

บทที่ 2

ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 อุตสาหกรรมน้ำยางข้น

น้ำยางข้นได้จากการแปรรูปน้ำยางสดเพื่อใช้เป็นวัตถุดิบในอุตสาหกรรมต่อเนื่องอื่นๆ เช่น ถูมมือยาง ยางรถยนต์ เป็นต้น ในกระบวนการผลิตน้ำยางข้น มีขั้นตอนที่ก่อให้เกิดน้ำเสียไม่ว่าจะกระบวนการล้างทำความสะอาดในบ่อรับน้ำยาง หรือกระบวนการปั่นแยก ยังมีน้ำซึมจากบ่อจับตัว น้ำเสียจากการผลิตยางสกิม และพื้นที่เก็บยางสกิม ซึ่งจะเข้าสู่บ่อคักยางและบ่อบำบัดน้ำเสีย อีกทั้งการเติมสารเพื่อให้น้ำยางจับตัว หรือการปั่น ยังทำให้เกิดกากตะกอนของอุตสาหกรรมการผลิตน้ำยางข้น แหล่งกำเนิดของกากตะกอนที่เกิดจากกระบวนการผลิตน้ำยางข้นที่สำคัญ คือ กระบวนการปั่น ซึ่งมีการเติมสารเคมีหลายชนิดในกระบวนการผลิต โดยเฉพาะสารเคมีที่เติมในน้ำยางสดก่อนการปั่นแยก แอมโมเนีย (ในรูปสารละลาย) เพื่อป้องกันการเสียดสภาพที่เกิดขึ้นจากปฏิกิริยาของแบคทีเรียกับสารอื่นๆ ที่ไม่ใช่ยาง หรือแอมโมเนียกับสารบางชนิด ซึ่งเป็น Secondary preservative เช่น ZnO, Tetramethyl thiuram disulfide (TMTD) จะช่วยป้องกันการเพิ่มจำนวนกรดไขมันระเหยได้ดีกว่าการใช้แอมโมเนียเพียงลำพัง และเพื่อให้แมกนีเซียมตกตะกอนก่อนการปั่น (กรมควบคุมมลพิษ, 2548)

ZnO มีความสามารถทำลายแบคทีเรียในน้ำยางได้ การใช้ ZnO 0.05% กับแอมโมเนีย 0.3% ต่อน้ำหนักยาง จะรักษาจำนวนกรดไขมันระเหยให้คงที่นานถึง 2 สัปดาห์ และได้มีการทดลองพบว่าการใช้ ZnO ร่วมกับ TMTD ในอัตรา 0.025% ต่อน้ำหนักยาง ร่วมกับแอมโมเนียปริมาณ 0.2-0.35% ต่อน้ำหนักยาง จะรักษาน้ำยางสดที่มีจำนวนกรดไขมันระเหยง่าย (Volatile Fatty Acid, VFA) ตั้งแต่แรกต่ำกว่า 0.02 ไปได้ยาวนานถึง 10 วัน (กรมควบคุมมลพิษ, 2548)

ของเสียที่เกิดขึ้นในกระบวนการผลิตน้ำยางข้นสามารถจำแนกได้เป็น 4 ประเภท คือ

1. น้ำเสีย โดยน้ำเสียจากกระบวนการผลิตน้ำยางข้นมีค่าเฉลี่ยของ Biochemical Oxygen Demand (BOD₅) เท่ากับ 2,390 mg/L ของแข็งแขวนลอย (Suspended Solid, SS) 2,414 mg/L และค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) 8.88 ขณะที่น้ำเสียจากการผลิตยางสกิมมีค่าเฉลี่ยของ BOD₅ เท่ากับ 10,489 mg/L SS 728 mg/L และ ค่า pH 4.47 (วันชัย, 2540)

2. ของเสียของแข็งที่เป็นเนื้อยางตักข้างสะสมในบ่อดักยาง (rubber trap) และในบ่อบำบัดน้ำเสีย ซึ่งมักเป็นเนื้อยางที่รวมตัวกันมีความบริสุทธิ์ต่ำเนื่องจากการปนเปื้อนของสิ่งสกปรกในน้ำเสียในปริมาณสูงหรือเรียกว่า “กากตะกอน”

3. ของเสียของแข็งในรูปเนื้อยางที่ตักข้างในทางระบายน้ำ และภาชนะที่ใช้ในการบรรจุยางต่างๆ ที่มีการกำจัดออกมา

4. ของเสียของแข็งที่เรียกว่า “กากขี้แป้ง” ได้จากการตกตะกอนจากถังพักน้ำยาง และจากการปั่นน้ำยาง ประกอบด้วยสิ่งเจือปนต่างๆ ส่วนใหญ่เป็นพวก ฝุ่น ทราช เปลือกไม้ และแมกนีเซียมแอมโมเนียมฟอสเฟต

กากตะกอนเป็นของเสียที่ประกอบด้วยของแข็ง และของเหลว จากขั้นตอนการแยกของแข็งออกจากของเหลวในกระบวนการบำบัดน้ำทิ้ง เช่น การตกตะกอนโดยที่กากตะกอนที่มาจากโรงงานอุตสาหกรรมจะมีปริมาณมาก และองค์ประกอบจากโรงงานอุตสาหกรรมจะแตกต่างกันอย่างมาก ขึ้นอยู่กับปัจจัยต่างๆ เช่น ชนิดของโรงงาน ความซับซ้อนของกระบวนการผลิต ระบบดักจับวัสดุเพื่อนำกลับไปใช้ใหม่ ตลอดจนจนถึงชนิด และระดับของกระบวนการบำบัดของเสียที่ใช้ (กรมควบคุมมลพิษ, 2548)

การนำกากตะกอนมาใช้ประโยชน์ทางการเกษตร โดยการใช้กากตะกอนน้ำทิ้งเพื่อเป็นแหล่งแร่ธาตุสำหรับพืช ได้รับความสนใจมากขึ้น เช่นในสหรัฐอเมริกาได้มีกฎหมายของสหพันธรัฐเพื่อควบคุมมลพิษของน้ำออกมาในปี ค.ศ. 1972 สนับสนุนให้มีการใช้กากตะกอนเพื่อประโยชน์ในทางการเกษตร (Borchard *et al.*, 1981) มีงานวิจัยหลากหลายที่ศึกษาผลของการนำกากตะกอนมาใช้ประโยชน์ทางการเกษตร และพบว่าผลของกากตะกอนต่อการเติบโตและผลผลิตใกล้เคียงกับการใช้ปุ๋ยอินทรีย์ทางการค้า เมื่อให้ได้รับธาตุไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียมจากทั้งสองอย่างในปริมาณที่เท่ากัน (Day *et al.*, 1983) แต่ต้องพิจารณาปัญหาต่างๆ ไปพร้อมๆ กันด้วย คือคุณภาพของกากตะกอนที่เกี่ยวข้องกับอินทรีย์สารที่เป็นพิษ และโลหะหนัก (Borchard *et al.*, 1981) ปริมาณโลหะหนักในกากตะกอนที่จะใช้เพื่อการเกษตรต้องมีค่าสูงสุดที่จะยอมรับได้ในกากตะกอนมีอยู่ได้ ซึ่งถ้ากากตะกอนมีมากกว่าที่กำหนด (1,000-10,000 mg/kg (Webber *et al.*, 1984)) แสดงว่ากากตะกอนที่ใช้ทางการเกษตรอาจมีผลกระทบต่อโลหะหนักลงสู่ดิน

2.2 สังกะสี

สารประกอบสังกะสีที่ใช้ในอุตสาหกรรมยาง ได้แก่ Zinc oxide (ZnO) ซึ่งใช้เป็นตัวเร่ง สารเพิ่มความแข็งแรงในยาง นอกจากนี้ยังมี Zinc laurate ใช้ในการผลิตยาง และ Ziram ใช้เป็นตัวเร่งในการผลิตยาง

2.2.1 การแพร่กระจายของสังกะสีในแหล่งน้ำ

สังกะสีที่ปนเปื้อนในแหล่งน้ำมีหลายรูปแบบซึ่งสามารถแบ่งได้เป็น 7 รูปแบบ (Florence, 1980) คือ

1. โลหะไฮดรอกไซด์ไอออน เช่น $Zn(H_2O)_6^{2+}$ (เส้นผ่านศูนย์กลาง 0.8 นาโนเมตร)
2. สารประกอบเชิงซ้อนอนินทรีย์ที่ไม่เสถียร เช่น $Zn(H_2O)_5Cl^+$, $Zn(H_2O)_5OH^+$ (เส้นผ่านศูนย์กลาง 1 นาโนเมตร)
3. สารประกอบเชิงซ้อนอินทรีย์ที่ไม่เสถียร เช่น Zinc-citrate, Zn glycinate (เส้นผ่านศูนย์กลาง 1-2 นาโนเมตร)
4. สารประกอบเชิงซ้อนอนินทรีย์ที่เสถียร เช่น ZnS , $ZnCO_3$, Zn_2SiO_4 , (เส้นผ่านศูนย์กลาง 1-2 นาโนเมตร)
5. สารประกอบเชิงซ้อนอินทรีย์ที่เสถียร เช่น Zn-humate, Zn-cysteinate (เส้นผ่านศูนย์กลาง 2-4 นาโนเมตร)
6. อนุภาคอนินทรีย์สารแขวนลอย เช่น $Zn^{2+}Fe_2O_3$, $Zn^{2+}SiO_2$ (เส้นผ่านศูนย์กลาง 100-500 นาโนเมตร)
7. อนุภาคอินทรีย์สารแขวนลอย เช่น Zn^{2+} -humic acid, Zn^{2+} -organic detritus (เส้นผ่านศูนย์กลาง 100-500 นาโนเมตร)

สารประกอบสังกะสีจะถูกไฮโดรไลซ์ในสารละลายได้เป็น Hydrated zinc ion, Zinc hydroxide, Hydrated zinc oxides ซึ่งจะตกตะกอน ปฏิกิริยานี้จะลดค่า pH ในน้ำ แม้ว่าในแหล่งน้ำจะมีความสามารถในการเป็นบัฟเฟอร์เพื่อป้องกันการเปลี่ยนแปลงที่จะเกิดขึ้นในแหล่งน้ำก็ตาม นอกจากนี้สังกะสีจะถูกดูดซับโดยเฟอร์ริกไฮดรอกไซด์ในสถานะที่น้ำเป็นด่าง หรือถูกดูดซับในซัลไฟด์ ซิลิกา อลูมินา แมงกานีสไดออกไซด์ และกรดฮิวมิก (Huang *et al.*, 1977)

ซิงค์ซัลไฟด์เป็นรูปที่พบมากที่สุดที่ดินตะกอนที่ขาดออกซิเจน ส่วนด้านบนของชั้นตะกอนจะมีออกซิเจน ซึ่งสังกะสีจะเกิดปฏิกิริยากับไฮดรอกไซด์ของเหล็ก และแมงกานีสที่เป็นส่วนประกอบของดิน หรือที่เคลือบอยู่บนผิวของแร่ชนิดอื่น ในน้ำสังกะสีจะเกิดสารประกอบเชิงซ้อนกับลิแกนด์ที่เป็นสารอินทรีย์ และสารอนินทรีย์ได้หลายชนิด (WHO, 2001) 50% ของปริมาณสังกะสีที่อยู่ในแหล่งน้ำจืดที่มีสถานะเป็นกรดจะอยู่ในรูปสารอนินทรีย์ที่ไม่ใช่คอลลอยด์ เช่น Zinc carbonate, Zinc hydroxyl carbonate หรือ Zinc silicate ส่วนในแหล่งน้ำจืดที่มีสถานะเป็นด่าง เกือบทั้งหมดจะถูกดูดซับด้วยสารอินทรีย์ และสารอนินทรีย์ที่อยู่ในรูปอนุภาคคอลลอยด์ค่า pH ของแหล่งน้ำจืดส่วนมากอยู่ในช่วงการเปลี่ยนแปลงของการดูดซับ โลหะหนักในอนุภาค การเปลี่ยนแปลงค่า pH ไปเพียง 0.5 มีผลทำให้เกิดความแตกต่างว่าสังกะสีจะอยู่ในรูปที่ถูกดูดซับหรือ

ในรูปที่แตกตัว Florence (1977) พบว่าค่า pH ที่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงอยู่ในช่วง 6.0-6.1 ปริมาณ สังกะสีเพิ่มขึ้นพบในแหล่งน้ำบริเวณพื้นที่ที่มีแร่ธาตุสูง ในแหล่งน้ำจืดสารอินทรีย์มีบทบาทสำคัญ เนื่องจากสามารถเกิดพันธะกับสังกะสีได้ที่ค่า pH สูง (มากกว่า 6.5) ดังนั้นการเปลี่ยนแปลงปริมาณ และสปีชีส์สังกะสีในน้ำขึ้นอยู่กับความเป็นกรดของน้ำ

2.2.2 ปัจจัยที่มีผลต่อการแพร่กระจายของสังกะสีในแหล่งน้ำ ได้แก่

1. สภาวะแวดล้อมของแหล่งน้ำ เช่น อุณหภูมิ ความเป็นกรด-ด่าง ความกระด้าง สภาวะออกซิเดชันและรีดักชัน ซึ่งปัจจัยเหล่านี้ล้วนมีผลต่อการเปลี่ยนรูป การละลายและ การเกิดปฏิกิริยาของสังกะสีในแหล่งน้ำ
2. ชนิดของลิแกนด์ในน้ำที่สามารถเกิดสารประกอบเชิงซ้อนกับสังกะสี ทั้งในรูป สารอนินทรีย์ และที่เป็นสารอินทรีย์ เช่น กรดอินทรีย์ อินทรีย์คาร์บอนที่ละลายในน้ำ (Dissolved organic carbon; DOC) เป็นต้น
3. ปัจจัยอื่นๆ เช่นกระบวนการทางชีวเคมีของสิ่งมีชีวิตในแหล่งน้ำ จลนศาสตร์ เทอร์โมไดนามิก สมดุลเคมี และค่าคงที่ของสภาวะเสถียร (Stability constant)

2.2.3 สังกะสีในสิ่งมีชีวิตในแหล่งน้ำ

สิ่งมีชีวิตในแหล่งน้ำ เช่น หนองแดงสามารถรับโลหะหนักได้โดยตรงจากน้ำ ผ่านทาง ผิวหนัง และยังสามารถได้จากการย่อยสลายอาหารที่ปนเปื้อนโลหะหนัก สังกะสีในรูปไอออนอิสระ นั้นพบมากที่สุดเป็นสิ่งมีชีวิตที่อยู่ในน้ำ ดังนั้นสังกะสีในรูปของไอออนอิสระจึงสามารถเข้าสู่ร่างกาย ของสิ่งมีชีวิตในน้ำได้ทุกชนิด โดยผ่านกลไกการแพร่ผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ โดยสังกะสีมีกลไกการดูดซึม ร่วมกับแคลเซียม เพราะมีไอออนขนาดใกล้เคียงกัน และยังสามารถเกิดสารเชิงซ้อนได้กับลิแกนด์ ชนิดเดียวกัน ดังนั้นสังกะสีจึงสามารถไปแทนที่แคลเซียมใน Calmodulin ซึ่งเป็นโปรตีนจำเพาะ สำหรับการส่งผ่านแคลเซียมได้ (Verbost *et al.*, 1989)

เมื่อเข้าสู่ร่างกายแล้วสังกะสีจะถูกดูดซึมไว้ที่เนื้อเยื่อของร่างกาย สังกะสีซึ่งเป็นโลหะที่เป็น ธาตุที่จำเป็นต่อสิ่งมีชีวิต มีส่วนช่วยในการเจริญเติบโตของเซลล์ โดยทำหน้าที่เป็นองค์ประกอบ หลักของเอนไซม์และโปรตีนหลายชนิด นอกจากนี้ยังเป็นสารประกอบที่สำคัญของ โครงสร้าง สิ่งมีชีวิตอีกด้วย แต่การได้รับปริมาณสังกะสีที่มากเกินไปเกินความต้องการจะทำให้เกิดความเป็นพิษขึ้นได้ ไอออนของสังกะสีจะเข้าไปทำปฏิกิริยากับหมู่ฟังก์ชัน เช่น หมู่ซัลไฟดริล (Sulfhydryl) อะมิโน คาร์บอกซิล และไฮดรอกซิล บนพื้นผิวของเซลล์ เยื่อหุ้มเซลล์ และโมเลกุลของเอนไซม์ นอกจากนี้ ร่างกายของสิ่งมีชีวิตบางชนิดยังสามารถสังเคราะห์โปรตีน Metallothionein ซึ่งช่วยลดความเป็นพิษ ของโลหะหนักได้อีกด้วย (เกรียงศักดิ์, 2546)

แม้ว่าสิ่งมีชีวิตจะมีกลไกในการกำจัดโลหะหนัก การสะสมของโลหะหนักก็ยังมีมากกว่า การกำจัดโลหะหนัก ซึ่งเป็นผลมาจากการที่โลหะหนักไปจับกับโปรตีนในเนื้อเยื่อนั้นเอง ในสิ่งมีชีวิตสามารถกำจัดโลหะหนักผ่านทางกรลอกคราบได้ ปัจจัยที่มีผลต่อการกำจัดโลหะหนักจากสัตว์น้ำ คือ ระยะเวลา อุณหภูมิ ปฏิสัมพันธ์ของสาร กิจกรรมของเมทาบอลิซึม และครึ่งชีวิตของโลหะ (Kargin, 1996)

2.2.4 ความเป็นพิษของสังกะสี

โดยทั่วไปไอออนของโลหะหนักจะเข้าไปจับกับโปรตีน ขัดขวางการขนส่งกรดอะมิโนผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ มีผลต่อเอนไซม์โดยเฉพาะ DNA polymerase, Ca ATPase, Na-K ATPase และยับยั้งการเกิด glutathione ส่วนผลกระทบที่เกิดในเซลล์นั้น โลหะหนักจะเข้าไปขัดขวางกระบวนการเมทาบอลิซึม และมีผลการสังเคราะห์ Metallothionein และ DNA นอกจากนี้มีผลต่อการถอดรหัสของ RNA ด้วย (Sylviane and Gostan, 1994)

เนื่องจากสังกะสีเป็นธาตุอาหารที่จำเป็นต่อสิ่งมีชีวิตทุกชนิด เพราะเกี่ยวข้องกับกระบวนการทางสรีรวิทยา โดยจำเป็นต้องใช้สังกะสีในการรักษาสมดุลของเยื่อหุ้มเซลล์ (Cakmak and Marschner, 1988) ใช้ในการกระตุ้นเอนไซม์มากกว่า 300 ชนิด เป็นปัจจัยที่สำคัญของกระบวนการถอดรหัส (transcription) และเป็น hormone receptors แต่สิ่งมีชีวิตนั้นต้องการสังกะสีในปริมาณที่พอเหมาะเท่านั้น ซึ่งถ้าได้รับในปริมาณที่มากเกินไปเกินความต้องการหรือน้อยเกินไปก็จะก่อให้เกิดความเป็นพิษขึ้น ความเป็นพิษเฉียบพลันของสังกะสีโดยมีระดับความเข้มข้นที่ทำให้สัตว์ทดลองตาย 50% ในระยะเวลา 96 hr หรือค่า 96hr-LC₅₀ ของสิ่งมีชีวิตชนิดต่างๆ แสดงในตารางที่ 2.1

ความเป็นพิษของสังกะสีทำให้ปลา Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) ตาย 50% ในระยะเวลา 96 hr (96hr-LC₅₀) เท่ากับ 0.55 และ 0.17 mg/L เมื่อสังกะสีที่ทำการทดลองอยู่ในรูป Zinc acetate และ Zinc chloride (Hale, 1977; Buhl and Hamiton, 1990) ส่วนในปลา Fathead minnow (*pimephales promelas*) Bluegill (*Lepomis macrochirus*) Goldfish (*Carassius auratus*) มีค่า 96hr-LC₅₀ เท่ากับ 0.88, 40.9 และ 6.44 mg/L ตามลำดับ ที่ขนาดปลา 1-2 g ซึ่งมีค่าความเป็นพิษแตกต่างกันมากอาจเนื่องมาจากค่า pH ของการทดลองที่ต่างกัน โดย Bluegill ทำการทดลองที่ค่า pH 8.2 ซึ่งจะมีผลต่อการละลายของสังกะสีทำให้ความเป็นพิษค่อนข้างต่ำ ในขณะที่ปลา Fathead minnow มีความไวต่อสังกะสีมากที่สุด (Pickering and Henderson, 1966) Tilapia (*Oreochromis niloticus*) มีค่า 96hr-LC₅₀ เท่ากับ 40.49 mg/L เมื่อทดสอบความเป็นพิษกับ Zinc chloride (Patcharaporn, 2546) ส่วนสัตว์ขนาดเล็กอย่าง Hydra (*Hydra vulgaris*) สังกะสีมีความเป็นพิษมากกว่า โดยมีค่า 96hr-LC₅₀ เท่ากับ 14.00 mg/L และสำหรับหนอนแดงสปีชีส์ที่ทำการทดลอง และชนิดของสารละลายสังกะสีที่

ต่างกันมีผลต่อค่า 96hr-LC₅₀ ที่ได้ *Chironomus plumosus* ซึ่งทดลองใน Zinc sulfate มีค่า 96hr-LC₅₀ เท่ากับ 32.60 mg/L ส่วน *C. calipterus* ที่ทดลองใน Zinc oxide มีค่า 96hr-LC₅₀ เท่ากับ 6.85 mg/L (Fargasova, 2001; Jitiporn, 2547)

ตารางที่ 2.1 ความเป็นพิษเฉียบพลัน (96hr-LC₅₀) ของสังกะสีในสิ่งมีชีวิตชนิดต่างๆ (WHO, 2001)

Organism	Size/age	pH	Zinc salt	96hr-LC ₅₀ (mg/L)	Reference
Rainbow trout (<i>O. mykiss</i>)	juvenile 0.60 g	6.4-8.3 7.1-8.0	acetate chloride	0.550 (m) 0.17(n)	Hale (1977) Buhl&Hamiton (1990)
Fathead minnow (<i>P. promelas</i>)	1-2 g	7.5	acetate	0.88(n)	Pickering&Henderson (1966)
Bluegill (<i>L. macrochirus</i>)	1-2 g	8.2	sulfate	40.9 (n)	Pickering&Henderson (1966)
Goldfish (<i>C. auratus</i>)	1-2 g	7.5	sulfate	6.44 (n)	Pickering&Henderson (1966)
Guppy (<i>Poecilia reticulata</i>)	0.1-0.2 g	7.5	sulfate	1.27(n)	Pickering&Henderson (1966)
Tilapia (<i>O. niloticus</i>)	juvenile		chloride	40.49 (m)	Patcharaporn (2546)
Hydra (<i>Hydra vulgaris</i>)		6.2	chloride	14.00 (m)	Karntanut and Pascoe (2000)
Midge <i>C. calipterus</i>	larvae	6.73		6.85 (m)	Jitiporn (2547)
Midge <i>C. plumosus</i>	larvae	7.0±0.5	sulfate	32.60 (n)	Fargasova (2001)

หมายเหตุ m = measured concentration

n = nominal concentration

2.2.5 ปัจจัยที่มีผลต่อความเป็นพิษของสังกะสี

ปัจจัยทางกายภาพและเคมีนั้นมีผลต่อปริมาณสังกะสีที่สิ่งมีชีวิตสามารถนำไปใช้ได้ รวมถึงการสะสมในร่างกายของสิ่งมีชีวิต และความเป็นพิษ โดยมีปัจจัยดังนี้ (WHO, 2001)

1) อุณหภูมิและปริมาณออกซิเจนในน้ำ

อุณหภูมิของน้ำเป็นปัจจัยที่มีอิทธิพลทั้งทางตรงและทางอ้อมต่อการดำรงชีวิตของสัตว์น้ำ เนื่องจากอุณหภูมิในร่างกายของสัตว์น้ำจะเปลี่ยนแปลงไปตามอุณหภูมิของน้ำ และสภาพแวดล้อมที่อาศัยอยู่ โดยปกติอุณหภูมิภายในตัวสิ่งมีชีวิตจะแตกต่างไปจากอุณหภูมิของน้ำเพียง 0.5-1 °C และสิ่งมีชีวิตสามารถทนต่อการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิของน้ำในช่วงจำกัด เนื่องจากอุณหภูมิและปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำนั้น มีความสำคัญต่อกระบวนการเมแทบอลิซึมของสิ่งมีชีวิต เช่น การหายใจ การว่ายน้ำ การกิน การย่อยอาหาร การขับถ่าย และการเต้นของหัวใจ ดังนั้นเมื่ออุณหภูมิของน้ำสูงขึ้น กระบวนการเมแทบอลิซึมของสิ่งมีชีวิตจะเพิ่มขึ้นตามไปด้วย ซึ่งอัตราการเกิดเมแทบอลิซึมในสิ่งมีชีวิตแต่ละชนิดจะขึ้นอยู่กับกระบวนการชีวเคมีภายในร่างกาย และสภาพแวดล้อม เช่น สิ่งมีชีวิตที่มีขนาดตัวใหญ่ก็จะมีอัตราการเกิดเมแทบอลิซึมน้อยกว่าสิ่งมีชีวิตที่มีขนาดตัวเล็ก

การเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิของน้ำอย่างรวดเร็ว (Temperature shock) สามารถทำให้เกิดอันตรายโดยตรงต่อสัตว์น้ำได้ เช่น ทำให้ระบบการควบคุมการขับถ่ายน้ำและแร่ธาตุภายในร่างกาย (Osmoregulatory system) ผิดปกติไปทำให้ร่างกายอ่อนแอ และตายได้ การปล่อยน้ำทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรมต่างๆ ที่มีอุณหภูมิสูง หรือระบบหล่อเย็น (Cooling system) จะมีผลกระทบต่อสัตว์น้ำบริเวณดังกล่าว และส่งผลกระทบต่อห่วงโซ่อาหารในระดับสูงขึ้นไป อุณหภูมิยังมีผลต่อสภาพแวดล้อมทางกายภาพของแหล่งน้ำหลายประการ เช่น ความหนาแน่น ความหนืด ความสามารถในการละลายออกซิเจน การแบ่งชั้นของน้ำ การหมุนเวียนของแร่ธาตุต่างๆ และกระแสน้ำ เป็นต้น ผลกระทบที่สำคัญต่อสิ่งมีชีวิตในน้ำที่มีอุณหภูมิสูงคือ ปริมาณออกซิเจนละลายอยู่ในน้ำจะลดลง ขณะเดียวกันสัตว์น้ำต้องการออกซิเจนเพิ่มมากขึ้นจึงเกิดปัญหาขาดแคลนออกซิเจนขึ้นได้ และการทำงานของแบคทีเรียและจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ ในการย่อยสลายสิ่งปฏิกูลต่างๆ ในน้ำก็จะเพิ่มขึ้น และต้องการใช้ออกซิเจนมากขึ้นก็จะทำให้แหล่งน้ำขาดออกซิเจนเร็วขึ้น เป็นเหตุให้เกิดการเน่าเสีย นอกจากนี้ชนิด ปริมาณ และสัดส่วนของประชากรสิ่งมีชีวิตจะถูกควบคุมโดยอุณหภูมิ เช่น การอพยพย้ายถิ่น การย้ายไข่ การฟักไข่ และเป็นตัวของสัตว์น้ำ จากการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิของน้ำยังมีผลทำให้พืชน้ำ โดยเฉพาะแพลงก์ตอนมีการเจริญเติบโตและเพิ่มปริมาณของสาหร่ายหลายชนิด เช่น อุณหภูมิสูงจะมีสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินมาก ไม่ก่อ

ประโยชน์ต่อสัตว์น้ำ บางชนิดอาจทำให้เป็นพิษแก่สัตว์น้ำได้ หากมีปริมาณมากจะทำให้เกิดการเน่าเสียและมีกลิ่นเหม็น ย่อมมีผลกระทบต่อสัตว์น้ำได้เช่นเดียวกัน

อุณหภูมินอกจากมีผลต่อสัตว์น้ำโดยตรงอาจมีผลทางอ้อม เช่นอุณหภูมิที่สูงขึ้นทำให้สารพิษประเภทต่างๆ เช่น ยาปราบศัตรูพืช และ โลหะหนักมีความรุนแรงมากขึ้น โดยพบว่าเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นจะช่วยเพิ่มการดูดซึมแคดเมียมในน้ำ (Douben, 1989) เนื่องจากอุณหภูมิไปกระตุ้นการหายใจ นอกจากนี้อุณหภูมิและออกซิเจนที่ละลายในน้ำมีผลต่อกระบวนการทางเคมีในแหล่งน้ำและดินตะกอนซึ่งเป็นสาเหตุให้เกิดการปลดปล่อยสังกะสีให้อยู่ในรูปที่สิ่งมีชีวิตในน้ำสามารถนำไปใช้ได้ เช่นทำให้เกิดการออกซิเดชัน หรือรีดักชันของสังกะสี จากผลการศึกษาในปลา *Tilapia zilli* ที่อุณหภูมิ 9.3 และ 25 °C พบว่ามีค่า 96hr-LC₅₀ ของสังกะสีเป็น 33 และ 13 mg/L ตามลำดับ และในปลาคูค *Catfish (Clarius lazera)* เมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้นทำให้ค่า 96hr-LC₅₀ ลดลงจาก 52 เป็น 26 mg/L (WHO, 2001) นอกจากนี้ผลของอุณหภูมิต่อความเป็นพิษของสังกะสีนั้นจะเฉพาะเจาะจงกับชนิดของสิ่งมีชีวิต เช่นอุณหภูมิที่เพิ่มขึ้นมีผลทำให้ความเป็นพิษของสังกะสีเพิ่มขึ้นในปลา Goldfish (*Carassius auratus*) และปลา Bluegill (*Lepomis macrochirus*) แต่ไม่มีผลต่อความเป็นพิษของสังกะสีในปลา golden shiners (*Notemigonus crysoleucas*) หรือปลา Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) (Smith and Heath, 1979)

2) ความกระด้างของน้ำ

ความกระด้างของน้ำมีผลทำให้เกิดสารประกอบคาร์บอเนตที่ไม่ละลายน้ำ โดยโลหะหนักนั้นจะดูดซับกับอนุภาคของแคลเซียมคาร์บอเนตในน้ำทำให้โลหะหนักเปลี่ยนรูปไปอยู่ในรูปที่สิ่งมีชีวิตไม่สามารถนำไปใช้ได้ นอกจากนี้ Mg^{2+} และ Ca^{2+} สามารถเข้าไปแย่งจับที่ active site ของเนื้อเยื่อแทนโลหะหนัก ทำให้โลหะหนักสามารถเข้าสู่ร่างกายสิ่งมีชีวิตได้น้อยลง จากผลการศึกษาพบว่า การเพิ่มความเข้มข้นของ Ca^{2+} จะไปลดการดูดซึมของแคดเมียมผ่านเหงือกปลา ลดการสะสมของแคดเมียม และช่วยลดความเป็นพิษของแคดเมียมต่อปลา (Wicklund, 1990) นอกจากนี้แคลเซียมมีผลยับยั้งการดูดซึมสังกะสีได้ และยังมีผลช่วยลดการดูดซึมแคดเมียมผ่านเหงือกอีกด้วย (Wicklund, 1990) Everall *et al.* (1989) ศึกษาผลของความกระด้างต่อความเป็นพิษของสังกะสีพบว่าความเป็นพิษของสังกะสีจะลดลงเมื่อความกระด้างของน้ำเพิ่มมากขึ้น เช่นเดียวกับที่รายงานโดย Sayer *et al.* (1989) ซึ่งทดลองให้สังกะสีกับ yolk -sac ของลูกปลา brown trout (*Salmo trutta*) ที่ระดับความเข้มข้น 4.9, 9.8 และ 19.5 $\mu\text{g/L}$ (75, 150 และ 300 nmol/L) ที่ pH 4.5 และความเข้มข้นของแคลเซียมเป็น 20 และ 200 μmol เป็นเวลา 30 วัน พบว่ากลุ่มที่มีความเข้มข้นของแคลเซียมต่ำจะมีการตายสูง (70-100%) ของสังกะสีทั้ง 3 ระดับความเข้มข้น ส่วนในกลุ่มที่ความเข้มข้นของ

แคลเซียมสูงไม่มีการตายเกิดขึ้น และพบว่าสังกะสีนั้นมีผลต่อการดูดซึมเกลือแร่ในปลาอย่างมีนัยสำคัญ

3) ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH)

การตกตะกอนของสังกะสีกับอนุภาคอื่นที่มีอยู่ในแหล่งน้ำ เช่น คาร์บอเนต เหล็ก ไฮดรอกไซด์ และอนุภาคสารอินทรีย์ จะขึ้นอยู่กับค่าความเป็นกรด-ด่างของน้ำ นอกจากนี้ค่าความเป็นกรด-ด่าง ยังมีผลต่อสภาวะการละลายของสังกะสีในน้ำเช่นกัน ในแหล่งน้ำที่มีความเป็นกรดทำให้สังกะสีละลายในน้ำได้เพิ่มขึ้น และอยู่ในรูปที่ก่อให้เกิดความเป็นพิษต่อสิ่งมีชีวิตได้มากที่สุด เช่น pH ที่ลดลงมีผลทำให้ความเป็นพิษของสังกะสีต่อปลา Brown trout (*Salmo trutta*) เพิ่มขึ้นมากกว่า 80% (Reader *et al.*, 1989) ผู้วิจัยพบว่าปลาที่รับสังกะสีที่ระดับความเข้มข้น 281 $\mu\text{g/L}$ ที่ pH 6.5 ในน้ำอ่อน (แคลเซียม 22 $\mu\text{mol/L}$) จะมีการตายลดลงในช่วงที่ได้รับสังกะสีเป็นเวลา 30 วัน ในขณะที่ปลาที่ได้รับสังกะสีความเข้มข้น 0.316 mg/L ที่ pH 4.5 จะมีการตายเพิ่มขึ้นมากกว่า 80% (Reader *et al.*, 1989)

2.3 หนอนแดง (*Chironomus salinarius* (Kieffer))

หนอนแดงเป็นตัวอ่อน (Larvae) ของริ้นน้ำจืด (Midge) จัดจำแนกตามหลักอนุกรมวิธาน ได้ดังนี้ (Borror and DeLong, 1964; Bland and Jaques, 1978; Daly *et al.*, 1978; Lehmkuhl, 1979; Mamaer and Krivosheina, 1993; Romoser and Stoffolano, 1994; 2000; Epler, 2001)

Phylum Arthropoda

Subphylum Uniramia

Superclass Hexapoda

Class Insecta

Subclass Pterygota

Infraclass Neoptera

Superorder Mecopteroidea

Order Diptera

Suborder Nematocera

Superfamily Culicoidea

Family Chironomidae

Genus *Chironomus*

รึ้นน้ำจืดอยู่ในอันดับเดียวกันกับยุงและแมลงวัน รึ้นน้ำจืดมีหลายชนิด เช่น *Chironomus plumosus*, *C. attenuatus*, *C. tentans*, *C. riparius*, *C. plumatisetigerus*. (Bland and Jaques, 1978; เฉลียว, 2537)

2.3.1 วงชีวิตของหนอนแดง

วงจรชีวิตของแมลงชนิดนี้ใช้เวลา 21 - 28 วัน (สำรวย, 2532) รึ้นน้ำจืดในประเทศเขตร้อนจะมีวงจรชีวิตสั้นกว่าในประเทศเขตหนาว (สำรวย, 2533) ในขณะที่ เฉลียว (2537) รายงานว่า วงจรชีวิตของรึ้นน้ำจืด ชนิด *C. plumatisetigerus* ที่อุณหภูมิ 25 °C ตัวผู้มีวงจรชีวิตประมาณ 25 วัน ในขณะที่ตัวเมียมีวงจรชีวิตประมาณ 27 วัน วงจรชีวิตของหนอนแดง แบ่งเป็น 4 ระยะคือ ระยะไข่ ระยะตัวอ่อน ระยะดักแด้ และตัวเต็มวัย (รูปที่ 2.1)

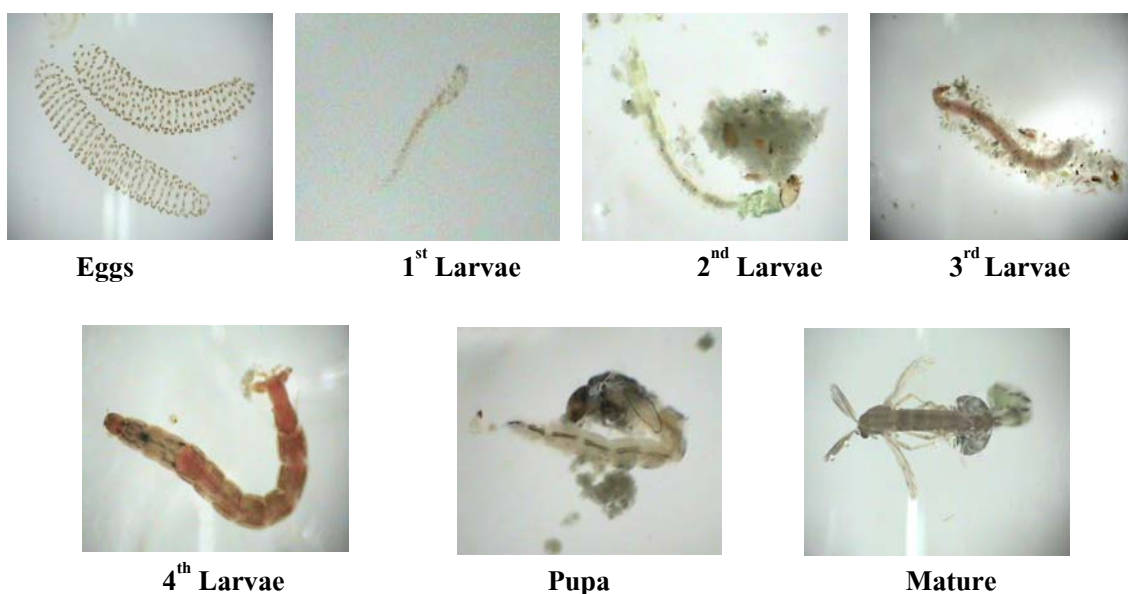
(1) **ระยะไข่ (Eggs)** ไข่มีลักษณะเป็นรูปยาวรีและโปร่งใส เรียงกันเป็นแถววกกลับไปกลับมาภายในวันเหนียวซึ่งหุ้มไข่ทั้งหมดไว้ทำให้ไข่อยู่รวมกันเป็นกลุ่ม แต่ละกลุ่มมีขนาดต่างกัน ปลายทั้งสองของกลุ่มไข่จะโค้งงอเข้าหากันทำให้กลุ่มไข่มีรูปร่างคล้ายเกือกม้า ปลายข้างหนึ่งของกลุ่มไข่มีเส้นขนยาวยื่นออกมาเพื่อเป็นที่ยึดกับของแข็งในน้ำ เช่น กิ่งไม้และใบไม้ ในช่วงที่ตัวเมียมกำลังวางไข่ เพื่อเป็นการป้องกันไม่ให้กลุ่มไข่ลอยไปตามน้ำ หลังจากที่ตัวเมียวางไข่วันแรกไข่ที่ถูกผสมจะเริ่มมีการเปลี่ยนแปลงเจริญเป็นตัวอ่อนอย่างรวดเร็ว วันที่ 3 จะเริ่มฟักเป็นตัวและจะฟักเป็นตัวทั้งหมดภายในวันที่ 4 ตัวอ่อนที่ฟักออกจากไข่ใหม่ๆ จะเกาะอยู่บนวันที่หุ้มไข่และกินวันเป็นอาหาร

(2) **ระยะตัวอ่อน (Larvae)** แบ่งเป็น 4 วัย คือ วัยแรก (1st Larvae) สอง (2nd Larvae) สาม (3rd Larvae) และ สี่ (4th Larvae) ซึ่งจะมีการลอกคราบก่อนเปลี่ยนวัยทุกครั้ง วัยแรก ใช้เวลา 2 - 3 วัน ตัวอ่อนระยะนี้มีความรู้สึกไวต่อแสงมาก ตัวยังไม่มียังมีสีแดง ตัวอ่อนวัยที่สองใช้เวลาประมาณ 2 วัน ตัวอ่อนเริ่มมีสีแดง ตัวอ่อนวัยที่ 3 ใช้เวลาประมาณ 2 วัน เริ่มเห็นอวัยวะสืบพันธุ์เป็นตุ่มเล็กๆ แต่ยังไม่แยกเพศไม่ได้ตัวอ่อนวัยที่สี่ เพศผู้ใช้เวลา 7 - 8 วัน เพศเมียใช้เวลา 9 - 10 วัน ดังนั้นเพศผู้จะเจริญเป็นดักแด้ก่อนเพศเมียประมาณ 2 วัน วัยนี้อวัยวะสืบพันธุ์เจริญอย่างรวดเร็วและเจริญเต็มที่ตอนช่วงปลายระยะทำให้สามารถแยกเพศได้

(3) **ระยะดักแด้ (Pupa)** ระยะนี้ใช้เวลาเพียง 1 วันเท่านั้น ตัวอ่อนที่เริ่มเข้าระยะดักแด้ใหม่ๆ จะจมอยู่ใต้น้ำ พอเริ่มจะลอกคราบเป็นตัวเต็มวัยจะลอยขึ้นมาอยู่ผิวน้ำ ต่อมาเปลือกหุ้มส่วนนอกด้านบนของดักแด้จะแยกออกจากกันซึ่งเป็นทางออกของตัวเต็มวัย

(4) **ระยะตัวเต็มวัย (Mature)** ใช้เวลาประมาณ 7 - 8 วัน อย่างไรก็ตามการเลี้ยงหนอนแดง เพื่อให้ได้ตัวเต็มวัยใช้ในการทดลองควรเลี้ยงที่อุณหภูมิ 25 °C แต่ถ้าต้องการหนอนแดงเพื่อใช้เป็นอาหารสัตว์น้ำควรเลี้ยงที่อุณหภูมิ 17.5 °C เพราะว่าคุณสมบัติที่ต่ำจะช่วยยืดระยะเวลาตัวอ่อนของหนอนแดง (Stevens, 1993) อุณหภูมิและความลึกของแหล่งน้ำมีความสัมพันธ์ต่ออัตราการหายใจของหนอนแดงโดยอุณหภูมิสูงอัตราการหายใจของหนอนแดงจะสูงขึ้นและที่ความลึกมากอัตราการหายใจของ หนอนแดงจะลดลง (Bairlein, 1989)

แหล่งที่พบหนอนแดง พบได้ตามแหล่งน้ำทั่วไป โดยจะฝังตัวอยู่ในโคลนหรือเศษใบไม้ที่ทับถมกันตามพื้นก้นแหล่งน้ำที่มีระดับแตกต่างกันเช่น คู หนอง ลำคลอง ทะเลสาบ และบางที่อาจพบในน้ำเค็มด้วย (Miall and Hammond, 1900) บางชนิดสามารถปรับตัวอยู่ได้ในความเค็มสูงถึง 40 ppt (ถนอม, 2525) ในธรรมชาติสามารถพบเห็นหนอนแดงได้ในแหล่งน้ำที่มีอินทรีย์วัตถุปะปนอยู่จำนวนมาก ซึ่งน้ำนั้นจะเน่าเสียส่งกลิ่นเหม็น (อิทธิพร, 2532)



รูปที่ 2.1 วงชีวิตของหนอนแดง

2.3.2 ปัจจัยที่มีผลต่อการอยู่รอดและระดับความเป็นพิษของหนอนแดง

ปัจจัยที่มีผลต่ออัตราการรอดตายและระดับความเป็นพิษที่มีต่อหนอนแดงมีหลายปัจจัย ได้แก่ ค่า pH ต่ำ (2-3) ทำให้อัตราการรอดและการฟักไข่ลดลง (Rousch *et al.*, 1997) (ตารางที่ 2.2) อุณหภูมิและแสงมีผลต่อการพัฒนาของตัวอ่อน (Stevens, 1993; Ruzickova, 1993) สารประกอบ 3, 4 -Dichloroaniline ปริมาณ 0.76 mg/L มีผลทำให้หนอนแดงมีการเจริญเติบโตลดลง สารกำจัดศัตรูพืช เช่น Organophosphorus insecticides, Phenyl parazole insecticides, Permethrin, Fipronil, NPAHs รวมถึงโลหะหนัก ซึ่งได้แก่ แคดเมียม ทองแดง สังกะสี และอลูมิเนียม มีความเป็นพิษต่อหนอนแดง (Steven, 1992; Pascoe *et al.*, 1990; Fleming *et al.*, 1998; Ali *et al.*, 1998; Bleeker *et al.*, 1998; Fagasova, 2001) และ 4-nonylphenol มีความเป็นพิษต่อวงจรชีวิตของหนอนแดง (Kahl *et al.*, 1997) นอกจากนี้สิ่งมีชีวิตประเภทสาหร่าย Chlorella มีผลต่ออัตราการเจริญเติบโตของหนอนแดง โดยเมื่อความหนาแน่นของ Chlorella เพิ่มขึ้นมีผลให้อัตราการเจริญเติบโตของหนอนแดงลดลง (Sankarperumal and Pandian, 1991)

ตารางที่ 2.2 ปัจจัยสิ่งแวดล้อมที่มีผลต่ออัตราการรอดตายและระดับความเป็นพิษต่อหนอนแดง

ปัจจัย/สาร	ระดับ	ผลกระทบเฉียบพลันและ เรื้อรังของปัจจัยหรือสาร	เอกสารอ้างอิง
ค่า pH	2	อัตราการฟักไข่ลดลง	Rousch <i>et al.</i> (1997)
	3	อัตราการรอดตายลดลง	
อุณหภูมิ	-	การพัฒนาของตัวอ่อน	Stevens (1993)
แสง	-	การพัฒนาของตัวอ่อน	Ruzickova (1993)
3, 4-dichloroaniline (DCA)	0.76 mg DCA / L	ลดอัตราการเจริญเติบโต	Taylor <i>et al.</i> (1994)
2,4,5-trichlorophenol	100 µM/kg soil	อัตราการตายเพิ่มขึ้น	Ristola <i>et al.</i> (1999)
4-nonylphenol	-	เป็นพิษต่อวงจรชีวิตของ หนอนแดง	Kahl <i>et al.</i> (1997)
Organophosphorus	-	เป็นพิษต่อตัวอ่อนระยะที่ 4	Stevens (1992)
Permethrin	-	เป็นพิษต่อหนอนแดง	Fleming <i>et al.</i> (1998)
Phenyl parazole	-	เป็นพิษต่อหนอนแดง	Ali <i>et al.</i> (1998)
Fipronil	-	เป็นพิษต่อหนอนแดง	Ali <i>et al.</i> (1998)
NPAHs (Quinoline, Acridine)	-	เป็นพิษต่อหนอนแดง (96-h LC ₅₀ 4.89, 0.07 mg/L)	Bleeker <i>et al.</i> (1998)
Copper sulfate และ Chloramines	0.5 mg/L	ใช้ลดปริมาณหนอนแดงใน แหล่งน้ำ	Halpern <i>et al.</i> (1999)
Cd ²⁺	-	เป็นพิษต่อหนอนแดง	Pascoe <i>et al.</i> (1990)
Cu ²⁺ , Zn ²⁺ , Cd ²⁺ , Al ³⁺	-	เป็นพิษต่อหนอนแดง (96-h LC ₅₀ 0.15, 32.6, 12.7, 30.0 mg/L)	Fargasova (2001)
Cu ²⁺	0.02 - 0.2 mg/L	มีผลต่อการทำงานของยีนบน โครโมโซมต่อมน้ำลาย	Aziz <i>et al.</i> (1991)
Chlorella density	-	อัตราการเจริญเติบโตลดลง เมื่อเพิ่มความหนาแน่นของ Chlorella	Sankarperumal and Pandian (1991)

หนองแดงเป็นสัตว์หน้าดินซึ่งเป็นผู้บริโภคอันดับต้นในระบบห่วงโซ่อาหารและเป็นแหล่งอาหารที่สำคัญของสัตว์น้ำขนาดใหญ่อื่นๆ โดยเป็นอาหารธรรมชาติที่เป็นประโยชน์และสำคัญยิ่งต่อสัตว์น้ำ ชนิดและปริมาณหนองแดงสามารถใช้เป็นดัชนีแสดงความอุดมสมบูรณ์ของแหล่งน้ำได้ โดยแหล่งน้ำใดมีชนิดและปริมาณหนองแดงมากย่อมมีปริมาณสัตว์น้ำสูง โดยประเทศในเขตร้อนจะมีทั้งชนิดและปริมาณหนองแดงที่สูงกว่าเขตอบอุ่น เนื่องจากมีอุณหภูมิที่เหมาะสมที่หนองแดงจะเจริญเติบโตได้ตลอดทั้งปี หนองแดงยังเป็นดัชนีบ่งบอกความเน่าเสียของแหล่งน้ำ หนองแดงบางชนิดจะไม่สามารถทนอยู่ในแหล่งน้ำที่มีสภาพเน่าเสีย มีออกซิเจนต่ำหรือมีปริมาณสารพิษตกค้างสูงได้ ดังนั้นหากพบหนองแดงชนิดนั้นย่อมแสดงว่าแหล่งน้ำนั้นมีความสะอาดค่อนข้างสูง ในขณะที่เดียวกันก็มีหนองแดงบางชนิดที่สามารถอยู่ได้ในพื้นที่ที่มีความเน่าเสียหรือปริมาณสารพิษสูงได้ หนองแดงยังมีส่วนช่วยควบคุมซากของเสีย โดยการนำตะกอนอินทรีย์และอนินทรีย์หรือสารเคมีบางชนิดมาใช้ในการเติบโต โดยการเปลี่ยนสารเคมีต่างๆ ไปเป็นส่วนประกอบของเซลล์ จากนั้นหนองแดงจะถูกกินต่อโดยสัตว์น้ำขนาดใหญ่กว่าทำให้เป็นการเร่งวัฏจักรต่างๆ ของแร่ธาตุให้ดำเนินไปตามธรรมชาติอย่างสมบูรณ์ อย่างไรก็ตามสารที่เข้าสู่เซลล์หรือร่างกายของหนองแดงยังรวมถึงสารเคมีที่เป็นพิษซึ่งปนเปื้อนอยู่ในแหล่งน้ำที่หนองแดงอาศัยอยู่ เช่น โลหะหนัก อย่างสังกะสีจะถูกนำเข้าสู่ร่างกายของหนองแดงเช่นเดียวกัน จึงทำให้เกิดการสะสมสารพิษและส่งต่อมาตามห่วงโซ่อาหารมายังมนุษย์ด้วยความเข้มข้นที่สูง (Harding, 2003)

2.4 จุลินทรีย์

จุลินทรีย์เป็นสิ่งมีชีวิตขนาดเล็กอยู่ในอาณาจักรโพรทิสตา (Protista) เป็นสิ่งมีชีวิตเซลล์เดียวหรือหลายเซลล์ที่ไม่มีการจัดเรียงตัวเซลล์ที่แน่นอนและไม่มีการเปลี่ยนแปลงของเซลล์ไปเป็นเนื้อเยื่อหรืออวัยวะที่ทำหน้าที่เฉพาะ (นงลักษณ์และปรีชา, 2544) มีการจำแนกเป็น 2 กลุ่มใหญ่ๆ คือ

1. โพรแคริโอต (Prokaryote) คือ สิ่งมีชีวิตที่ไม่มีเยื่อหุ้มนิวเคลียสประกอบด้วยสิ่งมีชีวิต 2 กลุ่มคือ แบคทีเรีย (Bacteria) และสาหร่ายสีน้ำเงินแกมเขียว (Blue-green alga)
2. ยูแคริโอต (Eukaryote) คือ สิ่งมีชีวิตที่มีเยื่อหุ้มนิวเคลียส เช่น เชื้อรา โพรโทซัว และสาหร่าย เป็นต้น

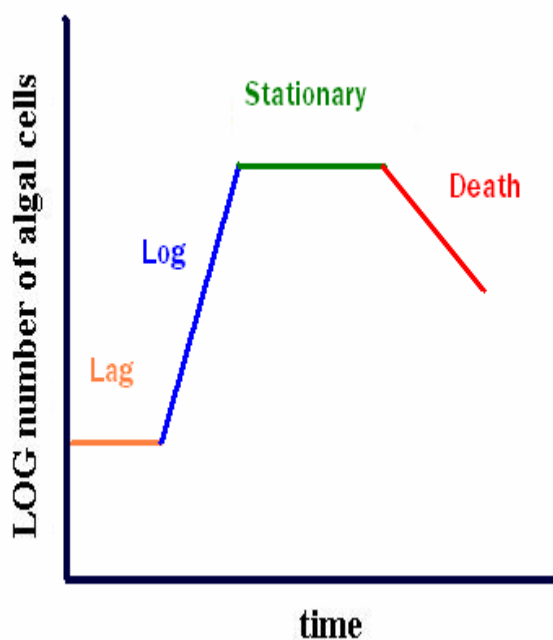
แบคทีเรียเป็นสิ่งมีชีวิตที่มีโครงสร้างแบบง่าย ๆ โดยเป็นสิ่งมีชีวิตที่มีขนาดตั้งแต่ (1 μm) จนถึงขนาดใหญ่ (100 μm) รวมทั้งมีรูปร่างหลากหลาย เช่น มีรูปร่างกลม (Coccus) ท่อน (Bacillus) หรือเกลียว (Spiral)

2.4.1 การเจริญเติบโตของจุลินทรีย์

ถึงแม้จุลินทรีย์จะมีรูปร่างแตกต่างกันมากมายแต่การเจริญของจุลินทรีย์จำพวกแบคทีเรีย (Bacteria Growth) มีลักษณะที่เหมือนกันคือจากหนึ่งเซลล์เป็นสองเซลล์

การเจริญเติบโตของจุลินทรีย์แบ่งเป็น 4 ระยะ ดังนี้คือ (ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ภูเก็ต, 2550) (รูปที่ 2.2)

1. ระยะเตรียมการ (lag phase) เป็นระยะที่ไม่ค่อยมีการเปลี่ยนแปลงของจำนวนเซลล์
2. ระยะเพิ่มจำนวน (logarithmic phase) เป็นระยะที่แบคทีเรียจะแบ่งเซลล์อย่างรวดเร็วตามช่วงเวลาใน Generation time ของแต่ละชนิด เซลล์ในระยะนี้จะมีอัตราการเจริญสูงกว่าในระยะอื่นๆ
3. ระยะคงที่ (stationary phase) เป็นระยะที่จำนวนประชากรของแบคทีเรียมีจำนวนสูงสุดและจะคงที่เนื่องจากเกิดภาวะสมดุลระหว่างการทวีจำนวนและการตาย
4. ระยะลดจำนวน (death phase) เป็นระยะที่แบคทีเรียจะมีการตายอย่างรวดเร็ว



รูปที่ 2.2 Standard growth curve of bacteria

2.4.2 ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย

1. อุณหภูมิ (Temperature) แบคทีเรียส่วนใหญ่เจริญเติบโตได้ดีที่อุณหภูมิ 25 - 40 °C แต่มีบางกลุ่มสามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิสูงและมีบางกลุ่มเจริญได้ดี (ถึงแม้จะช้า) ที่อุณหภูมิ 0 -15 °C ดังนั้นจึงสามารถแบ่งแบคทีเรียออกเป็น 3 กลุ่ม ตามอุณหภูมิที่สามารถเจริญได้ ดังนี้

1.1 Mesophilic bacteria หรือ Mesophiles เป็นแบคทีเรียที่ชอบอุณหภูมิปานกลาง เจริญเติบโตได้ดีที่ $20 - 50^{\circ}\text{C}$

1.2 Thermophilic bacteria หรือ Thermophiles เป็นแบคทีเรียที่ชอบอุณหภูมิสูง เจริญเติบโตได้ดีที่ $45 - 80^{\circ}\text{C}$

1.3 Psychrophilic bacteria หรือ Psychrophiles เป็นแบคทีเรียที่ชอบอุณหภูมิต่ำ สามารถเจริญเติบโตได้ที่ $-10 - 25^{\circ}\text{C}$

นอกจากนี้ยังมีแบคทีเรียบางกลุ่มที่เจริญได้ที่อุณหภูมิสูงมาก เช่น กลุ่ม Hyperthermophiles สามารถเจริญเติบโตได้ที่ $80 - 100^{\circ}\text{C}$ และกลุ่ม Extremophiles ซึ่งสามารถเจริญเติบโตได้ที่อุณหภูมิสูงถึง $100 - 120^{\circ}\text{C}$

2. เวลา (Time) แบคทีเรียใช้เวลาในการเจริญเติบโตแตกต่างกันขึ้นอยู่กับ ชนิดของแบคทีเรีย ชนิดของอาหารที่แบคทีเรียใช้ และปัจจัยอื่นๆ การอยู่ในสภาวะที่เหมาะสมทำให้แบคทีเรียเจริญได้ดีและมีระยะเวลาที่ใช้ในการเจริญ (Generation time) น้อยลง

3. อากาศ (Oxygen) แบคทีเรียแต่ละชนิดมีความต้องการอากาศที่แตกต่างกันโดยประเภทของแบคทีเรียแบ่งตามความต้องการออกซิเจนมีดังต่อไปนี้

3.1 Aerobes เป็นแบคทีเรียที่ต้องการออกซิเจนในการเจริญเติบโต สร้างพลังงานโดยกระบวนการหายใจ ซึ่งเป็นการสร้างพลังงานโดยใช้ออกซิเจน

3.2 Facultative anaerobes เป็นแบคทีเรียที่สามารถเจริญได้ทั้งในสภาวะที่มีหรือไม่มีออกซิเจน แบคทีเรียกลุ่มนี้สร้างพลังงานได้จากกระบวนการหายใจ และยังสามารถสร้างพลังงานจากกระบวนการหมัก ซึ่งเป็นการสร้างพลังงานโดยไม่ใช้ออกซิเจน โดยกระบวนการหายใจจะให้พลังงานมากกว่า กระบวนการหมัก และยังทำให้แบคทีเรียเจริญเติบโตได้เร็วกว่าด้วย

3.3 Aerotolerant anaerobes เป็นแบคทีเรียที่ไม่สามารถใช้ออกซิเจนได้เพราะไม่มีสารตั้งต้นในกระบวนการหายใจแต่ออกซิเจนก็ไม่ทำให้แบคทีเรียกลุ่มนี้ตายได้

3.4 Strictly anaerobes ออกซิเจนจะเป็นพิษกับแบคทีเรียกลุ่มนี้ ทำให้แบคทีเรียกลุ่มนี้ไม่สามารถเจริญได้ในสภาวะที่มีออกซิเจน

4. ความเป็นกรด-ด่าง (pH) แบคทีเรียส่วนใหญ่เจริญได้ดีในช่วง pH 6 – 8 มีแบคทีเรียบางกลุ่มที่ทนต่อกรด (acid-tolerant bacteria) และบางกลุ่มที่ทนต่อด่าง (alkaline-tolerant bacteria) โดยทั่วไปแบคทีเรียจะเจริญในช่วง pH ที่เป็นด่าง (pH มากกว่า 7) ได้ดีกว่าช่วง pH ที่เป็นกรด (pH น้อยกว่า 7) แต่ก็มีแบคทีเรียบางกลุ่มเช่น Sulfurbacteria ที่เจริญได้โดยใช้กรด sulfuric acid เป็นแหล่งพลังงาน

5. สารอาหาร (Nutrient) สารอาหารเป็นสิ่งจำเป็นสำหรับแบคทีเรีย โดยแบคทีเรียเจริญได้ดีที่สุดเมื่อได้รับสารอาหารที่เหมาะสมซึ่งจะแตกต่างกันไป แบคทีเรียบางชนิดต้องการอาหารทั้งกรดอะมิโน โปรตีน วิตามินและน้ำตาล แต่อาหารชนิดเดียวกันนี้อาจทำให้แบคทีเรียอีกกลุ่มตายได้ น้ำตาล เป็นสารอาหารที่ช่วยเพิ่มอัตราการเจริญเติบโตแต่ก็อาจทำให้แบคทีเรียตายเร็วขึ้นเช่นกัน เพราะการใช้น้ำตาลจะสร้างกรดที่จะทำให้เซลล์แบคทีเรียตาย ในอาหารที่มีเฉพาะกรดอะมิโนกับวิตามินจะทำให้การเจริญในช่วง Lag phase นานกว่าปกติและทำให้อัตราการเจริญเติบโตของแบคทีเรียช้าลง

6. ความเข้มข้นของเกลือ แบคทีเรียหลายชนิดสามารถเติบโตได้ในสภาวะที่มีเกลือเล็กน้อยต่างกัน แบคทีเรียบางชนิดไม่สามารถเจริญได้แม้มีอยู่เพียงเล็กน้อย บางชนิดต้องการเกลือปริมาณหนึ่งในการเจริญแต่บางกลุ่มอาจเจริญได้แม้อยู่ในสภาวะที่มีเกลือมากๆ เรียกแบคทีเรียกลุ่มนี้ว่า halophilic bacteria เช่นเดียวกับน้ำตาลแม้เกลือช่วยให้แบคทีเรียบางกลุ่มเจริญได้แต่ความเข้มข้นของเกลือที่สูงมากๆ จะทำให้เซลล์แบคทีเรียตาย (ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ภูเก็ต, 2550)

2.4.3 องค์ประกอบทางเคมีของเซลล์จุลินทรีย์

มีธาตุ C H O N P เป็น Macromolecule และไอออนของโลหะอีกหลายชนิดที่เป็น micromolecule ซึ่งเป็นองค์ประกอบของเซลล์จุลินทรีย์ โดยจัดเป็น Trace element ได้แก่ Zn^{2+} , Cu^{2+} , Mn^{2+} , Mo^{6+} , Ni^{2+} , B^{3+} และ Co^{+} และไอออนของโลหะที่เป็น Cofactor ของเอนไซม์ ควบคุมขบวนการ electrolyte ได้แก่ Zn^{2+} , Fe^{2+} , Mg^{2+} , Mo^{6+} , Mn^{2+} และ Cu^{2+} ดังนั้นจุลินทรีย์จึงต้องการโลหะเหล่านี้ในการเจริญเติบโตและพาเข้าสู่เซลล์เพื่อนำไปใช้ภายใน ซึ่งจำเป็นต้องเปลี่ยนไปอยู่ในรูปที่จุลินทรีย์สามารถนำเข้าไปได้ เช่น การรวมตัวกับสารประกอบฟอสเฟต ไนเตรต และกำมะถัน ซึ่งเป็นสารอาหารที่จุลินทรีย์ต้องการ

2.4.4 สารอาหารที่จุลินทรีย์ต้องการ ได้แก่

แหล่งไนโตรเจน เป็นองค์ประกอบในการสังเคราะห์ โปรตีน กรดนิวคลีอิก โคเอนไซม์ ผนังเซลล์ ไนโตรเจนอาจอยู่ในรูป NH_4 , NO_2^- , NO_3^- และ N_2 หรืออยู่ในรูปสารประกอบอินทรีย์ เช่น amino acid และ Nitrogenous base

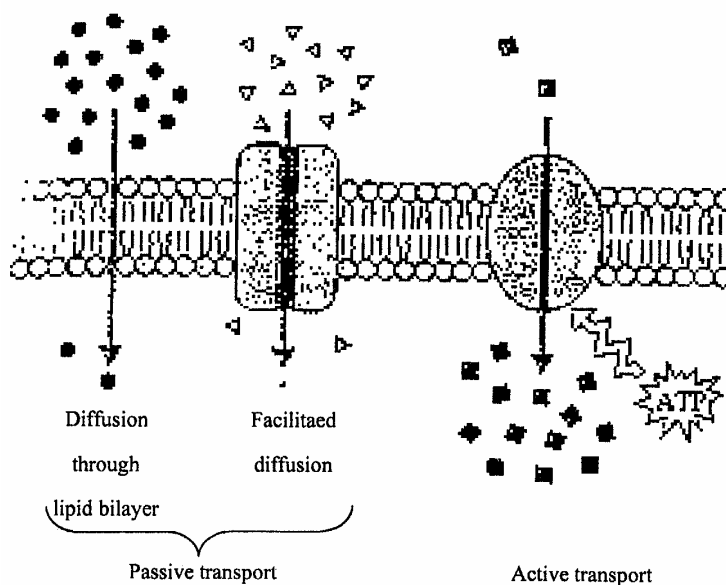
แหล่งฟอสฟอรัส ใช้ในการสังเคราะห์ กรดนิวคลีอิก เยื่อหุ้มเซลล์ Phospholipids Coenzyme และ ATP จุลินทรีย์จะใช้ Phosphorus ในรูปอนินทรีย์สาร ได้แก่ Phosphate

กำมะถัน ใช้ในการสังเคราะห์กรดอะมิโน Cysteine และ Methionine tRNA และ Coenzyme บางชนิด จุลินทรีย์ใช้กำมะถันในรูป Sulfate (SO_4^{2-}) โดยถูก reduce ไปเป็น Hydrogen sulfide (H_2S)

สารอาหารเป็นปัจจัยสำคัญต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ซึ่งมีทั้งสารที่เชื่อนั้นๆ ไม่สามารถสังเคราะห์ขึ้นมาใช้เองได้ จำเป็นต้องได้จากอาหาร จุลินทรีย์จึงต้องนำสารอาหารเข้าสู่เซลล์ โดยสามารถทำได้หลายวิธี ดังรูปที่ 2.3

2.4.5 การนำสารอาหารเข้าสู่เซลล์จุลินทรีย์ โดยวิธีการ

1. Passive transport ไม่ใช่พลังงาน ทิศทางการลำเลียงจากมากไปหาน้อย
2. Simple diffusion เป็นการแพร่ของสาร โมเลกุลเล็ก เช่น น้ำ ออกซิเจน ไม่ใช่พลังงาน ไม่ใช่โปรตีนช่วย แพร่ผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ และมีทิศทางการลำเลียงจากมากไปน้อย
3. Facilitated diffusion เป็นการลำเลียงสารที่มีโมเลกุลใหญ่ ไม่ใช่พลังงาน มีโปรตีนที่จำเพาะต่อสารช่วยในการลำเลียง และมีทิศทางการลำเลียงจากมากไปน้อย
4. Active transport อาศัยพลังงาน และ โปรตีนตัวนำ มีทิศทางการลำเลียงจากน้อยไปมาก



รูปที่ 2.3 การนำสารอาหารเข้าสู่เซลล์จุลินทรีย์

ที่มา: Campbell (1996)

5. Group translocation systems เป็น Active transport สารอาหารถูกเปลี่ยนให้อยู่ในรูปที่เหมาะสมก่อนส่งผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ เช่น Glucose เป็น Glucose-6-phosphate เข้าสู่เซลล์
6. Facilitated diffusion อาศัยโปรตีนตัวนำที่เยื่อหุ้มเซลล์ มีความจำเพาะต่อชนิดอาหารและมีทิศทางการลำเลียงจากมากไปน้อย

2.5 การกำจัดสังกะสีโดยจุลินทรีย์

การกำจัดโลหะหนักในสิ่งแวดล้อมมีหลายวิธี ได้แก่ วิธีทางเคมี วิธีทางชีวภาพ แต่ที่นิยมใช้อย่างกว้างขวางในปัจจุบัน คือ วิธีทางชีวภาพโดยการใช้จุลินทรีย์ในการกำจัด

จุลินทรีย์เป็นสิ่งมีชีวิตที่มีความสามารถในการกำจัดโลหะหนักหลายชนิด โดยจุลินทรีย์จะนำโลหะหนักเข้าไปใช้ภายในเซลล์ บริเวณที่จุลินทรีย์ไม่สามารถย่อยสลายได้ คือบริเวณที่มีปริมาณโลหะหนักสูง และมีสารประกอบที่เป็นพิษต่อจุลินทรีย์ โดยทำให้จุลินทรีย์ไม่สามารถเจริญเติบโตได้ (ชยาภาส, 2547) นอกจากนี้โลหะหนักยังอาจถูกดูดซับบนผิวเซลล์ของจุลินทรีย์ โดยอาศัยปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นกับไอออนของโลหะกับผิวเซลล์ของจุลินทรีย์ หรือจากการเปลี่ยนไอออนของโลหะหนักเป็นสารประกอบเชิงซ้อนชนิดอื่นกับสารเมทาบอลไลต์ของจุลินทรีย์ โดยปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการดูดซับไอออนโลหะหนักของจุลินทรีย์ขึ้นกับลักษณะทางเคมีและชนิดไอออนของโลหะ สมบัติทางผิวเซลล์ โครงสร้าง และสรีรวิทยาของจุลินทรีย์ ซึ่งแตกต่างกันตามชนิดของจุลินทรีย์ (Baldry and Dean, 1980; Norberg and Persson, 1984; Mullen *et al.*, 1989)

ในปัจจุบัน ได้มีงานวิจัยจำนวนมากที่ศึกษาการกำจัดไอออนโลหะหนักทางชีวภาพ โดยเฉพาะการศึกษาชนิดของจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพในการดูดซับโลหะ ซึ่งจุลินทรีย์บางชนิดอาจมาจากกากของเสียอุตสาหกรรมกรมการหมัก เช่น เชื้อรา (Kuyucak and Volesky, 1989; Jianlong *et al.*, 2001) เชื้อสเตรปโตมัยซีส (Mattusshka and Straube, 1993) เป็นต้น รุจิริตัน (2542) ศึกษา น้ำทิ้ง 3 ประเภท ได้แก่ น้ำทิ้งจากโรงงานผลิตยางแท่ง STR5L น้ำยางข้น และน้ำทิ้งรวมจากโรงงานผลิตยางแท่ง STR5L และน้ำยางข้น โดยใช้การบำบัดทางเคมี และการบำบัดทางชีวภาพ การบำบัดทางเคมีทำโดยการปรับค่าความเป็นกรด-ด่างของน้ำทิ้งให้เป็น 10 ด้วยสารละลายแคลเซียมไฮดรอกไซด์ ตกตะกอนอนุภาคยางและเกลือของสารอนินทรีย์โดยสารละลายเฟอรัริคคลอไรด์ แอนไอออนิกพอลิเมอร์ และแคทไอออนิกพอลิเมอร์ ค่าใช้จ่ายในการบำบัด 25-30 บาทต่อลบ.ม. การบำบัดทางเคมีของน้ำทิ้งทั้ง 3 ประเภทสามารถลดปริมาณสังกะสีได้ 84% แต่มีข้อเสียคือน้ำที่ได้มีความกระด้างสูงต้องบำบัดต่อจึงจะนำไปใช้ได้ ส่วนผลการคัดแยกและจำแนกจุลินทรีย์ที่อยู่ในน้ำทิ้งของโรงงานยางทั้ง 3 ประเภทในระดับจีโนมได้เชื้อ *Pseudomonas sp.*, *Kurthia sp.*, *Bacillus sp.* และ *Moraxella sp.* ซึ่งเจริญได้ดีที่มีอากาศ จึงได้บำบัดน้ำทิ้งของโรงงานผลิตน้ำยางข้น โดยแบคทีเรียที่มีอยู่ร่วมกับการเติมอากาศ ซึ่งการบำบัดทั้งวิธีเคมี และชีวภาพ BOD และ SS ยังมีค่าสูงกว่าค่ามาตรฐานโรงงานอุตสาหกรรมคือ 60 และ 50 mg/L และมีปริมาณสังกะสีสูงเกิน 5 mg/L จึงทดลองบำบัดน้ำทิ้งจากโรงงานผลิตน้ำยางข้นโดยการประยุกต์ใช้น้ำชีวมวลที่แยกได้จากน้ำทิ้งของโรงงานผลิตน้ำยางข้นเพาะเห็ดนางฟ้า พบว่าปริมาณสังกะสีในดอกเห็ดมีค่าเฉลี่ย 60 mg/kg อาหาร ซึ่งต่ำกว่ากำหนดคือ 100

mg/kg อาหาร ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข พ.ศ. 2529 จึงสรุปได้ว่าสามารถประยุกต์ใช้น้ำทิ้งจากโรงงานผลิตน้ำยางข้นส่วนที่เป็นซีรัมในการเพาะเห็ดนางฟ้าได้

นอกจากนี้จิตพร (2547) ได้ศึกษาการกำจัดสังกะสีโดยใช้จุลินทรีย์ที่คัดแยกได้จากน้ำทิ้งในโรงงานผลิตภัณฑ์ยางพารา โดยเก็บตัวอย่างน้ำจากโรงงาน 2 จุด คือ จุดที่ 1 น้ำทิ้งที่ปล่อยออกจากกระบวนการผลิตโดยตรง ซึ่งมีสังกะสีอยู่ 3.621 mg/L และจุดที่ 2 น้ำทิ้งที่ผ่านกระบวนการบำบัดก่อนปล่อยออกนอกโรงงาน มีปริมาณสังกะสี เท่ากับ 0.066 mg/L ทำการคัดแยกแบคทีเรียจากน้ำทิ้งในจุดที่ 2 ได้ 2 ไอโซเลต ซึ่งพบว่าเป็นแบคทีเรียแกรมบวก รูปร่างแบบแท่ง และรูปร่างกลม แบคทีเรียแบบแท่ง และแบบกลมสามารถลดปริมาณของสังกะสีในสารละลายได้ 53.3% และ 58.3% ตามลำดับ เมื่อใช้ความเข้มข้นสังกะสีเริ่มต้น 3.0 mg/L ในเวลา 14 วัน จากงานวิจัยนี้แสดงให้เห็นว่ามีความเป็นไปได้ในการบำบัดสังกะสีจากน้ำทิ้งโดยจุลินทรีย์ที่คัดแยกได้จากน้ำเสีย