บทที่ 1
บทนำ

ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ปัจจุบันมีการนำสาร Linear Alkylbenzene Sulfonates (LAS) ซึ่งเป็นสารลดแรงตึงผิว (Surfactant) มาเป็นส่วนประกอบสำคัญในผลิตภัณฑ์ทำความสะอาดต่าง ๆ เช่น ผงซักฟอก น้ำยาล้างจาน น้ำยาทำความสะอาด และแชมพู เป็นต้น โดยในแต่ละปีทั่วโลกมีปริมาณการผลิต LAS สูงถึง 4 ล้านตัน (Tolls, Haller, Seinen, & Sijm, 2000) ซึ่งสะท้อนให้เห็นถึงอัตราการใช้ LAS ปริมาณสูง ดังเช่น ในประเทศสเปน และประเทศเนเธอร์แลนด์ มีอัตราการใช้ถึง 5.5 และ 2.51 กรัมต่อคนต่อวัน ตามลำดับ (Leon, Saez, Gonzalez-Mazo, & Gomez-Parra, 2002) ส่วนในประเทศที่พัฒนาแล้ว มีอัตราการใช้ LAS สูงถึง 5.5 กรัมต่อคนต่อวัน (Rubio, Gonzalez-Mazo, & Gomez-Parra, 1996) ซึ่งถือว่าเป็นปริมาณที่สูง จึงทำให้มีการปล่อย LAS ออกสู่สิ่งแวดล้อมในลักษณะของการเจือปนในน้ำเสียเป็นจำนวนมาก ทั้งน้ำเสียจากแหล่งชุมชนและจากโรงงานอุตสาหกรรม

โดยทั่วไปแล้ว LAS จะถูกกำจัดได้ในระบบบำบัดน้ำเสียที่ทำงานได้อย่างมีประสิทธิภาพ เช่น ระบบบำบัดน้ำเสียที่ใช้ในประเทศแถบยุโรปตะวันตก และประเทศสหรัฐอเมริกา ซึ่งพบว่าในระบบบำบัดน้ำเสียดังกล่าว มีความสามารถในการกำจัด LAS สูงถึงร้อยละ 99 แต่ระบบบำบัดน้ำเสีย ในประเทศที่กำลังพัฒนาส่วนใหญ่ ไม่มีประสิทธิภาพในการบำบัดเพียงพอ อีกทั้งน้ำเสียจากแหล่งต่าง ๆ ถูกปล่อยลงสู่แหล่งน้ำธรรมชาติ โดยไม่ผ่านการบำบัดอย่างถูกวิธี จึงทำให้พบว่ามีปริมาณ LAS ปนเปื้อนลงสู่สิ่งแวดล้อมในปริมาณที่สูง ดังเช่น สาธารณรัฐจีน (ไต้หวัน) น้ำเสียที่ได้รับการบำบัดด้วยระบบบำบัดน้ำเสีย มีปริมาณเพียง 5 เปอร์เซ็นต์ ของปริมาณน้ำเสียทั้งหมด (Ding, Tzing, & Lo, 1999) โดยที่หลังจากน้ำเสียที่มีการปนเปื้อนของ LAS ถูกปล่อยออกสู่แหล่งน้ำโดยตรง LAS จะถูกดูดซับกับของแข็งที่แขวนลอยในน้ำ หรือดินตะกอน (Inaba, 1992) นอกจาก นี้ LAS บางส่วนจะถูกย่อยสลายโดยจุลินทรีย์ที่อาศัยอยู่ในบริเวณที่มีการปนเปื้อน แต่อัตราการย่อยสลายของ LAS ในธรรมชาติจะช้ากว่า เมื่อเทียบกับอัตราการย่อยสลายของ LAS ในระบบบำบัดน้ำเสียทางชีวภาพ (Eichhorn, Rodrigues, Baumann, & Knepper, 2002) อีกทั้ง LAS มีความสามารถในการละลายน้ำได้สูงจึงทำให้ LAS มีการแพร่กระจายในแหล่งน้ำไปได้ในระยะไกลจากจุดที่มีการปนเปื้อน (Gonzalez-Mazo & Gomez-Parra, 1996) จากความสามารถในการแพร่กระจายของ LAS ได้ดีนี้เอง จึงทำให้ LAS มีโอกาสปนเปื้อนลงสู่แหล่งน้ำใต้ดินได้อีกทางหนึ่งด้วย ปริมาณ LAS ที่พบปนเปื้อนอยู่ในสิ่งแวดล้อม พบว่าความเข้มข้นของ LAS ใน

ดินตะกอนบริเวณที่อยู่ใกล้แหล่งชุมชน และแหล่งอุตสาหกรรม มีปริมาณ LAS ปนเปื้อนสูงถึง 70 มิลลิกรัม LAS ต่อกิโลกรัมดินตะกอน (Gonzales-Mazo, Quiroga, Sales, & Gomez-Parra, 1997) เมื่อเทียบกับดินตะกอนบริเวณทั่วไปที่อยู่ห่างจากแหล่งชุมชน และแหล่งอุตสาหกรรม ความเข้มข้นของ LAS ที่พบต่ำกว่า 20 มิลลิกรัม LAS ต่อกิโลกรัมดินตะกอน (Leon, Gonzalez-Mazo, & Gomez-Parra, 2000)

ในการย่อยสลาย LAS อย่างสมบูรณ์ใช้เวลานาน และการย่อยสลายส่วนใหญ่จะทำให้เกิดสารเมตาบอไลต์ (Metabolite) หลายประเภทโดยสารเมตาบอไลต์ที่สำคัญได้แก่ Sulfophenyl Carboxylic Acids (SPC) ซึ่งย่อยสลายได้ยาก และตกค้างอยู่ในสิ่งแวดล้อมนาน (Eichhorn, Knepper, Ventura, & Diaz, 2002) อีกทั้งข้อมูลเกี่ยวกับความเป็นพิษของ SPC ต่อสิ่งมีชีวิตต่าง ๆ ยังน้อยอยู่ ดังเช่นในประเทศไทย น้ำดิบที่ใช้ในการผลิตน้ำประปา มีปริมาณ LAS ต่ำกว่าค่าต่ำสุดที่สามารถวัดได้โดยวิธี Gass Chormatography Mass Spectophotometer (GC-MS) แต่กลับพบว่ามี SPC ปนอยู่ประมาณ 2.9 ไมโครกรัมต่อลิตร (Kruawal, Sacher, Werner, Muller, & Knepper, 2005) ส่วนในประเทศบราซิล พบว่าในน้ำดื่มมีปริมาณ SPC เจือปนอยู่ โดยเฉลี่ยถึง 3.3 ไมโครกรัมต่อลิตร (Eichhorn, Rodrigues, et al., 2002) อีกทั้งจากการปนเปื้อนและการตกค้างของ LAS ในสิ่งแวดล้อม ยังส่งผลกระทบโดยตรงต่อสิ่งมีชีวิตที่อาศัยอยู่ในแหล่งน้ำนั้น ๆ เช่น LAS มีผลกระทบต่อการปฏิสนธิ (Fertilization) ของไข่ ตลอดจนลดความสามารถของสเปิร์ม ในการผ่านทะลุผนังของไข่แดง ทำให้อัตราการปฏิสนธิลดลง นอกจากนั้นค่าความเป็นพิษที่พบในสิ่งมีชีวิตพบว่าค่า LC_{50} ของ LAS ในกุ้งทะเล (Pink Shrimp) มีค่าเท่ากับ 19-154 มิลลิกรัมต่อลิตร (Knepper, Barcelo, & Voogt, 2003) ในโคพีพอด (Marine Copepod, *Acartia tonsa*) มีค่าเท่ากับ 2.1 มิลลิกรัมต่อลิตร (Ole-Kusk & Petersen, 1997)

ตามปกติเมื่อสิ่งมีชีวิตได้รับหรือสัมผัสกับสิ่งแปลกปลอมหรือสารพิษ จะเริ่มมีการตอบสนองในระดับของเซลล์ก่อน และการตอบสนองระดับเนื้อเยื่อ อวัยวะ และการเปลี่ยนแปลงระดับพฤติกรรม จะเกิดขึ้นตามมาเป็นลำดับ ดังนั้นการตรวจวัดการตอบสนองระดับเซลล์ของสิ่งมีชีวิต จึงเป็นวิธีที่เหมาะสมในการตรวจวัดการปนเปื้อนของสารพิษที่มีประสิทธิภาพ เนื่องจากการตอบ สนองดังกล่าวสามารถตรวจวัดได้เมื่อสิ่งมีชีวิตได้รับหรือสัมผัสกับสารพิษในช่วงแรก นอกจากนี้ยังสามารถตรวจวัดได้แม้ปริมาณของสารพิษจะอยู่ในระดับต่ำก็ตาม ดังเช่น ตัวอย่างเลือดของปูม้า ในการวัดการตอบสนองต่อการทำงานของเอนไซม์ ในสภาวะที่มี LAS อยู่ เป็นต้น ดังนั้นการตอบสนองระดับเซลล์ของสิ่งมีชีวิตจึงสามารถใช้เป็นดัชนีชี้วัดทางชีวภาพ (Biomarker) เพื่อบ่งบอกถึงการปนเปื้อนของสารมลพิษในสิ่งแวดล้อมได้โดยใช้ร่วมกับการวิเคราะห์ทางเคมีและกายภาพอีกวิธีหนึ่ง

ปูม้าจัดได้ว่าเป็นสัตว์เศรษฐกิจประเภทหนึ่ง อาศัยอยู่บริเวณชายฝั่ง และบริเวณพื้นทะเลเป็นส่วนใหญ่ หายใจโดยการกรองน้ำทะเลผ่านทางเหงือก จึงทำให้ได้รับผลกระทบจาก LAS ที่

ปนมาจากน้ำเสียที่ปล่อยออกสู่ชายฝั่งโดยตรง และ LAS ที่จับอยู่กับตะกอนดิน อีกทางหนึ่งด้วย ซึ่งเหมาะสมที่จะใช้เป็นดัชนีชี้วัดต่อสิ่งแวดล้อม โดยในการศึกษานี้จะสามารถใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการที่จะนำมาใช้เป็นแนวทางในการใช้การตอบสนองระดับเซลล์ เป็นดัชนีชี้วัดทางชีวภาพที่ใช้ในการตรวจสอบการปนเปื้อนของ LAS ในแหล่งน้ำ โดยการหาการตอบสนองต่าง ๆ ในระดับเซลล์ของสิ่งมีชีวิต เพื่อที่จะดูว่าแหล่งน้ำนั้นได้รับการปนเปื้อนของ LAS หรือไม่ เพื่อเป็นข้อมูลประกอบกับการวิเคราะห์ LAS โดยวิธีทางเคมี ซึ่งเป็นวิธีที่ยุ่งยาก ซับซ้อน ใช้เวลานาน และมีค่าใช้จ่ายในการวิเคราะห์สูง

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. ศึกษาผลของ LAS ต่อการตอบสนองระดับเซลล์ของปูม้า อันได้แก่ การทำงานของเอนไซม์ (Enzyme Activity) ประกอบด้วย เอนไซม์คะตะเลส (Catalase) (CAT, EC 1.11.1.6), เอนไซม์กลูตาไธโอน เอสทรานเฟอเรส (Glutathione-s-Transferase) (GST, EC 2.5.1.18) และเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรส (Acetylcholinesterase) (AChE, EC 3.1.1.7) ความเสถียรภาพของเยื่อหุ้มไลโซโซม (Lysosomal Membrane Stability) ความเข้มข้นของฮีโมไซยานิน (Hemocyanin Concentration)

2. พิจารณาเลือกการตอบสนองระดับเซลล์ของปูม้า เพื่อนำมาใช้เป็นดัชนีชี้วัดทางชีวภาพ ที่เหมาะสม ในการบ่งชี้ความเป็นพิษของ LAS ในสิ่งแวดล้อม

สมมติฐานของการวิจัย

1. LAS มีผลต่อการทำงานของเอนไซม์คะตะเลส เอนไซม์กลูตาไธโอนเอสทรานเฟอเรส และเอนไซม์อะซิทิลโคลินเอสเทอเรส

2. LAS มีผลต่อ เสถียรภาพของเยื่อหุ้มไลโซโซม

3. LAS มีผลต่อความเข้มข้นของฮีโมไซยานินในเลือดของปูม้า

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. นำข้อมูลที่ได้มาประยุกต์ใช้เป็นเครื่องมือในการตรวจสอบการปนเปื้อนของ LAS ในสิ่งแวดล้อม

2. สามารถเลือกใช้ลักษณะการตอบสนองระดับเซลล์ของปูม้าที่เหมาะสมต่อการตรวจวัดสิ่งแวดล้อมที่มี LAS ปนเปื้อน

3. เป็นข้อมูลพื้นฐาน สำหรับการจัดการสิ่งแวดล้อม

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ขอบเขตของการวิจัย

ศึกษาการตอบสนองระดับเซลล์ของปู่ม้า ได้แก่ การทำงานของเอนไซม์ (Enzyme Activity) ประกอบด้วย เอนไซม์คะตะเลส เอนไซม์กลูตาไธโอนเอสทรานเฟอเรส เอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรส และความเสถียรภาพของเยื่อหุ้มไลโซโซม ความเข้มข้นของฮีโมไซยานินในสภาวะที่มี LAS ที่ความเข้มข้น 0, 10, 20, 30, 40 และ 50 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยที่ระยะเวลาที่ได้รับ LAS ที่ 0, 6, 12 และ 24 ชั่วโมง ยกเว้นเอนไซม์คะตะเลส และความเสถียรภาพของเยื่อหุ้มไลโซโซม ทดสอบที่ระยะเวลา 0, 3, 6, 12 และ 24 ชั่วโมง

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University