

บทที่ 2

แนวคิด ทฤษฎี เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

แคดเมียม

แคดเมียม มีเลขอะตอม 48 เป็นโลหะทรานซิชันที่มีสีขาว-ฟ้า เนื้อมันวาว เนื้ออ่อน สามารถบิดโค้งงอได้และถูกตัดได้ง่ายด้วยมีด มักอยู่ในรูปแท่ง แผ่น เส้นลวด หรือเป็นผงเม็ดเล็กๆ มีน้ำหนักโมเลกุลเท่ากับ 12 จุดหลอมเหลวที่อุณหภูมิ 320.9 องศาเซลเซียส จุดเดือด 767 องศาเซลเซียส แคดเมียมบางรูปละลายน้ำได้ โดยที่แคดเมียมไม่ละลายตัวในสิ่งแวดล้อมแต่เปลี่ยนรูปได้ในดิน ในหินและปุ๋ยจากแร่มีแคดเมียมอยู่บ้างในอากาศที่มีความชื้นแคดเมียมจะถูกออกซิไดซ์ช้าๆ ให้แคดเมียมออกไซด์ (ศราริน กลิ่นโพธิ์กลับ, 2549) แคดเมียมเป็นแร่ที่พบกระจายปนกับแร่ชนิดอื่น ไม่ได้เป็นแร่เอกเทศและมักปนอยู่กับสังกะสีในปริมาณ 0.1 - 55 ซึ่งปริมาณแคดเมียมมีมากหรือน้อยขึ้นอยู่กับปริมาณสังกะสีในแร่ สำหรับแร่สังกะสีในประเทศไทยที่ขุดได้ในจังหวัดตาก มีแคดเมียมประกอบอยู่ 0.23 - 0.38% (กรมควบคุมมลพิษ, 2541) และแคดเมียมที่อยู่ในแร่มักอยู่ในรูปสารประกอบเช่น แคดเมียมออกไซด์ (CdO) แคดเมียมคลอไรด์ (CdCl₂) แคดเมียมซัลเฟต (CaSO₄) แคดเมียมซัลไฟต์ เป็นต้น ซึ่งในการทำเหมืองแร่มักมีแคดเมียมเป็นผลพลอยได้ (ศราริน กลิ่นโพธิ์กลับ, 2549)

แคดเมียมเป็นธาตุที่ไม่ละลายน้ำแต่ละลายได้ดีในกรดไนตริกและละลายใน Hydrochloric อย่างช้าๆ แคดเมียมละลายได้ในกรดอ่อน จากคุณสมบัติข้อนี้ ทำให้แคดเมียมเป็นอันตรายต่อคนแบบเฉียบพลันเมื่อกินเข้าไป แต่อย่างไรก็ตามสารประกอบแคดเมียม เช่น แคดเมียมคลอไรด์ (CdCl₂) แคดเมียมซัลเฟต (CaSO₄) และแคดเมียมไนเตรต (Cd(NO₃)₂) นอกจากนี้แคดเมียมสามารถรวมกับสารอื่นๆ เป็นสารประกอบเชิงซ้อนที่ละลายน้ำได้ โดยเฉพาะเมื่อรวมกับ cyanides และ amines (กรมควบคุมมลพิษ, 2541)

แคดเมียมถูกนำมาใช้ประโยชน์หลายด้านดังนี้ (Shin *et al*, 2007 ; Sen and Sarzali, 2008; Al - Enber *et al*, 2008 ; กรมควบคุมมลพิษ, 2541)

- ใช้ในการชุบโลหะ โดยใช้แคดเมียมเคลือบบนแผ่นเหล็ก ทองแดง อะลูมิเนียม โดยการชุบไฟฟ้า โลหะที่ได้จากการชุบนำไปใช้เป็นส่วนประกอบของเครื่องบิน รถยนต์ อุปกรณ์ไฟฟ้า อุปกรณ์อิเล็กทรอนิกส์

- ใช้ร่วมกับนิกเกิล เพื่อทำแบตเตอรี่ที่สามารถประจุไฟฟ้าใหม่ได้ (rechargeable battery) โดย

- ใช้อุตสาหกรรมผลิตเม็ดสีในอุตสาหกรรม สารประกอบแคดเมียมที่ใช้ในการให้สีในอุตสาหกรรมต่างๆ เช่น สีอีนาเมล (Enamels) เซรามิก ยาง แก้ว ผ้า เส้นใย หมึกพิมพ์ พลาสติก

- ใช้ผสมกับโลหะอื่นเป็นโลหะผสมอัลลอย (alloy) เพื่อเพิ่มความเหนียวและทนต่อการสึกกร่อน เช่น alloy ของทองแดงที่มี แคดเมียม 1% (cadmium bronze) ใช้ในการผลิตเส้นลวดโทรเลขโทรศัพท์

- ใช้ในอุตสาหกรรมสิ่งทอ



ภาพที่ 2.1 แคดเมียม (<http://en.wikipedia.org/wiki/Cadmium>)

ความเป็นพิษของแคดเมียม

การที่แคดเมียมถูกนำมาใช้ประโยชน์ในอุตสาหกรรม ทำให้แคดเมียมเกิดการปนเปื้อนอยู่ในสิ่งแวดล้อม บรรยากาศ และในอาหาร ทำให้เราได้รับแคดเมียมเข้าสู่ร่างกายโดยไม่รู้ตัว คนทั่วไปส่วนใหญ่ได้รับแคดเมียมเข้าสู่ร่างกายจากอาหารที่บริโภคเข้าไปเป็นหลัก โดยอาจปนเปื้อนมากับ พืช ผัก และผลไม้ แคดเมียมอาจจะละลายอยู่ในน้ำที่เราดื่มและได้รับจากอากาศ โดยการหายใจเอาอากาศที่มีแคดเมียมฟุ้งอยู่ในบรรยากาศเข้าไป โดยเมื่อร่างกายได้รับแคดเมียมเข้าไปมากอาจจะทำให้เกิดโรคอิไต-อิไต (Balhaya and Cesur, 2008) ซึ่งทำให้

สายตามีอาการผิดปกติและปวดกระดุกตามน่อง ซีโครง และกระดุกสันหลัง เป็นต้น และ แคลเดียมที่สะสมอยู่ในร่างกายสามารถแบ่งความเป็นพิษเป็นพิษ ได้ดังนี้ (กรมควบคุมพิษ, 2541)

1) ความเป็นพิษแบบเฉียบพลัน

ก. ความเป็นพิษต่อระบบทางเดินอาหาร

ระบบทางเดินอาหารเป็นระบบแรกในร่างกายที่ได้รับพิษเมื่อร่างกายได้รับแคลเดียม โดยการกินซึ่งส่วนใหญ่มีสาเหตุมาจากการกินอาหารหรือเครื่องดื่มที่มีแคลเดียมปนเปื้อน อาการที่ปรากฏเริ่มแรกคือ รู้สึกคลื่นไส้อย่างรุนแรง ตามด้วยอาการอาเจียน ท้องร่วง เป็นตะคริว และน้ำลายฟูมปาก ในรายที่เป็นมากจะมีอาการตามมาใน 2 ลักษณะ คือ อาจเกิดอาการช็อคเนื่องจากสูญเสียน้ำมากและอาจทำให้ตายได้ภายใน 24 ชั่วโมง หรือ ระบบการทำงานของไตล้มเหลวและอาจถึงตายได้ภายใน 7 หรือ 14 วัน นอกจากนี้อาจมีผลไปทำลายตับด้วย โดยตารางที่ 2.1 แสดงความเป็นพิษแบบเฉียบพลันของแคลเดียมที่มีต่อมนุษย์โดยการกิน

ตารางที่ 2.1 ความเป็นพิษแบบเฉียบพลันของแคลเดียมที่มีต่อมนุษย์โดยการกิน (กรมควบคุมมลพิษ, 2541)

ปริมาณแคลเดียม (mg)	อาการที่เกิด
3 - 90	เกิดอาการอาเจียน แต่ไม่มีผลทำให้ถึงตาย
15	เกิดอาการอาเจียน
10 - 326	เกิดอาการความเป็นพิษอย่างรุนแรงแต่ไม่ถึงตาย
350 - 3,500	ปริมาณที่อาจทำให้ถึงตายได้
1,530 - 8,900	ปริมาณที่ทำให้ถึงตายได้

ข. ความเป็นพิษต่อระบบทางเดินหายใจ

ความเป็นพิษที่เกิดขึ้นในระบบหายใจเนื่องจากการสูดไอหรือควันของแคลเดียม ซึ่งส่วนใหญ่เกิดขึ้นเนื่องจากกิจการอุตสาหกรรม โดยเฉพาะการเชื่อมโลหะด้วย ความร้อนสูง แต่โดยทั่วไปในขณะที่สูดหายใจจะไม่ปรากฏอาการหรือมีอาการเพียงเล็กน้อย และไอที่เกิดจากการใช้กระแสไฟฟ้า จะมีความเป็นพิษเป็น 2 เท่าของไอที่เกิดจากความร้อน อาการโดยรวมจะปรากฏหลังจากสูดไอเข้าไปแล้ว 2 - 3 ชั่วโมง คือ เกิดอาการระคายเคืองที่หลอดลมและปอด ซึ่งรวมถึงอาการอื่น ๆ ด้วย เช่น ระคายเคืองที่จมูกและคอ ไอ ปวดศีรษะ อ่อนเพลีย หนาวสั่น มี

ไข่ เจ็บหน้าอก นอกจากนี้อาจมีอาการอย่างอื่นปรากฏด้วย เช่น คลื่นเหียน อาเจียน และท้องร่วง

2) ความเป็นพิษแบบเรื้อรัง

ความเป็นพิษแบบเรื้อรังที่มีต่อมนุษย์หลังจากที่ร่างกายมนุษย์ได้รับแคดเมียมในปริมาณปานกลางเข้าไปนานติดต่อกัน ความเป็นพิษมักจะไปปรากฏที่ปอดและไตเป็นส่วนใหญ่ ส่วนในระบบอื่น ๆ ก็มีปรากฏอาการเช่นเดียวกัน เช่น ที่กระดูก เม็ดโลหิต ส่วนในสัตว์ทดลอง จะพบอาการของความดันโลหิตสูง

ข้าว

เป็นพืชตระกูลหญ้าอยู่ใน Family Gramineae Oryza ซึ่งเจริญเติบโตทั้งในเขตร้อนและเขตอบอุ่น ปัจจุบันพันธุ์ข้าวที่ใช้ปลูกเพื่อใช้เป็นอาหารนั้น ส่วนมากมีเพียง 2 Species คือ Oryza sativa ที่มีปลูกกันโดยทั่วไปกับ Oryza glaberrima ที่ปลูกเฉพาะในแอฟริกาเท่านั้น โดยที่ Oryza sativa มีจำนวนพันธุ์และความแตกต่างในลักษณะของพันธุ์มากกว่า Oryza glaberrima จึงใช้เป็นพันธุ์ปลูกในประเทศต่าง ๆ ทั่วไปทั้งในเอเชีย แอฟริกา ยุโรป และออสเตรเลีย (เพื่อนจิต บุญจันทร์, 2548)

1. การเจริญเติบโตของข้าว

การเจริญเติบโตของข้าว สามารถแบ่งออกได้เป็น 2 ระยะ ดังนี้ (วิไล พันธุ์จงหาญ, 2548)

1) การเจริญเติบโตทางลำต้น (Vegetative growth phase)

เริ่มตั้งแต่ข้าวงอกออกจากเมล็ดไปจนถึงข้าวเริ่มมีการสร้างรวงอ่อนหรือช่อดอก การเจริญเติบโตระยะนี้ต้นข้าวจะมีการสร้างใบ ลำต้น แตกกอ การขยายตัวของปล้องทำให้ต้นข้าวสูงขึ้น ขณะเดียวกันใต้ผิวดินก็มีการสร้างระบบรากให้สมบูรณ์ สะสมอาหารไว้สำหรับการเจริญเติบโตในระยะสืบพันธุ์ต่อไป

2) การเจริญเติบโตระยะสืบพันธุ์หรือสร้างช่อดอกหรือรวง (Reproductive growth phase)

เริ่มตั้งแต่วันที่ต้นข้าวเริ่มสร้างดอกอ่อน จนถึงวันที่รวงเริ่มโผล่ออกจากใบธงกินเวลาประมาณ 30 - 40 วัน ในระยะนี้เมื่อเริ่มแรกภาษาชาวนาเรียกว่า ข้าวแตงตัว จนกระทั่งการสร้างรวงผ่านไประยะหนึ่ง รวงอ่อนมีขนาดใหญ่อยู่พอสมควรทำให้ต้นข้าวมีลักษณะกลมและ

ป่องออก ระยะนี้เรียกข้าวตั้งท้อง ระยะที่รวงข้าวเริ่มโผล่ออกจากลำต้นเรียกว่า ข้าวโผล่
ภายในระยะเวลา 30 - 40 วัน ต้นข้าวจะมีการสร้างและพัฒนาส่วนต่างๆ ของรวงและดอก เช่น
กลีบดอกส่วนต่างๆ ของเพศผู้และเพศเมีย เพื่อเตรียมไว้สำหรับการผสมพันธุ์ต่อไป

ภายหลังการเจริญเติบโต ระยะสืบพันธุ์ข้าวก็จะเริ่มผสมพันธุ์และสร้างเมล็ด ระยะนี้
เรียกว่า ระยะสร้างเมล็ดและระยะข้าวสุกแก่ (grain formation and ripening stage) โดยจะเริ่ม
หลังจากการผสมเกสร ไปจนถึงเวลาที่เมล็ดข้าวแก่จัด หลังจากผสมเกสรประมาณ 7 - 10 วัน
ข้าวก็จะเริ่มมีเมล็ดลักษณะเป็นแป้งน้ำเหมือนน้ำนม ระยะนี้จึงเรียกว่า ระยะน้ำนม ทั้งนี้ต้นข้าว
ใช้เวลาในการสร้างเมล็ดตั้งแต่การผสมเกสรจนถึงแก่จัดประมาณ 30 วัน

2. เมล็ดข้าว

เมล็ดข้าวหมายถึง ส่วนรวมที่เป็นแป้งที่เรียกว่า endosperm และส่วนที่เป็น embryo
ซึ่งถูกห่อหุ้มไว้โดยเปลือกนอกที่ เรียกว่า lemma และ palea แป้ง endosperm เป็นแป้งที่เรา
บริโภค embryo เป็นส่วนที่มีชีวิตและงอกออกมาเป็นต้นข้าวเมื่อเอาไปเพาะ การที่ละอองเกสร
ตัวผู้ตกลงบนที่รับละอองเกสรของเกสรตัวเมียนั้น เรียกว่า การผสมเกสร (pollination) หลังจาก
การผสมเกสรเล็กน้อย ละอองเกสรตัวผู้ก็จะงอกเข้าไปในก้านของเกสรตัวเมีย เพื่อนำนิวเคลียส
จากละอองเกสรตัวผู้ลง ไปผสมเพื่อรวมตัวกับไข่และนิวเคลียสอื่น ๆ ในรังไข่ นิวเคลียสที่ได้
รวมตัวกับไข่ก็จะเจริญเติบโตเป็น embryo ส่วนนิวเคลียสที่ได้รวมตัวกับนิวเคลียสอื่น ๆ
(polarnuclei) ก็จะเจริญเติบโตเป็นแป้ง ที่เรียกว่า endosperm หลังจากการผสมเกสรประมาณ
๓๐ วัน เมล็ดข้าวก็จะแก่พร้อมที่จะเก็บเกี่ยวได้ เมื่อได้แกะเปลือกที่เป็น lemma และ palea
ของเมล็ดข้าวเปลือกที่เก็บเกี่ยวมาก็จะได้เมล็ดข้าวที่เรียกว่า ข้าวกล้อง หรือ brown rice เมล็ด
ข้าวกล้องมักจะเป็นสีน้ำตาลอ่อน ๆ และเมื่อได้ผ่าตัดเมล็ดข้าวกล้องออกตามความยาวและ
ศึกษาลักษณะของมันอย่างละเอียดก็พบว่าเมล็ดข้าวกล้องประกอบด้วย เยื่อชั้นนอกบาง ๆ
เรียกว่า pericarp layers จำนวน ๒ ชั้น เยื่อชั้นกลางหนึ่งชั้นเรียกว่า tegmen และเยื่อชั้นใน
บาง ๆ อีกหนึ่งชั้นเรียกว่า aleurone layer ถ้า pericarp layers เป็นสีแดง เมล็ดข้าวกล้องก็จะ
เป็นสีแดงส่วนภายในที่เป็น endosperm จะมีลักษณะเป็นแป้งสีขาวหรือใส เป็นจำนวนน้อยมาก
ที่มี endosperm เป็นสีแดงข้าวเหนียวจะมี endosperm เป็นสีขาวขุ่น ส่วนข้าวเจ้ามี
endosperm ใสกว่า อย่างไรก็ตาม endosperm ของเมล็ดข้าวเจ้าอาจมีสีขาวขุ่น เกิดขึ้นที่
ด้านข้างหรือตรงกลางของเมล็ดก็ได้ ซึ่งเรียกว่า ท้องไข่ หรือท้องปลาชิว (chalkiness)

เมล็ดข้าวจะประกอบด้วย เยื่อหุ้มชั้นใน จมูกข้าว และส่วนที่เป็นแป้งอยู่ภายใน ซึ่งเรียก
ข้าวในลักษณะนี้ว่าข้าวกล้อง ข้าวกล้อง มีคุณค่าทางโภชนาการสูง ส่วนที่เป็นรำข้าวจะ
ประกอบด้วยเยื่อหุ้มชั้นในซึ่งมีเส้นใยสูงและมีเกลือแร่อยู่บ้าง จมูกข้าวจะเป็นส่วนของเมล็ดข้าว
ที่คั่งงอ ห่อหุ้มบริเวณคัพพะ (embryo หรือ germ) ซึ่งเป็นส่วนที่จะงอกเป็นลำต้นของต้นข้าว

เอาไว้ ดังนั้นจมูกข้าวจึงเป็นส่วนที่อุดมไปด้วยสารอาหารที่สมบูรณ์ที่สุดของเมล็ดข้าว มีสารที่เป็นประโยชน์ต่อร่างกาย คือ วิตามินเอและวิตามินบีอีกหลายชนิดคือ บี 1 บี 2 บี 5 บี 9 บี 12

3. การปนเปื้อนแคดเมียมในข้าว

จมูกข้าวของเมล็ดข้าวเป็นแหล่งสะสมอาหารและแร่ธาตุต่างๆ จำนวนมาก จึงทำให้แคดเมียมสามารถสะสมในส่วนของจมูกข้าวและเนื้อเยื่อชั้นในมีเส้นใยสูงแต่มีการสะสมของสารอาหารและแร่ธาตุน้อยมีเพียงเกลือแร่อยู่บ้างเล็กน้อย แต่จมูกข้าวมักจะหลุดออกมาในระหว่างขัดสีในขบวนการผลิตข้าวขาว เนื่องจากจมูกข้าวเป็นส่วนประกอบของข้าวที่ยังไม่ได้ทำการขัดสี หรือที่เรียกกันว่า ข้าวกล้อง เมื่อทำการขัดสีแล้วทำให้จมูกข้าวหลุดออกไปรวมทั้งเนื้อเยื่อชั้นนอกของข้าวด้วย แคดเมียมที่สะสมอยู่ในจมูกข้าวและเนื้อเยื่อชั้นนอกจึงติดออกไปกับส่วนดังกล่าว แต่ยังคงมีแคดเมียมสะสมอยู่ในเนื้อเยื่อชั้นในของเมล็ดข้าว

แคดเมียมเป็นธาตุที่ละลายน้ำได้ดีกว่าธาตุโลหะอื่นๆ ที่สามารถเปลี่ยนแปลงเคลื่อนย้ายได้รวดเร็ว ข้าวสามารถดูดแคดเมียมซึ่งมีวาเลนซ์ +2 หรืออยู่ในสภาพ Cd^{+2} เข้าไปในเนื้อเยื่อได้อย่างรวดเร็ว ถ้าความเป็นกรดหรือด่าง (pH) เหมาะสม เช่นในข้าว ดินที่มีสภาพเป็นกรดรุนแรง (pH 4.8 - 5.5) ข้าวจะสะสมแคดเมียมได้มากกว่าดินที่มีสภาพเป็นด่างเล็กน้อย (pH 7.4 - 7.8) ทั้งนี้เพราะที่ pH สูงกว่า 7.25 จะเกิดเกลือแคดเมียมคาร์บอเนต ($CdCO_3$)

4. มาตรฐานของแคดเมียมในข้าว

ค่ามาตรฐานของแคดเมียมในเมล็ดข้าวที่กำหนด ในมาตรฐานของ Codex Committee on Food Additives and Contaminant (CCFAC) กำหนดไว้ว่าปริมาณแคดเมียมในเมล็ดข้าวต้องไม่เกิน 0.2 มิลลิกรัม/กิโลกรัม

5. สถานการณ์การปนเปื้อนแคดเมียมในข้าวในประเทศไทย

การปนเปื้อนแคดเมียมในดินและในข้าวของประเทศไทยถูกพบเป็นมากและมีค่าเกินมาตรฐานในพื้นที่ บริเวณห้วยแม่ดาว อำเภอแม่สอด จังหวัดตาก ทั้งนี้เนื่องจากพื้นที่บริเวณดังกล่าวมีอุตสาหกรรมผลิตเหมืองแร่สังกะสีอยู่ และแคดเมียมมักพบปะปนกับสังกะสีเป็นส่วนใหญ่ ดังนั้น เมื่อมีการเปิดหน้าดินในการทำเหมืองแร่จะทำให้แคดเมียมปะปนออกมาจากการชะล้างของน้ำฝน และไหลลงสู่ห้วยแม่ดาว ทำให้เกิดการสะสมในตะกอนท้องน้ำ เมื่อปล่อยน้ำเข้าสู่แปลงเกษตร ทำให้เกิดการแพร่กระจายแคดเมียมเข้าสู่ข้าว

Simmons และคณะ (2005) ได้ศึกษาการปนเปื้อนของแคดเมียมในลุ่มน้ำแม่ดาว อำเภอแม่สอด จังหวัดตาก โดยได้ทำการตรวจวัดระดับแคดเมียมในดินและข้าวบริเวณอำเภอแม่สอด จังหวัดตาก โดยการศึกษาแบ่งเป็น 2 ช่วง ช่วงแรก เดือน มิถุนายน 2000 -

พศจิกายน 2000 ศึกษาแปลงนาบริเวณบ้านพะเต๊ะ ตำบลพระธาตุผาแดง อำเภอแม่สอด จังหวัดตาก ซึ่งอยู่บริเวณแหล่งแร่สังกะสี (Zinc mineralized area) มากที่สุด พบว่า ปริมาณแคดเมียมในดิน (จำนวน 154 ตัวอย่าง) อยู่ในช่วง 3.4 - 284 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ส่วนในเมล็ดข้าวมีแคดเมียมปนเปื้อนอยู่ 0.1 - 4.4 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ซึ่งพบว่า 95% ของเมล็ดข้าวที่สุ่มตัวอย่าง มีค่าแคดเมียมอยู่ในเมล็ดข้าวเกินมาตรฐานของ Codex Committee on Food Additives and Contaminant (CCFAC) ที่ได้กำหนดไว้ที่ 0.2 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ส่วนในช่วงที่สองทำการศึกษาระหว่างปี 20001 - 2002 ทำการศึกษาบริเวณท้ายน้ำของลำห้วยแม่ตาว ตำบลพระธาตุผาแดง อำเภอแม่สอด จังหวัดตาก พบว่า มีปริมาณแคดเมียมปนเปื้อนในดิน อยู่ในช่วง 0.5 - 218 มิลลิกรัม/กิโลกรัม (จำนวน 334 ตัวอย่าง) และมีปริมาณแคดเมียมในเมล็ดข้าวสูงถึง 0.05 - 7.7 มิลลิกรัม/กิโลกรัม (จำนวน 432 ตัวอย่าง) ซึ่งพบว่า 85% ของเมล็ดข้าวที่สุ่มตัวอย่างมีค่าแคดเมียมเกินค่ามาตรฐาน

ปัญหาของการปนเปื้อนของแคดเมียมในข้าวบริเวณพื้นที่ปลูกข้าวในลุ่มน้ำห้วยแม่ตาว อำเภอแม่สอด จังหวัดตาก ส่งผลโดยตรงต่อสุขภาพอนามัยของประชาชนในพื้นที่ดังกล่าว เนื่องจากมีการนำข้าวที่ปลูกไปใช้บริโภคเป็นอาหาร และยังส่งผลกระทบต่อประชาชนทั่วไปที่มีการซื้อข้าวบริเวณแหล่งปลูกดังกล่าวไปใช้บริโภค ประชาชนมีความเสี่ยงที่จะเกิดโรคผิดปกติจากไต เพราะพิษของแคดเมียมที่สะสมในร่างกายมีผลทำให้เกิดภาวะไตวาย หรือป่วยเป็นโรคไต - อีไต รวมทั้งส่งผลต่อเลือดและตับไต ดังนั้น การหาแนวทางในการแก้ปัญหาในการลดการปนเปื้อนของแคดเมียมในข้าวเป็นวิธีที่จะมีประโยชน์มากสำหรับเกษตรกรในพื้นที่ดังกล่าว

การดูดซับโลหะหนักของพืช

1. รูปของแคดเมียมในดิน

แคดเมียมในหินอัคนี (Magmatic rocks) และหินตะกอน จะมีปริมาณไม่เกิน 0.3 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ในการสลายตัวของดิน แคดเมียมจะอยู่ในสภาพละลายน้ำได้ง่าย และอยู่ในรูปแคดเมียมไอออน (Cd^{2+}) และสามารถอยู่ในรูปไอออนแคดเมียมเชิงซ้อน (Complex Ions) อื่นด้วย เช่น $CdCl^+$, $CdOH^+$, $CdHCO_3^+$, $CdCl_2^0$, $CdCl_3^-$, $CdCl_4^{2-}$, $CdOH_3^-$, $Cd(OH)_4^{2-}$ ยกตัวอย่างเช่น ความเข้มข้นของคลอไรด์ ไอออนสูง ทำให้การดูดซับแคดเมียมในพืชมีเพิ่มขึ้น นอกจากนี้ยังมีรายงานว่า การเพิ่มความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ในดินทำให้ความเข้มข้นของแคดเมียมในพืชเพิ่มขึ้น การดูดซับแคดเมียมในพืชดังกล่าวเป็นผลมาจากเกลือของคลอไรด์ (Cl^- salinity) อย่างไรก็ตามวาเลนซ์ที่สำคัญที่สุดของแคดเมียมคือ +2 และปัจจัยสำคัญที่สุดในการควบคุมการเคลื่อนที่ของแคดเมียมไอออนคือ พีเอช และออกซิเดชัน (Oxidation potential) ภายใต้สภาวะที่เกิดออกซิเดชันอย่างแรง แคดเมียมจะอยู่ในรูปสารประกอบ เช่น แคดเมียม

ออกไซด์ (CdO) แคลเซียมคาร์บอเนต (CdCO₃) หรืออาจจะอยู่ร่วมกับฟอสเฟตได้เช่นเดียวกัน (วรารภรณ์ ศรีตัมภา, 2550)

2. กลไกการดูดซับแคดเมียมของพืช

กลไกการดูดแคดเมียมจากดินของพืช ประกอบด้วย 1) การดูดตั้งแคดเมียมจากรสละลายที่บริเวณผิวของราก 2) การดูดซึม (Absorption) และการลำเลียง (Transport) ของแคดเมียมไอออน (Cd²⁺) ไปตามเยื่อหุ้มเซลล์ (Cell plasma membranes) ของเซลล์รากโดยถูกควบคุมโดยความแตกต่างของศักย์ไฟฟ้าเคมี (Electrochemical potential) ของกิจกรรมแคดเมียมไอออน (Cd²⁺) ระหว่างไซโตพลาสซึม ซึ่งเป็นบริเวณที่เกิดปฏิกิริยาเคมีของเซลล์พืช และเป็นที่เก็บสะสมของวัสดุสำหรับเซลล์ และอะพอพลาสซึม (Apoplasms) ของราก ซึ่งกระบวนการดูดซึมธาตุโลหะโดยกระบวนการทางฟิสิกส์ ที่เรียกว่า Passive Adsorption ทำให้แคดเมียมถูกดูดผ่านในรากพืชทางช่องว่างระหว่างเซลล์ (Free space) นอกจากนี้ โลหะหนักที่มีความเข้มข้นสูง สามารถเคลื่อนที่ผ่านอย่างรวดเร็วด้วย โดยมีการเคลื่อนที่ผ่านทางเอนโดเดอริส (Endodermis) ซึ่งเป็นเนื้อเยื่อที่อยู่ด้านนอกของเนื้อเยื่อลำเลียงของรากเพื่อเข้าสู่ท่อลำเลียงน้ำ (Xylem) หากแต่สารประกอบเชิงซ้อนที่อยู่ในรูปสารอินทรีย์ (Organic) ส่วนใหญ่มีการเคลื่อนย้ายทางท่ออาหาร (Phloem) 3) การเคลื่อนที่ภายในระหว่างเซลล์แคดเมียม และ 4) ระยะเวลาการเคลื่อนย้ายและการสะสม (Deposition) ของแคดเมียมในส่วนของพืช เป็นต้น นอกจากนี้ กิจกรรมต่างๆ ที่เกิดขึ้นในบริเวณราก ซึ่งแคดเมียมสามารถละลายเพิ่มได้ ในบริเวณนี้เรียกไรโซสเฟียร์ (Rhizosphere) นั้นอาจมีผลทำให้ปริมาณแคดเมียม มีความสามารถในการแพร่กระจายออกไปยังผิวของรากด้วยเช่นกัน (McLaughlin and Singh, 1999)

ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการดูดซับแคดเมียมในดินและการดูดตั้งของพืช

1) ความเป็นกรด - ด่างของดิน

แคดเมียมเคลื่อนที่ได้ดีในดินที่มีค่าความเป็นกรด-ด่างระหว่าง 4.5 - 5.5 ซึ่งมีสภาพละลายได้ (Solubility) ของแคดเมียมจะขึ้นอยู่กับออกไซด์ของเหล็กและอลูมิเนียมและปริมาณอินทรีย์วัตถุในดิน ในขณะที่ดินเป็นด่าง แคดเมียมไม่ค่อยเคลื่อนที่ ดังนั้นการใส่ปูน เพื่อลดความเป็นกรดจะสามารถลดการละลายได้ ทำให้ลดการดูดตั้งแคดเมียมของพืชได้เช่นกัน (ศุภมาศ ศรีหาญ, 2545) สอดคล้องกับ Lehoczky et al. (1997) ที่ได้กล่าวว่า ดินมีค่าพีเอชสูงซึ่งความสามารถในการดูดซับแคดเมียมของดินจะเพิ่มขึ้น การที่ดินมีความสามารถดูดซับแคดเมียมได้มากจะทำให้พืชสามารถดูดตั้งแคดเมียมได้น้อยลง นอกจากนี้ Escrig และ Morell (1998) รายงานว่าการเติมเกลือแคลเซียมคลอไรด์ (CaCl₂) ลงไปในดินทำให้ความสามารถของ

การดูดซับแคดเมียมลดลง 3 เท่า เมื่อเติมเกลือในปริมาณ 10 เท่า เนื่องจาก Ca^{2+} สามารถแทนที่ Cd^{2+} ได้

2) อิทธิพลของโลหะหนักและธาตุอื่นๆ

ลักษณะของปฏิกริยาร่วมระหว่างโลหะหนักด้วยกันมี 2 อย่างคือ การแก่งแย่ง (Antagonism) และการดูดซับด้วยกัน (Synergism) ปฏิกริยาการแก่งแย่ง หรือการดูดซับด้วยกันของโลหะและธาตุอื่นๆ มีอิทธิพลต่อการละลายในดิน การดูดซับและการเคลื่อนย้ายแคดเมียมของพืช เช่น เมื่อมีการใส่กำมะถันในดินที่มีการปนเปื้อน ทำให้พืชดูดซับแคดเมียมได้เพิ่มขึ้น นอกจากนี้ แคลเซียมและสังกะสีที่มีอยู่ในดินจะลดลง (Yanshan et al. , 2004)

3) ความสามารถแลกเปลี่ยนประจุบวก (Cation Exchange Capacity)

ดินมีประจุไฟฟ้าเนื่องมาจากอนุภาคของดินเหนียว (Clay mineral) และอินทรีย์วัตถุ (Organic mater) ทำให้สามารถดูดซับไว้ในดินหรือคอลลอยด์ดิน (Soil colloid) ซึ่งค่า CEC ขึ้นอยู่กับชนิดของคอลลอยด์ดิน ปริมาณของดินเหนียวที่อยู่ในดิน และปริมาณอินทรีย์วัตถุในดิน แร่ดินเหนียวต่างชนิดกัน จะมีค่า CEC ต่างกัน เช่น ดินที่มีค่าอิวมัสมากจะมีค่า CEC สูง เช่นเดียวกับดินที่มีเปอร์เซ็นต์ดินเหนียวสูง แคดไอออนจะถูกดูดซับที่ผิวของแร่ดินเหนียว ดังนั้นการชะละลายของพวกแคดไอออน จึงไม่สามารถทำได้ง่าย และจากการศึกษาของ ศิริลักษณ์ กล้าการชาย และธนุชัย กองแก้ว (2548) ได้ศึกษาการใช้หญ้าแฝกกำจัดแคดเมียมที่ปนเปื้อนในดิน โดยทำการศึกษาค่า CEC ซึ่งพบว่าค่า CEC ของชุดดินท่าเรือเท่ากับ 24.6 และ 1.8 cmole/kg ซึ่งจากการศึกษาพบว่า ชุดดินที่มีค่า CEC สามารถดูดซับแคดเมียมได้ดี และมีการปล่อยแคดเมียมได้ยากกว่าชุดดินที่มีค่า CEC ต่ำ ทำให้หญ้าแฝกที่ปลูกในชุดดินอุบลดูดซับแคดเมียมได้มากกว่าชุดดินท่าเรือ

4) เนื้อดินและโครงสร้างของดิน

โครงสร้างของดินเกิดจากการเกาะยึดของอนุภาคดิน และตัวเชื่อมทั้งสารอินทรีย์และไอออนต่างๆ ทำให้ความเสถียรของรูปทรง ลักษณะเนื้อดินและโครงสร้างของดินมีอิทธิพลต่อความพรุนของดินแต่ละชนิดย่อมมีผลต่อการดูดซับของโลหะหนักด้วย โดยเนื้อดินที่มีผิวรวมของอนุภาคมากกว่าจะดูดซับไอออนซึ่งเป็นธาตุอาหารได้มากกว่าด้วย ลักษณะของดินที่พืชต้องการคือ ไม่ขัดขวางการเจริญเติบโตของราก มีการถ่ายอากาศและระบายน้ำในดินได้ดี สามารถอุ้มน้ำให้กับพืชได้ มีลักษณะเอื้อประโยชน์ต่อความเป็นประโยชน์ของธาตุอาหารพืชเป็นที่ยึดเกาะของรากได้ดี Bell et al. (2001) พบว่า ดินทราย ซึ่งเป็นดินที่มีปริมาณดินเหนียวและอินทรีย์วัตถุต่ำ พบว่า พืชส่วนใหญ่สามารถดูดซับแคดเมียมไปใช้ได้สูงกว่าพืชที่ปลูกในดินเหนียว

5) ปริมาณอินทรีย์วัตถุ

อินทรีย์วัตถุมีประจุลบ (Net negatively charge) อยู่เป็นจำนวนมาก ทำให้ความสามารถในการดูดซับประจุบวกสูงกว่าคอลลอยด์อื่นๆ ประมาณ 2 - 30 เท่า จึงทำให้ดินที่มีอินทรีย์วัตถุสูง มีความต้านทานการเปลี่ยนแปลง พีเอชได้ดี

6) สารคีเลต (Chelate agent)

สารคีเลตมักเป็นสารประกอบอินทรีย์ (Organic compound) โดยเป็น Chelate metal ion ที่สามารถรวมกับโลหะเกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อน สารคีเลตที่มีการใช้เช่น Ethylene diaminetetraacetic Acid (EDTA) Diethylene triaminepentaacetic Acid (DTPA) Citric Acid (CA) และ Ethylene diaminedisuccinic Acid (EDDS) เป็นต้น สารคีเลตช่วยให้พืชดูดดึงแคดเมียมได้สูงขึ้น (วรารภรณ์ ศรีตัมภวา, 2550) ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลอง ของชิตชนก อัครวโถศิ (2550) ซึ่งได้ศึกษาผลของตัวคีเลตต่อการสะสมแคดเมียมของทานตะวัน โดยการเติมสารละลายไนเตรต ($Cd(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$) ความเข้มข้น 20 มิลลิกรัม/กิโลกรัม หลังจากปลูกพืชเป็นเวลา 35 วัน ทำการเติมคีเลต 3 ชนิด คือ EDTA EDDS และ CA ผลการศึกษาพบว่า การเติม EDTA ที่ความเข้มข้น 0.15 มิลลิกรัม/กิโลกรัม จำนวน 1 ครั้ง มีผลให้มีการสะสมแคดเมียมทั้งต้นมากที่สุด คือ 25 มิลลิกรัม/กิโลกรัม (น้ำหนักแห้ง) และพบว่า EDTA สลายตัวได้ช้ากว่า EDDA และ CA จึงสามารถปลดปล่อยแคดเมียมให้อยู่ในสารละลายได้มากกว่า EDDS และ CA

7) ชนิดและส่วนต่างๆ ของพืช

ปริมาณโลหะหนักในพืชจะแตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับ ชนิดพืช ส่วนของพืชและอายุพืช พืชแต่ละชนิดจะสะสมโลหะหนักชนิดต่างๆ ได้ต่างกัน Pepper et al.(1983) รายงานว่า ค่าความเข้มข้นของแคดเมียมในข้าวโพดจะมีปริมาณลดหลั่นกันไปดังนี้ ใบ > ต้น > ผัก

8) สภาพแวดล้อมต่างๆ

สภาพแวดล้อมเช่น ลักษณะภูมิอากาศและฤดูกาล ก็มีอิทธิพลในการส่งผ่านโลหะหนักจากรากไปสู่ส่วนต่างๆ ของพืช เช่น ถ้าอุณหภูมิของ สภาพแวดล้อมเพิ่มขึ้นพืชจะสามารถดูดดึงแคดเมียม แมงกานีสและสังกะสีเพิ่มขึ้นตามไปด้วย (Siriratpiriya et al., 1985)

หลักการการดูดซับโลหะหนักด้วยวิธีทางชีวภาพ (Biosorption)

การดูดซับทางชีวภาพ (biosorption) หมายถึง การดูดซับโลหะหนักด้วยมวลชีวภาพ ซึ่งเป็นการกระทำทางเคมี ฟิสิกส์ ที่เกิดขึ้นระหว่างโลหะหนัก/กลุ่มโลหะหนักที่มีประจุกับเซลล์จุลินทรีย์ เป็นวิธีทางชีวภาพในการควบคุมสิ่งแวดล้อม สามารถนำไปใช้เป็นทางเลือกในการบำบัดน้ำเสียปนเปื้อน มีข้อดีกว่าวิธีดั้งเดิมในด้านค่าใช้จ่าย ประสิทธิภาพ กากตะกอนที่เกิดจากวิธีทางเคมี/ชีวภาพ การเพิ่มสารอาหาร และสารดูดซับชีวภาพ (biosorbent) สามารถนำไปผ่านกระบวนการแล้วนำกลับมาใช้ใหม่ได้และโลหะยังสามารถเอาออกมาจากสารดูดซับนั้นได้ (อัญชุลี ประดิษฐ์, 2554)

กระบวนการดูดซับทางชีวภาพเกี่ยวข้องกับวัฏภาคของของแข็ง คือ สารดูดซับที่เป็นวัสดุชีวภาพและวัฏภาคของของเหลว ตัวทำละลายที่ใช้โดยทั่วไปคือ น้ำ ที่มีกลุ่มของตัวที่จะถูกดูดซับอยู่ สารซอร์เบต sorbate โลหะที่มีประจุ เป็นแรงดูดซับระหว่างสารดูดซับกับกลุ่มของตัวถูกดูดซับที่กระทำต่อกันและยึดติดด้วยกลไกที่แตกต่างกัน กระบวนการดูดซับจะดำเนินต่อเนื่องจนถึงจุดสมดุลระหว่างปริมาณกลุ่มโลหะที่ยึดติดกับสารดูดซับกับส่วนที่เหลืออยู่ในสารละลาย การที่มีโมเลกุลของสารที่ถูกดูดซับในสารละลายมาก แต่ไม่มีตำแหน่งหรือจุดที่จะจับกับอนุภาคของสารดูดซับเป็นการเกิดความไม่สมดุลระหว่างกระบวนการที่สร้างแรงผลักดันสำหรับกลุ่มตัวละลาย โลหะ โลหะหนักจะถูกดูดซับอยู่ที่ผิวของมวลชีวภาพ (biomass) ซึ่งเป็นสารดูดซับชีวภาพซึ่งมีประจุของโลหะอยู่ในสารละลาย (sorbate) จำนวนมาก การศึกษาความสมดุลระหว่างสารดูดซับชีวภาพและโลหะหนักที่อยู่ในสารละลายนั้นศึกษาได้จากความจุของสารดูดซับชีวภาพ ซึ่งสามารถอธิบายด้วย adsorption isotherm ซึ่งเป็นอัตราส่วนระหว่างปริมาณที่ถูกดูดซับกับปริมาณที่เหลืออยู่ในสารละลายที่อุณหภูมิคงที่ ณ จุดสมดุลโดยประสิทธิภาพของการดูดซับสามารถอธิบายโดยใช้แบบจำลองของ Freundlich and Langmuir isotherm (Hussein et al., 2004)

กลไกที่เกี่ยวข้องกับการดูดซับโลหะหนักทางชีวภาพ

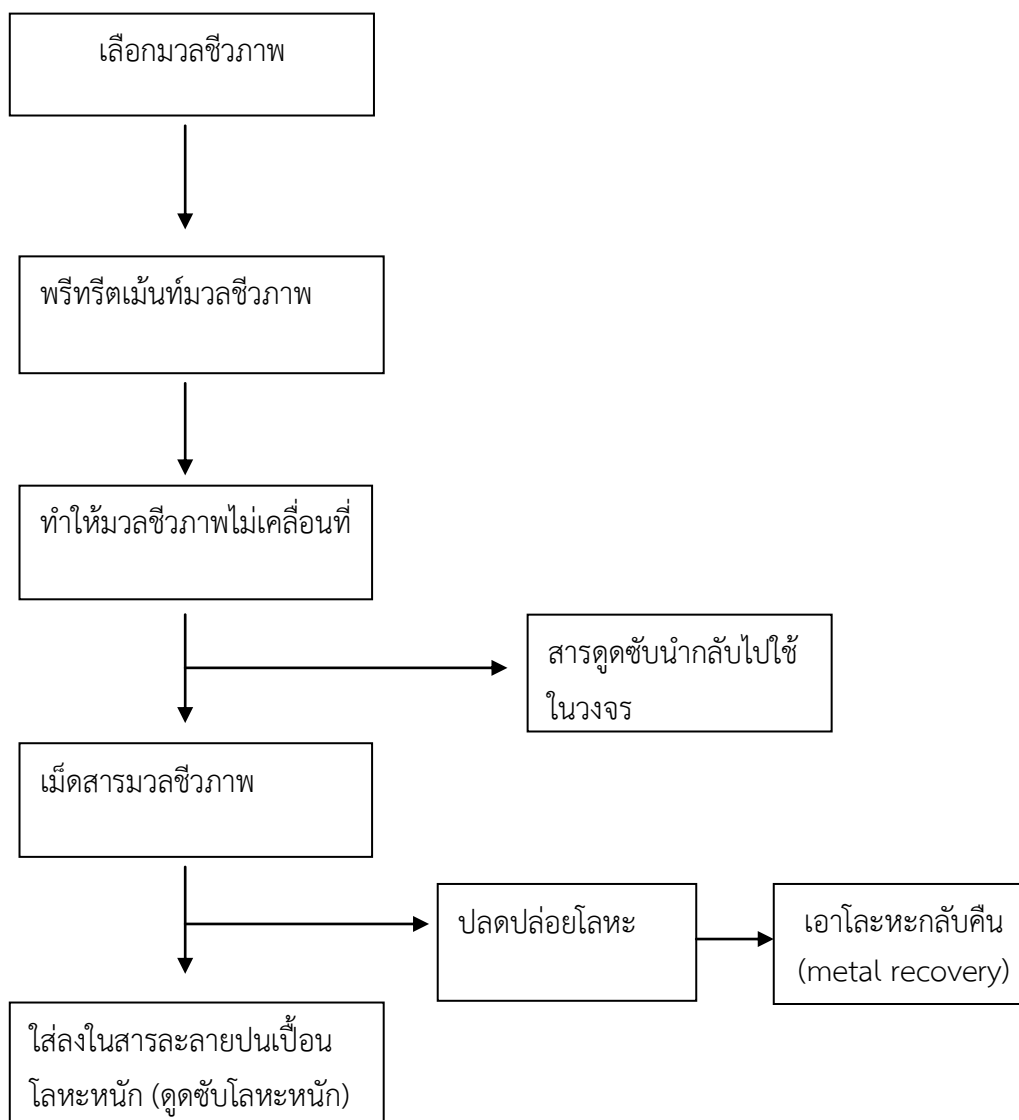
โลหะหนักสามารถจับกับจุลชีพหรือจุลินทรีย์ที่มีชีวิตด้วยกลไกต่างๆ กลไกที่เกี่ยวข้องกับการดูดซับชีวภาพนี้มีการจำแนกโดยใช้เกณฑ์ เช่น กลไกที่จัดอยู่บนพื้นฐานเมแทบอลิซึมของเซลล์ จำแนกได้เป็นกลไกที่ขึ้นและไม่ขึ้นกับกระบวนการสร้างและสลาย (metabolism) หรือกลไกที่อยู่บนพื้นฐานของกลุ่มที่ถูกดูดซับซึ่งจัดว่าเป็นการสะสมในเซลล์/การตกตะกอนนอกเซลล์ intracellular accumulation/extracellular precipitation) การสะสม/การตกตะกอนบนผิวหน้าเซลล์ cell surface sorption/precipitation การสะสมภายในเซลล์ (intracellular

accumulation) ไอออนที่ถูกดูดซับจะถูกส่งผ่านเยื่อ (membrane) เช่นเดียวกับกลไกการรับ – ส่งไอออนของโพแทสเซียม แมกนีเซียมและโซเดียมผ่าน membrane การเปลี่ยนแปลงทางเคมีเกิดขึ้นโดยการเร่งปฏิกิริยาด้วยจุลินทรีย์ เช่น การเกิดออกซิไดซ์ การรีดิวซ์ การเติม หรือ เอาออกของหมู่เมทิล โดยไลหะหนักจะยึดจับกับจุลินทรีย์ด้วยสารเชิงซ้อนนอกเซลล์ (extracellular complexation) ซึ่งกลไกที่เกี่ยวข้องของการดูดซับไลหะหนักโดยวิธีทางชีวภาพ (Alluri et al., 2000) ประกอบด้วย

1. การดูดซับทางกายภาพ (Physical adsorption) เป็นการกระทำทางไฟฟ้าสถิต (electrostatic interaction) เช่น การดูดซับทางชีวภาพของทองแดงโดยแบคทีเรีย *Zooglea ramigera* และสาหร่าย *Chorella vulgaris*

2. การแลกเปลี่ยนประจุ (Ion exchange) ได้แก่ การดูดซับทางชีวภาพของทองแดงโดยรา *Ganoderma lucidum* และ *Asperigillus niger*

3. การเกิดสารประกอบเชิงซ้อน complexation ได้แก่ การดูดซับทางชีวภาพของทองแดงโดย *Zooglea ramigera* และ *Chorella vulgaris* ที่เกิดขึ้นโดยการผ่านการดูดซับและการเกิดพันธะโคออร์ดิเนตระหว่างไลหะกับหมู่อะมิโน (amino) หรือ หมู่คาร์บอกซิล (carboxyl) ของผนังเซลล์ กลไกที่กล่าวมาแล้วนี้อาจเกิดขึ้นพร้อมๆ กันได้ ดังแสดงในภาพที่ 2.2



ภาพที่ 2.2 แผนผังกระบวนการดูดซับทางชีวภาพของโลหะหนัก (Alluri et al., 2000)

ชนิดของมวลชีวภาพที่ใช้เป็นตัวดูดซับโลหะหนัก

ความสำเร็จของกระบวนการดูดซับ คือ การเตรียมสารดูดซับชีวภาพที่ดี โดยเริ่มจากการเลือกมวลชีวภาพชนิดต่างๆ นำไปผ่านกรรมวิธี (pretreatment) และทำให้ไม่มีการเคลื่อนที่ (immobilization) เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการจับโลหะหนัก โลหะหนักที่ถูกจับจะถูกเอาออกโดยกระบวนการคาย (desorption process) และสารดูดซับชีวภาพนั้นจะสามารถนำกลับมาใช้ในกรรมวิธีต่อไปได้ การเลือกมวลชีวภาพสำหรับดูดซับโลหะหนักเป็นปัจจัยหลักที่สำคัญ มีมวลชีวภาพหลายชนิดถูกนำมาใช้ในการทำความสะอาดน้ำทิ้งอุตสาหกรรมเช่น มวลชีวภาพจากกากตะกอนกัมมันต์ (activated sludge) ของเสียจากการหมักของโรงงานอุตสาหกรรม อาหารนมเนย แป้ง รวมทั้งสิ่งมีชีวิตตามธรรมชาติ ได้แก่ แบคทีเรีย ยีสต์ รา สาหร่าย เปลือกกุ้งและสาหร่ายทะเล นอกจากนี้ ยังมีแหล่งจุลินทรีย์อื่นที่ได้จากผลิตภัณฑ์ทางการเกษตร เช่น ขนสัตว์ ข้าว ฟางข้าว จั่นมะพร้าว ซา กาแฟ เปลือกวอลนัท ไยมะพร้าว ฝักถั่ว ฯลฯ ซึ่งเป็นแหล่งของมวลชีวภาพที่ดี อย่างไรก็ตาม สาหร่ายทะเลแบคทีเรีย ยีสต์ และราได้ผ่านการทดสอบสำหรับใช้เป็นตัวดูดซับโลหะหนักและให้ผลที่น่าพอใจ ดังแสดงในตารางที่ 2.2

ตารางที่ 2.2 ชนิดของสาหร่าย รา ยีสต์และแบคทีเรียที่สามารถดูดซับโลหะหนัก (Alluri et al., 2007)

ชนิดของสาหร่าย รา ยีสต์	โลหะหนักที่ถูกดูดซับ
สาหร่าย	
<i>Chlorella emersonii</i>	แคดเมียม
<i>Sargassum muticum</i>	แคดเมียม
<i>Ascophyllum sargassum</i>	ตะกั่ว แคดเมียม
<i>Ulva reticulata</i>	ทองแดง (Cu (II))
Brown sea weeds	โครเมียม
<i>Ecklonia species</i>	ทองแดง (Cu (II))
รา	
<i>Phanerochaete chrysosporium</i>	นิกเกิล (Ni (II)) ตะกั่ว (Pb (II))
<i>Aspergillus niger</i>	แคดเมียม
<i>Aspergillus fumigatus</i>	เออร์เนียม (Ur (VI))
<i>Aspergillus terreus</i>	ทองแดง
<i>Penicillium chrysogenum</i>	ทอง

ตารางที่ 2.2 (ต่อ)

ชนิดของสาหร่าย รา ยีสต์	โลหะหนักที่ถูกดูดซับ
<u>ยีสต์</u> <i>Saccharomyces cerevisiae</i> <i>Kluyveromyces fragilis</i>	ยูเรเนียม แคดเมียม เมทิลเมอร์คิวรี ปรอท แคดเมียม
<u>แบคทีเรีย</u> <i>Bacillus polymyxa</i> <i>Bacillus coagulens</i> <i>Eschereria coli</i> <i>Pseudomonas speci</i>	ทองแดง โครเมียม (Cr(VI)) ปรอท ทองแดง โครเมียม นิกเกิล โครเมียม (Cr (VI)) ทองแดง (Cu (II)) แคดเมียม(Cd (II)) นิกเกิล (Ni (II))

1. สาหร่ายทะเล (seaweeds) สาหร่ายทะเลเป็นพืชใต้น้ำทะเลกลุ่มใหญ่กลุ่มหนึ่ง ข้อดีของสาหร่ายทะเล คือ มีพื้นที่ผิวกว้าง สะดวกต่อการผลิตอนุภาคดูดซับชีวภาพ เพื่อให้เหมาะสมกับกระบวนการดูดซับสาหร่ายทะเลมีจุดหรือตำแหน่งที่ทำหน้าที่ยึดจับโลหะหนักที่เป็นสารประกอบเชิงซ้อนประจุบวกและลบตำแหน่งที่จับโลหะหนักซึ่งเป็นประจุบวกของเซลล์สาหร่ายประกอบด้วย carboxyl, amine, imidazole, phosphate, sulphate, sulfhydryl, hydroxyl และกลุ่มที่ทำหน้าที่ทางเคมีในรูปของเซลล์โปรตีนและน้ำตาลสาหร่ายสีน้ำตาลเป็นสารดูดซับชีวภาพที่ดีมาก ผนังเซลล์ประกอบด้วย ฟุกอยดิน fucoidin) และกรดอัลจีนิค (alginic acid) ซึ่งกรดอัลจีนิคจะมีตำแหน่งที่เป็นประจุลบของ carboxylate ion และ sulphate ion เพื่อยึดจับโลหะหนักเมื่ออยู่ในสภาวะที่เป็นกลาง (Alluri et al., 2000)

2. ราและยีส (fungi and yeast) ราเป็นจุลินทรีย์ชนิดหนึ่งที่มีทั้งชนิดเซลล์เดี่ยว ยีสต์ และหลายเซลล์ ราที่มีรูปร่างเป็นเส้นใย ราส่วนใหญ่มีการเจริญเติบโตเป็นแบบเส้นสายหรือเส้นใย ผนังเซลล์ของราเรียงทับซ้อนกันเป็นชั้นบาง ๆ (mult - laminate) คิดเป็น 90% ของน้ำหนักแห้ง ประกอบด้วยอะมิโนและนอน - อะมิโนพอลิแซ็กคาไรด์ (amino or non - amino polysaccharides) ผนังเซลล์ของรา มีพอลิแซ็กคาไรด์และไกลโคโปรตีน (glycoprotein) เป็นจำนวนมากและมีหมู่ที่ดูดซับโลหะหนักได้หลายชนิด เช่น amine, imidazole, phosphate, sulphate, sulfhydryl และ hydroxyl สำหรับ *Saccharomyces cerevisiae* สามารถดูดซับโลหะหนักที่เป็นพิษ คือ ยูเรเนียม ซึ่งเป็นสารกัมมันตรังสีปนเปื้อนในสารละลายได้ รวมถึงโลหะหนักอื่นๆ เช่น ซีลีเนียม (selenium) พลวง (antimony) และปรอท (mercury) (Alluri et al., 2000) มวลชีวภาพจากราได้จากกระบวนการผลิตกรดแลคติก (lactic acid) จากน้ำทิ้งของแป้งมันฝรั่ง โดยใช้รา *Rhizopus arrhizus* 36017 และ *Rhizopus oryzae* 2062 (Huang et al., 2000) โดย

พบว่า ความเข้มข้นของแบ้งประมาณ 20 กรัมต่อลิตร ที่มีค่า pH เท่ากับ 6.0 และอุณหภูมิ 30 °C เป็นสภาวะที่เหมาะสมในการหมักโดยให้กรดแลคติก 0.85 – 0.92 กรัมต่อกรัม และ fungal biomass 1.5 – 3.5 กรัมต่อลิตร ในเวลา 36 – 48 ชั่วโมง ซึ่งรา *Rhizopus arrhizus* 301 จะมีความสามารถในการผลิตกรดแลคติกและ fungi biomass ได้มากกว่าและน้อยกว่ารา *Rhizopus oryzae* 2062 ที่ภายใต้สภาวะคล้ายกัน

3. แบคทีเรีย (bacteria) แบคทีเรียเป็นจุลินทรีย์ที่มีขนาดเล็ก ประกอบด้วยเซลล์เพียงเซลล์เดียว โดยมีพื้นที่ผิวสำหรับจับโลหะหนักและความแข็งแรงในการยึดจับต่างกันผนังเซลล์ของแบคทีเรียและไซยาโนแบคทีเรียส่วนใหญ่ประกอบด้วยเพปทิโดไกลแคน (peptidoglycan) ซึ่งเป็นโซ่ตรงไคแซ็กคาไรด์เอ็น - อะซีทิลกลูโคซามีน (disaccharide N - acetylglucosamine), กรดเบต้า - 1,4 - เอ็น - อะซีทิลมูรามิก (β - 1,4 - N-acetylmuramic acid) ต่อกับโซ่เพปไทด์ กลุ่มแบคทีเรียดูดซับโลหะหนักแต่ละชนิดขึ้นกับตำแหน่งบนผิวหน้า ที่จับโลหะ แรงยึดจับต่อไอออน และกลไกการยึดติด Yan - bin et al. (2000) ได้ศึกษาการบำบัดน้ำเสียที่มีโครเมียม (CrVI) ปนเปื้อนด้วยระบบกรองชีวภาพไร้อากาศ (anaerobic biofilter system) โดยใช้กาคตะกอนที่มีจุลินทรีย์หลายชนิดรวมทั้งแบคทีเรีย 2 สายพันธุ์ พบว่า สามารถลดปริมาณโครเมียม CrVI จาก 60 มก./ลิตร เป็นต่ำกว่า 0.5 มก./ลิตรได้ในเวลา 4 ชั่วโมง ซึ่งในระบบไร้อากาศอาจทำให้ Cr (VI) ถูกรีดิวส์ไปเป็น CrIII ในรูปของตะกอนโครเมียมไฮดรอกไซด์บนผิวหน้าของจุลินทรีย์ ตัวอย่างของการการดูดซับโลหะหนักจากน้ำเสียด้วยแบคทีเรีย มีดังนี้

1) การดูดซับโลหะหนักจากน้ำเสีย *Pseudomonas sp.* โลหะหนักที่ถูกดูดซับ ได้แก่ โครเมียม (Cr (VI)) ทองแดง (Cu (II)) แคดเมียม Cd (II)) และนิกเกิล (Ni (II)) ที่อยู่ในน้ำเสียโดยใช้มวลชีวภาพของ *Pseudomonas sp.* 4 สายพันธุ์และทำการประเมินประสิทธิภาพของตัวดูดซับชีวภาพจากแบบจำลอง Langmuir and Freundlich model พบว่า โลหะหนักจะถูกดูดซับได้อย่างรวดเร็วภายใน 10 นาทีแรกและแต่ละสายพันธุ์มีความสามารถในการต้านและสะสมไอออนของโลหะหนักต่างกัน กล่าวคือ ความสามารถในการดูดซับโลหะหนักของตัวดูดซับชีวภาพเรียงลำดับจากมากไปน้อย ดังนี้ Ni (II) > Cd (II) > Cu (II) > Cr (VI) (Hussein Ibrahim, H. et al., 2004) โดย Cd (II) และ Ni (II) สามารถถูกดูดซับโดย *Pseudomonas sp.* ได้มากถึง 00 และ มิลลิกรัมต่อกรัมของมวลชีวภาพ ตามลำดับ ขณะที่ Cu(II) และ Cr(VI) จะถูกดูดซับ 8.9 - 238 มิลลิกรัมต่อกรัมของมวลชีวภาพ Cr (VI) และ Cu (II) สามารถแยกออกจากมวลชีวภาพที่ดูดซับได้สูง 38 % และ 93 % ของความเข้มข้นที่มีในน้ำทิ้ง ตามลำดับ การที่ Cu (II) สามารถแยกออกจากมวลชีวภาพที่ดูดซับได้สูงถึง 93 % นั้นต้องมี Cr VI อยู่ด้วย ส่วน Cd (II) และ Ni (II) สามารถแยกออกจากมวลชีวภาพที่ดูดซับได้ระหว่าง 35 - 88 % และการดูดซับ

โลหะหนักหลายชนิดในระบบน้ำทิ้งด้วยแบคทีเรียจะมีประสิทธิภาพต่ำกว่าระบบที่มีโลหะหนักอยู่เพียงชนิดเดียว

2) การเตรียมและการทำให้มวลชีวภาพไม่เคลื่อนที่ (Pretreatment of Biomass / Immobilization of Biomass) สารดูดซับชีวภาพเตรียมจากการนำมวลชีวภาพมาผ่านกระบวนการเบื้องต้น (pretreat) ด้วยวิธีที่แตกต่างกันทั้งนี้ขึ้นอยู่กับโลหะหนักที่จะถูกดูดซับ และตัวแปรอื่น ได้แก่ จำนวนตำแหน่งที่ดูดซับบนวัสดุดูดซับชีวภาพ การเข้าถึงตำแหน่งนั้นๆ สถานะสภาพทางเคมี และความสัมพันธ์ระหว่างตำแหน่งที่ดูดซับกับโลหะหนัก โดยมวลชีวภาพที่มีขนาดใหญ่จะถูกทำให้เป็นอนุภาคที่ละเอียดหรือมีขนาดเล็กแล้วนำไปทรีตต่อไป ตามแต่ละวิธี เช่น การใช้ความร้อน การล้างด้วยสารซักฟอก กรด ต่าง หรือ เอนไซม์ วิธีที่ใช้ความร้อนและล้างด้วยสารซักฟอกจะเป็นการเพิ่มกลุ่มยึดเหนี่ยวกับโลหะหนัก ในขณะที่วิธีการใช้เอนไซม์เป็นการทำลายส่วนที่ไม่ต้องการและเพิ่มประสิทธิภาพในการดูดซับ (Alluri Ronda et al., 2000 ; Atkinson Beauveria et al., 1998)

มวลชีวภาพที่มาจากจุลินทรีย์ประกอบด้วยอนุภาคเล็กที่มีความหนาแน่นน้อย (low density) ความแข็งแรงเชิงกลต่ำ (poor mechanical strength) ความแข็งเกร็งน้อย (little rigidity) แต่มีความแข็งพอที่จะทนต่อแรงดัน (withstand the application pressures) ความสามารถรับการคงอยู่ของน้ำได้ (water retention capacity) แม้ว่าผ่านวงจรการทำให้กลับคืนสภาพก็ยังดูดซับโลหะได้มากและเร็ว เนื่องจากการไม่เคลื่อนที่ของ มวลชีวภาพจึงมีอายุการใช้งานที่ดีกว่า ง่ายและสะดวกต่อการใช้เมื่อเปรียบเทียบกับมวลชีวภาพอิสระซึ่งเสื่อมสภาพทางชีวภาพได้ง่าย ดังนั้นจึงต้องทำให้มวลชีวภาพที่อยู่ในสภาพไม่เคลื่อนที่ก่อนที่จะนำไปใช้เป็นสารดูดซับชีวภาพ ซึ่งมีเทคนิค ได้แก่

- การดูดซับของสารดูดซับชีวภาพที่มีต่อตัวคำจุนที่ไม่เกิดปฏิกิริยาได้ง่าย (inert support) เช่น ถ่าน กัมมันต์ที่ใช้เป็น inert support ในการเกิดเป็นไบโอฟิล์ม (biofilm) โดยจุลินทรีย์ *Enterobacter aerogens*
- การดักจับสารดูดซับชีวภาพไว้ในพอลิเมอร์เมทริกซ์ (polymeric matrix) ซึ่งพอลิเมอร์ที่ใช้ คือ calcium alginate, polyacrylamide, polysulfone และ polyethylenimine
- การเกิดพันธะโคเวเลนต์ของสารดูดซับชีวภาพกับสารประกอบตัวนำ (vector compounds)
- การเกิด cross - linking ของเซลล์จุลินทรีย์

เทคนิคที่ 3 และ 4 เป็นเทคนิคที่นิยมใช้กับการทำให้ตัวดูดซับชนิดสารละลายอยู่ในสภาพที่ไม่เคลื่อนที่โดยพอลิเมอร์เมทริกซ์ที่ใช้กับมวลชีวภาพในการดูดซับโลหะหนัก แสดงไว้ในตารางที่ 2.3

ตารางที่ 2.3 พอลิเมอร์เมทริกซ์ที่ใช้กับมวลชีวภาพในการดูดซับโลหะหนัก (Alluri et al., 2000)

พอลิเมอร์เมทริกซ์ที่ไม่เคลื่อนที่	ชนิดของมวลชีวภาพ	โลหะที่ถูกดูดซับ
Calcium alginate	<i>Chryseomonas luteola</i> <i>Laminaria digitata</i> <i>Bacillus cereus</i> <i>Luffa cylindrical</i>	ทองแดง นิกเกิล ทองแดง แคดเมียม ตะกั่ว ตะกั่ว แคดเมียม
Polyurethane	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Ascophyllum nodusum</i> <i>Asperigillus niger</i> <i>Phanerochaete chryosporium</i> <i>Aspergillus terreus</i> <i>Rhizopus delemar</i>	เออร์เนียม ทองแดง ทองแดง ทองแดง แคดเมียม ตะกั่ว เหล็ก โครเมียม นิกเกิล โคบอลต์ ทองแดง นิกเกิล
Silica	Algasorb <i>Saccharomycete</i> <i>Asperigillus niger</i>	ทองแดง นิกเกิล ตะกั่ว เออร์เนียม ทองแดง สังกะสี เหล็ก นิกเกิล ตะกั่ว โครเมียม ทองแดง สังกะสี แคดเมียม
Polyacrylamide	<i>Citrobacter</i> <i>Pseudomonas maltoph</i>	เออร์เนียม แคดเมียม ตะกั่ว ทอง

บทบาทของจุลินทรีย์ในดิน

จุลินทรีย์มีบทบาทอย่างมากในกระบวนการแปรสภาพ อินทรีย์วัตถุในดิน ให้กลายเป็นธาตุอาหารจุลินทรีย์ในดินที่มีศักยภาพแบ่งออกได้เป็น 5 ประเภทคือ 1) จุลินทรีย์เพิ่มธาตุอาหารพืช 2) จุลินทรีย์ที่ช่วยให้ธาตุอาหารเป็นประโยชน์กับพืช 3) จุลินทรีย์ส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช 4) จุลินทรีย์เร่งปุ๋ยหมัก 5) จุลินทรีย์ย่อยสลายสารพิษ สำหรับ 3 ประเภทแรกเรียกรวมกันว่า ปุ๋ยชีวภาพ ซึ่งประกอบด้วยจุลินทรีย์ที่คัดเลือกแล้วว่าเป็นสายพันธุ์ดีและมีปริมาณมาก เมื่อใส่ลงไปในดิน จุลินทรีย์จะเติบโตและสร้างกลุ่มรอบผิวยาก หรือในรากพืช และ

ช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช ดังนั้น นิยามของปุ๋ยชีวภาพจึงเน้น 2 ประเด็นคือ 1) มีจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพในปริมาณมากพอ โดยต้องระบุชื่อและสายพันธุ์จุลินทรีย์ได้ 2) ใช้แล้วทำให้พืชได้รับธาตุอาหารเพิ่มขึ้นอย่างมีประสิทธิภาพจากการที่มีจุลินทรีย์นั้นอยู่ในดินหรืออยู่ร่วมกับพืช (สุวรรณณี แทนธานี, 2555)

1. จุลินทรีย์เพิ่มธาตุอาหารพืช จุลินทรีย์เพิ่มธาตุอาหารพืชในดิน ได้แก่ กลุ่มจุลินทรีย์แปรสภาพไนโตรเจน ซึ่งผลิตเอนไซม์โปรตีเอส ย่อยสลายอินทรีย์ไนโตรเจนที่สะสมอยู่ในดิน ให้อยู่ในรูปของไนโตรเจนที่พืชนำไปใช้ได้ จุลินทรีย์ในดินที่มีบทบาทในการย่อยได้แก่ กลุ่มบาซิลลัส (*Bacillus*) อาร์โธรแบคเตอร์ (*Arthrobacter*) สเตรปโตมัยซีตา (*Streptomyces*) แอสเพอร์จิลลัส (*Aspergillus*) ไนโตรแบคเตอร์ (*Nitrobacter*) และไนโตรโซโมแนส (*Nitrosomonas*) นอกจากนี้ จุลินทรีย์ในดินบางชนิดสามารถตรึงไนโตรเจนจากอากาศเปลี่ยนให้เป็นสารประกอบไนโตรเจนที่มีประโยชน์ต่อพืชได้ จุลินทรีย์กลุ่มนี้แบ่งย่อยได้เป็น 3 ประเภทตามลักษณะความสัมพันธ์กับพืช ได้แก่ 1) แบคทีเรียตรึงไนโตรเจนที่อยู่ร่วมกับพืชแบบพึ่งพาอาศัยกัน (symbiosis N₂ – fixing bacteria) เช่น เชื้อไรโซเบียม (*Rhizobium sp.*) กับพืชตระกูลถั่ว 2) แบคทีเรียตรึงไนโตรเจนที่อาศัยอยู่ร่วมกับพืชแบบอิสระ (N₂ - fixing associated bacteria) เช่น อะโซสปิริลลัม (*Azospirillum*) พบในพืชตระกูลหญ้าอ้อย ข้าวฟ่าง และข้าวโพด 3) แบคทีเรียที่อาศัยอยู่อย่างอิสระในดินและบริเวณรากพืช (Free - living N₂ - fixing bacteria) เช่น อะโซโตแบคเตอร์ (*Azotobacter*) และไบเจอริงเคีย (*Beijerinckia*) นอกจากนี้แบคทีเรียแล้วสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน หรือไซยาโนแบคทีเรีย (cyanobacteria) จัดเป็นกลุ่มจุลินทรีย์ชนิดหนึ่งที่สามารถสังเคราะห์แสงและตรึงไนโตรเจนจากอากาศได้ เจริญเติบโตได้ดีในพื้นที่น้ำขัง เช่น ในนาข้าว

2. จุลินทรีย์ที่ช่วยให้ธาตุอาหารเป็นประโยชน์กับพืช จุลินทรีย์ที่ช่วยให้ธาตุอาหารเป็นประโยชน์กับพืชมี 2 กลุ่ม กลุ่มแรก คือ จุลินทรีย์แปรสภาพฟอสฟอรัส ที่สร้างกรดอินทรีย์หรือเอนไซม์แปรสภาพฟอสฟอรัสย่อยสารประกอบกลุ่มอินทรีย์ฟอสฟอรัสให้อยู่ในรูปที่พืชสามารถนำไปใช้ได้ นอกจากนี้ ยังสามารถย่อยสารประกอบอินทรีย์ฟอสฟอรัสเช่น หินฟอสเฟตหรือตะกอนของสารประกอบฟอสเฟตซึ่งเกิดจากการใช้ปุ๋ยฟอสเฟตอย่างต่อเนื่องแต่ถูกตรึงไว้ในดิน การใส่จุลินทรีย์ละลายฟอสเฟตจะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการใช้ปุ๋ยฟอสเฟตในดินได้ จุลินทรีย์แปรสภาพฟอสฟอรัสได้แก่ เชื้อแบคทีเรียในกลุ่มบาซิลลัส (*Bacillus sp.*) ซิวโดโมนาส (*Pseudomonas sp.*) ไธโอบาซิลลัส (*Thiobacillus sp.*) และเชื้อราในกลุ่มแอสเพอร์จิลลัส (*Aspergillus sp.*) เพนนิซิลเลียม (*Penicillium sp.*) จุลินทรีย์ช่วยเพิ่มศักยภาพในการดูดซึมธาตุอาหารพืชได้แก่ เชื้อราไมคอร์ไรซา ซึ่งมีความสัมพันธ์แบบพึ่งพาอาศัยกันกับรากพืชชั้นสูง โดย

เชื้อราจะได้รับอาหารจากพืช และพืชก็ได้รับประโยชน์จากราในการดูดน้ำและธาตุอาหารให้แก่พืช เชื้อราไมคอร์ไรซาที่พบโดยทั่วไปมี 2 ชนิดคือ เอ็คโตไมคอร์ไรซา ซึ่งจะสร้างเส้นใยอัดตัวแน่นรอบรากพืชกลายเป็นเปลือกรากอีกชั้นหนึ่ง และเอ็นโดไมคอร์ไรซา เป็นเชื้อราที่สร้างเส้นใยแบบหลวมๆ รอบรากพืช และบางส่วนเจริญเข้าไปในรากและสร้างเป็น โครงสร้างแตกแขนงเรียกว่า อาร์บัสคูลและแบบกลมคล้ายรูปไข่เรียกว่า เวสิเคิล การใช้เชื้อราประเภทนี้นิยมใช้กับพืชยืนต้น เพื่อช่วยให้พืชดูดธาตุอาหารได้ง่ายขึ้น ช่วยให้ความชุ่มชื้น ช่วยควบคุมโรคพืช และลดความเป็นพิษของสารเคมีและโลหะหนักในดิน

3. จุลินทรีย์ส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช จุลินทรีย์ส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช หรือ พีจีพีอาร์ (Plant Growth Promoting Rhizobacteria; PGPR) เป็นกลุ่มจุลินทรีย์ที่อาศัยอยู่ในดินรอบรากพืช (rhizosphere) และช่วยกระตุ้นการเจริญเติบโตของพืช โดยการสร้างสารกระตุ้นการเจริญของพืช เช่น ซิเดอโรฟออร์ (siderophore) ซึ่งมีสมบัติเพิ่มการนำธาตุเหล็กเข้าสู่เซลล์พืช โดยการแย่งจับธาตุเหล็กบริเวณรอบรากพืช ทำให้เชื้อราโรคพืชไม่สามารถนำธาตุเหล็กไปใช้ได้ นอกจากนี้เชื้อจุลินทรีย์ยังสามารถสร้างฮอร์โมนพืช (phytohormones) เช่น ฮอร์โมนกลุ่มออกซิน (auxins) ซึ่งกระตุ้นการยืดตัวของเซลล์ การแบ่งเซลล์ และการเปลี่ยนแปลงสภาพของเซลล์ สร้างเอนไซม์ไคตินเนส (chitinase) และลามินาริเนส (laminarinase) ย่อยเส้นใยเชื้อราโรคพืชสร้างสารปฏิชีวนะที่มีฤทธิ์ต้านเชื้อราสาเหตุโรคพืชได้ เชื้อจุลินทรีย์ที่อยู่ในกลุ่มพีจีพีอาร์ได้แก่ อะโซสปิริลลัม (*Azospirillum sp.*) สเตรปโตมัยซีท (*Streptomyces sp.*) บาซิลลัส (*Bacillus sp.*) ซูโดโมนาส (*Pseudomonas sp.*) และ ไตรโคเดอร์มา (*Trichoderma sp.*) เป็นต้น จุลินทรีย์พีจีพีอาร์ได้ถูกพัฒนา สำหรับใช้คลุมเมล็ดก่อนปลูก ผสมน้ำรดดิน ฉีดพ่นทางใบ และจุ่มรากกล้าก่อนย้ายปลูก

4. จุลินทรีย์เร่งปุ๋ยหมัก ปุ๋ยหมัก (compost) คือ ปุ๋ยที่ได้จากการหมักซากพืช ซากสัตว์ ตลอดจนจุลินทรีย์เพื่อให้อินทรีย์สารสลายตัวผู้พังจากกิจกรรมของจุลินทรีย์ ซึ่งใช้เวลานาน จึงมีการคัดเลือกจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพสูงประกอบด้วย เชื้อรา แบคทีเรีย และแอคติโนมัยซีท เพื่อเร่งกระบวนการย่อยสลายให้เกิดขึ้นได้เร็ว ในกระบวนการหมักจะมีการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิ 3 ระยะ แต่ละระยะก็จะมีจุลินทรีย์หลายชนิดเข้ามา มีบทบาทในการย่อยอินทรีย์สารในระยะแรก กองปุ๋ยหมักจะมีอุณหภูมิปานกลาง เชื้อจุลินทรีย์ที่ชอบอุณหภูมิปานกลาง (mesophiles) เจริญก่อนและใช้น้ำตาลและสารอาหารที่ย่อยง่ายทำให้กองวัสดุมีอุณหภูมิสูงขึ้นอยู่ที่ประมาณ 40 - 45 องศาเซลเซียส และเพิ่มสูงขึ้นถึง 50 - 70 องศาเซลเซียส ในระยะต่อมาซึ่งเชื้อจุลินทรีย์ที่ชอบอุณหภูมิสูง (thermophiles) จะมีการเจริญและย่อยสารที่สลายยาก และเมื่อผ่านระยะ อุณหภูมิสูงแล้ว จึงเข้าสู่ระยะอุณหภูมิปานกลางครั้งที่สอง ซึ่งแหล่งอาหารของ

จุลินทรีย์เหลืออยู่น้อย กิจกรรมของจุลินทรีย์ลดต่ำลง จนอุณหภูมิของกองปุ๋ยหมักใกล้เคียงกับอุณหภูมิของอากาศโดยรอบ ทำให้จุลินทรีย์ที่ชอบอุณหภูมิปานกลางโตได้อีกกระยะหนึ่ง เมื่อปฏิกิริยาเสรีจลินสมบูรณ์ จะได้เป็นสารประกอบประเภทฮิวมัส มีสีดำหรือน้ำตาลดำ ประเภทเดียวกับฮิวมัสในดิน

5. จุลินทรีย์ย่อยสลายสารพิษในดิน การใช้สารเคมีเพื่อควบคุมโรค แมลงและศัตรูพืช รวมทั้งวัชพืชในพื้นที่การเกษตร หากใช้ในปริมาณสูงและไม่ถูกวิธีจะก่อให้เกิดสารพิษตกค้างทั้งในผลผลิตทางการเกษตร ตัวเกษตรกรผู้ใช้ รวมไปถึงสิ่งแวดล้อม ในธรรมชาติจะมีจุลินทรีย์บางชนิดที่สามารถปรับตัวให้ทนต่อสารเคมี และสามารถใช้สารเคมีที่ตกค้างเพื่อเป็นแหล่งอาหารและพลังงานได้ ตัวอย่างเช่น จุลินทรีย์ย่อยสลายอาหารพืช ซึ่งเป็นสารกำจัดวัชพืช ซึ่งมีทั้งเชื้อราและเชื้อแบคทีเรียหนึ่งในจุลินทรีย์ที่ย่อยสลายสารอาหารพืชได้คือ *Pseudomonas* sp. Strain ADP ที่สามารถย่อยอาหารพืชให้เป็นก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์กับ แอมโมเนีย ปัจจุบันมีการศึกษาจุลินทรีย์เหล่านี้ในรายละเอียดทั้งด้านพันธุกรรม และเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการย่อยสารพิษเพื่อนำไปถ่ายโอนให้แก่พืช และใช้ในการบำบัดดินหรือแหล่งปนเปื้อนอาหารพืชต่อไป (สุวรรณณี แทนธานี, 2555)

กระบวนการกระตุ้นการเจริญเติบโตพืชของแบคทีเรียกลุ่ม PGPR

PGPR เป็นกลุ่มของแบคทีเรียหลากหลายสายพันธุ์ ส่วนใหญ่จะอยู่ในสกุล *Pseudomonas*, *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Bacillus*, *Burkholderia*, *Gluconacetobacter* และ *Serratia* เป็นต้น กลุ่ม PGPR สามารถแบ่งได้เป็น 2 ประเภทคือ

1. พวกที่มีความสัมพันธ์แบบพึ่งพาอาศัยกันกับพืช หรือที่เรียกว่า ความสัมพันธ์แบบ Symbiosis คือ แบคทีเรียจำพวกที่สามารถเข้าสู่รากพืชแล้วเกิดกระบวนการต่างๆ ที่จะช่วยกระตุ้นการเจริญเติบโตของพืชได้

2. พวกที่อาศัยแบบอิสระในดิน (Free - living form) จะพบอยู่ใกล้ๆ บริเวณรากพืช โดยแบคทีเรียจำพวก PGPR นี้จะช่วยกระตุ้นการเจริญเติบโตของพืช ช่วยให้ผลผลิตของพืชสูงขึ้น

การกระตุ้นการเจริญเติบโตของพืช ทำได้ 2 ทาง คือ โดยทางตรงและทางอ้อม ได้แก่ (วิยะ มงคลธนาภิรักษ์ , 2554)

1. กระบวนการในการกระตุ้นการเจริญเติบโตของพืชโดยตรง

1) ช่วยย่อยธาตุฟอสฟอรัสในดินให้อยู่ในรูปที่เป็นประโยชน์ ทำให้พืชสามารถนำไปใช้ได้มากขึ้นฟอสฟอรัสเป็นธาตุอาหารหลักที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของพืช โดยจะทำให้พืชมีประสิทธิภาพในการสังเคราะห์แสง กระบวนการเปลี่ยนน้ำตาลเป็นแป้ง กระบวนการถ่ายทอดพันธุกรรม การตรึงไนโตรเจน การออกดอก การออกผลและเมล็ด และการสุกของผล เนื่องจากธาตุฟอสฟอรัสละลายได้ไม่ดี และมักจะอยู่ในรูปที่ไม่เป็นประโยชน์แก่พืช พืชนำไปใช้ไม่ได้ ซึ่งขึ้นอยู่กับ pH ของดิน และชนิดของดิน ในดินกรดจะมีออกไซด์อิสระและไฮดรอกไซด์ของพวก Al และ Fe ที่ตรึงฟอสฟอรัสให้อยู่ในรูปของ aluminum phosphate (AlPO₄) และ ferric phosphate (FePO₄) ในสภาพดินต่างฟอสฟอรัสจะถูกตรึงโดย Ca ทำให้เกิด calcium orthrophosphate (Ca₃(PO₄)₂) สารประกอบเหล่านี้อยู่ในรูปที่ละลายน้ำได้น้อย จุลินทรีย์มีบทบาทสำคัญต่อการเปลี่ยนรูปของธาตุอาหารต่าง ๆ ในดิน รวมทั้งมีความเกี่ยวข้องกับกระบวนการเปลี่ยนรูปฟอสเฟตให้อยู่ในรูปที่เป็นประโยชน์ต่อ

2) สร้างปุ๋ยไนโตรเจนให้กับพืช ธาตุไนโตรเจนมีความสำคัญต่อพืชมาก จุลินทรีย์หลายชนิดสามารถตรึงไนโตรเจน และเปลี่ยนให้อยู่ในรูปของแอมโมเนีย และไนเตรท ที่เป็นประโยชน์ต่อพืช จุลินทรีย์กลุ่มนี้จะผลิตเอ็นไซม์ไนโตรจิเนส เพื่อช่วยเปลี่ยนก๊าซไนโตรเจนให้เป็นสารประกอบไนโตรเจนดังกล่าว และกรดอะมิโนที่พืชนำไปใช้ได้

3) ผลิตฮอร์โมนพืช (phytohormones) เช่น Auxin, Cytokinin, Gibberelin เป็นต้น การผลิตฮอร์โมนพืชโดย PGPR เป็นกลไกที่สำคัญในการช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการเจริญเติบโตของพืช โดยรายงานเกี่ยวกับการผลิต phytohormones จาก PGPR ส่วนใหญ่จะมุ่งเน้นไปที่บทบาทของกลุ่ม Auxins ได้แก่ indole - 3 - acetic acid (IAA) ซึ่งจะช่วยกระตุ้นการยืดตัวของเซลล์ (cell elongation), การแบ่งเซลล์ (cell division) และการเปลี่ยนสภาพของเซลล์ (cell differentiation)

3) ช่วยลดความเข้มข้นของเอทิลีน (Ethylene) ในพืช เนื่องจากเอทิลีนเป็นฮอร์โมนพืชเพียงตัวเดียวที่อยู่ในรูปแก๊ส โดยพืชสร้างขึ้นเพื่อใช้ควบคุมการเจริญเติบโตและพัฒนาการต่างๆ เช่น การออกดอก, การสุกของผล และมีผลต่อการเหลืองและการร่วงของใบด้วย ถ้าระดับของเอทิลีนมีปริมาณที่สูงเกินไปก็จะสามารถยับยั้งการงอกและการยืดยาวของรากพืชได้

5) สามารถผลิตซิเดอโรฟอรัส (Siderophores) ธาตุเหล็กจัดเป็นธาตุอาหารที่มีปริมาณมากบนพื้นผิวโลก แต่โดยทั่วไปธาตุเหล็กอยู่ในรูปของสารประกอบที่ละลายน้ำได้ยาก หรือไม่สามารถละลายน้ำได้เลยความสามารถในการละลายน้ำของเหล็กมีประมาณ 10^{-18} ที่ pH 7.4 ซึ่ง

ปริมาณของการละลายได้นั้นไม่เพียงพอต่อการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย ดังนั้น จากความต้องการเพื่อการอยู่รอด จุลินทรีย์ที่อาศัยอยู่ภายในดินจึงต้องผลิตสารที่มีความจำเพาะเจาะจงต่อธาตุเหล็กสูง ซึ่งเป็นสารที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ (0.5 - 1.5 กิโลดาลตัน) ที่เรียกว่า ซิเตอร์โรเฟอร์ ขึ้นมา โดยนักวิทยาศาสตร์พบว่าในสภาพแวดล้อมที่ขาดธาตุเหล็ก หรือมีธาตุเหล็กในปริมาณน้อย จะกระตุ้นให้จุลินทรีย์เกือบทุกชนิดมีการสร้างซิเตอร์โรเฟอร์มากขึ้น ในทางกลับกัน การสร้างจะถูกยับยั้งเมื่อในสภาพแวดล้อมที่มีปริมาณของธาตุเหล็กมากขึ้น ยกเว้นในกลุ่มของแบคทีเรียพวก *Lactobacillus* ซึ่งสามารถเจริญได้ในสภาพที่ไม่มีธาตุเหล็กอยู่เลย *Pseudomonas putida* สามารถผลิตซิเตอร์โรเฟอร์ได้ในปริมาณมาก และมีประสิทธิภาพสูงในการควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคพืช *Fusarium oxysporum* ซึ่งเป็นเชื้อราที่ทำให้เกิดโรคในมะเขือเทศ บางรายงานกล่าวว่า mutant ของแบคทีเรียสายพันธุ์ *P. aeruginosa* ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่สร้างซิเตอร์โรเฟอร์ได้น้อยนั้น จะไม่สามารถป้องกันโรค damping off จากเชื้อรา *Phythium* ได้

ดังนั้น สารซิเตอร์โรเฟอร์นี้ ช่วยนำธาตุเหล็กไปให้พืชใช้ประโยชน์ได้ง่ายขึ้น กลไกทั่วไปของการนำธาตุเหล็กเข้าสู่เซลล์โดยโมเลกุลซิเตอร์โรเฟอร์นั้น ประกอบไปด้วยขั้นตอนหลัก 3 ขั้นตอนคือ ขั้นแรกเริ่มจากแบคทีเรียสังเคราะห์โมเลกุลของซิเตอร์โรเฟอร์ จากนั้นจึงแพร่ผ่านผนังเซลล์ออกไปสู่สิ่งแวดล้อม ขั้นต่อมาซิเตอร์โรเฟอร์เข้าจับกับธาตุเหล็ก เมื่อโมเลกุลของซิเตอร์โรเฟอร์เข้าจับกับธาตุเหล็กแล้ว โมเลกุลของซิเตอร์โรเฟอร์จะจับกับโปรตีนที่ผนังเซลล์แบคทีเรีย ซึ่งทำหน้าที่เป็น receptor protein จากนั้นจะถูกขนย้ายผ่านเข้ามายังผนังเซลล์ โดยกระบวนการ active transport กล่าวคือ สาร ATP ที่ผนังเซลล์จะเป็นตัวกระตุ้นให้โปรตีนอีกชนิดหนึ่งที่มี ATP เกาะอยู่แล้ว ส่งผ่านพลังงานทำให้ธาตุเหล็กเข้าสู่ภายในส่วนของ cytoplasm ได้ ทั้งนี้ขึ้นกับแต่ละชนิดของซิเตอร์โรเฟอร์ว่ามีความจำเพาะเจาะจงต่างกันไปกับโปรตีนต่างๆ ที่ผนังเซลล์ เมื่อโมเลกุลของซิเตอร์โรเฟอร์ที่จับธาตุเหล็กถูกนำผ่านเข้ามายังผนังเซลล์แล้ว ขั้นสุดท้ายคือ ธาตุเหล็กก็จะถูกปลดปล่อยออกจากโมเลกุลของซิเตอร์โรเฟอร์โดยบริเวณโมเลกุลที่เป็น ligand ที่เชื่อมกับธาตุเหล็กจะถูกทำลายด้วยเอนไซม์ เช่น เอนไซม์ esterase จะเข้าทำปฏิกิริยากับซิเตอร์โรเฟอร์กลุ่ม entorebaccin หรือธาตุเหล็กอาจถูกปลดปล่อยโดยปฏิกิริยาเคมีแบบ reduction เมื่อธาตุเหล็กถูกปลดปล่อยออกจากโมเลกุลซิเตอร์โรเฟอร์แล้วส่วนที่เป็นโมเลกุลของซิเตอร์โรเฟอร์เอง อาจถูกเปลี่ยนแปลงโครงสร้างไปจากเดิมหรือไม่ก็ได้ แล้วจึงถูกปลดปล่อยออกสู่นอกเซลล์ไปสู่สิ่งแวดล้อมเพื่อจับกับธาตุเหล็กต่อไป อย่างไรก็ตามพืชบางชนิดสามารถเข้าจับและปลดปล่อยโมเลกุลเชิงซ้อนของเหล็กกับซิเตอร์โรเฟอร์ และนำเหล็กไปใช้ได้ สารอาหารจากเหล็กเพิ่มขึ้นส่งผลให้การเจริญของพืชเพิ่มขึ้นด้วย นอกจากนี้ยังเป็นการจำกัดปริมาณธาตุเหล็กที่เป็นประโยชน์ของเชื้อก่อโรคพืช ทำให้สามารถป้องกันการแพร่พันธุ์ และการขยายจำนวนของเชื้อก่อโรคพืชได้ โดยซิเตอร์โรเฟอร์จะไปจับกับธาตุเหล็กที่อยู่บริเวณรอบๆ รากพืช ส่งผลให้เกิดการขาดธาตุเหล็กของเชื้อราสาเหตุโรคพืช ทำให้เชื้อราสาเหตุโรคพืชไม่สามารถแพร่พันธุ์ได้นั่นเอง แต่พืชจะไม่ได้รับผลกระทบจากการลดลงของธาตุเหล็กในบริเวณ

นั่นเพราะว่า พืชสามารถเจริญเติบโตได้ด้วยความเข้มข้นของธาตุเหล็กต่ำๆ น้อยกว่า (ประมาณ 1000 เท่า) ของจุลินทรีย์

ตัวอย่างกลุ่มแบคทีเรียที่สร้างซีเตอร์โรฟอรัส

Streptomyces sp. แบคทีเรียในกลุ่มนี้จะสร้างซีเตอร์โรฟอรัสจำพวกที่เรียกว่า Ferrioxamine ซึ่งประกอบด้วยโมเลกุลของ diamines และ carboxylic acid (ดังภาพที่ 1) ปัจจุบันพบว่า Ferrioxamine มีด้วยกันทั้งหมด 9 ชนิด ได้แก่ Ferrioxamine A₁, A₂, B, D₁, D₂, E, G, H และ I นอกจากนี้ Ferrioxamine จะพบในแบคทีเรียสกุล *Streptomyces* แล้วยังพบในสกุลอื่นๆ ด้วย เช่น *Arthrobacter*, *Chromobacterium*, *Pseudomonads* และ *Erwinia herbicola* เป็นต้น

Bacillus sp. แบคทีเรียในกลุ่มนี้ที่นิยมศึกษา ได้แก่ *Bacillus megaterium* ซึ่งสร้างซีเตอร์โรฟอรัสที่ชื่อ Schizokinen ส่วน *B. subtilis* นั้นสร้างซีเตอร์โรฟอรัสชื่อ DHB - glycine การนำธาตุเหล็กเข้าสู่เซลล์ด้วย Schizokinen พบว่ามีบทบาทร่วมกับซีเตอร์โรฟอรัสกลุ่มอื่นด้วย เช่น Ferrioxamine และในขณะเดียวกัน DHB-glycine ก็มีบทบาทร่วมกับสารประกอบที่มีกลุ่มของ phenol ด้วย

2. กระบวนการในการกระตุ้นการเจริญเติบโตของพืชโดยทางอ้อม

1) ช่วยในการควบคุมโรคพืช ทั้งโรคพืชที่เกิดจากเชื้อราสาเหตุโรคพืช และเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคพืช เช่น จักรพงษ์ พวงงามขึ้น และคณะ (2554) ได้ศึกษาการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Pythium myriotylum* ซึ่งเป็นสาเหตุของโรครากเน่าในผักสลัดโดยใช้เชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas* spp. สายพันธุ์ ECO 008 และ SSWC110 และ *Bacillus* spp. สายพันธุ์ EWC 065, RCO 010, RWC 021 และ SSMIX 023 ซึ่งเป็นสายพันธุ์แบคทีเรียเขตรากพืชที่แยกได้จากระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน พบว่าแบคทีเรีย *Pseudomonas* spp. สายพันธุ์ ECO 008 ทำให้เส้นใยของเชื้อ *P. myriotylum* มีการเจริญที่บิดเบี้ยวผิดปกติไปจากเดิม ในขณะที่แบคทีเรีย *Bacillus* spp. สายพันธุ์ EWC 065, RCO 010, RWC 021 และ SSMIX 023 ทำให้เส้นใยของเชื้อ *P. myriotylum* มีการแตกแขนงอย่างผิดปกติ รวมทั้งพบการเคลื่อนที่ของ cytoplasm ที่ผิดปกติไปจากเดิมส่งผลให้บริเวณส่วนปลายเส้นใยแตก

2) ผลิตภัณฑ์ชีวณะ (Antibiotic) ที่ใช้ในการควบคุมโรคพืชได้ ตัวอย่างสารปฏิชีวนะที่ผลิตโดย PGPB ได้แก่ agrocin 84, agrocin 434, 2,4 - diacetylphloroglucinol, herbicolin, oomycin, phenazines, pyoluteorin, pyrrolnitrin เป็นต้น

3) ผลิตเอนไซม์ที่สามารถย่อยผนังเซลล์ของเชื้อราสาเหตุโรคพืชได้ เช่น chitinase, laminarinase, Q - 1,3 - glucanase, protease และ lipase เป็นต้น

4) ผลิตสาร Antifungal metabolites เช่น *Pseudomonas fluorescens* สามารถสังเคราะห์ hydrogen cyanide ซึ่งทำให้ *Pseudomonas* สายพันธุ์นี้มีความสามารถในการต้านการเจริญเติบโตของเชื้อราสาเหตุโรคพืชบางชนิดได้ ตัวอย่างเช่น สามารถยับยั้ง *Thielabiopsis basicola* ซึ่งเป็นเชื้อราสาเหตุโรครากเน่าดำในยาสูบได้ (Ramette et al., 2003) ในบางรายงานกล่าวว่า จุลินทรีย์หลากหลายสายพันธุ์รวมทั้ง *Cladosporium werneckii*, *Pseudomonas cepacia* และ *P. solanacearum* สามารถย่อยสลายสารประกอบ fusaric acid ได้ ซึ่งสารประกอบ fusaric acid ตัวนี้เป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดความเสียหายในพืชหลังจากที่พืชถูกเข้าทำลายโดย *Fusarium*

5) ช่วยให้พืชมีความทนทานในสภาวะแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมต่างๆ เช่น

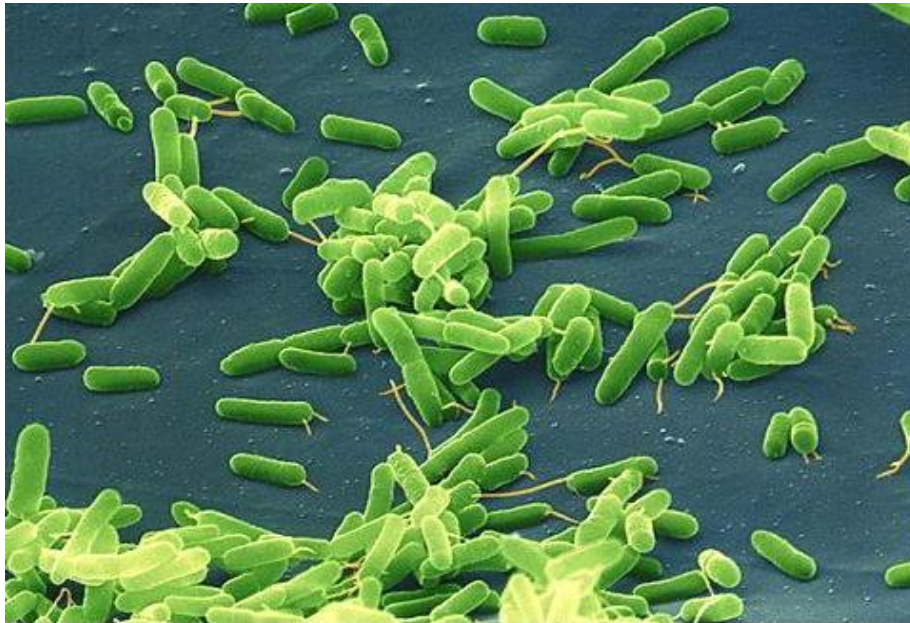
- ความเค็ม ทำให้สภาวะแวดล้อมในดินไม่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของพืช ได้แก่ ทำให้ดินมีเนื้อ แน่นทึบ รากพืชชอนไชยาก แร่ธาตุบางอย่างละลายออกมาจากดินจนเป็นพิษต่อพืช ผลของความเค็มทำให้พืชขาดน้ำ พืชต่างๆ ปรับตัวเข้ากับสภาพความเค็มได้ต่างกัน หากพืชที่ทนไม่ได้จะแสดงลักษณะอาการต่างๆ ดังนี้ การเจริญเติบโตลดลง ใบสีเข้มขึ้น ใบหนาขึ้น ปลายใบไหม้ ปลายใบม้วนงอ ผลผลิตลดลง และถ้าปรับตัวไม่ได้จะตายในที่สุด แบคทีเรียทนเค็มสามารถเจริญในสิ่งแวดล้อมที่มีเกลือเนื่องจากว่าภายในเซลล์ของแบคทีเรียทนเค็มมีปริมาณความเข้มข้นของไอออนของเกลือต่ำ (Na^+ และ K^+) ดังนั้น แบคทีเรียทนเค็มจึงต้องปรับสมดุลของสารละลายภายในเซลล์กับภายนอกเซลล์ โดยการนำไอออนของเกลือ (Na^+ และ K^+) จากภายนอกเซลล์เข้ามาภายในเซลล์แล้วนำไปใช้ในกิจกรรมต่างๆ ส่งผลให้ไอออนของเกลือในดินลดลง สภาวะแวดล้อมในดินเหมาะสมต่อการเจริญของพืชมากขึ้น - ภาวะความเครียดจากการเกิดออกซิเดชัน (oxidative stress) โดยเฉพาะไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) ซึ่งมีผลยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ ทำลายส่วนประกอบที่สำคัญของเซลล์ เยื่อเมมเบรน และกระตุ้นการเกิดปฏิกิริยาเปอร์ออกซิเดชันของไขมัน เป็นต้น การเพิ่มขึ้นของอนุมูลออกซิเจนที่เป็นพิษนั้นเป็นผลจากการเกิดความเครียด ส่งผลให้เกิดการยับยั้งการเจริญเติบโตและปริมาณผลผลิตของพืชลดลง อย่างไรก็ตามไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่เกิดขึ้นสามารถถูกกำจัดโดยเอนไซม์คะตาเลส (catalase) หรือเปอร์ออกซิเดส (peroxidase) ที่พบในเปอร์ออกซิโซมของเซลล์ใบพืช แบคทีเรียที่อยู่ร่วมกับพืชสามารถผลิตเอนไซม์คะตาเลสหรือเปอร์ออกซิเดสได้ก็จะสามารถช่วยพืชกำจัดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ออกจากเซลล์พืชได้

- ภาวะความเครียดจากโลหะหนัก (heavy metal stress) โลหะหนักจัดอยู่ในจำพวกธาตุที่พืชไม่ต้องการและเป็นสารพิษซึ่งปนเปื้อนในดิน ได้แก่ ตะกั่ว (Pb) สังกะสี (Zn) นิกเกิล (Ni) และแคดเมียม (Cd) เป็นต้น จุลินทรีย์ที่อาศัยอยู่บริเวณรากพืชส่วนใหญ่สามารถช่วยลดปริมาณโลหะหนักได้ กระบวนการต่างๆของจุลินทรีย์เกิดขึ้นได้ 2 ลักษณะคือ 1) กระบวนการเมแทบอลิซึม (metabolism) ภายในเซลล์ของจุลินทรีย์โดยจุลินทรีย์สามารถใช้โลหะหนักบางประเภทเป็นสารอาหาร (micronutrients) กระบวนการนี้เกิดขึ้นเมื่อมีปริมาณโลหะหนักในระบบไม่มาก 2) กระบวนการดูดซับหรือดูดติดผิว (adsorption) บริเวณผนังเซลล์ (outer membrane) ของจุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการดูดติดผิวด้วยกระบวนการแลกเปลี่ยนประจุ (ion exchange) ระหว่างผนังเซลล์จุลินทรีย์กับประจุของโลหะหนัก แล้วทำการเปลี่ยนโลหะหนักชนิดนั้นๆ ให้อยู่ในรูปที่มีความเป็นพิษลดลงด้วยกระบวนการทางชีวเคมีภายในเซลล์ของจุลินทรีย์ ตัวอย่าง Rajkumar และ Freitas (2008) ได้นำแบคทีเรีย *Pseudomonas* sp. และ *Pseudomonas jessenii* ที่แยกได้จากดิน (serpentine soil) มาใช้ส่งเสริมการเจริญของต้นละหุ่งที่ปลูกในดินที่มีการปนเปื้อนโลหะหนัก ได้แก่ nickel, copper และ zinc พบว่า *Pseudomonas* sp. มีความสามารถในการละลาย zinc ได้ดีกว่า *Pseudomonas jessenii* ในขณะที่ *Pseudomonas jessenii* มีความสามารถในการละลาย nickel และ copper ได้ดีกว่า *Pseudomonas* sp. นอกจากนี้ต้นละหุ่งยังมีน้ำหนักราก และลำต้นเพิ่มขึ้นด้วย

แบคทีเรีย *Pseudomonas aeruginosa*

Pseudomonas aeruginosa จัดอยู่ในอาณาจักรแบคทีเรีย (Kingdom: Bacteria) ไฟลัม ไบรทีโอแบคทีเรีย (Phylum : Proteobacteria) ชั้นแกรมมาโปรทีโอแบคทีเรีย (Class: Gramma Proteobacteria) วงศ์ซูโดโมนาเดล (Order: Psuedomonasales) จีนัสซูโดโมนเนส (Genus: Psuedomonas) สปีชีส์ไดโมนเนสแอรูจิวโนซ่า (Species: Psuedomonas aeruginosa) (พินิจกล้าคลองตัน, 2553)

Pseudomonas aeruginosa จะเป็นแบคทีเรียรูปร่างแท่ง (rod) ย้อมติดสีแกรมลบ จะมีขนาด กว้าง 0.5 - 1 ไมครอน ยาว 3 - 4 ไมครอน มีลักษณะเด่นของเชื้อ *P. aeruginosa* คือ กลิ่นที่พิเศษเฉพาะของเชื้อคล้ายกลิ่นอู่นและเจริญได้ดีในอุณหภูมิ 30 - 42 องศาเซลเซียส และในที่ที่มีออกซิเจนมากกว่าไม่มีออกซิเจน สามารถที่จะเคลื่อนที่ได้ด้วยแฟลกเจลลาชนิดโมนโทคัส (monotrichous) ให้รงควัตถุสีฟ้า ไพโอไซแอนิน (pyocyanin) และ ไพโอเวอดิน (pyoverdin) ซึ่งเป็นรงควัตถุที่ฟลูออเรสเซนต์ (fluorescent) ที่ละลายน้ำเป็นแซโปรไฟต์ในและและในน้ำ และเป็นแบคทีเรียที่พบโดยทั่วไปในดิน น้ำ พืช และในโรงพยาบาล ภาพของ *Pseudomonas aeruginosa* แสดงดังภาพที่ 2.3



ภาพที่ 2.3 เชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas aeruginosa*

(http://www.visualphotos.com/image/1x6040105/coloured_sem_of_pseudomonas_aeruginosa_bacteria)

แบคทีเรีย *Bacillus subtilis*

Kingdom : Bacteria

Subkingdom : Firmicutes

Division : Bacilli

Class : Bacillales

Subclass : Bacillaceae

Genus: Bacillaceae

Species : *B. subtilis*

Bacillus subtilis เป็นแบคทีเรีย (bacteria) รูปร่างเป็นท่อน (rod shape) ย้อมติดสีแกรมบวก (gram positive bacteria) ขนาด $0.3 - 2.2 \times 1.2 - 7.0$ ไมโครเมตร สามารถสร้างแคปซูล (capsule) ได้ สามารถสร้างสปอร์ (bacterial spore) ซึ่งเป็นโครงสร้างที่มีความทนทานต่อสภาวะแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมต่อการเจริญได้ดี แหล่งที่อยู่อาศัยพบได้ทั่วไปในดิน

เป็นจุลินทรีย์ที่มีการเจริญเติบโตได้ดีที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส จะทำการเพาะเจริญใน nutrient agar และ nutrient broth การเจริญของ *B.subtilis* เป็นแบบ Unicellular rod แต่

นานๆ ครั้งจะเป็น แบบ chains จะเจริญในอาหารที่ไม่เป็นกรด และจะใช้ ออกซิเจนในการหายใจ

เชื้อแบคทีเรีย บาซิลลัส ซับทีลิส (บี เอส) มีคุณสมบัติสำหรับป้องกันกำจัดโรคพืชที่เกิดจากเชื้อ รา สาเหตุ และเชื้อแบคทีเรียสาเหตุของโรคพืชได้หลายชนิด และในขณะเดียวกันเชื้อ บี เอส ยังเป็นจุลินทรีย์ ที่ไม่เป็นพิษต่อมนุษย์ สัตว์ และไม่มีพิษตกค้างต่อสิ่งแวดล้อม

เป็นแบคทีเรียที่สามารถใช้เพื่อควบคุมและป้องกันโรคพืชจากแบคทีเรียชนิดอื่นได้หลายชนิด เช่น *Erwinia* spp, *Alternaria* spp. และจากเชื้อรา (mold) เช่น *Fusarium* ผลิตเอนไซม์ (enzyme) เช่น อะไมเลส (amylase) ใช้ประโยชน์เพื่อย่อยสลายโมเลกุลของสตาร์ชในการผลิตเป็นสตาร์ชไฮโดรไลเสต (starch hydrolysate) และ โปรตีเอส (protease) เป็นเอนไซม์ที่ย่อยสลายโมเลกุลของโปรตีนให้เป็นเพปโทน และเพปไทด์ หรือโปรตีนไฮโดรไลเสต (protein hydrolysate)



ภาพที่ 2.4 เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis*

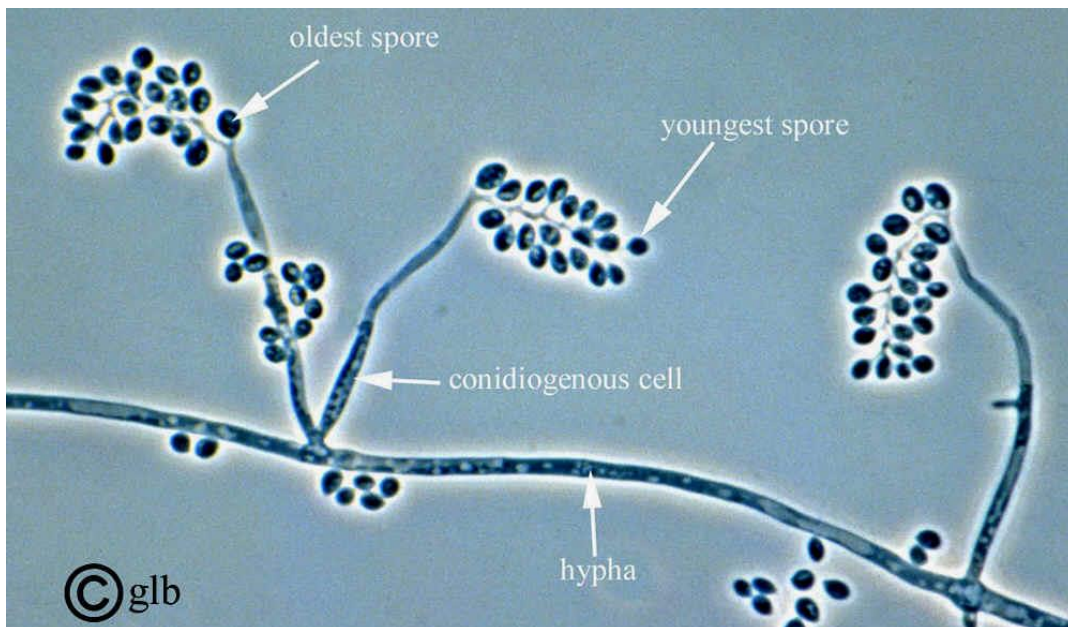
(<http://www.applyorganic.com>)

เชื้อรา *Beauveria bassiana*

ลักษณะของเชื้อราบิวเวอเรีย สปอร์ รูปทรงกลม ก้านชูสปอร์ตั้งขึ้นเป็นเส้นยาว เรียงเป็นสายเดี่ยวหรือเป็นกิ่งก้าน กลุ่มของ สปอร์อยู่ กันเป็นสาขามารวมกันคล้ายรูปจาน เส้นใยทรงกระบอก เส้นผ่านศูนย์กลาง 1.5 - 2.0 ไมครอน สีใส มีผนังกัน โคโลนีเรียบ เป็นฝุ่นคล้ายแป้ง หรือคล้ายชอล์ก

เชื้อราบิวเวอเรีย เป็นเชื้อราปฏิปักษ์ คือ สามารถทำลายแมลงได้หลายชนิด (Entomopathogenic fungi) โดยการผลิตเอนไซม์ที่เป็นพิษต่อแมลงศัตรูพืช และเป็นเชื้อราที่อาศัยและกินเศษซากที่ฝังในดิน

การเข้าทำลายแมลงของเชื้อราบิวเวอเรีย 1) เริ่มจากสปอร์ของเชื้อราบิวเวอเรีย ภาสเชื้อรา ไปติดอยู่กับผนัง ตัวของแมลง สปอร์จะเข้าสู่ลำตัว แมลงทางผนังลำตัว รุหายใจบาดแผล เมื่อความชื้นเหมาะสม สปอร์สร้างเส้นใยแทงทะลุเข้าไปภายในลำตัว บริเวณผนังลำตัวของแมลงที่มีความอ่อนบาง รอยต่อระหว่างปล้อง หรือข้อต่อระหว่างระยางค์ ส่วนเส้นใยของ เชื้อราบิวเวอเรีย ภาสเชื้อราเข้าสู่เนื้อเยื่อของแมลงโดยอาศัยน้ำย่อยต่างๆ คือ ไลเปส (Lipase) โพรทีเนส (Proteinase) และไคติเนส (Chitinase) หลังจากนั้นเส้นใยของเชื้อราจะงอกเข้าสู่ช่องว่างภายในลำตัวแมลง เมื่อ สภาพความชื้นแมลงเหมาะสม เชื้อราบิวเวอเรีย ก็จะสร้างเส้นใยมากมาย ทำลายชั้นไขมันและแพร่กระจายอยู่ทั่ว ในช่องว่างภายในลำตัว แมลงจะตาย และเส้นใยจะเพิ่มจำนวนอยู่ภายในซากแมลง 2) เมื่อแมลงตาย เส้นใยจะพัฒนาต่อไปโดยแทงผ่านผนังลำตัวแมลงออกสู่นอกตัวแมลงและสร้างสปอร์ ปกคลุมผนังลำตัวด้านนอกของแมลง 3) สปอร์จะแพร่กระจาย ปลิวไปตามลม ฝน หรือติดไปกับตัวเบียนที่มาเกาะศัตรูพืชเชื้อราจะขยายพันธุ์ ต่อไปได้ เมื่อสภาวะเหมาะสมก็จะทำลายแมลงศัตรูพืชต่อไป (กรมส่งเสริมการเกษตร, 2557)



ภาพที่ 2.5 เชื้อรา *Beauveria bassiana*

(<http://www.uoguelph.ca/~gbarron/MISCELLANEOUS/nov01.htm>)

งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ศราริน กลิ่นโพธิ์กลับ (2549) ได้ศึกษาผลของสารปรับปรุงดินที่มีต่อการดึงดูด แคลเดเมียของถั่วเหลืองปลูกในดินปนเปื้อนแคลเดเมียม ทำการทดลอง ประกอบด้วย 2 ปัจจัย โดยปัจจัยที่ 1 คือ ดินปนเปื้อนแคลเดเมียม 4 ระดับ ได้แก่ ดินปนเปื้อนแคลเดเมียม 13 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ดินปนเปื้อนแคลเดเมียม 30 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ดินปนเปื้อนแคลเดเมียม 50 มิลลิกรัม/กิโลกรัม และดินปนเปื้อนแคลเดเมียมระดับ 150 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ปัจจัยที่ 2 คือ สารปรับปรุงดิน 6 ชนิด ได้แก่ซีโอไลต์ เบนทอไนต์ ปูนมาร์ล ฟางข้าว แกลบเผา และไม้ใส่สารปรับปรุงดิน ผลการทดลองพบว่า ปริมาณการดึงดูดแคลเดเมียมและสังกะสีในเมล็ดและในลำต้นและใบถั่วเหลืองที่ปลูกดินที่ใส่ฟางข้าวมีปริมาณต่ำกว่าถั่วเหลืองที่ปลูกในดินที่ใส่สารปรับปรุงดินชนิดอื่นๆ และระดับการปนเปื้อนของแคลเดเมียมในดินที่สูงขึ้น มีผลทำให้ถั่วเหลืองดูดดึงแคลเดเมียมและสังกะสีได้สูงขึ้นอีกด้วย และพบว่าถั่วเหลืองสะสมแคลเดเมียมในดินที่สูงขึ้นมีผลทำให้ถั่วเหลืองดูดดึงแคลเดเมียมและสังกะสีได้สูงขึ้นอีกด้วยและพบว่าถั่วเหลืองสะสมแคลเดเมียม สังกะสี เหล็ก และแมงกานีสในลำต้นและใบมากกว่าเมล็ด แต่อย่างไรก็ตามการใส่สารปรับปรุงดินทุกชนิดมีผลทำ

ให้ความเข้มข้นของแคดเมียมทั้งหมดมีค่าลดลง แต่ยังคงสูงกว่าค่ามาตรฐานที่กำหนดไว้คือ 3 มิลลิกรัม/กิโลกรัม

วรารภรณ์ ศรีตัมภวา (2550) ศึกษาการดึงแคดเมียมโดยอ้อยที่ปลูกในดินที่ปนเปื้อน ผลการทดลองพบว่า อ้อยที่ปลูกในพื้นที่จริงมีปริมาณการสะสมแคดเมียมสูงสุดที่ระยะเวลาการเก็บตัวอย่าง 9 เดือน โดยมีค่าเท่ากับ 4.33, 4.86 และ 6.49 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ที่ระดับความเข้มข้นแคดเมียม <3 , 3 - 20 และ <20 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ เช่นเดียวกับเรือทดลองที่มีปริมาณการสะสมแคดเมียมในทุกๆ ส่วนของอ้อย เท่ากับ 8.66, 15.65, 17.47 และ 28.94 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ตามระดับความเข้มข้นที่ควบคุมคือ 10 , 20 และ 40 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ตามลำดับ

Chen, S., Xu, M., Ma, Y and Y, J. (2007) ได้ศึกษาผลของฟอสเฟตที่มีต่อการเคลื่อนที่ของโลหะหนักในดินสัฟฟิซ โดยพืชที่ใช้ในการทดลองคือ Chinese rape (*Brassica campestris* L.) โดยฟอสเฟตที่ใช้ปรับปรุงดินมี 3 แบบด้วยกันได้แก่ Natural hydroxyapatite, Phosphate rock, Triple-superphosphate และ Diammonium phosphate โดยการทดลองเงื่อนไขที่ 1 ไม่มี Cd Pb และ Zn ในสารปรับปรุงดิน เงื่อนไขที่ 2 มีปริมาณ Cd 0.6 มิลลิกรัม/กิโลกรัม Pb 100 มิลลิกรัม/กิโลกรัม และ 100 มิลลิกรัม /กิโลกรัม เงื่อนไขที่ 3 มีปริมาณ Cd 1.5 มิลลิกรัม/กิโลกรัม Zn 300 มิลลิกรัม/กิโลกรัม และ 200 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ส่วนปริมาณของฟอสเฟตในดินที่มีในสารปรับสภาพด้วยฟอสเฟต เท่ากับ 2500 มิลลิกรัม P₂O₅ ต่อกิโลกรัมของดิน จากผลการทดลองพบว่า ฟอสเฟตชนิด Natural hydroxyapatite สามารถลดปริมาณ Cd Zn และ Pb ในรากได้มากกว่าฟอสเฟตชนิดอื่นๆ โดยการทดลองพบว่าสามารถลด Cd ได้ 39.1 - 42.4% Zn ลดได้ 31.2 - 47.3 % และ Pb ได้ 34.6 - 53.3 % เมื่อเทียบกับดินควบคุม และการทดลองยังพบว่าเมื่อใช้ฟอสเฟตปรับปรุงดินต่างกันจะสามารถลด Cd Zn และ Pb ในพืช เมื่อใช้ฟอสเฟตปรับปรุงดินเรียงตามลำดับดังนี้ Natural hydroxyapatite > Phosphate rock > Diammonium phosphate > Triple-superphosphate

Ping, L., Xingxiang , W., Taolin, Z., Dongmei, Z and Yuanqiu, H. (2008) ได้ศึกษาผลของการใช้สารปรับปรุงดิน 7 ชนิด ต่อการเจริญเติบโตของข้าวและการดึงดูดแคดเมียมและทองแดงเมื่อดินที่ปลูกเป็นดินที่ปนเปื้อนแคดเมียมและทองแดง โดยสารปรับปรุงดิน 7 ชนิด ได้แก่ หินปูน แคลเซียม-แมกนีเซียม-ฟอสเฟต แคลเซียมซิลิเกต Chinese milk vetch มูลสุกร ถ่านหิน ซิงค์ซัลเฟต (zinc sulfate) ผลการทดลองพบว่า การประยุกต์ใช้ หินปูนเป็นสารปรับปรุงดินที่ปนเปื้อนแคดเมียมและทองแดงดีที่สุด ซึ่งจะทำให้ ผลผลิตของเมล็ดข้าวเพิ่มขึ้น 12.5 - 16.5 หน่วย (g/pot) และสามารถลดปริมาณแคดเมียมและทองแดงในเมล็ดข้าวได้ 23 - 50.4 % ส่วนการใช้แคลเซียม – แมกนีเซียม - ฟอสเฟต แคลเซียมซิลิเกต มูลสุกร

และถ่านหิน ก็สามารทำให้ผลผลิตของเมล็ดข้าวเพิ่มขึ้น 0.3 - 15.3 หน่วย (g/pot) และสามารถทำให้แคดเมียมและทองแดงในเมล็ดข้าวลดลง ส่วน Chinese milk vetch ซิงค์ซัลเฟต (zinc sulfate) สามารถลดปริมาณแคดเมียมในเมล็ดข้าวได้เล็กน้อย และปริมาณของทองแดงและแคดเมียมที่ดึงดูดเข้ามาในเมล็ดและช่ข้าวขึ้นอยู่กับปริมาณแคดเมียมและทองแดงในดินและยังขึ้นอยู่กับพีเอชของดินด้วย

Wang - da, C., Hai - Gen, Y., Hong - Mei, Z and Xian - Guo, T. (2009) ได้ศึกษาผลของปริมาณแคดเมียมในดินต่อการสะสม Cd K P Mg Cu Pb Fe และ Mn ในเมล็ดข้าวพันธุ์ Xiushi 63 และ พันธุ์ Xiushi 217 โดยปริมาณแคดเมียมที่เติมในดิน ตั้งแต่ 0.5 2.5 และ 12.5 มิลลิกรัม/กิโลกรัม และ ไม่เติมแคดเมียมในดิน ผลการทดลองพบว่า ชนิดของพันธุ์ข้าวมีผลต่อการสะสม K แต่ไม่มีผลแบบมีนัยสำคัญสำหรับ P Mg Zn Cu Pb Fe และ Mn และผลการทดลองยังพบว่าการเพิ่มขึ้นของปริมาณแคดเมียมในดิน มีผลต่อปริมาณ P Mg และ Zn ในเมล็ดข้าว ขณะที่ไม่มีผลต่อ K Cu Pb Fe และ Mn นอกจากนี้พบว่า ข้าวพันธุ์ Xiushui 27 มีการสะสมปริมาณแคดเมียมในเมล็ดข้าวน้อยกว่าพันธุ์ Xiushui 63 และ การสะสมแคดเมียมในปริมาณต่ำของพันธุ์ข้าว Xiushui 27 จะทำให้ปริมาณของ K Mg และ Mn สูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ขณะที่ พันธุ์ข้าว Xiushui 63 ที่มีการสะสมแคดเมียมอยู่ในเมล็ดข้าวสูงกว่า จะทำให้ปริมาณของ Zn Pb และ Fe สูงขึ้นด้วย

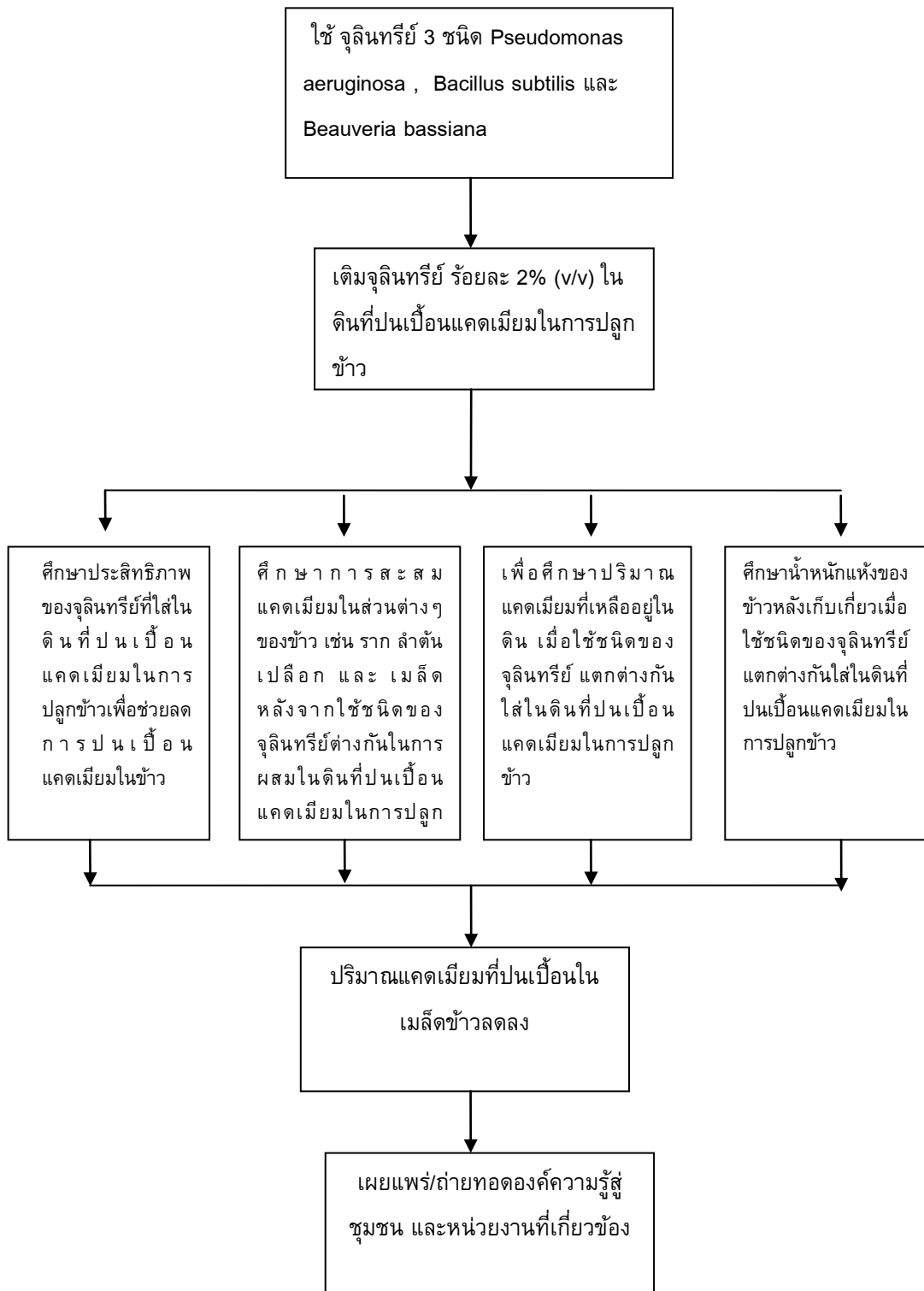
Sato, A., Takeda, H., Oyanagi, W., Nishihara, E and Murakam, M. (2010) ได้ศึกษาการลดการดึงดูดแคดเมียมเข้าไปในผักขมด้วยดินที่ปรับปรุงด้วยปุ๋ยคอก ซึ่งได้แก่มูลวัว มูลสุกร และมูลสัตว์ปีก โดยระยะเวลาการปรับปรุงดิน 4 ปี ผลการทดลองพบว่า ความเข้มข้นของแคดเมียมในใบของผักขมเมื่อปรับปรุงดินด้วยมูลสัตว์ทั้งสาม จะทำให้ปริมาณแคดเมียมลดลงอยู่ในช่วง 34 - 38% เมื่อเปรียบเทียบกับแคดเมียมในใบผักขมที่ใช้สารปรับปรุงดินด้วยปุ๋ยเคมี แต่อย่างไรก็ตามการใช้สารปรับปรุงดินด้วยมูลสุกรและมูลสัตว์ปีกจะทำให้เกิดการสะสมของฟอสฟอรัสที่สะสมในดินสูงเมื่อเทียบกับการใช้สารปรับปรุงดินเป็นมูลวัว ดังนั้นเพื่อหลีกเลี่ยงปัญหาดังกล่าว ควรเลือกใช้สารปรับปรุงดินด้วยมูลวัว จะทำให้เกิดการสะสมฟอสฟอรัสในดินต่ำและมีคุณสมบัติในการลดการดึงดูดแคดเมียมในผักขมด้วย

Yu, X - Y., Ying, G - G. and Kookana, R.S. (2009) ศึกษาการเติมไบโอชาร์ (biochar) 2 อย่างลงในดินเพื่อลดการดูดซึมยาฆ่าแมลง (คลอไพริฟอสและคาร์โบฟูราน) ในต้นหอม ไบโอชาร์เตรียมจากการไพโรไลซิสเศษไม้ของต้นยูคาลิปตัสที่ 450 และ 850 องศาเซลเซียส แล้วนำมาผสมกับดินที่ร้อยละ 0, 0.1, 0.5 และ 1 โดยน้ำหนัก ปลูกต้นหอมเป็นเวลา 5 สัปดาห์ในดินที่ปรับปรุงด้วยไบโอชาร์ที่มียาฆ่าแมลงแต่ละชนิด 50 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

พบว่า เมื่อเพิ่มปริมาณของไบโอชาร์จะช่วยลดการสูญเสียและลดการแยกยาฆ่าแมลงออกจากดินอย่างมีนัยสำคัญคือ ในดินที่ปรับด้วยไบโอชาร์จะมียาฆ่าแมลงหลงเหลืออยู่ในดินมากกว่าดินควบคุม เมื่อทำการทดลองเป็นเวลามากกว่า 35 วันพบว่ายาฆ่าแมลงร้อยละ 86 - 88 หายไปจากดินควบคุม ในขณะที่ดินที่ปรับด้วยไบโอชาร์ที่เผาที่อุณหภูมิ 850 องศาเซลเซียสร้อยละ 1.0 โดยน้ำหนักมีคาร์โบฟูรานหลงเหลืออยู่ร้อยละ 51 และมีคลอไพริฟอสหลงเหลืออยู่ร้อยละ 44 นอกจากนี้ดินที่ปรับด้วยไบโอชาร์ที่เผาที่อุณหภูมิ 850 องศาเซลเซียสร้อยละ 1.0 โดยน้ำหนักมีคลอไพริฟอสและคาร์โบฟูรานหลงเหลือในพีชทั้งหมดลดร้อยละ 10 และ 25 ของดินควบคุมตามลำดับแสดงให้เห็นว่าไบโอชาร์ในดินช่วยให้พืชดูดซึมยาฆ่าแมลงลดลงเนื่องจากไบโอชาร์มีความจำเพาะสูงสำหรับยาฆ่าแมลงและมีความสามารถในการแยกยาฆ่าแมลงที่ออกจากดิน

กรอบแนวความคิดของโครงการวิจัย

ข้าวจัดเป็นอาหารหลักสำหรับคนไทย มนุษย์สามารถรับสารแคดเมียมเข้าสู่ร่างกายโดยการบริโภคข้าวที่ปลูกในพื้นที่ที่มีแคดเมียมปนเปื้อนอยู่ เนื่องจากข้าวจะสามารถดูดซับ (uptake) แคดเมียมเข้าไปสะสมยังเมล็ดข้าว ดังนั้น เมื่อมนุษย์บริโภคข้าวเข้าไปจะทำให้เกิดอันตรายต่อสุขภาพร่างกายของมนุษย์ วิธีการที่จะทำให้ปริมาณแคดเมียมที่สะสมในข้าวลดลงทำได้โดยการใช้จุลินทรีย์ผสมในดินที่ปนเปื้อนแคดเมียมเพื่อทำหน้าที่เป็นการลดแคดเมียมที่จะดึงดูดเข้าไปในข้าว โดยมีสมมุติฐานที่ว่าแคดเมียมถูกยึดหรือเกาะติด (immobilization) ในเซลล์จุลินทรีย์ ทำให้แคดเมียมไม่มีการเคลื่อนที่ (mobility) จากดินสู่ต้นข้าวได้ ดังนั้นการดูดซับแคดเมียมเข้าไปในต้นข้าวจึงลดลงไปด้วย ซึ่งทำให้ปริมาณแคดเมียมที่ถูกปนเปื้อนในเมล็ดข้าวลดลง โดยกรอบแนวคิดแสดงดังภาพที่ 2.6



ภาพที่ 2.6 กรอบแนวคิดการวิจัย