวให้เหมาะสมเพื่อความอยู่รอดภายใต้สภาวะที่มีการปรากฏของสารเหล่านั้น ก่อให้เกิดสายพันธุ์ใหม่ที่มีความทนทานต่อสภาวะกดดันมากยิ่งขึ้นเพื่อช่วยให้เซลล์อยู่รอด (Bahig et al., 2008) ซึ่งรวมไปถึงการเปลี่ยนแปลงรูปแบบของการดื้อยาปฏิชีวนะด้วยเช่นกัน

โดยผลจากการศึกษาจะมีการนำเสนอในรูปแบบของค่า MAR index (Multiple antibiotic resistant index) หรือภาพรวมของการดื้อยาปฏิชีวนะ ค่าร้อยละของการดื้อยาปฏิชีวนะ และจำนวนชนิดยาปฏิชีวนะที่อีโคโลยีแต่ละสายพันธุ์สามารถต้านทานฤทธิ์ของยาดังกล่าวได้ ซึ่งผลการศึกษาดื้อยาปฏิชีวนะของอีโคโลยีที่คัดแยกจากระบบบำบัดน้ำเสียชุมชนแบบ Activated sludge ในภาพรวมแสดงดังตารางที่ 4.2

ตารางที่ 4.2 แสดงข้อมูลภาพรวมการดื้อยาปฏิชีวนะของอีโคโลยีจากระบบบำบัดน้ำเสียชุมชน

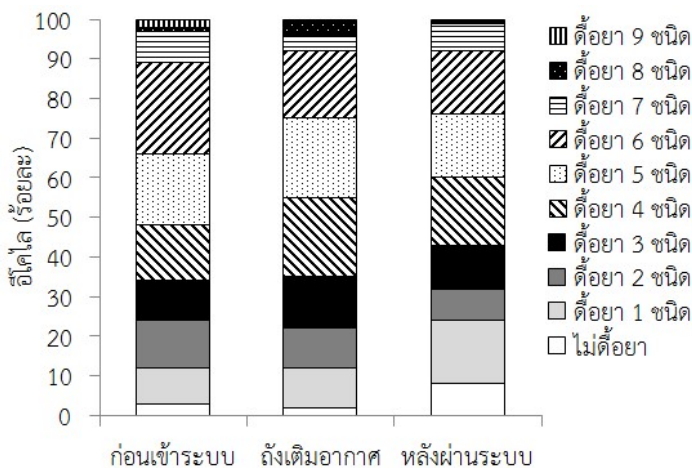
ข้อมูลที่เกี่ยวข้องกับระบบบำบัดน้ำเสียชุมชน	จุดเก็บตัวอย่าง		
	ก่อนเข้าระบบ	ถังเติมอากาศ	หลังผ่านระบบ
ค่าเฉลี่ยอีโคโลยีในน้ำเสีย (CFU/ml)	$2.86 \times 10^3$	$1.57 \times 10^3$	$3.64 \times 10^1$
MAR index	0.238	0.273	0.133

จากตารางที่ 4.2 ได้นำเสนอรูปแบบการดื้อยาปฏิชีวนะในลักษณะของค่า MAR index ซึ่งเปรียบเสมือนเครื่องมือที่ใช้ในการประเมินความเสี่ยงต่อสุขภาพ โดยค่า MAR index ที่มากกว่า 0.2 สื่อให้เห็นว่าแบคทีเรียที่คัดแยกจากแหล่งนั้นๆจัดเป็นแหล่งที่มีความเสี่ยงที่จะพบการดื้อยาปฏิชีวนะเกิดขึ้นเป็นประจำ (Abhirosh et al. 2011) โดยภาพรวมผลการศึกษาค่า MAR index สื่อให้เห็นว่าการดื้อยาปฏิชีวนะของอีโคไลในภาพรวมมีระดับเพิ่มสูงขึ้นเล็กน้อยเมื่ออีโคไลอาศัยอยู่ภายใต้สภาวะของระบบบำบัดน้ำเสีย โดยที่อีโคไลจากน้ำเสียก่อนเข้าสู่ระบบมีค่า MAR index 0.238 และมีความเพิ่มขึ้นเป็น 0.273 เมื่ออยู่ในถังเติมอากาศ โดยภายใต้สภาวะดังกล่าวคาดการณ์ว่าอีโคไลบางส่วนอาจตายไปหรือบางส่วนอาจเกาะติดอยู่กับอนุภาคของแข็งแขวนลอยในระบบ ซึ่งส่วนที่เหลือรอดอาจปนเปื้อนออกไปกับน้ำที่ผ่านการบำบัดก่อให้เกิดการแพร่กระจายไปยังสิ่งแวดล้อมอื่นต่อไป ซึ่งในที่นี่สังเกตได้จากการที่พบปริมาณอีโคไลในน้ำขาออกในระดับต่ำ ( $3.64 \times 10^1$  CFU/ml) เมื่อเปรียบเทียบกับจุดอื่นๆ ( $1.57 \times 10^3$ - $2.86 \times 10^3$  CFU/ml) อีกทั้งยังพบว่ามียาระดับการดื้อยาปฏิชีวนะที่ลดลง (MAR index = 0.133) แสดงให้เห็นว่าในภาพรวมระบบบำบัดน้ำเสียทางชีวภาพที่ทำการศึกษามิได้จัดเป็นแหล่งที่ก่อให้เกิดการเพิ่มขึ้นของระดับการดื้อยาอีกทั้งไม่ก่อให้เกิดการแพร่กระจายของแบคทีเรียดังกล่าวออกไปยังสิ่งแวดล้อมภายนอก ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากระบบที่ทำการศึกษาคือระบบขนาดเล็กทำหน้าที่รองรับเฉพาะน้ำเสียเฉพาะจุดเท่านั้น (อาคารที่พักอาศัย) แต่จากการที่พบระดับการดื้อยาเพิ่มสูงขึ้นเล็กน้อยภายในถังเติมอากาศที่มีกลุ่มแบคทีเรียแขวนลอยอยู่อย่างหนาแน่น ในประเด็นนี้น่าจะเป็นไปตามข้อสรุปจากรายงานการวิจัยหลายแหล่งที่กล่าวว่าสภาวะภายในระบบบำบัดน้ำเสียทางชีวภาพมีบทบาทสำคัญที่ก่อให้เกิดแบคทีเรียดื้อยา โดยเฉพาะกระบวนการถ่ายโอนยีนดื้อยา (Horizontal gene transfer, HGT) (Bouki et al., 2013; Rizzo et al., 2013b; Silva et al., 2006; Taylor et al., 2011)

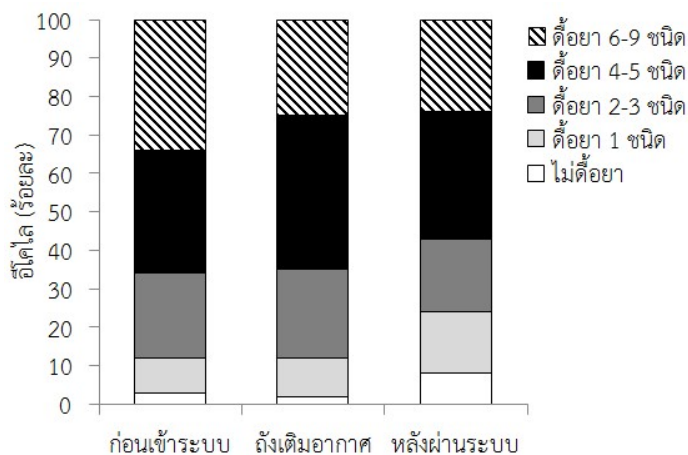
เมื่อพิจารณาผลการศึกษาในประเด็นของจำนวนชนิดยาปฏิชีวนะที่อีโคไลในแต่ละสายพันธุ์สามารถต้านทานฤทธิ์ของยาดังกล่าวได้ แสดงข้อมูลดังในภาพที่ 4.1 ซึ่งจะเป็นการนำเสนอข้อมูลการดื้อยาปฏิชีวนะในอีโคไลที่คัดแยกจากระบบบำบัดน้ำเสีย โดยมียาที่ใช้ทดสอบรวมทั้งหมด 11 ชนิด จัดอยู่ใน 9 กลุ่มยา ได้แก่ Aminoglycoside, Tetracycline, Phenicol, Fluoroquinolone, Folate pathway inhibitors, Fosfomycin, Cephalosporins ใน generation ที่ 2 และ 3 และ Penicillin ซึ่งจากผลการศึกษาพบว่า อีโคไลส่วนใหญ่จากน้ำเสียก่อนเข้าสู่ระบบ (ร้อยละ 97) และอีโคไลที่อยู่ภายในถังเติมอากาศของระบบ (ร้อยละ 98) จัดเป็นอีโคไลที่มีคุณสมบัติที่ดื้อยาปฏิชีวนะ โดยเมื่อพิจารณาเพิ่มเติมจะเห็นว่าอีโคไลดังกล่าวเป็นอีโคไลที่ดื้อยาปฏิชีวนะตั้งแต่ 2 ชนิดขึ้นไป ถึงร้อยละ 88 แต่อย่างไรก็ตามกลับพบว่าอีโคไลที่คัดแยกจากน้ำเสียที่ผ่านการบำบัดมีอัตราส่วนของการดื้อยาตั้งแต่ 2 ชนิดขึ้นไปต่ำกว่า โดยมีค่าอยู่ที่ร้อยละ 76 อีกทั้งยังพบอีโคไลที่แสดงคุณสมบัติดื้อยาในอัตราส่วนที่ต่ำกว่าอีก 2 จุดเก็บตัวอย่างเล็กน้อย (ร้อยละ 92) นอกจากนี้ยังพบอีโคไลส่วนใหญ่มีความหลากหลายของรูปแบบการดื้อยา โดยสามารถพบระดับการดื้อยาได้ตั้งแต่ 1 ชนิด ไปจนถึง 9 ชนิด (รายละเอียดเพิ่มเติมแสดงดังในภาคผนวก ก)

จากภาพที่ 4.1 ซึ่งสามารถบ่งบอกถึงความหลากหลายของรูปแบบการดื้อยาปฏิชีวนะในอีโคไลที่คัดแยกจากน้ำเสียและในระบบบำบัด ดังนั้น เพื่อให้การประเมินผลการศึกษาในครั้งนี้มีความชัดเจนมากยิ่งขึ้นจึงมีการวิเคราะห์ข้อมูลเพิ่มเติมในลักษณะของการแบ่งกลุ่มอีโคไล ได้แก่ กลุ่มอีโคไล

ที่ไม่ดีเยี่ยม กลุ่มที่ดีเยี่ยมเพียงชนิดเดียว กลุ่มที่ดีเยี่ยม 2-3 ชนิด 4-5 ชนิด และ 6 ชนิดขึ้นไป ตามลำดับ (ภาพที่ 4.2)



ภาพที่ 4.1 แสดงข้อมูลจำนวนชนิดยาปฏิชีวนะที่อีโคไลในแต่ละสายพันธุ์สามารถต้านทานฤทธิ์ของยา โดยแสดงค่าตั้งแต่ไม่ดีเยี่ยม และดีเยี่ยมตั้งแต่ 1-9 ชนิด



ภาพที่ 4.2 แสดงข้อมูลจำนวนชนิดยาปฏิชีวนะที่อีโคไลในแต่ละสายพันธุ์สามารถต้านทานฤทธิ์ของยา โดยแสดงค่าตั้งแต่ไม่ดีเยี่ยม กลุ่มที่ดีเยี่ยม 1 ชนิด 2-3 ชนิด 4-5 ชนิด และ 6 ชนิดขึ้นไป

ซึ่งจากข้อมูลในภาพที่ 4.2 สามารถระบุได้ว่าอีโคไลจากแหล่งกำเนิดต้นทาง (ก่อนเข้าสู่ระบบบำบัดน้ำเสีย) จัดเป็นอีโคไลที่มีคุณสมบัติดีต่อยาปฏิชีวนะหลายชนิดมากที่สุด อีกทั้งพบอัตราส่วนของการดีเยี่ยมจำนวน 6-9 ชนิด (ร้อยละ 34) มากกว่าจุดอื่นๆ (ร้อยละ 24-25) เนื่องจากอีโคไลดังกล่าวจัดเป็นตัวแทนของการดำเนินกิจกรรมประเภทต่างๆของผู้ที่อาศัยอยู่ในอาคารชุดซึ่งอาจมีความเกี่ยวข้องกับการใช้ยาปฏิชีวนะหรือสารเคมีในการฆ่าเชื้อจึงก่อเกิดรูปแบบการดีเยี่ยมที่หลากหลาย ส่วนอีโคไลที่คัดแยกจากถังเติมอากาศของระบบ Activated sludge เมื่อเปรียบเทียบกับ

อีโคไลก่อนเข้าสู่ระบบจะพบว่า อัตราส่วนของอีโคไลกลุ่มที่ดื้อต่อยาปฏิชีวนะมากกว่า 6 ชนิดขึ้นไป เริ่มลดลง (ร้อยละ 25) แต่กลับพบอีโคไลกลุ่มที่ดื้อยา 4-5 ชนิดเพิ่มมากขึ้น (ร้อยละ 40) ซึ่งเหตุการณ์ในลักษณะนี้เกิดขึ้นกับอีโคไลที่คัดแยกได้จากน้ำเสียที่ผ่านการบำบัดแล้วเช่นกัน เช่น การพบอีโคไลดื้อยาชนิดเดียวเพิ่มสูงขึ้น (ร้อยละ 16) และอีโคไลส่วนใหญ่จัดเป็นสายพันธุ์ที่ดื้อยา 4-5 ชนิด (ร้อยละ 33) (รายละเอียดเพิ่มเติมแสดงดังในภาคผนวก ก) จากผลการศึกษาที่ได้มีการนำเสนอสอดคล้องกับการพิจารณาข้อมูลภาพรวมการดื้อยาผ่านค่า MAR index ซึ่งอาจกล่าวได้ว่าสภาวะภายในระบบบำบัดน้ำเสียชุมชนที่ใช้ตัวแทนในครั้งนี้มีบทบาทสำคัญต่อการพัฒนารูปแบบการดื้อยาที่อีโคไลแสดงออก โดยเฉพาะอีโคไลที่คัดแยกจากน้ำเสียที่ผ่านการบำบัดจะพบว่ามีระดับการดื้อยาที่ไม่รุนแรงเท่าจุดอื่นๆ สังเกตได้จากการพบอัตราส่วนของอีโคไลที่มีความไวต่อยา และดื้อยาตั้งแต่ 1-3 ชนิด (ร้อยละ 43) มีค่าสูงกว่าในอีโคไลที่คัดแยกจากน้ำเสียก่อนเข้าสู่ระบบและจากตะกอนแขวนลอย (MLSS) ในถังเติมอากาศ (ร้อยละ 34-35) ซึ่งสื่อให้เห็นว่าระบบบำบัดดังกล่าวมีบทบาทในการลดระดับความรุนแรงของการดื้อยาปฏิชีวนะในเชื้อก่อโรครักเป็นไปได้

เมื่อพิจารณาข้อมูลการดื้อยาปฏิชีวนะเพิ่มเติมจากค่าร้อยละของการดื้อยาปฏิชีวนะแต่ละชนิด (รวมทั้งหมด 11 ชนิด) ซึ่งผลการศึกษาได้นำเสนอดังในตารางที่ 4.3 ซึ่งพบว่าในภาพรวมลักษณะการดื้อยาของอีโคไลที่คัดแยกจากน้ำเสียก่อนเข้าสู่ระบบและอีโคไลภายในระบบ (ถังเติมอากาศ) มีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ 0.05 ( $p=0.198$ ) ในขณะที่อีโคไลก่อนและหลังผ่านระบบบำบัดมีรูปแบบการดื้อยาที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p=0.008$ ) ยิ่งเป็นประเด็นสำคัญที่ช่วยสนับสนุนผลการศึกษาในช่วงก่อนหน้าที่ว่าสภาวะของระบบบำบัดน้ำเสียมักมีบทบาทต่อการเปลี่ยนแปลงรูปแบบการดื้อยาปฏิชีวนะ ซึ่งในที่นี้เปลี่ยนไปในทิศทางที่ดีขึ้นคือ สภาวะของระบบดังกล่าวช่วยลด/ควบคุมการเกิดแบคทีเรียดื้อยาที่มีระดับความรุนแรงเพิ่มมากขึ้น อีกทั้งเมื่อพิจารณาความแตกต่างระหว่างรูปแบบการดื้อยาของอีโคไลภายในถังเติมอากาศและอีโคไลในน้ำเสียที่ผ่านการบำบัดยังพบอีกว่ามีความแตกต่างกันเล็กน้อยที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 ( $p=0.045$ ) ยิ่งแสดงให้เห็นว่าสภาวะที่ต่างกันภายในระบบบำบัดเป็นปัจจัยที่มีอิทธิพล ยกตัวอย่างเช่น ภายใต้ระบบ Activated sludge ที่ทำการศึกษานี้อีโคไลจากถังเติมอากาศจะเคลื่อนตัวต่อไปยังถังตกตะกอนก่อนที่อีโคไลดังกล่าวจะปนเปื้อนออกไปกับน้ำเสียที่ผ่านการบำบัดซึ่งจะไหลล้นออกไปยังท่อระบายน้ำสาธารณะต่อไป ซึ่งกระบวนการบำบัดสารอินทรีย์ในน้ำเสียตามวิธีการที่กล่าวมาจะส่งผลกระทบต่อสภาพเซลล์ของอีโคไลซึ่งเกี่ยวข้องกับลักษณะการดื้อยาปฏิชีวนะที่แสดงออก (Bouki et al., 2013)

ในส่วนของการดื้อยาปฏิชีวนะกลุ่ม Beta-lactams ในอีโคไล เมื่อพิจารณาเพิ่มเติมถึงการผลิตเอนไซม์ Beta-lactamase ชนิด ESBL (Extended beta-lactamase) ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่มีฤทธิ์ทำลายวงแหวน Beta-lactams ของยาในกลุ่มดังกล่าวส่งผลให้ยาหมดประสิทธิภาพในการทำลายแบคทีเรียกลุ่มเป้าหมาย โดยการทดสอบการผลิต ESBL กับอีโคไลทั้ง 300 สายพันธุ์ที่ทำการคัดเลือกพบว่า มีระดับการผลิตเอนไซม์ดังกล่าวอยู่ในช่วงต่ำ และมีค่าอยู่ในช่วงร้อยละ 9-13 โดยในน้ำเสียก่อนเข้าสู่ระบบบำบัดพบอีโคไลที่ผลิต ESBL อยู่ร้อยละ 13 ในขณะที่ตะกอนแขวนลอยในระบบ (MLSS) และน้ำเสียที่ผ่านการบำบัดมีค่าอยู่ร้อยละ 7 และร้อยละ 9 ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่า

อีโคไลกลุ่มที่ผลิต ESBL ได้นั้น ไม่มีการแพร่กระจายเกิดขึ้นภายในระบบบำบัดน้ำเสีย ดังนั้น รูปแบบการดื้อยาของอีโคไลในกลุ่ม Beta-lactams อาจเกิดขึ้นจากกระบวนการอื่นเป็นหลัก

นอกจากนี้ จะพบว่าอีโคไลส่วนใหญ่ที่ทำการคัดแยกจะดื้อต่อยาปฏิชีวนะชนิด Tetracycline (ร้อยละ 52-60), Cefuroxime (ร้อยละ 46-60), Cefotaxime (ร้อยละ 73-90) และ Ampicillin (ร้อยละ 72-83) ในระดับที่สูง อีกทั้งพบการดื้อยาชนิด Chloramphenicol (ร้อยละ 30-44), Sulfamethoxazole/Trimethoprim (ร้อยละ 32-38), Fosfomycin (ร้อยละ 13-19) และ Cetazidime (ร้อยละ 18-26) ในระดับปานกลาง แต่อย่างไรก็ตามพบว่าอีโคไลส่วนใหญ่มีความไวต่อยาหรือดื้อต่อยาในระดับต่ำในยาชนิด Gentamicin (ร้อยละ 3-8), Ciprofloxacin (ร้อยละ 8-16) และ Norfloxacin (ร้อยละ 2-4) กล่าวโดยสรุปอีโคไลที่ทำการศึกษามีการดื้อยาปฏิชีวนะกลุ่ม Tetracycline และ Beta-lactams (Cefuroxime, Cetazidime และ Ampicillin) ในระดับสูง และเมื่อเปรียบเทียบระหว่างการดื้อยาของอีโคไลที่คัดแยกจากน้ำเสียก่อนเข้าและหลังผ่านระบบบำบัดจะพบว่าอีโคไลที่หลุดรอดออกไปจากระบบมีแนวโน้มลดระดับการดื้อยาแต่ละชนิดลงหรืออยู่ในระดับคงเดิม จะมีเฉพาะยา Fosfomycin เท่านั้นที่มีระดับการดื้อยาเพิ่มขึ้นจากร้อยละ 13 ไปเป็นร้อยละ 19 โดยรูปแบบการเปลี่ยนแปลงการดื้อยาของอีโคไลจากทั้ง 2 จุด ที่ทำการเปรียบเทียบและเห็นค่าความแตกต่างได้อย่างชัดเจน (แตกต่างกันมากกว่าร้อยละ 10) ได้แก่ การดื้อยาชนิด Cefuroxime และ Cefotaxime

ตารางที่ 4.3 แสดงข้อมูลการดื้อยาปฏิชีวนะแต่ละชนิดในอีโคไลที่คัดแยกจากระบบบำบัดน้ำเสีย

ยาปฏิชีวนะ	อีโคไลที่คัดแยกจากระบบบำบัดน้ำเสีย		
	ก่อนเข้าระบบ (n=100)	ถึงเติมอากาศ (n=100)	หลังผ่านระบบ (n=100)
Gentamicin	3	8	3
Tetracycline	58	60	52
Chloramphenicol	44	30	40
Ciprofloxacin	16	8	8
Norfloxacin	4	2	3
Sulfamethoxazole /Trimethoprim	33	38	32
Fosfomycin	13	19	19
Cefuroxime	59	60	46
Cefotaxime	90	88	73
Cetazidime	26	23	18
Ampicillin	83	74	72

สำหรับอีโคไลที่คัดแยกจากของแข็งแขวนลอย (MLSS) ที่อยู่ในถังเติมอากาศของระบบบำบัดน้ำเสียมีรูปแบบการดื้อยาที่เปลี่ยนแปลงไปเมื่อเปรียบเทียบกับรูปแบบที่พบจากอีโคไลในน้ำเสียก่อนเข้าสู่ระบบดังนี้ 1) รูปแบบที่มีระดับการดื้อยาปฏิชีวนะคงเดิมหรือเพิ่มขึ้น/ลดลงเล็กน้อย ได้แก่ การดื้อยาชนิด Tetracycline, Cefuroxime, Cefotaxime และ Cefazidime 2) รูปแบบที่มีระดับการดื้อยาปฏิชีวนะเพิ่มขึ้นเฉพาะภายในถังเติมอากาศ ได้แก่ การดื้อยาชนิด Sulfamethoxazole/Trimethoprim และ 3) รูปแบบที่มีระดับการดื้อยาปฏิชีวนะลดลงเฉพาะภายในถังเติมอากาศ ได้แก่ การดื้อยาชนิด Chloramphenicol ซึ่งสามารถสรุปได้ว่าภายในถังเติมอากาศมีรูปแบบการดื้อยาที่เปลี่ยนแปลงไปหลากหลายรูปแบบ ทั้งนี้ยังสื่อให้เห็นว่าปรากฏการณ์ดังกล่าวนอกจากจะเกี่ยวข้องกับกลไกการทำงานของระบบบำบัดแล้ว ยังน่าจะเกี่ยวข้องกับความหนาแน่นของจุลินทรีย์ภายในถังเติมอากาศ (MLSS เฉลี่ย 2,275 มิลลิกรัม/ลิตร) ซึ่งมีอิทธิพลโดยตรงกับการถ่ายทอดยีนดื้อยาปฏิชีวนะ โดยสังเกตเพิ่มเติมได้จากการพบรูปแบบการแสดงออกของอีโคไลที่ดื้อยาในกลุ่ม Beta-lactams คงอยู่มากกว่ายาในกลุ่มอื่น ทั้งนี้เพราะการดื้อยาในกลุ่มดังกล่าวในแบคทีเรียแกรมลบ เช่น อีโคไล ส่วนใหญ่พบว่ามีการผลิตเอนไซม์ beta-lactamase เพื่อย่อยสลายวงแหวน beta-lactam ส่งผลให้ยาหมดฤทธิ์ (Rupp and Fey, 2003) ซึ่งยีนที่ทำหน้าที่ควบคุมกลไกดังกล่าวสามารถถ่ายทอดไปยังแบคทีเรียที่มีลักษณะสายพันธุ์ใกล้เคียงกันผ่านกระบวนการถ่ายทอดยีน (Horizontal gene transfer) ซึ่งมีโอกาสเกิดขึ้นมากเมื่ออยู่ในสภาวะที่มีประชากรแบคทีเรียอยู่ร่วมกันอย่างหนาแน่น (Kelly et al., 2009; Reinthaler et al., 2010)

### การดื้อยาปฏิชีวนะของอีโคไลที่คัดแยกจากกระบวนการฆ่าเชื้อด้วยการเติมคลอรีน

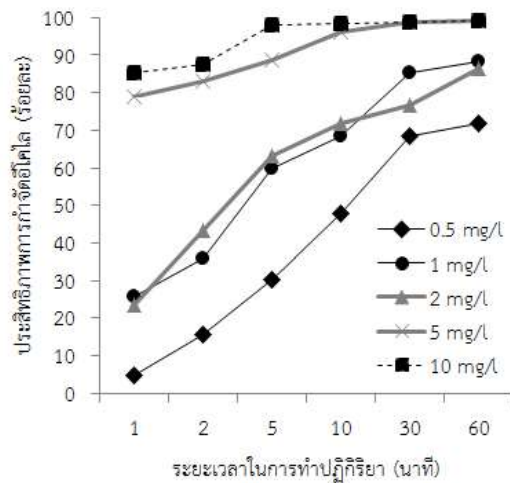
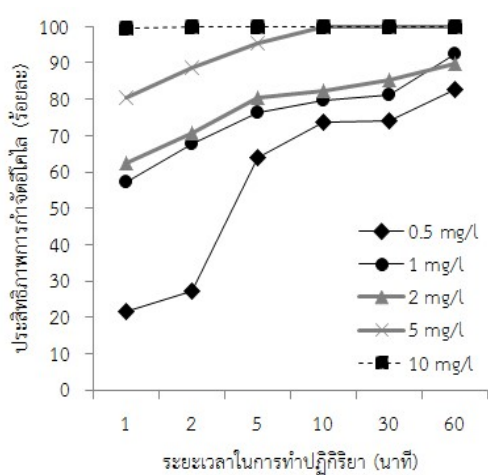
จากการนำเสนอข้อมูลการดื้อยาปฏิชีวนะที่พบในระบบบำบัดน้ำเสียทางชีวภาพที่ทำการศึกษาค้นพบว่าระบบดังกล่าว มีประสิทธิภาพสูงในการกำจัดแบคทีเรียก่อโรคในรูปอีโคไล (เฉลี่ยร้อยละ 98.7) ถึงแม้ว่าอีโคไลที่เหลือรอดจากกระบวนการบำบัดน้ำเสียจะมีปริมาณต่ำ (ค่าเฉลี่ย  $3.64 \times 10^1$  CFU/ml) แต่อีโคไลดังกล่าวร้อยละ 92 ยังจัดเป็นอีโคไลที่มีคุณสมบัติดื้อยาปฏิชีวนะ โดยมีระดับความรุนแรงของการดื้อยาลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับอีโคไลที่คัดแยกมาจากน้ำเสียก่อนเข้าสู่ระบบบำบัด แต่อย่างไรก็ตามระบบบำบัดน้ำเสียที่ทำการศึกษาไม่มีกระบวนการฆ่าเชื้อก่อนการปล่อยน้ำเสียที่ผ่านการบำบัดออกสู่แหล่งภายนอก ในการนี้จึงได้ทำการจำลองกระบวนการฆ่าเชื้อด้วยการเติมคลอรีน (Chlorination) เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของกระบวนการในการกำจัดแบคทีเรียก่อโรค และศึกษารูปแบบการดื้อยาปฏิชีวนะที่เปลี่ยนแปลงไปภายใต้กระบวนการดังกล่าว ซึ่งในที่นี่เป็นประเด็นที่มีความสำคัญเพราะอีโคไลซึ่งเป็นแบคทีเรียตัวแทนในการศึกษาส่วนใหญ่มีคุณสมบัติดื้อยาปฏิชีวนะ (ร้อยละ 95.7) อีกทั้งคลอรีนยังจัดเป็นสารเคมีประเภทที่สามารถเหนี่ยวนำให้แบคทีเรียก่อเกิดคุณสมบัติดื้อยาขึ้นได้ (Jia et al., 2015) โดยมีการรายงานพบเหตุการณ์ดังกล่าวภายใต้สภาวะของระบบบำบัดน้ำเสียชุมชนเช่นกัน (Bouki et al., 2013)

ในการศึกษานี้ได้ทำการจำลองน้ำเสียสังเคราะห์ที่มีคุณสมบัติใกล้เคียงกับน้ำเสียที่ผ่านการบำบัดจากระบบบำบัดน้ำเสียตัวแทน โดยมีปริมาณสารอินทรีย์ในรูปคาร์บอน (total organic carbon, TOC) 10-15 มิลลิกรัม/ลิตร และปริมาณไนโตรเจน (total nitrogen, TN) 80-120

มิลลิกรัม/ลิตร โดยในที่นี้ใช้อีโคไลตัวแทนจำนวน 3 สายพันธุ์มาทำการทดสอบ ได้แก่ อีโคไล TISTR780 และอีโคไลดื้อยาปฏิชีวนะที่ทำการคัดแยกได้จากน้ำเสียที่ผ่านการบำบัดออกจากระบบบำบัดน้ำเสียชุมชน จำนวน 2 สายพันธุ์ (อีโคไล-E1 และอีโคไล-E2) การทดสอบนี้ใช้คลอรีนเริ่มต้นใน ระดับความเข้มข้น 0.5, 1.0, 2.0, 5.0 และ 10.0 มิลลิกรัม/ลิตร โดยใช้ระยะเวลาในการทำปฏิกิริยาที่ 1, 2, 5, 10, 30, และ 60 นาที รวมทั้งหมด 90 ชุดการทดสอบ ซึ่งผลการศึกษาประสิทธิภาพของ กระบวนการฆ่าเชื้อด้วยการเติมคลอรีนแสดงดังภาพที่ 4.3 ซึ่งผลการศึกษาในภาพรวมพบว่าอีโคไลทั้ง 3 สายพันธุ์ที่ทำการทดสอบ มีการตอบสนองต่อคลอรีนที่แตกต่างกันไป โดยอีโคไล-E2 มีความไวต่อ คลอรีนมากที่สุดในขณะที่อีโคไล-E1 ทนทานต่อคลอรีนโดยต้องใช้ปริมาณคลอรีนและระยะเวลาที่ มากกว่าในการทำปฏิกิริยาเพื่อกำจัดอีโคไลดังกล่าว ทั้งนี้อาจสืบเนื่องมาจากอีโคไล-E1 จัดเป็นอีโคไล ที่ดื้อยาปฏิชีวนะจำนวน 8 ชนิด ในขณะที่อีโคไล-E2 ดื้อยา 4 ชนิด โดยการที่อีโคไล-E1 มีคุณสมบัติ ทนทานต่อคลอรีนและดื้อยาปฏิชีวนะหลายชนิด (multi-drug resistant bacteria) อาจสามารถสรุป ได้ว่าเกิดกระบวนการ co-resistant คืออาจจะมีกลไกการดื้อยาบางกลไกที่อีโคไล-E1 สามารถใช้ ร่วมกับการออกฤทธิ์เพื่อต้านทานคลอรีน ตัวอย่างเช่น กระบวนการ Efflux pump ซึ่งเป็นการขับสาร ที่เป็นพิษต่อเซลล์ออกสู่ภายนอกเพื่อเป็นการปรับสภาพเซลล์ให้เข้ากับสภาวะแวดล้อม เป็นต้น (Bonomo and Gill, 2005; Marquez, 2005)

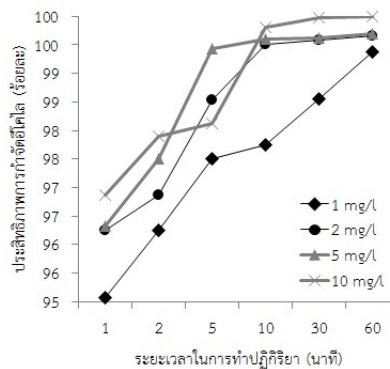
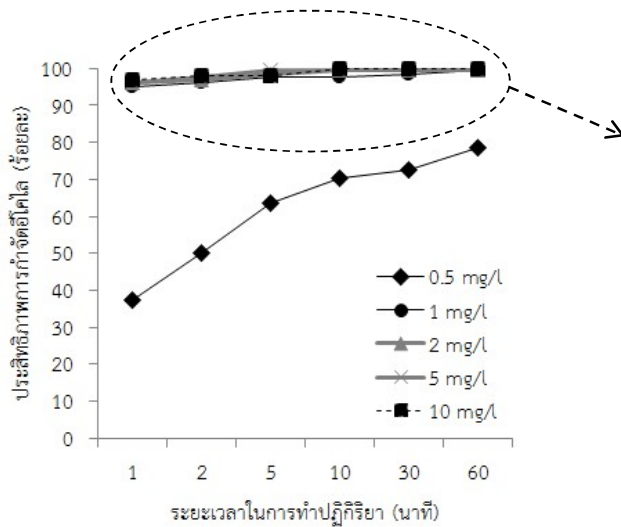
จากผลการศึกษาซึ่งแสดงในภาพที่ 4.3 พบว่าการใช้คลอรีนที่ระดับความเข้มข้น 5 และ 10 มิลลิกรัม/ลิตร ภายใต้ระยะเวลาในการทำปฏิกิริยาในช่วง 1-10 นาที ให้ประสิทธิภาพสูง (ร้อยละ 79.0-99.8, เฉลี่ยร้อยละ 93.9) ในการกำจัดแบคทีเรียก่อโรค (อีโคไล-E1 และ E-2) เมื่อเปรียบเทียบกับ การใช้คลอรีนที่ระดับความเข้มข้นต่ำกว่า (0.5, 1 และ 2 มิลลิกรัม/ลิตร) ในระยะเวลาช่วงเดียวกัน (ร้อยละ 4.7-99.5, เฉลี่ยร้อยละ 62.0) เมื่อพิจารณาเพิ่มเติมเฉพาะการกำจัดอีโคไลในน้ำเสีย สังกะหรณ์ที่ใช้คลอรีนที่ระดับความเข้มข้นต่ำจะพบว่าระยะเวลาในการทำปฏิกิริยาที่ 30 และ 60 นาที ส่งผลในทิศทางที่ดีต่อการกำจัดอีโคไล โดยมีค่าเฉลี่ยอยู่ที่ร้อยละ 83.6 (ร้อยละ 68.5-99.6) และ 87.3 (ร้อยละ 71.9-99.7) ตามลำดับ

นอกจากนี้ยังพบว่า อีโคไล-E1 จัดเป็นอีโคไลสายพันธุ์ที่มีระดับการดื้อยาสูงที่สุดเมื่อ เปรียบเทียบกับอีโคไลที่คัดแยกมาจากน้ำเสียที่ผ่านการบำบัด โดยพบเพียงร้อยละ 1 ในขณะที่อีโคไล-E2 จัดเป็นสายพันธุ์ที่ดื้อยาปฏิชีวนะในระดับกลางๆ (เมื่อเปรียบเทียบระหว่างผลการศึกษาในครั้ง นี้) หรือดื้อยา 4 ชนิด ซึ่งในจุดเก็บตัวอย่างดังกล่าวพบในอัตราส่วนร้อยละ 17 ซึ่งมีโอกาสพบได้ ทั่วไปมากกว่าอีกกรณี ดังนั้นในการทดสอบชุดถัดไปจึงได้ทำการคัดเลือกอีโคไล-E2 มาทำการศึกษ ต่อเนื่อง (อีโคไล TISTR780 เป็นชุดทดสอบควบคุม) โดยได้ทำการเลือกสภาวะต่างๆที่มีความ เหมาะสมมาทำการทดสอบซึ่งประกอบไปด้วย 1) ระดับความเข้มข้นของสารละลายคลอรีนตั้งต้น ในช่วง 1 และ 2 มิลลิกรัม/ลิตร 2) ระยะเวลาในการทำปฏิกิริยา Chlorination ที่ 30 และ 60 นาที และ 3) การเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติการดื้อยาของอีโคไลภายหลังการทำปฏิกิริยา และทิ้งไว้เป็น ระยะเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง โดยผลการศึกษาแสดงดังตารางที่ 4.4



ภาพที่ 4.3 (ก)

ภาพที่ 4.3 (ข)



ภาพที่ 4.3 (ค)

ภาพที่ 4.3 แสดงผลการศึกษาประสิทธิภาพการกำจัดคลอโรฟิลล์ภายใต้กระบวนการฆ่าเชื้อด้วยการเติมคลอรีน โดยภาพที่ 4.3 (ก) ทดสอบในอีโคไล TISTR780 ภาพที่ 4.3 (ข) ทดสอบอีโคไล-E1 และภาพที่ 4.3 (ค) ทดสอบในอีโคไล-E2

ตารางที่ 4.4 แสดงข้อมูลระดับการดื้อยาปฏิชีวนะของอีโคไลที่คัดแยกจากระบบบำบัดน้ำเสียชุมชน และนำมาทดสอบภายใต้กระบวนการฆ่าเชื้อด้วยการเติมคลอรีน

อีโคไล ที่ทำการทดสอบ	ชุดการทดสอบ	ระดับการดื้อยาปฏิชีวนะ (ค่า MAR index)		
		0 ชั่วโมง	24 ชั่วโมง	48 ชั่วโมง
อีโคไล TISTR780 (n=5)	คลอรีน 1 มก./ลิตร, 30 นาที	0.255	0.091	0.109
อีโคไล TISTR780 (n=5)	คลอรีน 1 มก./ลิตร, 60 นาที	0.145	0.091	0.145
อีโคไล TISTR780 (n=5)	คลอรีน 2 มก./ลิตร, 30 นาที	0.200	0.091	0.091
อีโคไล TISTR780 (n=5)	คลอรีน 2 มก./ลิตร, 60 นาที	0.091	0.109	0.109
อีโคไล-E2 (n=5)	คลอรีน 1 มก./ลิตร, 30 นาที	0.636	0.545	0.436
อีโคไล-E2 (n=5)	คลอรีน 1 มก./ลิตร, 60 นาที	0.545	0.509	0.455
อีโคไล-E2 (n=5)	คลอรีน 2 มก./ลิตร, 30 นาที	0.491	0.382	0.382
อีโคไล-E2 (n=5)	คลอรีน 2 มก./ลิตร, 60 นาที	0.509	0.455	0.327

หมายเหตุ ค่า MAR index เป็นค่าดัชนีชี้วัดภาพรวมการดื้อยาปฏิชีวนะของแบคทีเรีย โดยก่อนทำการทดสอบอีโคไล TISTR780 และอีโคไล-E2 มีค่า MAR index อยู่ที่ 0.091 และ 0.473 ตามลำดับ

จากตารางที่ 4.4 ซึ่งเป็นการนำเสนอรูปแบบการดื้อยาของอีโคไลที่เปลี่ยนแปลงไปภายหลังจากผ่านกระบวนการฆ่าเชื้อด้วยการเติมคลอรีนในลักษณะของค่า MAR index ซึ่งเป็นค่ารวมของการดื้อยาทั้ง 11 ชนิดที่ทำการทดสอบ ในอีโคไลจำนวน 5 โคโลนีที่ทำการคัดแยกจากชุดการทดสอบแต่ละชุด ซึ่งผลจากการทดสอบพบว่าอีโคไลที่ทำการคัดแยกจากน้ำเสียที่ผ่านการบำบัดแล้ว (อีโคไล-E2) มีระดับการดื้อยาปฏิชีวนะเพิ่มขึ้นภายหลังจากการสัมผัสกับคลอรีนในทุกชุดการทดสอบ โดยก่อนการทดสอบมีค่า MAR index อยู่ที่ 0.473 ภายหลังจากการทำปฏิกิริยากับคลอรีนมีค่าอยู่ในช่วง 0.491-0.636 โดยที่ระดับความเข้มข้นของคลอรีนที่ต่ำ (1 มิลลิกรัม/ลิตร) มีอิทธิพลต่อการเปลี่ยนแปลงรูปแบบการดื้อยามากกว่า แต่อย่างไรก็ตามเมื่อทำการทดสอบกับอีโคไลที่ใช้เป็นชุดควบคุม (อีโคไล TISTR780) พบว่า คลอรีนเหนี่ยวนำอีโคไลดังกล่าวให้เกิดการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติการดื้อยาเล็กน้อยจากค่า MAR index เริ่มต้น 0.091 เปลี่ยนแปลงไปอยู่ที่ระดับ 0.145-0.255 ในขณะที่บางชุดการทดสอบไม่มีการเปลี่ยนแปลงเกิดขึ้น (ความเข้มข้นคลอรีนเริ่มต้น 2 มิลลิกรัม/ลิตร เวลา 60 นาที)

นอกจากนี้ยังมีการทดสอบรูปแบบการดื้อยาปฏิชีวนะที่เปลี่ยนแปลงไปภายหลังจากผ่านกระบวนการเติมคลอรีน (0 ชั่วโมง) และเมื่อตั้งทิ้งไว้เป็นระยะเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง โดยใช้ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของ Clear zone อีโคไลรอบเม็ดยาเป็นอีกหนึ่งตัวชี้วัดควบคู่ไปกับค่า MAR index ซึ่งมีรายละเอียดเพิ่มเติมแสดงดังตารางที่ 4.5 ซึ่งผลการศึกษเป็นไปในทิศทางเดียวกันกับค่า MAR index คืออีโคไล-E2 ที่ทำการทดสอบมีแนวโน้มพบระดับการดื้อยาปฏิชีวนะมีค่าลดลงตามระยะเวลาที่ทำการหยุดปฏิกิริยากับการเติมคลอรีน (ซึ่งในอีโคไล TISTR780 ก็มีแนวโน้มเป็นไปในลักษณะ

เช่นเดียวกัน) สังเกตได้จากการที่ค่า MAR index ในอีโคโลมีค่าลดลง โดยมีค่า 0.491-0.636 ภายหลังจากเสร็จสิ้นกระบวนการเติมคลอรีน และมีค่าลดลงอยู่ในช่วง 0.382-0.545 และ 0.327-0.455 ที่ระยะเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง ตามลำดับ (ตารางที่ 4.4) นอกจากนี้เมื่อพิจารณาจากค่าเฉลี่ยขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง Clear zone ของอีโคโลรอบเม็ดยาที่ทำการทดสอบ จะพบว่ามีความเพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับระยะเวลา โดยการที่เส้นรอบวงดังกล่าวเพิ่มขึ้นขนาดเป็นตัวชี้วัดถึงระดับความไวต่อยาปฏิชีวนะของอีโคโล (สังเกตได้จากผลการศึกษาในตารางที่ 4.5 เมื่อระยะเวลาเพิ่มขึ้นความแตกต่างของขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเมื่อเปรียบเทียบกับก่อนทำการทดสอบส่วนใหญ่จะอยู่ในโซน +)

จากผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่านอกจากคลอรีนที่ใช้ในการฆ่าเชื้อจะเหนี่ยวนำให้อีโคโลที่เหลืรอดหรืออาจกล่าวได้ว่าเป็นอีโคโลที่มีความทนต่อคลอรีนเกิดการดื้อยาปฏิชีวนะในระดับที่เพิ่มขึ้นแล้วนั้น ภายหลังจากการสัมผัสกับคลอรีนเมื่อตั้งอีโคโลดังกล่าวทิ้งไว้ที่ระยะเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง อีโคโลที่เหลืรอดมีคุณสมบัติการดื้อยาลดระดับลง โดยอีโคโล-E2 ลดปริมาณลงร้อยละ 86.8-95.9 ที่ 24 ชั่วโมง และร้อยละ 90.3-98.1 ที่ 48 ชั่วโมง เมื่อเปรียบเทียบกับช่วงหยุดปฏิบัติการเติมคลอรีน ในส่วนของรูปแบบการดื้อยาของอีโคโลจะพบว่าการเปลี่ยนแปลงไปอย่างมีนัยสำคัญ โดยเฉพาะในช่วงหลังจากผ่านกระบวนการเติมคลอรีน (0 ชั่วโมง) และนอกจากนี้เมื่อพิจารณาเพิ่มเติมถึงชนิดของยาปฏิชีวนะที่ทำการทดสอบในอีโคโล ส่วนใหญ่จะพบการดื้อยาปฏิชีวนะในชนิด Tetracycline, Chloramphenicol, Sulfamethoxazole/Trimethoprim, Ampicillin, Cefuroxime และ Ceftazidime ซึ่งผลการศึกษาบางส่วนสอดคล้องกับงานวิจัยของ Rizzo et al. (2013a) ที่พบว่าอีโคโลที่ดื้อต่อยา Ampicillin และ Trimethoprim จะทนทานต่อคลอรีนมากกว่าอีโคโลที่มีความไวต่อยาดังกล่าว อีกทั้ง Huang et al. (2013) ยังพบว่าภายหลังจากกระบวนการเติมคลอรีนในน้ำดื่มมีอัตราส่วนของอีโคโลที่ดื้อยา tetracycline เพิ่มขึ้น

กล่าวโดยสรุปคือ การฆ่าเชื้อด้วยกระบวนการเติมคลอรีนในขั้นตอนสุดท้ายของการบำบัดน้ำเสียชุมชนเป็นวิธีการหนึ่งที่มีประสิทธิภาพและสามารถดำเนินการได้สะดวก แต่เมื่อพิจารณาในประเด็นของความเสี่ยงต่อสุขภาพนอกจากจะประสบปัญหาด้านเป็นกระบวนการที่ก่อให้เกิด disinfection by-products (DBPs) แล้ว (Li et al., 2016) ยังส่งผลให้แบคทีเรียที่เหลืรอดมีคุณสมบัติการดื้อยาปฏิชีวนะที่เพิ่มสูงขึ้น ซึ่งค่อนข้างมีความเสี่ยงต่อผู้บริโภคที่มีโอกาสสัมผัสกับน้ำดังกล่าว ซึ่งการกักพักน้ำที่ผ่านกระบวนการฆ่าเชื้อด้วยคลอรีนไว้ในระยะเวลาหนึ่งน่าจะช่วยลด/ควบคุมความเสี่ยงดังกล่าวได้อีกช่องทางหนึ่ง

### **การดื้อยาปฏิชีวนะของอีโคโลที่คัดแยกจากกระบวนการฆ่าเชื้อด้วยกระบวนการโฟโตคะตะไลติกที่ใช้ไทเทเนียมไดออกไซด์เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา**

จากการดำเนินงานในส่วนก่อนหน้าที่ได้ทำการทดสอบประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อด้วยกระบวนการเติมคลอรีนโดยใช้ น้ำเสียชุมชนที่ผ่านการบำบัดเป็นกรณีศึกษา พบว่ากระบวนการดังกล่าวมีประสิทธิภาพสูงในการกำจัดอีโคโลที่เป็นแบคทีเรียตัวแทน แต่อีโคโลที่เหลืรอดมีคุณสมบัติที่ดื้อยาปฏิชีวนะเพิ่มสูงขึ้น ดังนั้น ในการศึกษาส่วนนี้จึงได้ทำการออกแบบการทดลองเพิ่มเติมเพื่อทำการเปรียบเทียบประสิทธิภาพการกำจัดแบคทีเรีย และรูปแบบการดื้อยาที่เปลี่ยนแปลงไปด้วยการ

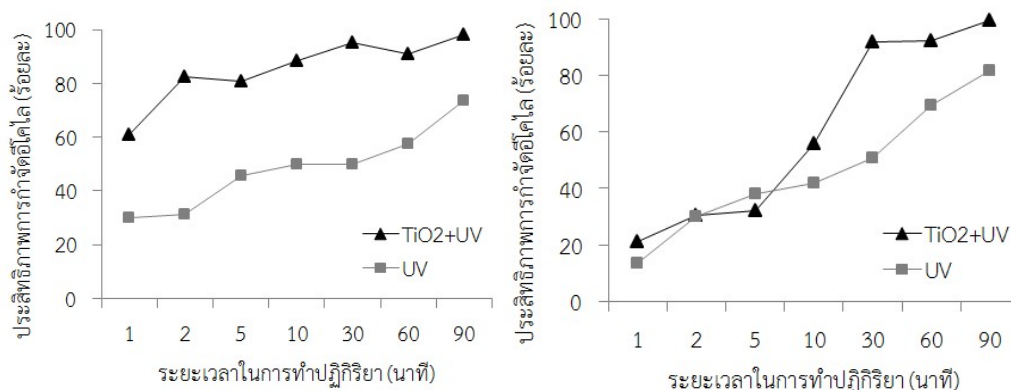
ใช้กระบวนการโฟโตคะตะไลติกที่มีไทเทเนียมไดออกไซด์เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ซึ่งการทดสอบนี้ได้ทำการจำลองน้ำเสียสังเคราะห์ และใช้อิโคไลตัวแทนจำนวน 3 สายพันธุ์เช่นเดียวกันกับการทดสอบภายใต้กระบวนการ Chlorination โดยการทำปฏิกิริยาดำเนินการในถังปฏิกรณ์โฟโตคะตะไลติกขนาดเล็ก และใช้เวลาในการทำปฏิกิริยาที่ 1, 2, 5, 10, 30, 60 และ 90 นาที อีกทั้งมีการทดสอบเปรียบเทียบกับสภาวะที่ไม่มีไทเทเนียมไดออกไซด์เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา รวมจำนวน 42 ชุดการทดสอบ ซึ่งผลการศึกษาประสิทธิภาพของกระบวนการฆ่าเชื้อด้วยกระบวนการโฟโตคะตะไลติกที่ใช้ไทเทเนียมไดออกไซด์เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาแสดงดังภาพที่ 4.4

จากผลการทดสอบประสิทธิภาพการกำจัดแบคทีเรียตัวแทน (อีโคไล) ด้วยกระบวนการออกซิเดชันขั้นสูง (AOPs) ดังภาพที่ 4.4 เมื่อเปรียบเทียบกระบวนการฆ่าเชื้อระหว่างการฉายแสงยูวีเพียงอย่างเดียวกับกระบวนการใช้แสงยูวีเพื่อไปกระตุ้นการทำงานของไทเทเนียมไดออกไซด์ที่เคลือบติดบนชั้นผิวของวัสดุที่ใช้ในการทดสอบครั้งนี้ ผลการทดสอบพบว่าชุดการทดสอบที่มีไทเทเนียมไดออกไซด์ในปฏิกิริยาให้ประสิทธิภาพในการกำจัดแบคทีเรียก่อโรคที่สูงกว่า โดยมีค่าเฉลี่ยรวมในการกำจัดอีโคไล-E1 และ E2 อยู่ที่ร้อยละ 60.5 (ร้อยละ 21.3-99.4) และร้อยละ 65.9 (ร้อยละ 37.9-97.0) ตามลำดับ ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับชุดการทดสอบที่ใช้เฉพาะแสงยูวีในปฏิกิริยาจะพบค่าประสิทธิภาพการกำจัดอีโคไล-E1 และ E2 โดยเฉลี่ยอยู่ที่ร้อยละ 46.5 (ร้อยละ 13.4-81.7) และร้อยละ 35.5 (ร้อยละ 11.3-52.9) ตามลำดับ นอกจากนี้ยังพบว่า กระบวนการโฟโตคะตะไลติกที่มีไทเทเนียมไดออกไซด์เป็นตัวเร่งปฏิกิริยามีประสิทธิภาพในการกำจัดอีโคไลทั้ง 2 สายพันธุ์ (อีโคไล-E1 และ E2) ในระดับมากกว่าร้อยละ 80 ที่ระยะเวลาทำปฏิกิริยา 30-90 นาที (ร้อยละ 91.6-99.4) และ 60-90 นาที (ร้อยละ 80.4-97.0) ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Xiong and Hu (2013) ที่ระบุว่าระยะเวลามากกว่า 90 นาที เป็นต้นไปสามารถกำจัดอีโคไลได้ดี อีกทั้งระยะเวลายังมีผลต่อการกำจัดแบคทีเรีย (Tsai et al., 2010) ส่วนการพิจารณาเปรียบเทียบผลการศึกษารังนี้กับชุดทดสอบควบคุมที่ใช้อีโคไล TISTR780 เป็นตัวทดสอบพบว่า อีโคไลดังกล่าวมีความไวต่อปฏิกิริยามากกว่าอีโคไลที่คัดแยกจากระบบบำบัดน้ำเสียชุมชน (ประสิทธิภาพการกำจัดโดยเฉลี่ยอยู่ที่ร้อยละ 85.2) ทั้งนี้ อาจเนื่องมาจากอีโคไล-E1 และ E2 จัดเป็นอีโคไลที่ดื้อยาปฏิชีวนะหลายชนิด (Multi-drug resistant *E. coli*) ดังนั้น จึงอาจมีความเป็นไปได้ว่ากลไกการต้านทานการดื้อยาบางกลไกอาจมีความสัมพันธ์กับการทนทานต่อกระบวนการโฟโตคะตะไลติกที่มีไทเทเนียมไดออกไซด์เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาจึงส่งผลต่อปรากฏดังกล่าว

ตารางที่ 4.5 แสดงการเปลี่ยนแปลงค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางรอบเม็ดยาปฏิชีวนะ (Clear zone) ที่ใช้ทำการทดสอบความไวต่อยาในอีโคไล (E2) ภายหลังจากการทดสอบภายใต้กระบวนการฆ่าเชื้อด้วยการเติมคลอรีน

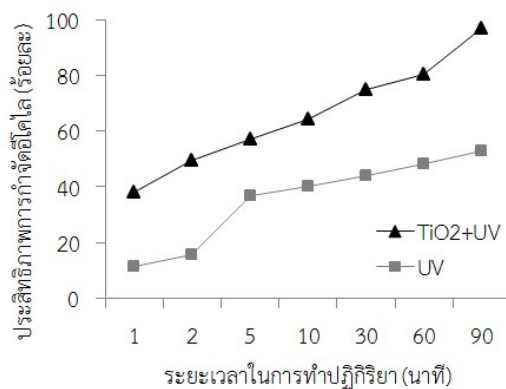
ยาปฏิชีวนะ	ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลาง Clear zone ของอีโคไล (E2) ที่เปลี่ยนแปลงไป <sup>1</sup>											
	คลอรีน 1 มก./ล. 30 น.			คลอรีน 1 มก./ล. 60 น.			คลอรีน 2 มก./ล. 30 น.			คลอรีน 2 มก./ล. 60 น.		
	0 <sup>2</sup>	24	48	0	24	48	0	24	48	0	24	48
Gentamicin	-0.6	-0.2	+0.2	-0.2	+0.4	+2.2	+0.2	+1.4	+1.6	-0.6	+0.8	+1.6
Tetracycline	-0.4	-0.4	+0.4	-1.2	+0.4	+0.8	-1.4	+0.8	+0.8	-2.2	0.0	+1.4
Chloramphenicol	+0.2	-0.2	+0.4	+0.6	0.0	-0.4	0.0	-0.2	+1.4	-0.6	-0.8	+2.8
Ciprofloxacin	-5.6	-1.4	-0.6	-3.6	-0.4	0.0	-3.2	-1.6	+0.8	-3.6	-0.2	+1.8
Norfloxacin	-7.2	-1.4	+0.2	-5.2	-0.6	+0.4	-2.6	-1.2	+2.0	-6.6	-0.8	+2.6
Sulfamethoxazole /Trimethoprim	-1.0	-0.6	+0.6	-1.0	-0.4	-0.6	-1.0	-1.0	+2.0	-1.0	-0.6	+2.6
Fosfomycin	-2.0	0.0	-0.2	-6.4	-0.8	+2.2	-1.8	+0.2	+1.0	-0.4	+0.8	0.0
Cefuroxime	-2.6	-0.2	-1.0	-5.6	-0.4	+3.2	0.0	+2.6	-3.6	0.0	+1.4	-1.6
Cefotaxime	-0.6	-1.8	-0.6	-1.2	-1.8	+2.2	-0.2	+2.2	+1.2	-1.0	+0.2	+2.0
Cetazidime	-0.6	-1.4	-0.6	-0.4	-1.2	+2.2	-0.6	+0.6	+2.2	-0.2	-0.2	+3.8
Ampicillin	-0.6	-0.6	+1.0	-1.0	-0.6	+0.2	-1.0	-0.8	-0.8	-1.0	-0.6	+1.4
t-test <sup>3</sup> (95%)	0.012	0.001	0.396	0.005	0.015	0.008	0.005	0.266	0.076	0.012	0.500	0.002

หมายเหตุ <sup>1</sup>ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของ Clear zone ที่เปลี่ยนแปลงไปในแต่ละชุดทดสอบได้ทำการเปรียบเทียบกับค่าที่วิเคราะห์ได้ในอีโคไล E2 ก่อนเริ่มทำการทดสอบ โดยค่าเป็นลบ (-) (สีเทาอ่อน/เทาเข้ม) แสดงถึงขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางลดลง/ระดับความไวต่อยาลดลงหรือพัฒนาไปสู่การดื้อยา ส่วนค่าเป็นบวก (+) (สีขาว) แสดงถึงขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเพิ่มขึ้น/ระดับความไวต่อยาเพิ่มขึ้น, <sup>2</sup>ระยะเวลาที่พักตัวอย่างน้ำไว้ก่อนนำไปทดสอบ และ <sup>3</sup>การประเมินความแตกต่างของรูปแบบการดื้อยาในอีโคไล E2 โดยเปรียบเทียบระหว่างในแต่ละชุดการทดสอบกับรูปแบบการดื้อยาของอีโคไล E-2 ก่อนเริ่มทดสอบ



ภาพที่ 4.4 (ก)

ภาพที่ 4.4 (ข)



ภาพที่ 4.4 (ค)

**ภาพที่ 4.4** แสดงผลการศึกษาประสิทธิภาพการกำจัดคลอรีนภายใต้กระบวนการฆ่าเชื้อด้วยกระบวนการโฟโตคะตะไลติกที่ใช้ไทเทเนียมไดออกไซด์เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา โดยภาพที่ 4.4 (ก) ทดสอบในอีโคล TISTR780 ภาพที่ 4.4 (ข) ทดสอบอีโคล-E1 และภาพที่ 4.4 (ค) ทดสอบในอีโคล-E2

ในภาพรวมแสดงให้เห็นว่า ไทเทเนียมไดออกไซด์เป็นสารที่มีบทบาทสำคัญในการช่วยส่งเสริมกระบวนการ AOPs (Monteiro et al., 2015) โดยเฉพาะในรูปแบบที่มีการเคลือบติดอยู่ที่ผิววัสดุ (จัดเป็นรูปแบบที่นำไปประยุกต์ใช้งานได้ง่ายกว่ารูปแบบที่แขวนลอยในสารละลายที่ต้องการบำบัดมลพิษรูปแบบต่างๆ) เมื่อพิจารณาเฉพาะการฆ่าเชื้อด้วยกระบวนการโฟโตคะตะไลติกที่ใช้ไทเทเนียมไดออกไซด์เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา เพื่อให้ทราบถึงความเป็นไปได้ของการใช้กระบวนการ AOPs เพื่อกำจัดคลอรีนเป็นขั้นตอนสุดท้ายของกระบวนการกำจัดน้ำเสีย ดังนั้น จึงได้ทำการศึกษาต่อเนื่องในลักษณะเช่นเดียวกันกับการศึกษากระบวนการเติมคลอรีนโดยใช้อีโคล-E2 (อีโคล TISTR780 เป็นชุดทดสอบควบคุม) อีกทั้งเลือกระยะเวลาในการทำปฏิกิริยาที่ 30 และ 60 นาที มาทำการทดสอบอีกทั้งยังมีการศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติการดื้อยาปฏิชีวนะที่เปลี่ยนแปลงไป

ของอีโคไลภายหลังผ่านการทำปฏิกิริยาเป็นระยะเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง ซึ่งผลการศึกษาแสดงดังตารางที่ 4.6

**ตารางที่ 4.6** แสดงข้อมูลระดับการดื้อยาปฏิชีวนะของอีโคไลที่คัดแยกจากระบบบำบัดน้ำเสียชุมชน ภายใต้กระบวนการโฟโตคะตะไลติกที่ใช้ไทเทเนียมไดออกไซด์เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา

อีโคไล ที่ทำการทดสอบ	ชุดการทดสอบ	ระดับการดื้อยาปฏิชีวนะ (ค่า MAR index)		
		0 ชั่วโมง	24 ชั่วโมง	48 ชั่วโมง
อีโคไล TISTR780 (n=5)	30 นาที	0.145	0.109	0.145
อีโคไล TISTR780 (n=5)	60 นาที	0.127	0.109	0.109
อีโคไล-E2 (n=5)	30 นาที	0.436	0.436	0.418
อีโคไล-E2 (n=5)	60 นาที	0.491	0.473	0.418

หมายเหตุ ค่า MAR index เป็นค่าดัชนีชี้วัดภาพรวมการดื้อยาปฏิชีวนะของแบคทีเรีย โดยก่อนทำการทดสอบอีโคไล TISTR780 และอีโคไล-E2 มีค่า MAR index อยู่ที่ 0.091 และ 0.473 ตามลำดับ

โดยจากตารางที่ 4.6 สามารถสรุปในเบื้องต้นได้ว่า กระบวนการ AOPs มีอิทธิพลต่อการเปลี่ยนแปลงรูปแบบการดื้อยาปฏิชีวนะของอีโคไลที่ทำการทดสอบเช่นเดียวกับกระบวนการ Chlorination คือก่อเกิดการปรับสภาพภายในเซลล์เพื่อการอยู่รอดส่งผลให้ระดับการดื้อยาโดยรวมเพิ่มระดับสูงขึ้น แต่ในกรณีของกระบวนการ AOPs พบระดับการดื้อยาโดยรวมในรูปของค่า MAR index เพิ่มสูงขึ้นเล็กน้อยจาก 0.473 เป็น 0.436-0.491 และมีระดับการดื้อยาคงเดิมถึงลดลงเล็กน้อยเมื่อมีการกักพื้กน้ำเสียที่ผ่านกระบวนการดังกล่าวทิ้งไว้ 24-48 ชั่วโมง (MAR index มีค่า 0.418-0.473) อีกทั้งปริมาณอีโคไลที่เหลือรอดจากกระบวนการฆ่าเชื้อยังมีปริมาณลดลงอีกร้อยละ 78.2-86.9 (คำนวณเปรียบเทียบกับปริมาณอีโคไลที่เหลือรอดหลังจากเสร็จสิ้นการทำปฏิกิริยา) แต่อย่างไรก็ตามการทดสอบในชุดควบคุม พบว่ากระบวนการโฟโตคะตะไลติกที่มีไทเทเนียมไดออกไซด์เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาเหนี่ยวนำอีโคไล TISTR780 ก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติการดื้อยาเล็กน้อยจากค่า MAR index เริ่มต้น 0.091 เปลี่ยนแปลงไปอยู่ที่ระดับ 0.127-0.145 และค่อยๆลดคุณสมบัติการดื้อยาลงเมื่อมีการกักพื้กน้ำเสียตัวอย่าง (24-48 ชั่วโมง) ไว้ (MAR index มีค่า 0.109-0.145) นอกจากนี้ยังพบว่า อีโคไล (E1 และ E2) ที่ทำการคัดแยกมาทดสอบความไวต่อยา ส่วนใหญ่จะปรากฏผลการดื้อต่อยาปฏิชีวนะชนิด Tetracycline, Chloramphenicol, Sulfamethoxazole/Trimethoprim, Ampicillin, Cefuroxime และ Ceftazidime ในระดับสูง โดยในส่วนของ การดื้อยา tetracycline ที่เพิ่มระดับสูงขึ้น ได้สอดคล้องกับผลการทดสอบของ Rizzo et al. (2014) ที่ได้ทำการทดสอบโดยใช้อีโคไลที่คัดเลือกจากน้ำเสียชุมชนที่ผ่านการบำบัดด้วยกระบวนการทางชีวภาพเช่นเดียวกัน

นอกจากนี้ยังมีการทดสอบรูปแบบการดื้อยาปฏิชีวนะที่เปลี่ยนแปลงไปภายหลังผ่านกระบวนการโฟโตคะตะไลติกที่มีการใช้ไทเทเนียมไดออกไซด์เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา (0 ชั่วโมง) และเมื่อตั้งทิ้งไว้เป็นระยะเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง โดยใช้ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของ Clear zone อีโคไล รอบเม็ดยาปฏิชีวนะเป็นอีกหนึ่งตัวชี้วัดควบคู่ไปกับค่า MAR index ซึ่งมีรายละเอียดเพิ่มเติมแสดงดังตารางที่ 4.7 โดยผลการศึกษามีแนวโน้มเป็นไปในทิศทางเดียวกันกับผลการศึกษาในส่วนของค่า MAR index กล่าวคือ อีโคไล-E2 ที่ทำการทดสอบมีระดับการดื้อยาเพิ่มขึ้นภายหลังผ่านกระบวนการโฟโตคะตะไลติก (0 ชั่วโมง) ซึ่งสังเกตได้จากขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง Clear zone รอบเม็ดยาของอีโคไลมีขนาดโดยเฉลี่ยลดลง โดยเฉพาะในยาชนิด Fosfomycin, Cefuroxime และ Cefotaxime นอกจากนี้ในกรณีที่มีการกักพักน้ำตัวอย่างที่ผ่านกระบวนการดังกล่าวไว้ที่ระยะเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง พบว่าค่าเฉลี่ยขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง Clear zone ของอีโคไลรอบเม็ดยาที่ทำการทดสอบมีขนาดที่เพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับชุดข้อมูลก่อนเริ่มทำการทดสอบซึ่งสอดคล้องกับการพิจารณาจากค่า MAR index เช่นเดียวกัน โดยการที่เส้นรอบวงดังกล่าวเพิ่มขึ้นขนาดเป็นตัวชี้วัดถึงระดับความไวต่อยาปฏิชีวนะของอีโคไล สังเกตได้จากผลการศึกษาในตารางที่ 4.7 เมื่อระยะเวลาเพิ่มขึ้นความแตกต่างของขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเมื่อเปรียบเทียบกับก่อนทำการทดสอบส่วนใหญ่จะอยู่ในโซน + หรือโซน - ที่มีค่าเข้าใกล้ศูนย์ (ซึ่งในอีโคไล TISTR780 ก็มีแนวโน้มเป็นไปในลักษณะเช่นเดียวกัน)

กล่าวโดยสรุปทั้งกระบวนการฆ่าเชื้อด้วยการเติมคลอรีนและกระบวนการโฟโตคะตะไลติกที่ใช้ไทเทเนียมไดออกไซด์เป็นตัวเร่งปฏิกิริยามีประสิทธิภาพสูงในการกำจัดแบคทีเรียก่อโรคที่ปนเปื้อนในน้ำเสียก่อนที่จะมีการปล่อยสู่แหล่งสาธารณะ นอกจากนี้แบคทีเรียที่เหลือรอดจากทั้งสองกระบวนการคงเหลืออยู่ในปริมาณต่ำ แต่อย่างไรก็ตามแบคทีเรียดังกล่าวได้ก่อเกิดการพัฒนาคูณสมบัติการดื้อยาปฏิชีวนะในระดับที่เพิ่มสูงขึ้นแต่เมื่อมีระยะเวลาในการกักพักจะส่งผลให้คุณสมบัติการดื้อยาภาพรวมลดลง โดยพบว่ากระบวนการเติมคลอรีนมีประสิทธิภาพที่ดีกว่าในการฆ่าเชื้อแต่กลับพบว่าระดับการดื้อยาปฏิชีวนะทวีความรุนแรงเพิ่มขึ้นมากกว่าในกระบวนการโฟโตคะตะไลติกที่ใช้ไทเทเนียมไดออกไซด์เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา

ตารางที่ 4.7 แสดงการเปลี่ยนแปลงค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางรอบเม็ดยาปฏิชีวนะ (Clear zone) ที่ใช้ทำการทดสอบความไวต่อยาในอีโคไล (E2) ภายหลังจากการทดสอบภายใต้กระบวนการโฟโตคะตะไลติกที่มีการใช้ไทเทเนียมไดออกไซด์เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา

ยาปฏิชีวนะ	ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลาง Clear zone ของอีโคไล (E2) ที่เปลี่ยนแปลงไป <sup>1</sup>					
	ทำปฏิกิริยา 30 นาที			ทำปฏิกิริยา 60 นาที		
	0 <sup>2</sup>	24	48	0	24	48
Gentamicin	-0.6	+0.4	+0.6	0.0	+0.4	+0.4
Tetracycline	+2.0	+1.6	+5.2	+1.0	+1.0	+1.4
Chloramphenicol	+3.6	+4.2	+0.6	+2.0	+1.2	+1.8
Ciprofloxacin	+1.0	+0.2	+0.6	-0.2	+0.2	-0.2
Norfloxacin	+0.6	+0.4	+0.6	-0.6	0.0	-0.6
Sulfamethoxazole /Trimethoprim	+3.0	+2.4	+5.4	+1.2	+1.6	+2.4
Fosfomycin	-9.8	-5.0	-4.0	-5.6	-2.8	-0.4
Cefuroxime	-6.6	-6.4	-6.2	-8.8	-8.6	-8.8
Cefotaxime	-0.6	-0.2	-1.4	-1.2	+0.6	-0.8
Cetazidime	+1.0	+1.4	+1.0	+1.0	+1.4	+0.8
Ampicillin	+1.0	+2.4	+2.6	-1.0	+0.8	+5.2
t-test <sup>3</sup> (95%)	0.349	0.448	0.318	0.142	0.340	0.459

หมายเหตุ <sup>1</sup>ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของ Clear zone ที่เปลี่ยนแปลงไปในแต่ละชุดทดสอบได้ทำการเปรียบเทียบกับค่าที่วิเคราะห์ได้ในอีโคไล E2 ก่อนเริ่มทำการทดสอบ โดยค่าเป็นลบ (-) (สีเทาอ่อน/เทาเข้ม) แสดงถึงขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางลดลง/ระดับความไวต่อยาลดลงหรือพัฒนาไปสู่การดื้อยา ส่วนค่าเป็นบวก (+) (สีขาว) แสดงถึงขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเพิ่มขึ้น/ระดับความไวต่อยาเพิ่มขึ้น, <sup>2</sup>ระยะเวลาที่พักตัวอย่างน้ำไว้ก่อนนำไปทดสอบ และ <sup>3</sup>การประเมินความแตกต่างของรูปแบบการดื้อยาในอีโคไล E2 โดยเปรียบเทียบระหว่างในแต่ละชุดการทดสอบกับรูปแบบการดื้อยาของอีโคไล E-2 ก่อนเริ่มทดสอบ

## บทที่ 5

### สรุปผลการวิจัย อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ

#### สรุปผลการวิจัย

ในการศึกษาครั้งนี้ได้ใช้ระบบบำบัดน้ำเสียชุมชนแบบ Activated sludge เป็นแหล่งตัวแทนในการศึกษาซึ่งพบว่าระบบดังกล่าวมีประสิทธิภาพสูงในการกำจัดสารอินทรีย์ โดยมีความสามารถเฉลี่ยอยู่ที่ร้อยละ 87.2 ซึ่งน้ำเสียก่อนเข้าสู่ระบบมีค่าอยู่ในช่วง 85-114 มิลลิกรัม/ลิตร ในขณะที่ภายหลังผ่านออกกระบบบำบัดมีค่าลดลงอยู่ในช่วง 11-14 มิลลิกรัม/ลิตร เมื่อพิจารณาคุณภาพน้ำในพารามิเตอร์ทางชีวภาพซึ่งในที่นี้ได้ทำการศึกษาอีโคไลเป็นตัวแทนแบคทีเรียก่อโรคพบว่าระบบบำบัดน้ำเสียดังกล่าวมีประสิทธิภาพสูงในการกำจัดอีโคไล โดยสามารถกำจัดได้เฉลี่ยร้อยละ 98.7 ซึ่งคิดเป็นอีโคไลเฉลี่ย  $3.64 \times 10^1$  CFU/ml

นอกจากนี้ยังมีการศึกษาถึงอิทธิพลของกระบวนการบำบัดน้ำเสียชุมชนด้วยระบบ Activated sludge ที่มีต่อการเปลี่ยนแปลงรูปแบบการดื้อยาปฏิชีวนะ ในภาพรวมพบว่าภายในระบบบำบัดน้ำเสีย เช่น ในถังเติมอากาศก่อให้เกิดการพัฒนาการดื้อยาเพิ่มมากขึ้น โดยอีโคไลจากน้ำเสียก่อนเข้าสู่ระบบมีค่า MAR index 0.238 และมีค่าเพิ่มขึ้นเป็น 0.273 เมื่ออยู่ในถังเติมอากาศ แต่อย่างไรก็ตามอีโคไลที่เหลืรอดและปนเปื้อนออกมากับน้ำเสียที่ผ่านการบำบัดกลับมีระดับการดื้อยาที่ลดลง (MAR index = 0.133) โดยภายใต้สภาวะดังกล่าวคาดการณ์ว่าอีโคไลบางส่วนอาจตายไปหรือบางส่วนอาจเกาะติดอยู่กับอนุภาคของแข็งแขวนลอยในระบบ ซึ่งส่วนที่เหลืรอดอาจปนเปื้อนออกไปกับน้ำที่ผ่านการบำบัดก่อให้เกิดการแพร่กระจายไปยังสิ่งแวดล้อมอื่นๆต่อไปได้

นอกจากนี้ยังพบว่าอีโคไลเกือบทั้งหมดที่คัดแยกมาทำการทดสอบจัดเป็นอีโคไลที่ดื้อยาปฏิชีวนะ (ร้อยละ 92-98) โดยอีโคไลร้อยละ 76-88 เป็นอีโคไลที่ดื้อต่อยาปฏิชีวนะตั้งแต่ 2 ชนิดขึ้นไป นอกจากนี้ยังพบอีกว่าอีโคไลส่วนใหญ่มีความหลากหลายของรูปแบบการดื้อยา โดยสามารถพบระดับการดื้อยาได้ตั้งแต่ 1 ชนิด ไปจนถึง 9 ชนิด อีกทั้งส่วนใหญ่ยังมีคุณสมบัติดื้อต่อยาปฏิชีวนะชนิด Tetracycline, Cefuroxime, Cefazidime และ Ampicillin ในระดับที่สูง (มากกว่าร้อยละ 50) อาจกล่าวได้ว่า สภาวะของระบบบำบัดน้ำเสียมีบทบาทต่อการเปลี่ยนแปลงรูปแบบการดื้อยาปฏิชีวนะ ซึ่งในที่นี้เปลี่ยนไปในทิศทางที่ดีขึ้นคือ สภาวะของระบบดังกล่าวช่วยลด/ควบคุมการเกิดแบคทีเรียดื้อยาที่มีระดับความรุนแรงเพิ่มมากขึ้น นอกจากนี้ในการที่ถังเติมอากาศมีระดับการดื้อยาที่เพิ่มสูงขึ้นน่าจะเกี่ยวข้องกับความหนาแน่นของจุลินทรีย์ (MLSS เฉลี่ย 2,275 มิลลิกรัม/ลิตร) ซึ่งมีอิทธิพลโดยตรงกับการถ่ายทอดยีนดื้อยาปฏิชีวนะ (Horizontal gene transfer)

ถึงแม้ว่าอีโคไลที่เหลืรอดจากกระบวนการบำบัดน้ำเสียจะมีปริมาณต่ำ แต่อีโคไลดังกล่าวส่วนใหญ่จัดเป็นอีโคไลที่มีคุณสมบัติดื้อยาปฏิชีวนะ ในการศึกษาครั้งนี้จึงได้ทำการจำลองกระบวนการฆ่าเชื้อด้วยการเติมคลอรีนและกระบวนการโพโตคะตะไลติกที่ใช้ไทเทเนียมไดออกไซด์เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาเพื่อศึกษาประสิทธิภาพของกระบวนการในการกำจัดแบคทีเรียก่อโรคและศึกษารูปแบบการดื้อยาปฏิชีวนะที่เปลี่ยนแปลงไปภายใต้กระบวนการดังกล่าว ซึ่งจากผลการศึกษาพบว่าทั้งสองกระบวนการมีประสิทธิภาพสูง โดยในชุดการทดสอบที่สภาวะเหมาะสมสามารถกำจัดอีโคไลได้

มากกว่าร้อยละ 75 อาทิเช่น 1) กระบวนการเติมคลอรีนความเข้มข้น 1 และ 2 มิลลิกรัม/ลิตร และใช้ระยะเวลาในการทำปฏิกิริยา 30 และ 60 นาที (ร้อยละ 76.8-99.7) และ 2) กระบวนการโฟโตคะตะไลติกที่ใช้ไทเทเนียมไดออกไซด์เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ที่ระยะเวลา 30 และ 60 นาที (ร้อยละ 75.1-92.4)

แต่อย่างไรก็ตามอีโคไลดั่งกล่าวได้ก่อเกิดการพัฒนาคูสมบัติการดื้อยาปฏิชีวนะในระดับที่เพิ่มสูงขึ้นโดยอีโคไลดื้อยาที่นำมาทดสอบมีค่า MAR index เริ่มต้นอยู่ที่ 0.473 ภายหลังจากกระบวนการฆ่าเชื้อมีค่าเพิ่มขึ้นอยู่ในช่วง 0.491-0.636 และ 0.436-0.491 สำหรับการทำปฏิกิริยากับคลอรีนและกระบวนการโฟโตคะตะไลติกที่ใช้ไทเทเนียมไดออกไซด์เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ตามลำดับ ซึ่งอาจสรุปได้ว่าเกิดกระบวนการ co-resistant คืออาจจะมีกลไกการดื้อยาปฏิชีวนะบางกลไกที่อีโคไลสามารถเข้าร่วมกับการออกฤทธิ์เพื่อต้านทานคลอรีน เช่น กระบวนการ Efflux pump ซึ่งเป็นการขับสารที่เป็นพิษต่อเซลล์ออกสู่ภายนอก เป็นต้น อีกทั้งเมื่อทำการกักพักน้ำเสียที่ผ่านกระบวนการทั้งสองรูปแบบ (24 และ 48 ชั่วโมง) จะส่งผลให้อีโคไลมีปริมาณลดลงรวมทั้งมีระดับการดื้อยาลดต่ำลงเช่นกันโดยมีค่า MAR index อยู่ที่ 0.327-0.545 และ 0.418-0.473 สำหรับการทำปฏิกิริยากับคลอรีนและกระบวนการโฟโตคะตะไลติกที่ใช้ไทเทเนียมไดออกไซด์เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ตามลำดับ กล่าวโดยสรุปกระบวนการเติมคลอรีนมีประสิทธิภาพที่ดีกว่าในการฆ่าเชื้ออาจเนื่องมาจากคลอรีนจัดเป็นตัวออกซิไดซ์ที่แรง แต่ยังคงกลับพบวาระดับการดื้อยาปฏิชีวนะที่ความรุนแรงเพิ่มขึ้นมากกว่าในกระบวนการโฟโตคะตะไลติกที่ใช้ไทเทเนียมไดออกไซด์เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา อีกทั้งกระบวนการเติมคลอรีนยังก่อเกิดอันตรายต่อสุขภาพผู้บริโภคโดยก่อให้เกิดสารประกอบ Disinfection by-products (DBPs) ที่เป็นอันตรายต่อสุขภาพของผู้ใช้น้ำ (Li et al., 2016) ดังนั้น การใช้กระบวนการโฟโตคะตะไลติกในการบำบัดน้ำเสียชุมชนเป็นขั้นตอนสุดท้ายก่อนการปล่อยสู่สิ่งแวดล้อมภายนอกน่าจะเป็นอีกหนึ่งในกระบวนการทางเลือกที่มีความน่าสนใจในการลด/ควบคุมการแพร่กระจายของแบคทีเรียดื้อยาปฏิชีวนะ

## อภิปรายผล

การศึกษาในครั้งนี้ดำเนินการขึ้นเพื่อศึกษารูปแบบการดื้อยาปฏิชีวนะจากระบบบำบัดน้ำเสียชุมชนรวมถึงกระบวนการฆ่าเชื้อด้วยคลอรีนและกระบวนการโฟโตคะตะไลติกที่ใช้ไทเทเนียมไดออกไซด์เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ซึ่งสามารถสรุปได้ว่าระบบบำบัดน้ำเสียที่ใช้เป็นตัวแทนในการศึกษาสามารถลด/ควบคุมแบคทีเรียดื้อยาได้ แต่อย่างไรก็ตามสภาวะภายในระบบบำบัดมีบทบาทสำคัญต่อรูปแบบการดื้อยาที่ปรากฏ เช่น กระบวนการเติมอากาศ กระบวนการดูดติด/เกาะติดผิวอนุภาคแขวนลอย และการกักพักในถังตกตะกอน เป็นต้น นอกจากนี้ความหนาแน่นของจุลินทรีย์ภายในถังเติมอากาศยังมีส่วนส่งเสริมการถ่ายทอดยีนดื้อยา (Horizontal gene transfer) อีกเช่นกัน

ส่วนกระบวนการฆ่าเชื้อทั้ง 2 รูปแบบ มีประสิทธิภาพสูงในการกำจัดแบคทีเรียจากน้ำเสียที่ผ่านการบำบัด โดยกระบวนการเติมคลอรีนมีประสิทธิภาพที่ดีกว่าอาจเนื่องมาจากคลอรีนเป็นตัวออกซิไดซ์ที่แรง ถึงแม้จะมีปริมาณแบคทีเรียเหลือรอดจากการถูกกำจัดในปริมาณที่ต่ำ แต่อย่างไรก็ตามทั้ง 2 กระบวนการ มีอิทธิพลต่อการพัฒนารูปแบบการดื้อยาปฏิชีวนะให้มีระดับรุนแรงมากขึ้น

ทั้งนี้เนื่องจากอาจเกิดกระบวนการ co-selection หรือเกิดการปรับสภาพเซลล์ให้เหมาะสมกับการอยู่รอดภายใต้สภาวะกดดัน (selective pressure) นอกจากนี้ เมื่อมีการกักพืชน้ำเสียที่ผ่านกระบวนการฆ่าเชื้อไ้ระยะเวลาหนึ่งแบคทีเรียที่เหลือรอดนอกจากจะลดปริมาณลงแล้วยังลดระดับการดีดของอีกเช่นกัน ทั้งนี้เมื่อพิจารณาในแง่ของการพัฒนารูปแบบการดีดที่สามารถสรุปได้ว่ากระบวนการโฟโตคะตะไลติกที่ใช้ไทเทเนียมไดออกไซด์เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาเป็นกระบวนการที่มีความเหมาะสมในการบำบัดน้ำเสียเป็นขั้นตอนสุดท้ายก่อนการปล่อยออกสู่แหล่งภายนอกเพราะลด/ควบคุมการแพร่กระจายของแบคทีเรียดีดได้อย่างมีประสิทธิภาพมากกว่า

### ข้อเสนอแนะในการนำผลการวิจัยไปใช้

ข้อมูลและองค์ความรู้ที่ได้จากการศึกษาในครั้งนี้ น่าจะเป็นประโยชน์ต่อหน่วยงานทั้งภาครัฐและเอกชนที่มีบทบาทต่อการแก้ไขหรือลดปัญหาการแพร่กระจายของแบคทีเรียดีดปฏิชีวนะ รวมถึงบุคคลทั่วไปที่ให้ความสนใจ โดยข้อมูลที่ได้ประกอบด้วย 1) ข้อมูลที่เกี่ยวข้องกับการพัฒนาการดีดในระบบบำบัดน้ำเสียทางชีวภาพ ซึ่งส่งผลต่อระดับรูปแบบการดีดปฏิชีวนะ 2) ข้อมูลประสิทธิภาพของระบบฆ่าเชื้อ (กระบวนการเติมคลอรีนและกระบวนการโฟโตคะตะไลติกที่ใช้ไทเทเนียมไดออกไซด์เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา) ก่อนการปล่อยน้ำเสียที่ผ่านการบำบัดออกสู่สิ่งแวดล้อมภายนอก ทั้งในแง่ของปริมาณการกำจัด และรูปแบบการดีดที่พบ 3) ข้อมูลปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการพัฒนาการดีดปฏิชีวนะ ซึ่งอาจจะส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม สุขภาพ และ 4) แนวทางการป้องกันหรือลดผลกระทบจากการติดเชื้อดีดปฏิชีวนะ อันถือเป็นโรคอุบัติใหม่ ซึ่งอาจจะส่งผลกระทบต่อสุขภาพและเศรษฐกิจ

### ข้อเสนอแนะในการทำวิจัยครั้งต่อไป

จากการวิเคราะห์และสังเคราะห์ข้อมูลการศึกษาในครั้งนี้สามารถเสนอแนะแนวทางการทำวิจัยต่อไป โดยถ้าเป็นในกรณีของการพัฒนากระบวนการโฟโตคะตะไลติกที่ใช้ไทเทเนียมไดออกไซด์เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาควรมีการขยายสเกลในการทดสอบ หรือปรับปรุงชนิดของวัสดุเคลือบผิวเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการฆ่าเชื้อ ส่วนในกรณีของการศึกษารูปแบบการดีดปฏิชีวนะที่เปลี่ยนแปลงไป โดยเฉพาะในกระบวนการฆ่าเชื้อควรเพิ่มจำนวนตัวอย่างแบคทีเรียตัวแทนในการทดสอบเพื่อความแม่นยำในการแปรผล เพิ่มสเกลของชุดทดสอบแบบ batch หรืออาจวิเคราะห์รูปแบบการดีดในระดับชีวโมเลกุล

## บรรณานุกรม

### บรรณานุกรมภาษาไทย

- ณัฐรุช สิบหมู่ พรพรรณ วิวิธนาภรณ์ สิริดา ศรีหิรัญ และกรานต์ สุขนันทร์ธะ. (2559). *เภสัชวิทยา: เนื้อหาสำคัญและแบบฝึกหัด*. ฉบับเรียบเรียงใหม่ครั้งที่ 1, โฮลิสติก พับลิชชิง จำกัด, กรุงเทพฯ.
- นงลักษณ์ สุวรรณพินิจ และปรีชา สุวรรณพินิจ. (2550). *จุลชีววิทยาทั่วไป*. พิมพ์ครั้งที่ 9, สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ.
- นพรัตน์ พิชณีย์. (2554). *การกำจัดโคลิฟอร์ม และอีโคไลที่ดื้อยาปฏิชีวนะในระบบตะกอนเร่งที่บำบัดน้ำเสียชุมชน*. ปรินญาวิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต (วิศวกรรมสิ่งแวดล้อม). มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- แผนงานสร้างกลไกเฝ้าระวังและพัฒนาระบบยา. (2554). *รายงานสถานการณ์ระบบยาประจำปี 2553: สถานการณ์เชื้อดื้อยาและปัญหาการใช้ยาปฏิชีวนะ*. คณะเภสัชศาสตร์. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- ภัทรชัย กิรติสิน. (2549). *ตำราวิทยาแบคทีเรียการแพทย์*. ภาควิชาจุลชีววิทยา, คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล, มหาวิทยาลัยมหิดล.
- มันสิน ตันทุลเวศม์ และมันรัช ตันทุลเวศม์. (2547). *เคมีวิทยาของน้ำและน้ำเสีย* (พิมพ์ครั้งที่ 2). กรุงเทพฯ: โรงพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- สถาบันวิจัยระบบสาธารณสุข. (2555). รายงานพิเศษ: เชื้อดื้อยาปฏิชีวนะวิกฤตและทางออกของสังคมไทย. *HSRI Forum*. 1(1), 3-6.
- สันทัต ศิริอนันต์ไพบูลย์. (2549). *ระบบบำบัดน้ำเสีย*. กรุงเทพฯ: บริษัท สำนักพิมพ์ท็อป จำกัด.
- อภิชัย กิรติสิน และอนุชา อภิสารธนรักษ์. (2555). *Beta-lactamase ในแบคทีเรียกรมลบบจากพื้นฐานสู่เวชปฏิบัติ*. พิมพ์ครั้งที่ 1, วี. เจ. พรินติ้ง, กรุงเทพฯ.

### บรรณานุกรมภาษาต่างประเทศ

- Abhirosh, C., Sherin, V., Thomas, A. P., Hatha, A. A. M. & Mazumder, A. (2011). Potential public health significance of faecal contamination and multidrug-resistant *Escherichia coli* and *Salmonella* serotypes in a lake in India. *Public Health*, 125, 377-379.
- AirOasis. (2015). PCO (photo catalytic oxidation) nano-technology how TiO<sub>2</sub> UV photocatalytic oxidation (PCO) works. <http://www.air-oasis-uv-pco-sanitizers.com/how-pco-works.htm>
- Al-Ekabi, H., Edwards, G., Holden, W., Safarazadeh-Amiri, A., & Story, J. (1991). Water treatment by heterogeneous photocatalysis, pp. 254-261. In Echenfelder, W.

- W., Bowers, A. R. & Roth, J. R. (eds.). *Chemical Oxidation*. Technomic Publishing Company, Inc., Lancaster.
- Amethyst Galleries, Inc. (1996). The Mineral Anatase: <http://mineral.galleries.com/minerals/oxides/anatase/anatase.htm>, August 24, 2011.
- Anastasi, E. M., Wohlsen, T. D., Stratton, H. M., & Katouli, M. (2013). Survival of *Escherichia coli* in two sewage treatment plants using UV irradiation and chlorination for disinfection. *Water Research*, 47, 6670-6679.
- APHA, AWWA & WEF. (2012). *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. 22<sup>nd</sup> edition, Port City Press, USA.
- Bahig, A., Aly, E. A., & Amel, K. A. (2008). Isolation, characterization and application of bacterial population from agricultural soil at Sohag province, Egypt. *Malaysian Journal of Microbiology*, 4(2), 42-50.
- Belapurkar, A. D., Kamble, V. S., & Dey, G. R. (2010). Photo-oxidation of ethylene in gas phase and methanol and formic acid in liquid phase on synthesized TiO<sub>2</sub> and Au/TiO<sub>2</sub> catalysts. *Materials Chemistry and Physics*, 123, 801-805.
- Blaustein, R. A., Pachepsky, Y., Hill, R. L., Shelton, D. R. & Whelan, G. (2013). *Escherichia coli* survival in waters: temperature dependence. *Water Research*, 47, 569-578.
- Bonomo, J. & Gill, R. T. (2005). Antibiotic resistance as a model for strain engineering. *Computers & Chemical Engineering*, 29: 509-517.
- Bouki, C., Venieri, D., & Diamadopoulos, E. (2013). Detection and fate of antibiotic resistant bacteria in wastewater treatment plants: A review. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 91, 1-9.
- Breazeal, M. V. R., Novak, J. T., Vikesland, P. J., & Pruden, A. (2013). Effect of wastewater colloids on membrane removal of antibiotic resistance genes. *Water Research*, 47, 130-140.
- Burch, T. R., Sadowsky, M. J., & LaPara, T. M. (2013). Aerobic digestion reduces the quantity of antibiotic resistance genes in residual municipal wastewater solids. *Frontiers in Microbiology*, 4(17), 1-9.
- Cannavale, A., Fiorito, F., Manca, M., Tortorici, G., Cingolani, R., & Gigli, G. (2010). Multifunctional bioinspired sol-gel coatings for architectural glasses. *Building and Environment*, 45, 1233-1243.
- Carré, G., Hamon, E., Ennahar, S., Estner, M., Lett, M. C., Horvatovich, P., Gies, J. P., Keller, V., Keller, N. & Andre, P. (2014). TiO<sub>2</sub> photocatalysis damages lipids and proteins in *Escherichia coli*. *Applied and Environmental Microbiology*, 80(8), 2573-2581.

- CLSI. (2012). *Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; twenty-second informational supplement*. Clinical and Laboratory Standards Institute, USA.
- Cloete, T. E. (2003). Resistance mechanisms of bacteria to antimicrobial compounds. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 51, 277-282.
- Darcan, C. & Kahyaoğlu, M. (2012). The effect of some boron derivatives on kanamycin resistance and survival of *E. coli* and *P. aeruginosa* in lake water. *Biomedical and Environmental Sciences*. 25(4), 476-482.
- Diao, H. F., Li, X. Y., Gu, J. D., Shi, H. C. & Xie, Z. M. (2004). Electron microscopic investigation of the bactericidal action of electrochemical disinfection in comparison with chlorination, ozonation and Fenton reaction. *Process Biochemistry*, 39, 1421-1426.
- Dzidic, S., Suskovic, J. & Kos, B. (2008). Antibiotic resistance mechanisms in bacteria: biochemical and genetic aspects. *Food Technology and Biotechnology*, 46(1), 11-21.
- Finch, R. G., Greenwood, D., Norrby, S. R., & Whitley, R. J. (2002). *Antibiotic and chemotherapy*. 8<sup>th</sup> edition, Churchill Livingstone, London, UK.
- Guilfoile, P.G. (2007). *Antibiotic-resistant bacteria*. Infobase publishing, New York, USA.
- Hirsch, R., Ternes, T., Haberer, K., & Kratz, K. L. (1999). Occurrence of antibiotics in the aquatic environment. *The Science of the Total Environment*, 225, 109-118.
- Huang, J. J., Hu, H. Y., Wu, Y. H., Wei, B. & Lu Y. (2013). Effect of chlorination and ultraviolet disinfection on tetA-mediated tetracycline resistance of *Escherichia coli*. *Chemosphere*, 90, 2247-2253.
- Ishii, S., & Sadowsky, M. J. (2008). *Escherichia coli* in environmental: implication for water quality and human health. *Microbes and Environment*, 23(2), 101-108.
- Janus, M., Markowska-Szczupak, A., Kusiak-Nejman, E., & Morawski, A. W. (2012). Disinfection of *E. coli* by carbon modified TiO<sub>2</sub> photocatalysts. *Environmental Protection Engineering*, 38(2), 89-97.
- Jarlier, V., Nicolas, M. H., Fournier, G. & Philippon, A. (1988). Extended broad-spectrum beta-lactamases conferring transferable resistance to newer beta-lactam agents in Enterobacteriaceae: hospital prevalence and susceptibility patterns. *Reviews of Infection Diseases*, 10(4), 867-878.
- Jia, S., Shi, P., Hu, Q., Li, B., Zhang, T. & Zhang, X. (2015). Bacterial community shift drives antibiotic resistance promotion during drinking water chlorination. *Environmental Science and Technology*, 49, 12271-12279.

- Karunakaran, C. (2013). Solar photocatalytic disinfection of bacteria. *Solar photocatalysis*, 243-262.
- Krumpalman, P. H. (1983). Multiple antibiotic resistance indexing of *Escherichia coli* to identify high-risk sources of fecal contamination of food. *Applied and Environmental Microbiology*, 46, 165-170.
- Kelly, B. G., Vespermann, A., & Bolton, D. J. (2009). Horizontal gene transfer of virulence determinants in selected bacterial foodborne pathogens. *Food and Chemical Toxicology*, 47, 969-977.
- Li, Y., Zhang, X., Yang, M., Liu, J., Li, W., Graham, N. J. D., Li, X., Yang, B. (2016). Three-step effluent chlorination increases disinfection efficiency and reduces DBP formation and toxicity. *Chemosphere*, 168, 1302-1308.
- Lin, W., Zhang, M., Zhang, S. & Yu, X. (2016). Can chlorination co-select antibiotic-resistance genes? *Chemosphere*, 156, 412-419.
- Liou, J. W., & Chang, H. H. (2012). Bactericidal effects and mechanisms of visible light-responsive titanium dioxide photocatalysts on pathogenic bacteria. *Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis*, 60, 267-275.
- Luczkiwicz, A., Jankowska, K., Fudala-Ksiazek, S. & Olanczuk-Neyman, K. (2010). Antimicrobial resistance of fecal indicators in municipal wastewater treatment plant. *Water research*, 44, 5089-5097.
- Lyautey, E., Wilkes, G., Miller, J. J., Bochove, E. V., Schreier, H., Koning, W., Edge, T. A., Lapen, D. R. & Topp, E. (2011). Variation of an indicator of *Escherichia coli* persistence from surface waters of mixed-use watersheds, and relationship with environmental factors. *International Journal of Limnology*, 47, 11-19.
- Mascaretti, O. A. (2003). *Bacteria versus antimicrobial agents: an integrated approach*. ASM press, USA.
- Martinez, J. L. (2009). Environmental pollution by antibiotics and by antibiotic resistance determinants. *Environmental Pollution*, 157(11), 2893-2902.
- Metcalf & Eddy/Aecom. (2014). *Wastewater engineering: Treatment and resource recovery volume 2* (Fifth edition). Singapore: McGraw-Hill Education.
- Mesa, R. J., Blanc, V., Blanch, A. R., Cortés, P., Genzález, J. J., Lavilla, S., Miró, E., Muniesa, M., Saco, M., Tórtola, M. T., Mirelis, B., Coll, P., Llagostera, M., Prats, G. & Navarro, F. (2006). Extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing *Enterobacteriaceae* in different environments (humans, food, animal farms and sewage). *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 58, 211-215.
- Monteiro, R. A. R., Miranda, S. M., Vilar, V. J. P., Pastrana-Martínez, L. M., Tavares, P. B., Boaventura, R. A. R., Faria, J. L., Pinto, E., & Silva, A. M. T. (2015). N-modified

- TiO<sub>2</sub> photocatalytic activity towards diphenhydramine degradation and *Escherichia coli* inactivation in aqueous solutions. *Applied Catalysis B: Environmental*, 162, 66-74.
- Nakano, R., Hara, M., Ishiguro, H., Yao, Y., Ochiai, T., Nakata, K., Murakami, T., Kajioka, J., Sunada, K., Hashimoto, K., Fujishima, A., & Kubota, Y. (2013). Broad spectrum microbicidal activity of photocatalysis by TiO<sub>2</sub>. *Catalysts*, 3, 310-323.
- Nakata, K., & Fujishima, A. (2012). TiO<sub>2</sub> photocatalysis: Design and applications. *Journal of Photochemistry and Photobiology C: Photochemistry Reviews*, 13, 169-189.
- Negreanu, Y., Pasternak, Z., Jurkevitch, E. & Cytryn, E. (2012). Impact of treated wastewater irrigation on antibiotic resistance in agricultural soils. *Environmental Science and Technology*, 46, 4800-4808.
- Novo, A., André, S., Viana, P., Nunes, O. C., & Manaia, C. M. (2013). Antibiotic resistance, antimicrobial residues and bacterial community composition in urban wastewater. *Water Research*, 47, 1875-1887.
- Pak, G., Salcedo, D. E., Lee, H., Oh, J., Maeng, S. K., Song, K. G., Hong, S. W., Kim, H., Chandran, K. & Kim, S. (2016). Comparison of antibiotic resistance removal efficiencies using ozone disinfection under different pH and suspended solids and humic substance concentrations. *Environmental Science and Technology*, 50, 7590-7600.
- Polo, A., Diamanti, M. V., Bjarnsholt, T., HØiby, N., Villa, F., Pedferri, M. P., & Cappitelli, F. (2011). Effects of photoactivated titanium dioxide nanopowders and coating on planktonic and biofilm growth of *Pseudomonas aeruginosa*. *Photochemistry and Photobiology*, 87, 1387-1394.
- Rahim, S., Radiman, S., & Hamzah, A. (2012). Inactivation of *Escherichia coli* under fluorescent lamp using TiO<sub>2</sub> nanoparticles synthesized via sol gel method. *Sains Malaysiana*, 41(2), 219-224.
- Reinthal, F. F., Feierl, G., Galler, H., Haas, D., Leitner, E., Mascher, F., Melkes, A., Posch, J., Winter, I., Zarfel, G. & Marth, E. (2010). ESBL-producing *E. coli* in Austrian sewage sludge. *Water Research*, 44: 1981-1985.
- Reinthal, F. F., Posch, J., Feierl, G., Wust, G., Haas, D., Ruckebauer, G., Mascher, F. & Marth, E. (2003). Antibiotic resistance of *E. coli* in sewage and sludge. *Water Research*, 37, 1685-1690.
- Rizzo, L., Fiorentino, A., & Anselmo, A. (2012). Effect of solar radiation on multidrug resistant *E. coli* strains and antibiotic mixture photodegradation in wastewater polluted stream. *Science of the Total Environment*, 427-428(2012), 263-268.

- Rizzo, L., Fiorentino, A. & Anselmo, A. (2013a). Advanced treatment of urban wastewater by UV radiation: Effect on antibiotics and antibiotic-resistant *E. coli* strains. *Chemosphere*, 92: 171-176.
- Rizzo, L., Manaia, C., Merlin, C., Schwartz, T., Dagot, C., Ploy, M.C., Michael, I., & Fatta-Kassinos, D. (2013b). Urban wastewater treatment plants as hotspots for antibiotic resistant bacteria and genes spread into the environment: A review. *Science of the Total Environment*, 447, 345-360.
- Rizzo, L., Sannino, D., Vaiano, V., Sacco, O., Scarpa, A., & Pietrogiacomini, D. (2014). Effect of solar simulated N-doped TiO<sub>2</sub> photocatalysis on the inactivation and antibiotic resistance of an *E. coli* strain in biologically treated urban wastewater. *Applied Catalysis B: Environmental*, 144, 369-378.
- Rojviroon, O., Rojviroon, T. & Sirivithayapakorn, S. (2014). Study of COD removal efficiency from synthetic wastewater by photocatalytic process. *Environmental Engineering Research*, 19(3), 255-259.
- Rojviroon, T., Laobuthee, A. & Sirivithayapakorn, S. (2012). Photocatalytic activity of toluene under UV-LED light with TiO<sub>2</sub> thin films. *International Journal of Photoenergy*, doi:10.1155/2012/898464.
- Rojviroon, T., Rojviroon, O. & Sirivithayapakorn, S. (2015). Photocatalytic decolourisation of dyes using TiO<sub>2</sub> thin film photocatalysts. *Surface Engineering*, DOI: 10.1179/1743294415y.0000000096.
- Rojviroon, T. & Sirivithayapakorn, S. (2013). Properties of TiO<sub>2</sub> thin films prepared using sol-gel process. *Surface Engineering*, 29(1), 77-80.
- Rupp, M. E. & Fey, P. D. (2003). Extended spectrum  $\beta$ -lactamase (ESBL)-producing *Enterobacteriaceae* considerations for diagnosis, prevention and drug treatment. *Drugs*, 63(4), 353-365.
- Rysz, M., Mansfield, W. R., Fortner, J. D. & Alvarez, P. J. J. (2013). Tetracycline resistance gene maintenance under varying bacterial growth rate, substrate and oxygen availability, and tetracycline concentration. *Environmental Science and Technology*, 47, 6995-7001.
- Sclafani, A., & Herrmann, J. M., (1996). Comparison of the Photoelectronic and Photocatalytic Activities of Various Anatase and Rutile Forms of Titania in Pure Liquid Organic Phases and in Aqueous Solutions. *The Journal of Physical Chemistry*, 100 (32), 13655–13661.
- Silva, J., Castillo, G., Callejas, L., López, H., & Olmos, J. (2006). Frequency of transferable multiple antibiotic resistance amongst coliform bacteria

- isolated from a treated sewage effluent in Antofagasta, Chile. *Electronic Journal of Biotechnology*, 9(5), 533-540.
- Tsai, T. M., Chang, H. H., Chang, K. C., Liua, Y. L., & Tseng, C. C. (2010). A comparative study of the bactericidal effect of photocatalytic oxidation by TiO<sub>2</sub> on antibiotic-resistant and antibiotic-sensitive bacteria. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*. 85, 1642-1653.
- Taylor, N. G. H., Verner-Jeffreys, D. W., & Baker-Austin, C. (2011). Aquatic systems: maintaining, mixing and mobilising antimicrobial resistance? *Trends in Ecology and Evolution*, 26(6), 278-284.
- Unno, T., Han, D., Jang, J., Lee, S. N., Kim, J. H., Ko, G., Kim, B. G., Ahn, J. H., Kanaly, R. A., Sadowsky, M. J., & Hur, H. G. (2010). High diversity and abundance of antibiotic resistant *Escherichia coli* isolated from humans and farm animal hosts in Jeonnam Province, South Korea. *Science of the Total Environment*, 408, 3499-3506.
- Venieri, D., Fragedaki, A., Kostadima, M., Chatzisyneon, E., Binas, V., Zachopoulos, A., Kiriakidis, G., & Mantzavinos, D. (2014). Solar light and metal-doped TiO<sub>2</sub> to eliminate water transmitted bacterial pathogens: photocatalyst characterization and disinfection performance. *Applied Catalysis B: Environmental*, 154-155, 93-101.
- Vieira, R. H. S. D. F., Carvalho, E. M. R., Carvalho, M. R. C., Silva, C. M., Sousa, O. V., & Rodrigues, D. P. (2010). Antimicrobial susceptibility of *Escherichia coli* isolated from shrimp (*Litopenaeus vannamei*) and pond environment in northeastern Brazil. *Journal of Environmental Science and Health Part B*, 45, 198-203.
- Wellington, E. M. H., Boxall, A. B. A., Cross, P., Feil, E. J., Gaze, W. H., Hawkey, P. M., Johnson-Rollings, A. S., Jones, D. L., Lee, N. M., Otten, W., Thomas, C. M., & Williams, A. P. (2013). The role of the natural environment in the emergence of antibiotic resistance in Gram-negative bacteria. *Lancet Infection Disease*, 13, 155-165.
- Xiong, P., & Hu, J. (2013). Inactivation/reactivation of antibiotic-resistant bacteria by a novel UVA/LED/TiO<sub>2</sub> system. *Water Research*. 47, 4547-4555.
- Xu, Z., & Meng, X. (2009). Size effects of nanocrystalline TiO<sub>2</sub> on As(V) and As(III) adsorption and As(III) photooxidation. *Journal of Hazardous Materials*. 168, 747-752.

- Yamazaki, S. , Yamabe, N. , Nagano, S. , & Fukuda, A. ( 2007) . Adsorption and photocatalytic degradation of 1,4-dioxane on TiO<sub>2</sub>. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 185, 150-155.
- Ye, L. , Pelton, R. , Brook, M. A. , Filipe, C. D. M. , Wang, H. , Brovko, L. , & Griffiths, M. (2013). Target disfection of *E. coli* via bioconjugation to photoreactive TiO<sub>2</sub>. *Bioconjugate Chemistry*, 24, 448-455.
- Zaki, M. I. , Mekhemer, G. A. H. , Fouad, N. E. , Jagadale, T. C. , & Ogale, S. B. (2010). Surface texture and specific adsorption sites of sol– gel synthesized anatase TiO<sub>2</sub> nanoparticles. *Materials Research Bulletin*, 45, 1470-1475.
- Zita, A. & Hermansson, M. (1997). Effects of bacterial cell surface structures and hydrophobicity on attachment to activated sludge flocs. *Applied and Environmental Microbiology*, 63(3), 1168-1170.
- Zhang, X. X. , & Zhang, T. ( 2011) . Occurrence, abundance, and diversity of tetracycline resistance genes in 15 sewage treatment plants across China and other global locations. *Environmental Science and Technology*, 45, 2598-2604.
- Žvab, U. , Štangar, U. L. , & Marušič, M. B. (2014). Methodologies for the analysis of antimicrobial effects of immobilized photocatalytic materials. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 98, 1925-1936.

## ประวัติผู้วิจัย

### ที่ปรึกษาโครงการวิจัย

- ชื่อ - นามสกุล (ภาษาไทย) นายธรรมศักดิ์ นามสกุล โรจน์วิรุฬห์  
ชื่อ - นามสกุล (ภาษาอังกฤษ) Mr. Thammasak Rojviroon
- เลขหมายบัตรประจำตัวประชาชน  
3-1202-00132-61-3
- ตำแหน่งปัจจุบัน  
อาจารย์/ผศ. ดร.
- หน่วยงานและสถานที่อยู่  
สาขาวิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม ภาควิชาวิศวกรรมโยธา คณะวิศวกรรมศาสตร์  
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี ต.คลองหก อ.ธัญบุรี จ.ปทุมธานี 12110  
โทรศัพท์ : 02-549-3418 โทรสาร: 02549-3412  
e-mail : thammasak@rmutt.ac.th
- ประวัติการศึกษา  
วศ.บ (วิศวกรรมสิ่งแวดล้อม) มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี  
วศ.ม (วิศวกรรมสิ่งแวดล้อม) มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์  
วศ.ด (วิศวกรรมสิ่งแวดล้อม) มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
- สาขาวิชาการที่มีความชำนาญพิเศษ (แตกต่างจากวุฒิการศึกษา) ระบุสาขาวิชาการ  
กระบวนการบำบัดน้ำและอากาศชั้นสูงโดยกระบวนการฟิโตะออกซิเดชัน  
การติดตามตรวจสอบมลพิษดินและน้ำใต้ดิน  
การฟื้นฟูพื้นที่ปนเปื้อน การจัดการของเสียอันตราย  
ด้านวิศวกรรมสุขาภิบาล วิศวกรรมระบบท่อภายในอาคาร  
เกษตรอินทรีย์ การทดสอบปุ๋ยอินทรีย์ในแปลงเพาะปลูกจริง (On-Farm Testing)

## 7. ประสบการณ์ที่เกี่ยวข้องกับการบริหารงานวิจัยทั้งภายในและภายนอกประเทศ

### ประสบการณ์ที่เกี่ยวข้องกับการบริหารงานวิจัย

1. งานวิจัยขณะศึกษาปริญญาโท เรื่อง การกำจัดไอระเหยของโทลูอินโดยกระบวนการโฟโตออกซิเดชัน. 2549. (เผยแพร่ผลงานในวารสารวิศวกรรมสาร มก. คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 2549)
2. โครงการพัฒนาและส่งเสริมการใช้ประโยชน์ของเสียชีวมวล: กรณีศึกษาปุ๋ยหมักและน้ำสกัดชีวภาพ, 2550. (ผู้วิจัยร่วม)
3. เพิ่มมูลค่าขยะอินทรีย์: การทดสอบการใช้ปุ๋ยอินทรีย์ในแปลงเพาะปลูกจริง.  
(Value added to organic wastes: A Case Study of On-Farm Testing for Compost Application. รายงานการวิจัยศูนย์วิจัยและฝึกอบรมด้านสิ่งแวดล้อม, 2549-2550. (ผู้วิจัยร่วม)
4. โครงการพัฒนาและส่งเสริมการใช้ประโยชน์ของเสียชีวมวล: การทดสอบการใช้ปุ๋ยอินทรีย์สูตร สวม. ในแปลงเพาะปลูกจริง (On-Farm Testing), 2551-2552. (ผู้วิจัยร่วม)
5. โครงการประเมินความเสี่ยง และค่าความปลอดภัยของสารหนู ในพื้นที่อำเภอด่านช้าง จังหวัดสุพรรณบุรี, 2551-2552. (ผู้วิจัยร่วม)
6. โครงการพัฒนาและส่งเสริมการนำของเสียชุมชนกลับมาใช้ใหม่ : โครงการย่อยการแปรรูปของเสียชีวมวลด้วยกระบวนการไพโรไลซิสและแกสซิฟิเคชัน. 2552. (ผู้วิจัยร่วม)
7. โครงการพัฒนาและส่งเสริมการนำของเสียชุมชนกลับมาใช้ใหม่ : โครงการย่อยการขยายผลการวิจัยเกษตรอินทรีย์ลดวิกฤติภาวะโลกร้อน. 2552. (ผู้วิจัยร่วม)
8. โครงการวิจัยการใช้ประโยชน์ของ FGD ยิปซัมในการลดปริมาณสารหนูปนเปื้อนในน้ำจากระบบผลิตน้ำประปาหมู่บ้าน ตำบลวังคัน และ ตำบลองค์พระ อำเภอด่านช้าง จังหวัดสุพรรณบุรี, 2553. (ผู้วิจัยหลัก)
9. การศึกษาการใช้ประโยชน์ของน้ำเสียจากอุตสาหกรรมลูกชิ้นในการผลิตพลังงานทดแทน. 2553. โครงการวิจัย. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคล ธัญบุรี. (ผู้วิจัยร่วม)
10. การกำจัดสีและซีไอดีในน้ำชะมูลฝอยโดยกระบวนการโฟโตคะตะไลติก. 2556. โครงการวิจัย. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคล ธัญบุรี. (ผู้วิจัยร่วม)

### ผลงานเผยแพร่ บทความ วิทยากร:

1. การกำจัดไอระเหยของโทลูอินโดยกระบวนการโฟโตออกซิเดชัน. วารสารวิศวกรรมสาร มก. ปีที่ 19 ฉบับที่ 58. คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ บางเขน.
2. การทำปุ๋ยอินทรีย์. 2551. วารสาร Green News. ปีที่ 1 ฉบับที่ 4. ศูนย์วิจัยและฝึกอบรมด้านสิ่งแวดล้อม. กรมส่งเสริมคุณภาพสิ่งแวดล้อม.
3. แนวทางการจัดการขยะในประเทศที่พัฒนาแล้ว. 2551. วารสาร Green Research. ปีที่ 5 ฉบับที่ 9 ศูนย์วิจัยและฝึกอบรมด้านสิ่งแวดล้อม. กรมส่งเสริมคุณภาพสิ่งแวดล้อม.

4. แนวทางการจัดการขยะในประเทศที่พัฒนาแล้ว. 2551. ระบบสืบค้นข้อมูลบรรณานุกรม. สำนักหอสมุดและศูนย์สารสนเทศ วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี. กรมวิทยาศาสตร์บริการ. กระทรวงวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี. 5. การประเมินความเสี่ยงของสาร di (2-ethylhexyl) phthalate (DEHP) ที่ปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อม. 2551. วารสารวิจัย มข. มหาวิทยาลัยขอนแก่น.
6. อุบัติภัยจากรถบรรทุกสารเคมี. 2551. วารสาร Green Research. ปีที่ 5 ฉบับที่ 11. ศูนย์วิจัยและฝึกอบรมด้านสิ่งแวดล้อม. กรมส่งเสริมคุณภาพสิ่งแวดล้อม.
7. การศึกษาความสัมพันธ์ของปริมาณสารหนูในตัวอย่างสิ่งแวดล้อมกับปริมาณสารหนูตกค้างในปัสสาวะ ในพื้นที่ตำบลองค์พระและตำบลวังคัน อำเภอด่านช้าง จังหวัดสุพรรณบุรี. วารสาร Green Research. ปีที่ 6 ฉบับที่ 1. ศูนย์วิจัยและฝึกอบรมด้านสิ่งแวดล้อม. กรมส่งเสริมคุณภาพสิ่งแวดล้อม.
8. แลกเปลี่ยนเรียนรู้ กระบวนการกระตุ้นจิตสำนึกเพื่อการจัดการขยะ. ทีมงานการจัดการความรู้. 2552. วารสาร Green Research. ปีที่ 6 ฉบับที่ 13. ศูนย์วิจัยและฝึกอบรมด้านสิ่งแวดล้อม. กรมส่งเสริมคุณภาพสิ่งแวดล้อม.
9. คณะทำงานจัดทำรายงานประจำปี 2550. ศูนย์วิจัยและฝึกอบรมด้านสิ่งแวดล้อม. กรมส่งเสริมคุณภาพสิ่งแวดล้อม.
10. Rojviroon, T. and Sirivithayapakorn, S. "Properties of TiO<sub>2</sub> Thin Films Prepared using the Sol-gel Process", *Surface Engineering*, Volume 29, Number 1, February 2013 , pp. 77-80(4).
11. Rojviroon, T. and Sirivithayapakorn, S. 2012. "Properties of TiO<sub>2</sub> Thin Films Prepared using the Sol-gel Process", Proceedings of the Tokyo Tech-KU Joint Seminar on Infrastructure Development.
12. Thammasak Rojviroon, Apirat Laobuthee, and Sanya Sirivithayapakorn. Photocatalytic Activity of Toluene under UV-LED Light with TiO<sub>2</sub> Thin Films. Hindawi Publishing Corporation. International Journal of photoenergy, Volume 2012, 8 pages.
13. วิทยากรในการฝึกอบรมเชิงปฏิบัติการ
  - เรื่อง เทคโนโลยีเกษตรอินทรีย์
  - เรื่อง เทคโนโลยีเกษตรอินทรีย์ ณ ศูนย์วิจัยและฝึกอบรมด้านสิ่งแวดล้อม
  - เรื่อง เทคโนโลยีเกษตรอินทรีย์ ณ ศูนย์ศึกษาพัฒนาชาวบ้าน วังน้ำเขียว จ. นครราชสีมา
  - เรื่อง การทำปุ๋ยหมักและน้ำสกัดชีวภาพ ณ ศูนย์วิจัยและฝึกอบรมด้านสิ่งแวดล้อม
  - เรื่อง เทคโนโลยีเกษตรอินทรีย์ รุ่นที่ 1 ณ ศูนย์พัฒนาคุณภาพชีวิตผู้สูงอายุและประชาชนและศูนย์ ส่งเสริมกิจกรรมไร่สารพิษ อันเนื่องมาจากพระราชดำริ อำเภอวังน้ำเขียว จังหวัดนครราชสีมา

- เรื่อง เทคโนโลยีเกษตรอินทรีย์ รุ่นที่ 2 ณ ศูนย์พัฒนาคุณภาพชีวิตผู้สูงอายุและประชาชน และศูนย์ส่งเสริมกิจกรรมไร้สารพิษ อันเนื่องมาจากพระราชดำริ อำเภอวังน้ำเขียว จังหวัด นครราชสีมา
  - เรื่อง เทคโนโลยีเกษตรอินทรีย์ ณ ศูนย์วิจัยและฝึกอบรมด้านสิ่งแวดล้อมและศูนย์ส่งเสริม กิจกรรมไร้สารพิษอันเนื่องมาจากพระราชดำริ อำเภอวังน้ำเขียว จังหวัดนครราชสีมา
  - เรื่อง การผลิตปุ๋ยอินทรีย์ชีวภาพ ณ มหาวิทยาลัยราชภัฏอุดรธานี
  - เรื่อง เทคโนโลยีเกษตรอินทรีย์ ณ ต. เจ็ดริ้ว อำเภอบ้านแพ้ว จังหวัดสมุทรสาคร
  - เรื่อง เกษตรอินทรีย์ลดโลกร้อน ณ ศูนย์วิจัยและฝึกอบรมด้านสิ่งแวดล้อมและ ต. เจ็ดริ้ว อำเภอบ้านแพ้ว จังหวัดสมุทรสาคร
14. วิทยากรการสัมมนา เรื่อง รายงานสถานการณ์การปนเปื้อนสารหนูในพื้นที่ตำบลองค์ พระและตำบลวังคัน อำเภอด่านช้าง จังหวัดสุพรรณบุรี
15. วิทยากรการสัมมนา เรื่อง การผลิตน้ำหมักชีวภาพ ภาควิชาวิศวกรรมเกษตร คณะ วิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี
16. วิทยากรการสัมมนา โครงการยกระดับคุณภาพชีวิตของหมู่บ้าน และชุมชนแบบมีส่วนร่วม 84 หมู่บ้าน ชุมชน เฉลิมพระเกียรติ ให้กับประชาชนและองค์กรบริหารส่วนตำบลอาษา จังหวัดนครนายก โดยคณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี



7.4 หัวหน้าโครงการวิจัย : ผลกระทบจากการใช้สารเคมีทางการเกษตรที่มีต่อการดื้อยาปฏิชีวนะของแบคทีเรียในดิน เพาะปลูกและในพื้นที่ชุมชนชาวกระเหรี่ยง หมู่บ้านตะเพินคี จังหวัดสุพรรณบุรี  
 แหล่งทุน : สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ

7.5 หัวหน้าโครงการวิจัย : ผลกระทบจากการใช้สารเคมีทางการเกษตรที่มีต่อการดื้อยาปฏิชีวนะของแบคทีเรียในดิน เพาะปลูกและในพื้นที่ชุมชนชาวกระเหรี่ยง หมู่บ้านตะเพินคี จังหวัดสุพรรณบุรี

7.6 หัวหน้าโครงการวิจัย : การศึกษาประสิทธิภาพการกำจัดพาราควอทโดยกระบวนการโฟโตคะตะไลติก

## 8. ผลงานวิจัยที่เคยตีพิมพ์

8.1 C. Chiemchaisri, W. Chiemchaisri, J. Junsod, S. Threedeach and P. N. Wicranarachchi. (2009) Leachate treatment and greenhouse gas emission in subsurface horizontal flow constructed wetland. *Bioresource Technology*. 100 (16): pp. 3808-3814

8.2 W. Chiemchaisri, C. Chiemchaisri, P. Somkliang and S. Threedeach. (2006). Detection and enumeration of methanotrophs in acidic landfill cover soil by FISH technique. *Journal of research in engineering and technology*. 3(3), 229-239.

8.3 C. Chiemchaisri, W. Chiemchaisri, J. Junsod, S. Threedeach, T. Kootatetep and C. Visvanathan. (2006). Treatment performance and bacterial populations in subsurface horizontal flow constructed wetland system treating young and stabilized waste leachate. IWA conference, September 2006.

8.4 N. Patchanee, T. Watanabe, W. Chiemchaisri, S. Threedeach, R. Honda and C. Chiemchaisri. Behavior of antibiotic resistant *Escherichia coli* in activated sludge process for municipal wastewater treatment in tropical regions. The 16th International Symposium on Health-Related Water Microbiology (WaterMicro 2011) (Rotorua, New Zealand), L8, September 2011

## ผู้ร่วมวิจัย

1. ชื่อ - นามสกุล (ภาษาไทย)                      นางสาวจุฑารัตน์                      ศรีชูเปี่ยม  
ชื่อ - นามสกุล (ภาษาอังกฤษ)                      Miss Jutharat                      Srichoopium
2. เลขหมายบัตรประจำตัวประชาชน  
1-1005-00254-99-8
3. ตำแหน่งปัจจุบัน  
นักวิจัยผู้ช่วย
4. หน่วยงานและที่อยู่  
ศูนย์สิ่งแวดล้อม คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยสวนดุสิต  
228-228/1-3 ถนนสิรินธร เขตบางพลัด กรุงเทพฯ 10700  
โทรศัพท์ 02- 423-9407-10 โทรสาร 02-423-9409  
E-mail : pinny\_envi44@hotmail.com
5. ประวัติการศึกษา  
วท.บ (วิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม) มหาวิทยาลัยราชภัฏสวนดุสิต
6. สาขาวิชาการที่มีความชำนาญพิเศษ  
การวิเคราะห์คุณภาพสิ่งแวดล้อม (คุณภาพน้ำ และดิน)  
การประเมินผลกระทบสิ่งแวดล้อม  
การตรวจติดตามคุณภาพสิ่งแวดล้อม ISO/IEC 17025
7. ผลงานวิจัย/งานโครงการที่ทำเสร็จแล้ว
  - 7.1 ผู้ร่วมโครงการวิจัย : การพัฒนาความเข้มแข็งของชุมชนอย่างยั่งยืนโดยการประยุกต์ใช้กากตะกอนจากระบบบำบัดน้ำเสียระยะที่ 1-2 เพื่อทำปุ๋ยและผลิตถัณฑ์
  - 7.2 ผู้ร่วมโครงการวิจัย : การพัฒนาการจัดการระบบสิ่งแวดล้อมเพื่อการผลิตอย่างยั่งยืนของโรงงานอุตสาหกรรมผลิต ข้อต่อท่อประปาเหล็ก กรณีศึกษาโรงงานปีสไฟฟ์ ฟิตติ้งอินดัสตรี จำกัด จังหวัดสมุทรสาคร ปี 2553 แหล่งทุนสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ
  - 7.3 ผู้ร่วมโครงการวิจัย: พฤติกรรมของเกษตรกรในการใช้สารเคมีกำจัดแมลง และศัตรูพืชที่มีผลกระทบต่อคุณภาพดิน และน้ำของชุมชนโดยรอบอุทยานแห่งชาติพุเตย จังหวัดสุพรรณบุรี ปี 2555 แหล่งทุน : สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ

7.4 ผู้ร่วมโครงการวิจัย: ผลกระทบจากการใช้สารเคมีทางการเกษตรที่มีต่อการดื้อยาปฏิชีวนะของแบคทีเรียในดิน เพาะปลูกและในพื้นที่ชุมชนชาวกระเหรี่ยง หมู่บ้านตะเพินคี จังหวัดสุพรรณบุรี ปี 2557 แห่งทุน : สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ

7.6 ผู้ร่วมโครงการวิจัย : การศึกษาประสิทธิภาพการกำจัดพาราควอทโดยกระบวนการโฟโตคะตะไลติก ปี 2557 แห่งทุน : สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ



7.5 ผู้ร่วมโครงการวิจัย: แนวทางการมีส่วนร่วมและการประยุกต์ใช้แบบจำลองในการจัดการสิ่งแวดล้อม จังหวัดนนทบุรี ปี 2550 แหล่งทุนสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ

7.6 ผู้ร่วมโครงการวิจัย: การพัฒนาความเข้มแข็งของชุมชนอย่างยั่งยืนโดยการประยุกต์ใช้ภาคก่อนจากระบบบำบัดน้ำเสียระยะที่ 1-2 เพื่อทำปุ๋ยและผลิตภัณฑ์ ปี 2552 แหล่งทุนสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ

7.7 ผู้ร่วมโครงการวิจัย: การพัฒนาการจัดการระบบสิ่งแวดล้อมเพื่อการผลิตรายั่งยืนของโรงงานอุตสาหกรรมผลิตข้อต่อท่อประปาเหล็ก กรณีศึกษา โรงงานปีสไฟฟ์ ฟิตติ้งอินดัสตรี จำกัด จังหวัดสมุทรสาคร ปี 2553 แหล่งทุนสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ

7.8 ผู้ร่วมโครงการวิจัย: แนวทางการจัดการการท่องเที่ยวเชิงนิเวศอย่างยั่งยืนโดยการมีส่วนร่วมของชุมชนในเขตอุทยานแห่งชาติพุเตย จังหวัดสุพรรณบุรี ปี 2555 แหล่งทุนสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ

7.9 ผู้ร่วมโครงการวิจัย: ผลกระทบจากการใช้สารเคมีทางการเกษตรที่มีต่อการดื้อยาปฏิชีวนะของแบคทีเรียในดิน เพาะปลูกและในพื้นที่ชุมชนชาวกระเหรี่ยง หมู่บ้านตะเพินคี จังหวัดสุพรรณบุรี ปี 2555 แหล่งทุนสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ

7.10 ผู้ร่วมโครงการวิจัย: ผลกระทบจากการใช้สารเคมีทางการเกษตรที่มีต่อการดื้อยาปฏิชีวนะของแบคทีเรียในดิน เพาะปลูกและในพื้นที่ชุมชนชาวกระเหรี่ยง หมู่บ้านตะเพินคี จังหวัดสุพรรณบุรี ปี 2557 แหล่งทุน : สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ

## ผู้ร่วมวิจัย

1. ชื่อ - นามสกุล (ภาษาไทย)                      นายมณฑล สุวรรณประภา  
ชื่อ - นามสกุล (ภาษาอังกฤษ)                      Mr. Montol Suwanprapha
2. เลขหมายบัตรประจำตัวประชาชน  
5-7208-00021-83-0
3. ตำแหน่งปัจจุบัน  
นักวิจัย
4. หน่วยงานและที่อยู่  
ศูนย์สิ่งแวดล้อม คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยสวนดุสิต  
228-228/1-3 ถนนสิรินธร เขตบางพลัด กรุงเทพฯ 10700  
โทรศัพท์ 02- 423-9407-10 โทรสาร 02-423-9409  
E-mail: mon\_en45@hotmail.com
5. ประวัติการศึกษา
  - วท.ม. (วิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม) มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
  - วท.บ. (วิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม) มหาวิทยาลัยราชภัฏสวนดุสิต
6. สาขาวิชาการที่มีความชำนาญพิเศษ (แตกต่างจากวุฒิมัธยมศึกษา) ระบุสาขาวิชาการ
  - การประเมินคุณภาพสิ่งแวดล้อมโดยใช้ระบบสารสนเทศภูมิศาสตร์ (Geographic Information System : GIS)
  - การวิเคราะห์คุณภาพสิ่งแวดล้อม (น้ำ, อากาศ, เสียงและความสั่นสะเทือน, แสง, ความร้อน)
  - การศึกษาตัวชี้วัดทางชีวภาพ (Biological Indicators)

7. ประสบการณ์ที่เกี่ยวข้องกับการบริหารงานวิจัยทั้งภายในและภายนอกประเทศ ตั้งแต่ พ.ศ. 2555 – ปัจจุบัน

7.1 หัวหน้าโครงการวิจัย : การประเมินศักยภาพของพื้นที่เพื่อกำหนดที่ตั้งหน่วยพิทักษ์และเส้นทางศึกษาธรรมชาติในเขตอุทยานแห่งชาติพุเตย จังหวัดสุพรรณบุรี ปี 2555 แหล่งทุน : สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ

7.2 หัวหน้าโครงการวิจัย : การศึกษาความหลากหลายชนิดของไบรโอซัวน้ำจืดในแหล่งน้ำบริเวณตำบลโคกโคเฒ่า อำเภอเมืองสุพรรณบุรี รูปแบบการใช้ประโยชน์ที่ดินทาง ปี 2556 แหล่งทุน : มหาวิทยาลัยราชภัฏสวนดุสิต

7.3 หัวหน้าโครงการวิจัย : การเกษตรและปัญหาการชะล้างพังทลายของดินบนพื้นที่สูงกรณีศึกษา ชุมชนชาวกะเหรี่ยง หมู่บ้านตะเพินคี จังหวัดสุพรรณบุรี ปี 2557 แหล่งทุน : สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ

7.4 หัวหน้าโครงการวิจัย : การเปลี่ยนแปลงความหลากหลายชนิดของจุลินทรีย์ดินที่เป็นประโยชน์ทางการเกษตรในเขตอุทยานแห่งชาติพุเตย จังหวัดสุพรรณบุรี ปี 2558 แหล่งทุน : สำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา

7.5 หัวหน้าโครงการวิจัย : การบริหารจัดการข้าวไร้โดยการมีส่วนร่วมของชุมชนเพื่อสร้างความเข้มแข็งและยั่งยืน ภายใต้รูปแบบธนาคารข้าว : กรณีศึกษาชุมชนชาวกะเหรี่ยง หมู่บ้านตะเพินคี จังหวัดสุพรรณบุรี ปี 2560 แหล่งทุน : สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ

### ผู้ร่วมวิจัย

1. ชื่อ - นามสกุล (ภาษาไทย) นายอนิรุทธ์ ศรีเลขา  
ชื่อ - นามสกุล (ภาษาอังกฤษ) Mr.Anirut Srilekha
2. เลขหมายบัตรประจำตัวประชาชน  
3 -1022 - 00518 - 29 - 7
3. ตำแหน่งปัจจุบัน  
นักวิจัยผู้ช่วย
4. หน่วยงานและที่อยู่  
ศูนย์สิ่งแวดล้อม คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยสวนดุสิต  
228-228/1-3 ถนนสิรินธร เขตบางพลัด กรุงเทพฯ 10700  
โทรศัพท์ 02- 423-9407-10 โทรสาร 02-423-9409  
E-mail: ah\_s125@hotmail.com
5. ประวัติการศึกษา
  - วท.บ.(วิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม) มหาวิทยาลัยราชภัฏสวนดุสิต
  - สศ.บ.(อาชีวอนามัยและความปลอดภัย) มหาวิทยาลัยสุโขทัยธรรมาธิราช
6. สาขาวิชาการที่มีความชำนาญพิเศษ (แตกต่างจากวุฒิการศึกษา) ระบุสาขาวิชาการ
  - การตรวจติดตามและวิเคราะห์คุณภาพสิ่งแวดล้อม (อากาศ, เสียงและความสั่นสะเทือน, แสง, ความร้อน) สาขาวิชา วิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม และอาชีวอนามัยและความปลอดภัย
  - การประเมินผลกระทบสิ่งแวดล้อม สาขาวิชา วิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม
7. ผลงานวิจัย/งานโครงการที่ทำเสร็จแล้ว
  - 7.1 ผู้ร่วมโครงการวิจัย: การศึกษาพฤติกรรมการมีส่วนร่วมในการส่งเสริมและรักษาสิ่งแวดล้อมชุมชนของประชาชนในเขตกรุงเทพมหานคร ปี 2548 แหล่งทุนอนุกรรมการการมีส่วนร่วมด้านเศรษฐกิจ เทคโนโลยี และสิ่งแวดล้อม วุฒิสภา
  - 7.2 ผู้ร่วมโครงการวิจัย: การศึกษาพฤติกรรมการมีส่วนร่วมในการส่งเสริมและรักษาสิ่งแวดล้อมชุมชนของประชาชนในจังหวัดนนทบุรี ปี 2548 แหล่งทุนสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ
  - 7.3 ผู้ร่วมโครงการวิจัย: การพัฒนาองค์ความรู้เพื่อบริหารจัดการทรัพยากรในพื้นที่ส่วนขยายของเมือง จังหวัดนนทบุรี ปี 2549 แหล่งทุนสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ
  - 7.4 ผู้ร่วมโครงการวิจัย: การศึกษาคุณภาพน้ำและแนวทางการจัดการน้ำอย่างยั่งยืน จังหวัดนนทบุรี ปี 2550 แหล่งทุนสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ

7.5 ผู้ร่วมโครงการวิจัย: แนวทางการมีส่วนร่วมและการประยุกต์ใช้แบบจำลองในการจัดการสิ่งแวดล้อม จังหวัดนนทบุรี ปี 2550 แหล่งทุนสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ

7.6 ผู้ร่วมโครงการวิจัย: การพัฒนาความเข้มแข็งของชุมชนอย่างยั่งยืนโดยการประยุกต์ใช้ภาคก่อนจากระบบบำบัดน้ำเสียระยะที่ 1-2 เพื่อทำปุ๋ยและผลิตภัณฑ์ ปี 2552 แหล่งทุนสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ

7.7 ผู้ร่วมโครงการวิจัย: การพัฒนาการจัดการระบบสิ่งแวดล้อมเพื่อการผลิตอย่างยั่งยืนของโรงงานอุตสาหกรรมผลิตข้อต่อท่อประปาเหล็ก กรณีศึกษา โรงงานปีสไฟฟ้า ฟิตติ้งอินดัสตรี จำกัด จังหวัดสมุทรสาคร ปี 2553 แหล่งทุนสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ

7.8 ผู้ร่วมโครงการวิจัย: การศึกษาศักยภาพและความเป็นไปได้ในการผลิตไฟฟ้าพลังน้ำขนาดเล็ก ในเขตอุทยานแห่งชาติพุเตย จังหวัดสุพรรณบุรี ปี 2555 แหล่งทุนสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ

7.9 ผู้ร่วมโครงการวิจัย: การบริหารจัดการพัฒนาพื้นที่ต้นน้ำแบบบูรณาการกรณีศึกษา การสร้างแบบจำลองฝายต้นน้ำร่วมกับการผลิตไฟฟ้าพลังน้ำ ปี 2557 แหล่งทุนสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ

