# บทที่ 4

# ผลการวิจัยและอภิปรายผล

## 4.1 สมบัติทางกายภาพและเคมีของกากตะกอนจากโรงงานอุตสาหกรรมน้ำยางธรรมชาติ

ผลการวิเคราะห์กากตะกอนจากบ่อรวมน้ำเสีย ทั้ง 2 บริเวณ คือบริเวณที่ 1 ซึ่งเป็นกากตะกอนเก่าที่ทับถมกันนาน และบริเวณที่ 2 เป็นกากตะกอนที่เพิ่งปล่อยออกจากกระบวนการของโรงงาน แสดงในตารางที่ 4.1 พบว่า บริเวณที่ 2 อุณหภูมิและค่า pH สูงกว่าบริเวณที่ 1 เนื่องจากกากตะกอนบริเวณนี้เพิ่งผ่านกระบวนการต่างๆ ภายในโรงงาน เช่น กระบวนการปั่นเหวี่ยง และการเติมสารที่เป็นด่างอย่าง แอมโมเนียในการรักษาสภาพน้ำยาง กากตะกอนจึงค่อนข้างเป็นด่าง ค่าที่ได้ใกล้เคียงกับในงานวิจัยของ วลัยพร (2547) ซึ่งรายงานค่า pH ของกากขี้แป้งจากโรงงานน้ำยางข้นเท่ากับ 7.89

ความชื้นของกากตะกอนในบริเวณที่ 1 มีค่าสูงกว่าในบริเวณที่ 2 ทั้งนี้เนื่องมาจากกากตะกอนมีการดูดซับน้ำไว้มาก จากการทิ้งไว้เป็นเวลานาน สำหรับธาตุอาหารทั้งปริมาณไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียม ในบริเวณที่ 1 สูงกว่าในบริเวณที่ 2 เนื่องมาจากการทับถมกันของ กากตะกอนเป็นระยะเวลานานทำให้มีการสะสมของธาตุอาหารเหล่านี้อยู่เป็นจำนวนที่มาก

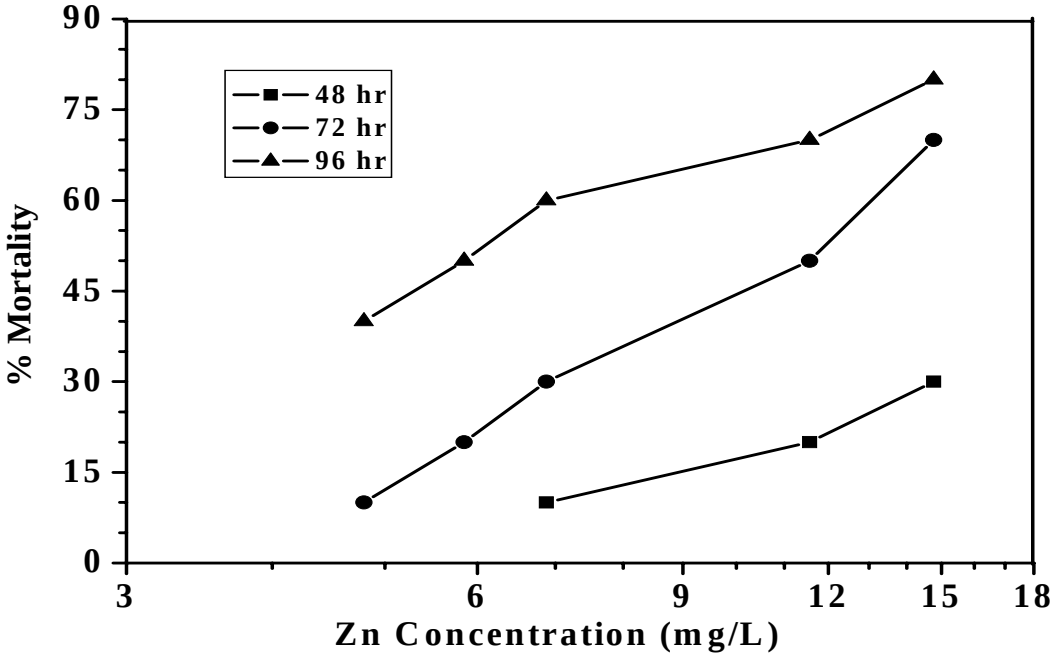
**ตารางที่ 4.1** ลักษณะทางกายภาพและเคมีของกากตะกอนจากบ่อรวมน้ำเสียโรงงานอุตสาหกรรมน้ำยางธรรมชาติ (n=3)

| ลักษณะทางกายภาพและเคมี | บริเวณที่ 1 | บริเวณที่ 2 |
|---|---|---|
| อุณหภูมิ ($^{o}$C) | 27.7±0.57 | 29.3±1.15 |
| pH | 7.15±0.05 | 7.68±0.03 |
| ความชื้น (%) | 81.90±0.23 | 48.85±0.09 |
| ปริมาณไนโตรเจน (mg/kg) | $1.97\times10^{3}$±159.62 | $9.05\times10^{2}$±191.05 |
| ปริมาณฟอสฟอรัส (mg/kg) | $1.81\times10^{2}$±63.60 | $1.08\times10^{2}$±15.40 |
| ปริมาณโพแทสเซียม (mg/kg) | 15.03±0.26 | 4.04±0.18 |
| ปริมาณสังกะสี (g/kg) | $1.12\times10^{5}$±1.72 | $4.49\times10^{4}$±3.46 |

สำหรับสังกะสีในกากตะกอนพบว่าบริเวณที่ 1 มีสังกะสีสะสมอยู่ในปริมาณมากกว่าบริเวณที่ 2 (ตารางที่ 4.1) ทั้งนี้ เนื่องจากการทับถมกันนานของกากตะกอนในแต่ละวันที่ปล่อยลงสู่บ่อรวมน้ำเสีย โดยปราศจากการกำจัดหรือจัดการที่เหมาะสมทำให้ปริมาณสังกะสีสะสมเพิ่มมากขึ้นในทุกๆ วัน ซึ่งเมื่อเทียบกับค่ามาตรฐานที่ USEPA กำหนดไว้สำหรับปริมาณสังกะสีในกากตะกอน คือ 7,500 mg/kg (USEPA, 1993 in Brady and Weil, 2002) ซึ่งยอมรับได้ในการนำกากตะกอนไปใช้ประโยชน์ด้านการเกษตร จะเห็นได้ว่าค่าสังกะสีที่ได้ทั้งในบริเวณที่ 1 และบริเวณที่ 2 มีค่าเกินมาตรฐานที่กำหนดไว้ หากมีการปนเปื้อนของกากตะกอนเหล่านี้เข้าสู่สิ่งแวดล้อมอาจทำให้ส่งผลต่อสิ่งมีชีวิตในแหล่งน้ำที่มีการปนเปื้อนอยู่ เนื่องจากปริมาณสังกะสีในแหล่งน้ำตามธรรมชาติที่ยอมรับให้มีอยู่ได้ไม่เกิน 5.0 mg/L ดังนั้นหากต้องการนำกากตะกอนเหล่านี้ไปใช้ประโยชน์ด้านการเกษตรจำเป็นต้องมีการลดปริมาณสังกะสีที่สะสมอยู่ในกากตะกอนก่อนนำไปใช้

## 4.2 การทดสอบความเป็นพิษเฉียบพลันของสังกะสี (ในรูป ZnO) ต่อหนอนแดงในห้องปฏิบัติการ

การทดสอบความเป็นพิษเฉียบพลันของสังกะสี (ในรูป ZnO) ต่อหนอนแดงพบว่าชุดควบคุมในเวลา 96 hr ไม่มีการตายของสัตว์ทดลอง ส่วนที่ความเข้มข้นต่างๆ ของสังกะสี (ในรูป ZnO) หนอนแดงมีการตายเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของสังกะสีเพิ่มขึ้นในทุกช่วงเวลาที่ศึกษา กล่าวคือ ที่ความเข้มข้นของสังกะสี 4.79 mg/L หนอนแดงมีการตาย 40% และมีการตาย 80% ที่ความเข้มข้นของสังกะสี 14.76 mg/L เมื่อเวลาผ่านไป 96 hr (รูปที่ 4.1)




**รูปที่ 4.1** ร้อยละการตาย (% Mortality) ของหนอนแดงที่เวลา 48, 72 และ 96 hr เมื่อใช้สารละลายสังกะสีในรูป ZnO ความเข้มข้นต่างๆ

จากข้อมูลการทดสอบความเป็นพิษสามารถคำนวณหาค่า $LC_{50}$ ที่เวลา 48, 72 และ 96 hr โดยใช้โปรแกรม Probit Analysis จะเห็นได้ว่าเมื่อเวลาเพิ่มมากขึ้น $LC_{50}$ มีค่าลดลง โดยค่า $LC_{50}$ ที่เวลา 48 hr เท่ากับ 21.00 mg/L ค่า $LC_{50}$ ที่เวลา 72 hr เท่ากับ 10.17 mg/L และที่เวลา 96 hr เท่ากับ 5.90 mg/L (ตารางที่ 4.2)

$LC_{50}$ ที่ได้พบว่ามีค่าต่ำกว่า $LC_{50}$ ที่รายงานโดยจิติพร (2547) กรณีหนอนแดง (96-hr $LC_{50}$ = 6.85 mg/L) ความแตกต่างนี้เนื่องมาจากความเข้มข้นของสารละลายที่เตรียมได้จริงมีความแตกต่างกัน โดยการทดลองของจิติพรความเข้มข้นของสังกะสีที่เตรียมได้ค่อนข้างต่ำ (3.08-7.62 mg/L) ในขณะที่การทดลองนี้ความเข้มข้นของสังกะสีอยู่ในช่วงที่สูงกว่า (4.79-14.76 mg/L) อีกทั้งช่วงเวลาและฤดูกาลในการทดลองที่แตกต่างกัน โดยจิติพรทดลองในช่วงเดือนพฤศจิกายนถึงกุมภาพันธ์ สำหรับการทดลองนี้อยู่ในช่วงเดือนมิถุนายนถึงสิงหาคม นอกจากนี้ผลของอุณหภูมิขณะทำการทดลอง สถานที่ที่ทำการทดลอง และคุณภาพน้ำที่ใช้ในการทดลองซึ่งมีผลต่อสุขภาพของสัตว์ทดลอง รวมถึงค่า pH ของสารละลายยังมีความแตกต่างกันโดยค่า pH ของการทดลองครั้งนี้เท่ากับ 6.68 ขณะที่ค่า pH ในการทดลองของจิติพรเท่ากับ 6.73 โดยความเป็นกรดทำให้สังกะสีละลายในน้ำได้เพิ่มขึ้น และอยู่ในรูปที่ก่อให้เกิดความเป็นพิษต่อสิ่งมีชีวิตได้มากขึ้นด้วย

จากผลการทดลองเบื้องต้นเกี่ยวกับผลของความกระด้างต่อความเป็นพิษของสังกะสีต่อหนอนแดงรายงานค่า $LC_{50}$ เท่ากับ 8.09 mg/L (นาตยา, 2549) ซึ่งความเป็นพิษของสังกะสีมีค่าต่ำกว่าผลการทดลองครั้งนี้ ทั้งนี้เนื่องจากการทดลองดังกล่าวเป็นการทดสอบความเป็นพิษของสังกะสีในน้ำที่มีแคลเซียมเข้มข้น 100 mg/L ความกระด้างของน้ำระดับนี้พบว่ามีผลทำให้เกิดสารประกอบคาร์บอเนตที่ไม่ละลายน้ำ โดยโลหะหนักนั้นจะดูดซับกับอนุภาคของแคลเซียมคาร์บอเนตในน้ำ ซึ่งทำให้โลหะหนักเปลี่ยนรูปไปอยู่ในรูปที่สิ่งมีชีวิตไม่สามารถนำไปใช้ได้ นอกจากนี้ $Mg^{2+}$ และ $Ca^{2+}$ สามารถเข้าไปแย่งจับที่ active site ของเนื้อเยื่อแทนโลหะหนัก ทำให้โลหะหนักสามารถเข้าสู่ร่างกายสิ่งมีชีวิตได้น้อยลง (พัชรภรณ์, 2546)

สำหรับความเป็นพิษของสังกะสีต่อสัตว์ทดลองชนิดอื่น เช่น ปลานิล *(Oreochromis niloticus)* โดยสุรกาญจน์ (2551) พบว่าค่า 96-hr $LC_{50}$ เท่ากับ 5.66 mg/L ซึ่งมีความใกล้เคียงกับความเป็นพิษของ ZnO ต่อหนอนแดงในการทดลองนี้ เช่นกัน จะเห็นได้ว่า ZnO ค่อนข้างมีความเป็นพิษสูงเมื่อเทียบกับสารละลายสังกะสีที่เป็นชนิดอื่น พัชรภรณ์ (2546) ทดสอบความเป็นพิษของ $ZnCl_2$ ต่อ ปลานิล (*O. niloticus*) รายงานค่า 96-hr $LC_{50}$ เท่ากับ 40.49 mg/L Karnthanut (2002) ทดสอบความเป็นพิษของ $ZnCl_2$ ต่อไฮดรา (*H. vulgaris*) พบค่า 96-hr $LC_{50}$ เท่ากับ 14.00 mg/L และจากการศึกษาของ Fargasova (2001) รายงานค่า 96-hr $LC_{50}$ เท่ากับ 32.60 mg/L ซึ่งมีความเป็นพิษต่ำกว่าการทดลองนี้มาก เนื่องจากผู้วิจัยดังกล่าวใช้สารละลาย $ZnSO_4$ และหนอนแดงที่ใช้ต่างชนิดกัน คือ *Chironomus plumosus* (ตารางที่ 4.3)

**ตารางที่ 4.2** ค่า $LC_{50}$ ของสังกะสี (ในรูป ZnO) ต่อหนอนแดงที่เวลา 48, 72 และ 96 hr

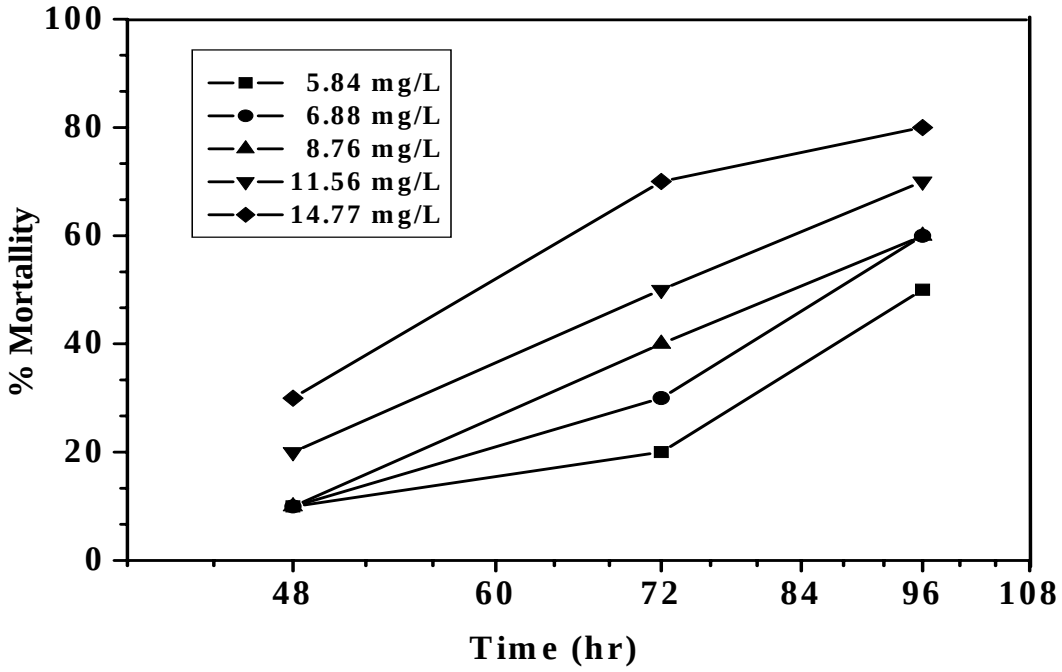
| Time (hr) | $LC_{50}$ (mg/L) | 95% Confidence interval | Slope $LC_{50}$ | Significant Difference (*) |
|---|---|---|---|---|
| 48 | 21.00 | 13.74-32.10 | 1.98 | a |
| 72 | 10.17 | 7.95-13.01 | 1.88 | b |
| 96 | 5.90 | 3.81-9.12 | 3.05 | d |

**หมายเหตุ** (*) มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อมีตัวอักษรที่ต่างกัน

**ตารางที่ 4.3** ค่า $LC_{50}$ ของสารประกอบสังกะสีประเภทต่างๆ ต่อสัตว์น้ำจืดที่ 96 hr

| Metal source | Organism | Size/age | $LC_{50}$ (mg/L) | Reference |
|---|---|---|---|---|
| $ZnCl_2$ | Tilapia (*Oreochromis niloticus*) Linnaeus | Juvenile | 40.49 | Patcharaporn (2546) |
| $ZnCl_2$ | *H. vulgaris* (Zurich) | | 14.00 | Karnthanat (2002) |
| $ZnSO_4$ | *Chironomus plumosus* | Larvae | 32.60 | Fargasova (2001) |
| ZnO | Tilapia (*Oreochromis niloticus*) Linnaeus | Juvenile | 5.66 | Surakarn (2551) |
| ZnO | *Chironomus calipterus* Kieffer | Larvae | 6.85 | Jitiporn (2547) |
| ZnO | *Chironomus calipterus* Kieffer | Larvae | 8.09 | Nadtaya (2549) |
| ZnO | *Chironomus calipterus* Kieffer | Larvae | 5.90 | This study (2008) |

ผลการทดสอบความเป็นพิษเฉียบพลัน (รูปที่ 4.2) แสดงให้เห็นว่าการตายของหนอนแดงเพิ่มขึ้นเมื่อเวลาผ่านไป และไม่มีการตายในชุดควบคุม เมื่อคำนวณหาค่าเวลาที่ทำให้สัตว์ทดลองตาย 50% ($LT_{50}$) ที่เวลาต่างๆ โดยใช้โปรแกรม Probit Analysis พบว่าค่า $LT_{50}$ มีค่าลดลงเมื่อความเข้มข้นของสารละลายสังกะสีมีค่าเพิ่มขึ้น โดยที่ความเข้มข้นของสังกะสี 5.84 mg/L ค่า $LT_{50}$ เท่ากับ 96.12 hr ในขณะที่สังกะสี 14.76 mg/L ค่า $LT_{50}$ เท่ากับ 62.31 hr (ตารางที่ 4.4)




**รูปที่ 4.2** ร้อยละการตายของหนอนแดง (% Mortality) ที่เวลาต่างๆ (hr) เมื่อใช้สารละลายสังกะสีในรูป ZnO เข้มข้น 5.84, 6.88, 8.76, 11.56 และ 14.76 mg/L

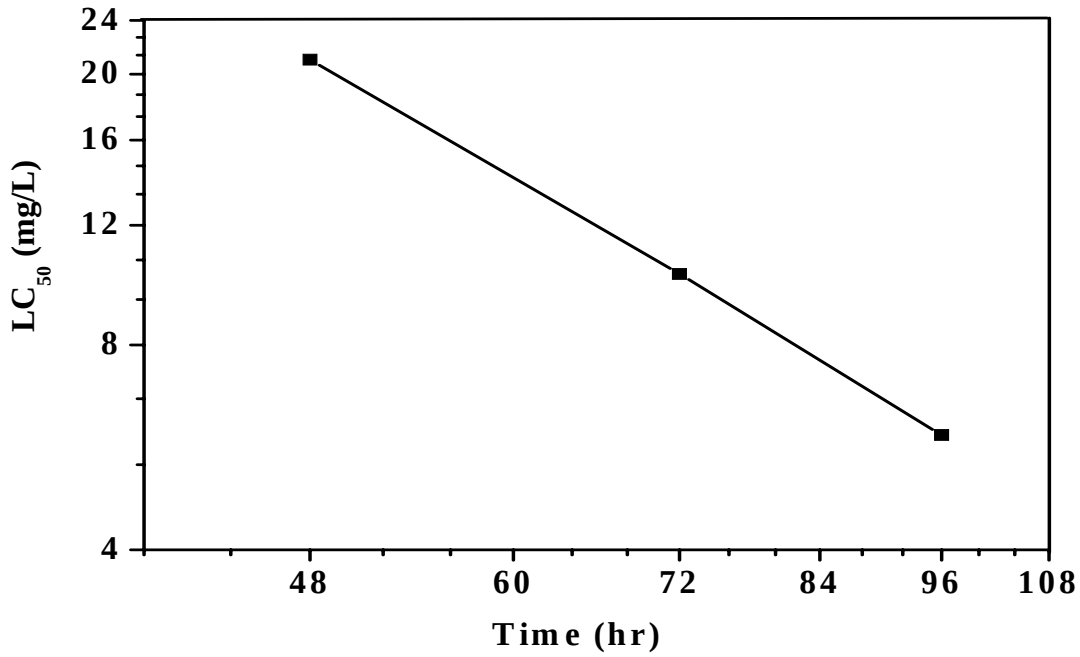
**ตารางที่ 4.4** ค่า $LT_{50}$ ของสังกะสี (ในรูป ZnO) ต่อหนอนแดงที่ความเข้มข้นต่างๆ ของสังกะสี

| Zn concentration (mg/L) | | $LT_{50}$ (hr) | 95% Confidence | Slope $LC_{50}$ | Significant |
|---|---|---|---|---|---|
| Norminal | Actual | | interval | | Difference (*) |
| 5.6 | 4.79 | 103.01 | 86.22-123.07 | 1.31 | a |
| 6.5 | 5.84 | 96.12 | 70.46-131.12 | 1.60 | a |
| 7.5 | 6.87 | 83.02 | 64.57-106.75 | 1.48 | ab |
| 8.7 | 8.75 | 79.30 | 62.85-100.06 | 1.45 | ab |
| 13.5 | 11.56 | 73.03 | 52.37-101.83 | 1.65 | ab |
| 15.5 | 14.76 | 62.31 | 46.17-84.08 | 1.60 | b |

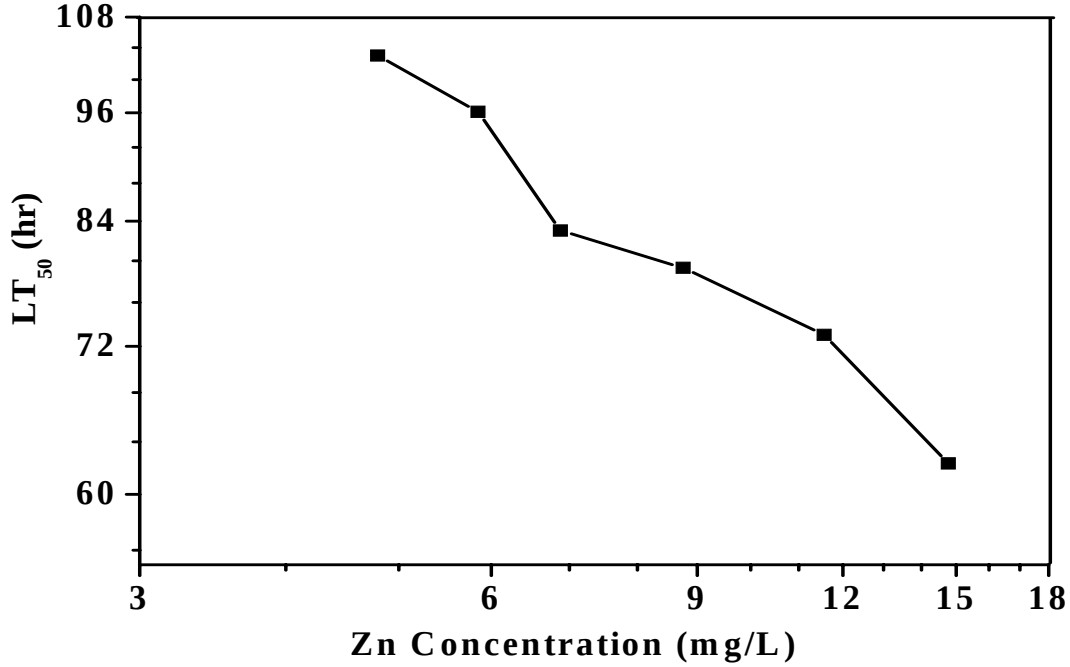
**หมายเหตุ** (*) มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อมีตัวอักษรที่ต่างกัน

จากค่า $LC_{50}$ และค่า $LT_{50}$ ที่ได้จากการทดลองสามารถนำมาเขียนกราฟความเป็นพิษ (Toxicity curve) ได้ดังแสดงใน รูปที่ 4.3 และ รูปที่ 4.4

ค่า $LT_{50}$ ที่ได้พบว่าใกล้เคียงกับของจิติพร ซึ่งรายงานค่า $LT_{50}$ เท่ากับ 174.2, 141.0, 134.0, 130.0, 113.6 และ 90.6 hr ที่สังกะสีเข้มข้น 3.08, 3.51, 4.03, 4.76, 5.30 และ 7.62 mg/L ตามลำดับ จะเห็นได้ว่าช่วงความเข้มข้นของสังกะสีที่จิติพรใช้เป็นช่วงต่ำกว่าในการทดลองนี้ แต่เมื่อเปรียบเทียบที่ความเข้มข้นใกล้เคียงกันพบว่าค่าในการทดลองครั้งนี้มีค่า $LT_{50}$ ต่ำกว่าเล็กน้อย เมื่อเปรียบเทียบกับของจิติพรที่ความเข้มข้น 7.62 mg/L ค่า $LT_{50}$ ที่ได้เท่ากับ 90.6 hr ในขณะที่การทดลองครั้งนี้ที่สังกะสีเข้มข้น 6.87 mg/L มีค่า $LT_{50}$ เท่ากับ 83.02 hr การที่สังกะสีความเข้มข้นต่ำกว่าแต่กลับให้ค่า $LT_{50}$ (เวลาที่ทำให้สัตว์ทดลองตาย 50%) น้อยกว่า อาจเนื่องมาจากความแตกต่างของคุณภาพน้ำ และช่วงเวลาที่ทำการทดลอง (พฤศจิกายน-กุมภาพันธ์) เป็นต้น นอกจากนี้เมื่อเปรียบเทียบกับงานวิจัยของสุรกาญจน์ (2551) ซึ่งทดลองกับปลานิล *(Oreochromis niloticus)* ที่ความเข้มข้นของสังกะสี 6.0, 6.75, 7.75 และ 8.70 mg/L ให้ค่า $LT_{50}$ ค่อนข้างต่างจากกรณีของหนอนแดงในการศึกษานี้ (48.77, 22.32, 18.87 และ 8.56 hr ตามลำดับ) โดยความเป็นพิษของสังกะสีต่อปลานิลในการทดลองของสุรกาญจน์มีความเป็นพิษมากกว่า แสดงให้เห็นว่าปลานิลในการทดลองนี้ทนต่อความเป็นพิษของสังกะสีได้น้อยกว่าหนอนแดง ซึ่งอาจเนื่องมาจากปลานิลที่ใช้ในการทดลองเป็นลูกปลานิลซึ่งมีขนาดเล็ก (1-2 cm, 30 วัน) โดยปัจจัยจากสัตว์ทดลอง เช่น ขนาด อายุ เพศ และสุขภาพของสัตว์ทดลองมีผลต่อความเป็นพิษของสังกะสี (พัชรภรณ์, 2546)



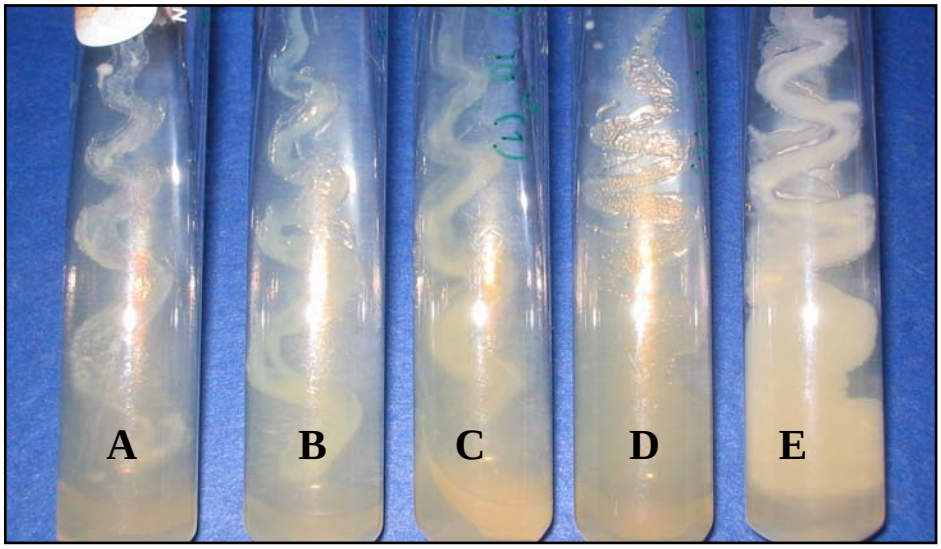

**รูปที่ 4.3** ความเป็นพิษของสังกะสีในรูป $LC_{50}$ (mg/L) ต่อหนอนแดงที่เวลา 48, 72 และ 96 hr




**รูปที่ 4.4** ความเป็นพิษของสังกะสีในรูป $LT_{50}$ (hr) ต่อหนอนแดงที่ความเข้มข้นต่างๆ (mg/L)

## 4.3 การคัดแยกจุลินทรีย์ และการลดปริมาณสังกะสีโดยใช้จุลินทรีย์ที่คัดแยกจาก กากตะกอน

จากการทดลองสามารถแยกจุลินทรีย์จากบริเวณที่ 1 ซึ่งเป็นกากตะกอนเก่าที่มีการทับถมกันเป็นชั้นหนา พบว่าแยกได้แบคทีเรีย 5 ไอโซเลต คือ A, B, C, D และ E (รูปที่ 4.5) จากการย้อมสีแบบแกรมซึ่งเป็นวิธีที่สำคัญที่สุดในการจำแนกแบคทีเรีย การย้อมสีวิธีนี้จะแบ่งแบคทีเรียเป็น 2 พวก ซึ่งขึ้นอยู่กับการติดสี แบคทีเรียแกรมบวกที่มีส่วนประกอบของผนังเซลล์ที่เป็นไขมันอยู่น้อย ผนังของเซลล์หนาจึงติดสีม่วงของคริสตัลไวโอเลต (crystal violet) ที่ย้อมเป็นลำดับแรกได้ดี ในขณะที่แบคทีเรียแกรมลบซึ่งมีไขมันอยู่ในส่วนประกอบของผนังเซลล์มากไขมันจะถูกละลายออกมากับแอลกอฮอล์ในขั้นตอนการย้อมสี ทำให้รูผนังเซลล์กว้างขึ้น ผลึกของสีจึงหลุดออกมากับผนังเซลล์ ตอนนี้แบคทีเรียนแกรมลบจึงไม่ติดสี ต่อมาเมื่อย้อมทับด้วยซาฟรานิน (Safranin) (สีแดง) ผนังเซลล์ของแบคทีเรียพวกแกรมลบจึงติดสีแดงทำให้เห็นความแตกต่างระหว่างแบคทีเรียทั้ง 2 กลุ่มอย่างชัดเจน




**รูปที่ 4.5** จุลินทรีย์ 5 ไอโซเลตที่คัดแยกได้บนอาหารแข็งได้แก่ ไอโซเลต A, B, C, D และ E

จากผลการย้อมสีแบบแกรม แบคทีเรียไอโซเลต A และแบคทีเรียไอโซเลต B เป็นแบคทีเรียแกรมบวกติดสีม่วงของคริสตัลไวโอเลต ในไอโซเลต A มีรูปร่างแบบแท่ง (Bacillus) ไอโซเลต B มีรูปร่างแบบกลม (Coccus) ส่วนแบคทีเรียไอโซเลต C แบคทีเรียไอโซเลต D และแบคทีเรีย ไอโซเลต E เป็นแบคทีเรียแกรมลบติดสีแดงของซาฟรานิน ในไอโซเลต C มีรูปร่างแบบแท่ง (Bacillus) ท่อนสั้น ไอโซเลต D มีรูปร่างแบบแท่ง (Bacillus) ท่อนยาว และไอโซเลต E มีรูปร่างแบบกลม (Coccus) ดังแสดงใน ตารางที่ 4.5 และ รูปที่ 4.6

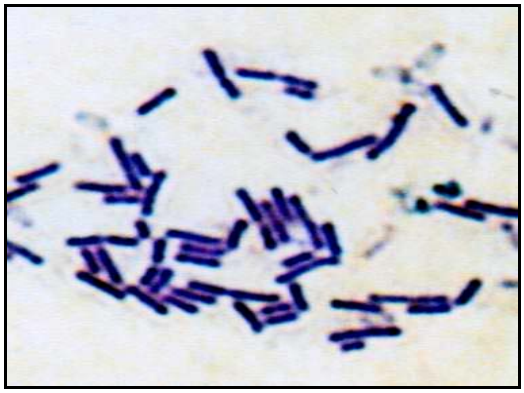
**ตารางที่ 4.5** ลักษณะของจุลินทรีย์ไอโซเลต A-E ที่คัดแยกได้จากกากตะกอน

| Isolate | Gram staining | Morphological characteristics |
|---|---|---|
| A | Positive | Rod (Bacillus) |
| B | Positive | Round (Coccus) |
| C | Negative | Rod (Bacillus) |
| D | Negative | Rod (Bacillus) |
| E | Negative | Round (Coccus) |

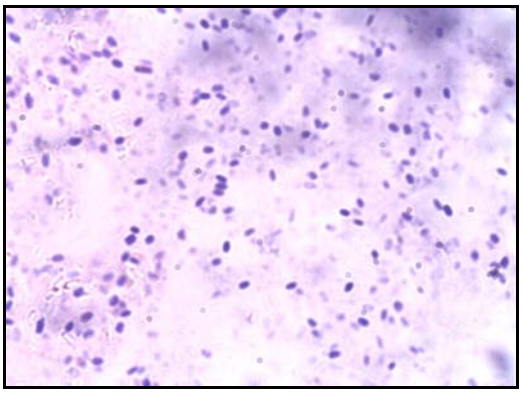
สารละลายสังกะสีความเข้มข้นที่ใช้ในการทดสอบการลดปริมาณสังกะสีโดยไอโซเลต A-E แสดงในตารางที่ 4.6

**ตารางที่ 4.6** ความเข้มข้นของสังกะสี (Norminal and Actual Concentration) ที่ใช้ในการทดสอบการลดปริมาณสังกะสีโดยจุลินทรีย์ไอโซเลต A-E

| Isolate | Actual Zn concentration (mg/L) | |
|---|---|---|
| | **Norminal (mg/L)** **10** | **20** |
| A | 10.88 | 17.70 |
| B | 9.68 | 20.31 |
| C | 9.52 | 20.21 |
| D | 6.95 | 16.16 |
| E | 11.54 | 18.49 |

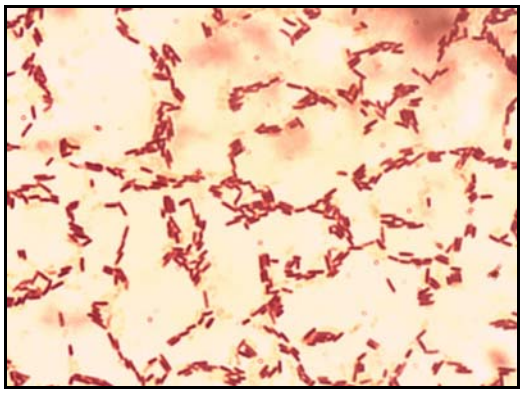


(a)

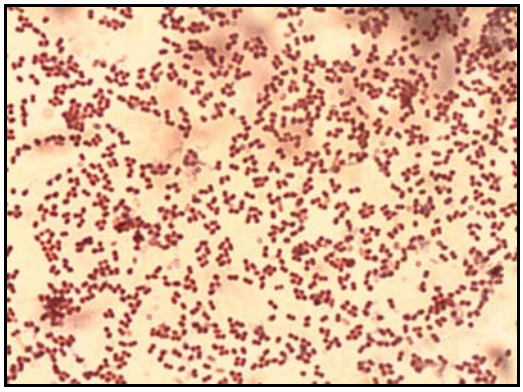


(b)

(c)



(d)

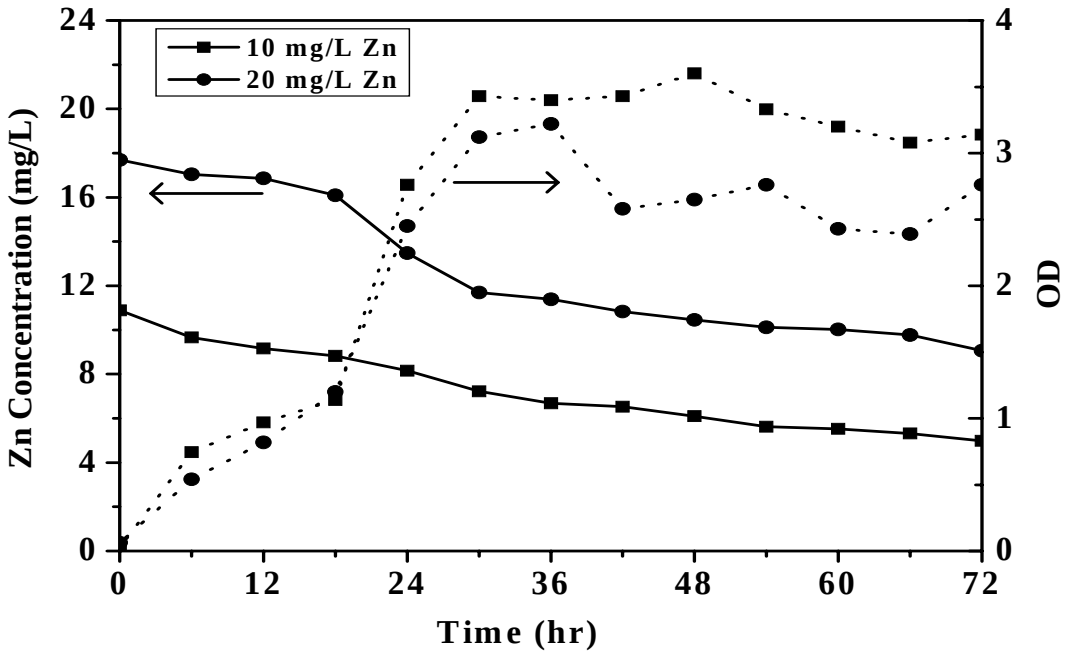


(e)

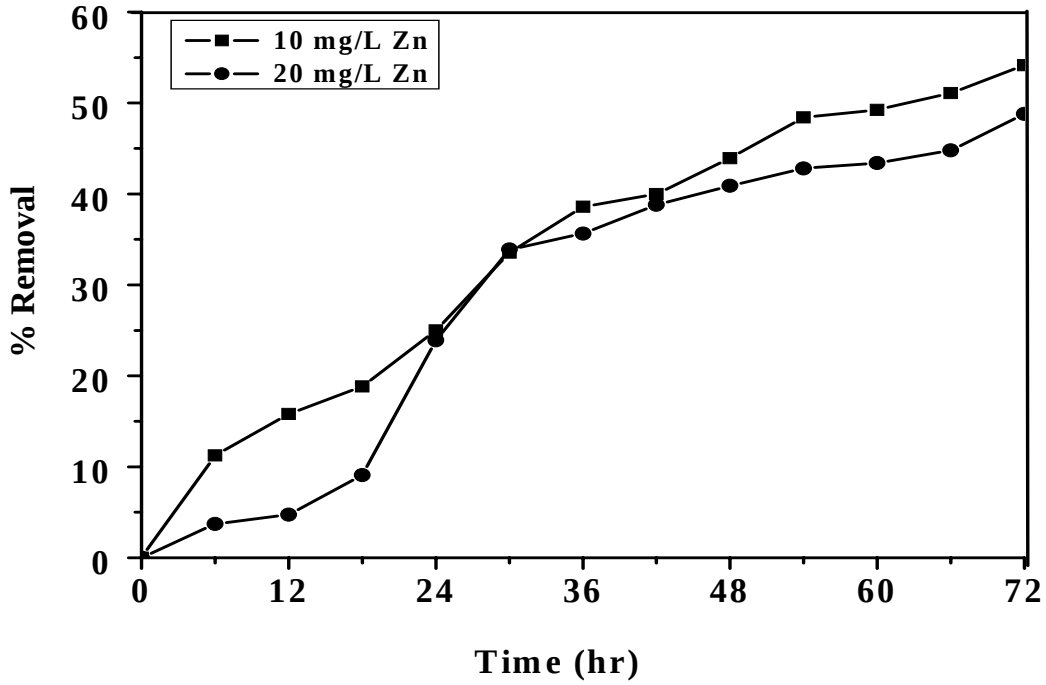
**รูปที่ 4.6** ลักษณะรูปร่างจากการย้อมสีแบบแกรมของไอโซเลต A (a) (x40), ไอโซเลต B (b) (x40), ไอโซเลต C (c) (x100), ไอโซเลต D (d) (x40) และไอโซเลต E (e) (x40)

เมื่อเวลาเพิ่มขึ้นอัตราการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์เพิ่มขึ้น และปริมาณสังกะสีมีค่าลดลง จุลินทรีย์ห้าไอโซเลตที่คัดแยกได้สามารถลดสังกะสีได้ในปริมาณที่ต่างกัน โดยไอโซเลต A มี อัตราการเจริญเติบโตเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในช่วงระยะเพิ่มจำนวน (Log phase) ที่เวลา 18-30 hr ซึ่งสัมพันธ์กับปริมาณสังกะสีที่ลดลงอย่างรวดเร็ว (รูปที่ 4.7) โดยจุลินทรีย์มีอัตราการเจริญสูงสุด และร้อยละการลดสังกะสีมีอัตราเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว (รูปที่ 4.8) จากนั้นอัตราการเจริญเติบโตจะเริ่มเข้าสู่ช่วงคงที่ (Stationary phase) ต่อมาจุลินทรีย์มีการตายอย่างรวดเร็ว (ช่วง Death phase) ทำให้ประสิทธิภาพในการลดสังกะสีของเชื้อมีค่าลดลง (รูปที่ 4.7) และร้อยละการลดของสังกะสีมีอัตราเพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อยจนถึงที่เวลา 72 hr โดย ไอโซเลต A สามารถลดปริมาณสังกะสีได้ 54.1% ที่ปริมาณสังกะสีเริ่มต้น 10 mg/L และ 48.8% ที่ปริมาณสังกะสีเริ่มต้น 20 mg/L (รูปที่ 4.8)

แบคทีเรียแต่ละชนิดใช้เวลาในการเจริญเติบโตแตกต่างกัน ขึ้นอยู่กับชนิดของอาหารที่แบคทีเรียใช้ และปัจจัยอื่นๆ การอยู่ในสภาวะที่เหมาะสมทำให้แบคทีเรียเจริญได้ดี และมีระยะเวลาที่ใช้ในการเจริญ (Generation time) น้อยลง (ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ภูเก็ต, 2550)

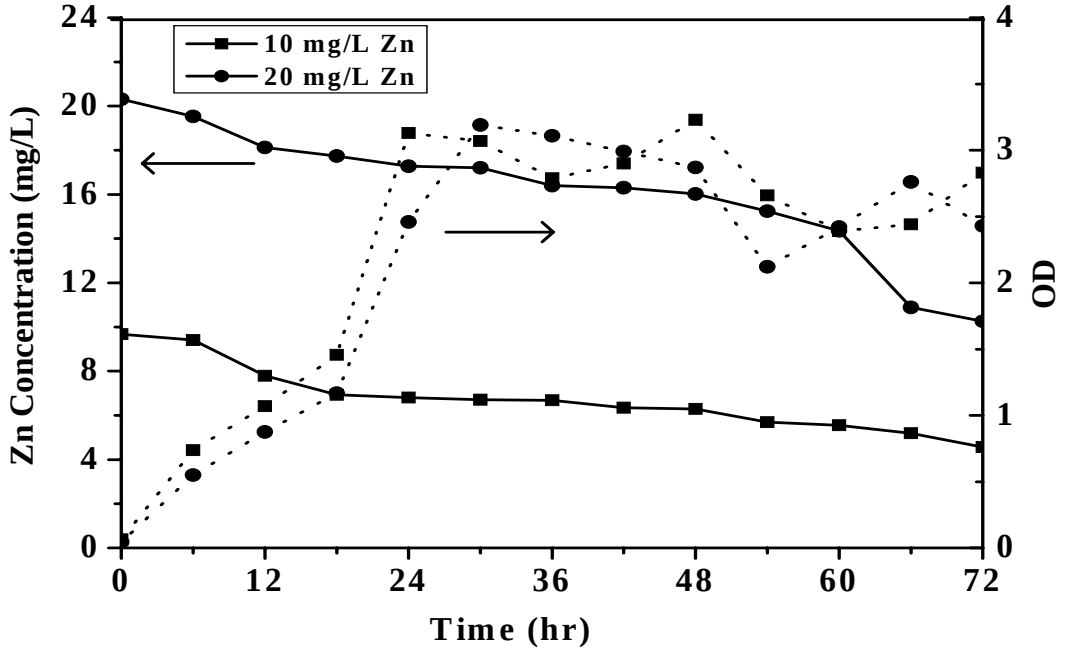



**รูปที่ 4.7** ปริมาณสังกะสีที่ลดลงตามเวลา เมื่อเติมไอโซเลต A และค่าการดูดกลืนแสง (OD) ของ A ที่เวลาต่างๆ (ความเข้มข้นสังกะสีเริ่มต้น 10 และ 20 mg/L)

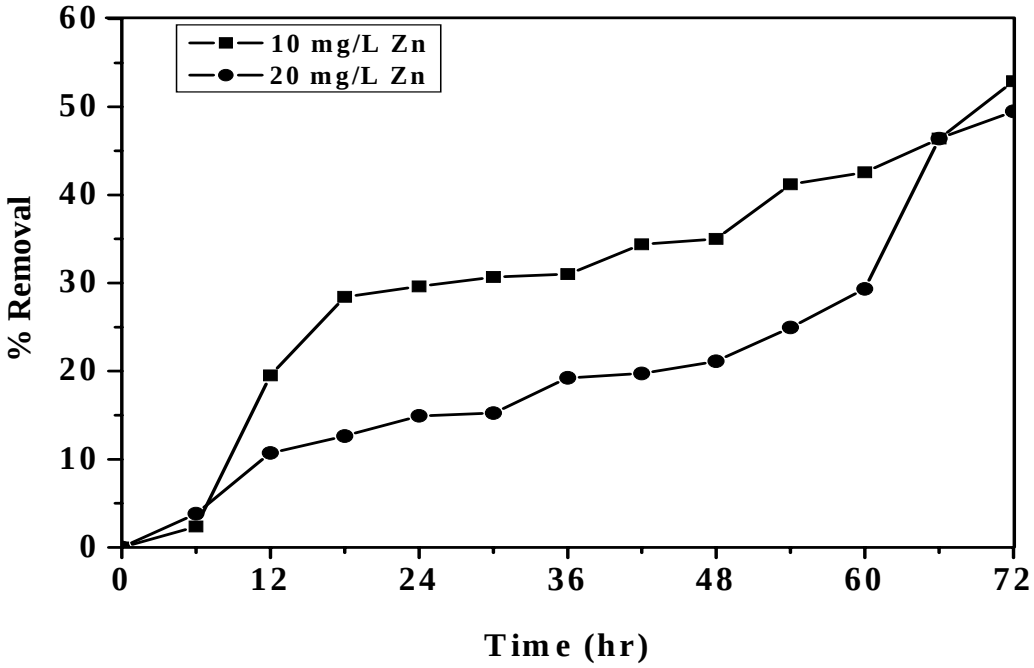



**รูปที่ 4.8** ร้อยละการกำจัดสังกะสีโดยไอโซเลต A (ความเข้มข้นสังกะสีเริ่มต้น 10 และ 20 mg/L)

สำหรับไอโซเลต B อัตราการเจริญเติบโตมีช่วง log phase ในช่วง 18-24 hr ที่สังกะสีเริ่มต้น 10 mg/L และ 18-30 hr ที่สังกะสีเริ่มต้น 20 mg/L (รูปที่ 4.9) อัตราการเจริญเติบโตสัมพันธ์กับเวลาที่เพิ่มขึ้น ในขณะที่สังกะสีมีค่าลดลง (รูปที่ 4.9) ไอโซเลต B มีการแบ่งเซลล์เพิ่มขึ้นจึงมีการนำสังกะสีไปใช้ ร้อยละการลดมีค่ามากขึ้น จนกระทั่งที่เวลา 72 hr ปริมาณสังกะสีที่เหลือเท่ากับ 4.56 mg/L คิดเป็น 52.9% ที่สังกะสีปริมาณเริ่มต้น 10 mg/L และ 10.26 mg/L คิดเป็น 49.5% ในกรณีสังกะสีปริมาณเริ่มต้น 20 mg/L (รูปที่ 4.10)

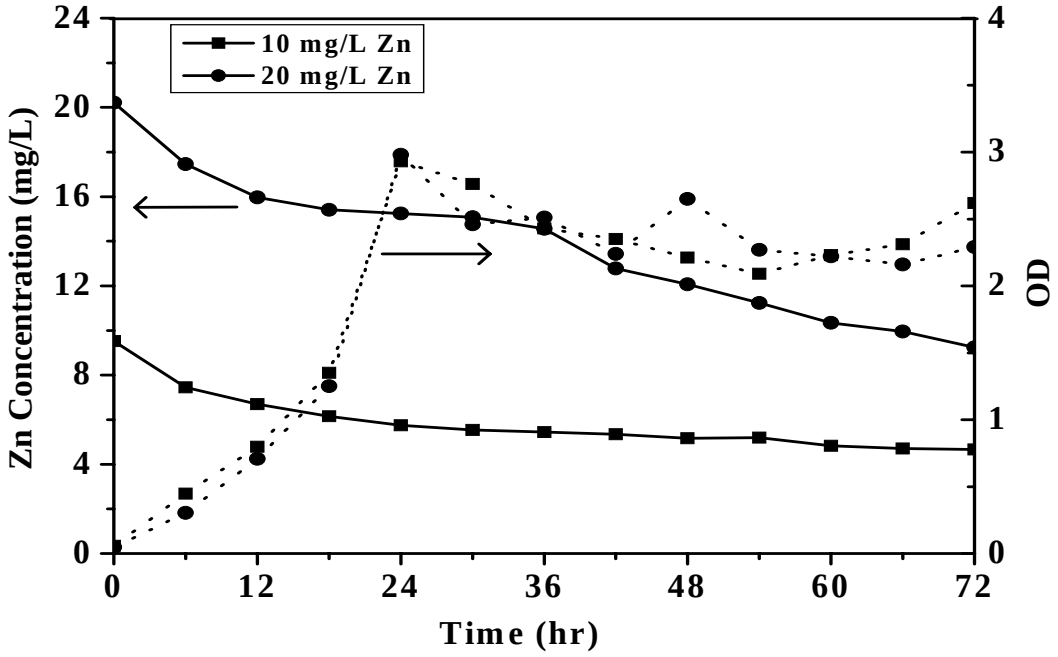



**รูปที่ 4.9** ปริมาณสังกะสีที่ลดลงตามเวลา เมื่อเติมไอโซเลต B และค่าการดูดกลืนแสง (OD) ของ B ที่เวลาต่างๆ (ความเข้มข้นสังกะสีเริ่มต้น 10 และ 20 mg/L)

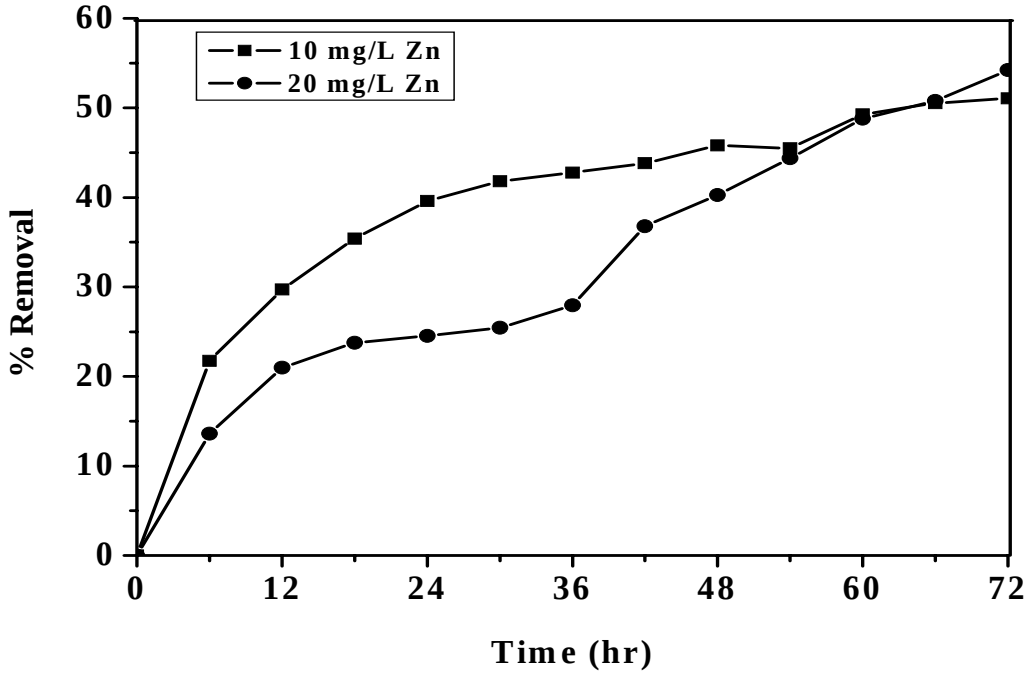



**รูปที่ 4.10** ร้อยละการกำจัดสังกะสีโดยไอโซเลต B (ความเข้มข้นสังกะสีเริ่มต้น 10 และ 20 mg/L)

ไอโซเลต C อัตราการเจริญเติบโตมีช่วง log phase ที่ 18-24 hr อัตราการเจริญเติบโตมีค่าใกล้เคียงกันที่สังกะสีตั้งต้น 10 และ 20 mg/L (รูปที่ 4.11) หลังจาก 24 hr อัตราการเจริญเติบโตเริ่มคงที่จนถึงที่ 72 hr ซึ่งสัมพันธ์กับร้อยละการลดที่ใกล้เคียงกัน และสามารถลดได้เกิน 50% ของความเข้มข้นตั้งต้นทั้ง 2 ค่า (รูปที่ 4.12) โดยไอโซเลต C ปริมาณสังกะสีที่เหลือเท่ากับ 4.66 mg/L ที่ปริมาณสังกะสีเริ่มต้น 10 mg/L คิดเป็น 51.1% และ 9.25 mg/L ที่ปริมาณสังกะสีเริ่มต้น 20 mg/L คิดเป็น 54.2% (รูปที่ 4.12)

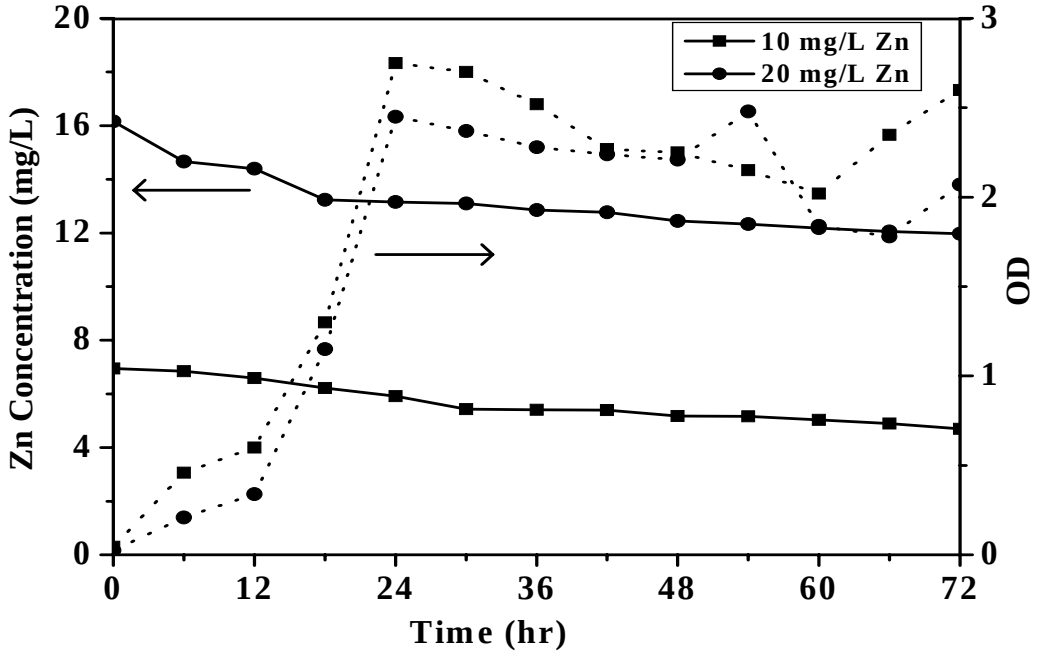



**รูปที่ 4.11** ปริมาณสังกะสีที่ลดลงตามเวลา เมื่อเติมไอโซเลต C และค่าการดูดกลืนแสง (OD) ของ C ที่เวลาต่างๆ (ความเข้มข้นสังกะสีเริ่มต้น 10 และ 20 mg/L)

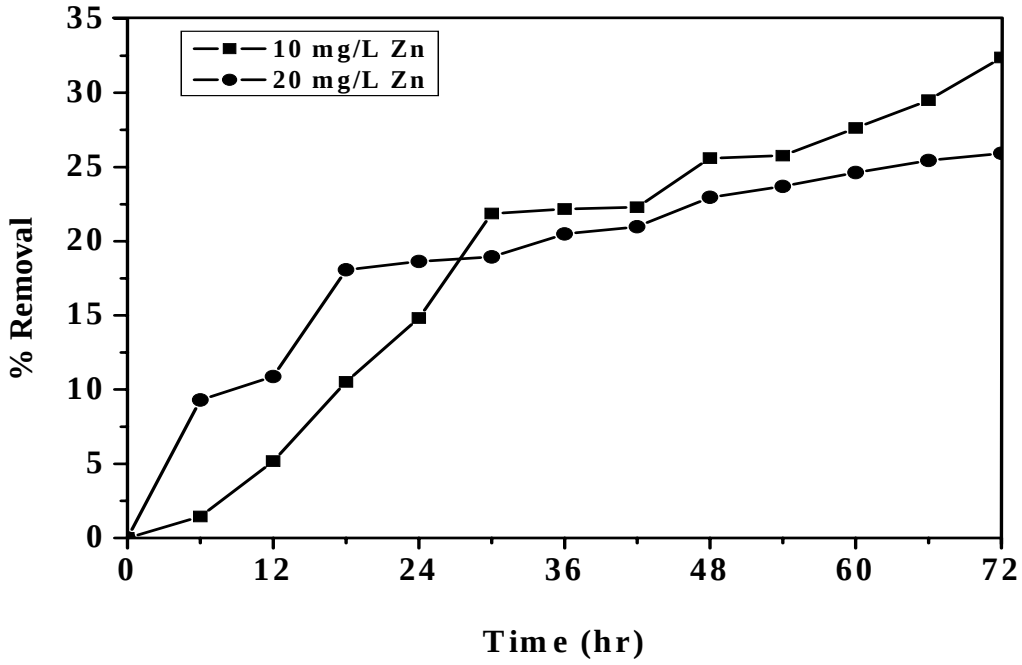



**รูปที่ 4.12** ร้อยละการกำจัดสังกะสีโดยไอโซเลต C (ความเข้มข้นสังกะสีเริ่มต้น 10 และ 20 mg/L)

ส่วนไอโซเลต D มีอัตราการเจริญเติบโตค่อนข้างต่ำ ช่วงที่เชื้อมีการเพิ่มจำนวนอย่างรวดเร็ว คือ ที่ 12-24 hr จากนั้นจึงเริ่มเข้าสู่ช่วงคงที่จนถึงที่เวลา 72 hr (รูปที่ 4.13) ร้อยละการลดของไอโซเลตนี้มีค่าต่ำที่สุดใน 5 ไอโซเลตที่คัดแยกได้ โดยไอโซเลต D สามารถลดสังกะสีได้ 32.4% จากปริมาณสังกะสีเริ่มต้น 10 mg/L เหลือ 4.7 mg/L ในเวลา 72 hr และลดได้ 25.9% จากปริมาณสังกะสีเริ่มต้น 20 mg/L เหลือ 11.97 mg/L (รูปที่ 4.13 และ รูปที่ 4.14)

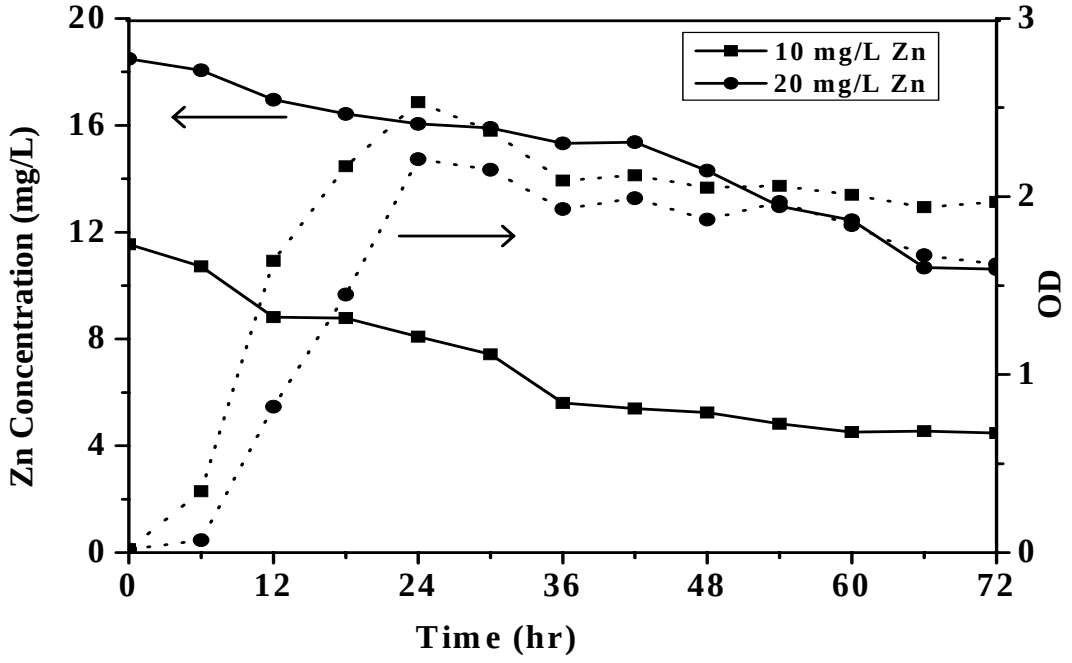



**รูปที่ 4.13** ปริมาณสังกะสีที่ลดลงตามเวลา เมื่อเติมไอโซเลต D และค่าการดูดกลืนแสง (OD) ของ D ที่เวลาต่างๆ (ความเข้มข้นสังกะสีเริ่มต้น 10 และ 20 mg/L)

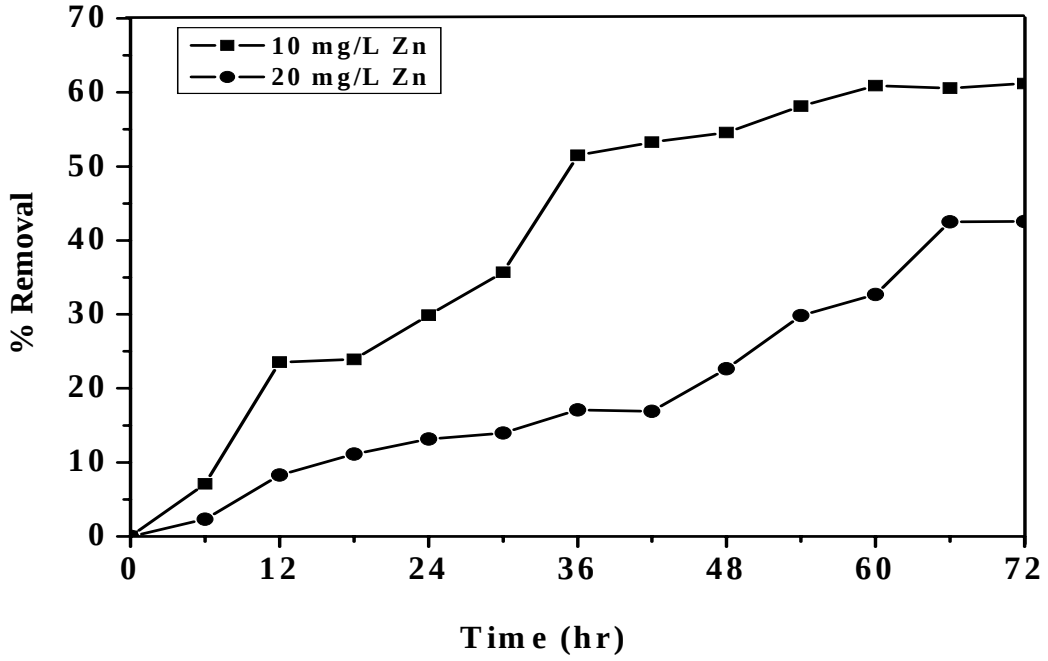



**รูปที่ 4.14** ร้อยละการกำจัดสังกะสีโดยไอโซเลต D (ความเข้มข้นสังกะสีเริ่มต้น 10 และ 20 mg/L)

สำหรับไอโซเลต E อัตราการเจริญเติบโตเพิ่มขึ้นเมื่อเวลาเพิ่มขึ้น แต่มีลักษณะที่ต่างจากไอโซเลต A-D คือเชื้อมีช่วงการเจริญอย่างรวดเร็วที่เวลา 6-24 hr และเริ่มเข้าสู่ช่วงคงที่ (รูปที่ 4.15) การเจริญเติบโตของไอโซเลตนี้ในช่วงแรกค่อนข้างต่างกันที่สังกะสีตั้งต้น 10 และ 20 mg/L (n) ซึ่งมีผลต่อร้อยละการลดของสังสี ในเวลา 72 hr ปริมาณสังกะสีที่เหลือเท่ากับ 4.48 mg/L ที่สังกะสีเริ่มต้นเข้มข้น 10 mg/L คิดเป็น 61.2% และ 10.62 mg/L ที่ปริมาณสังกะสีเริ่มต้น 20 mg/L คิดเป็น 42.6% (รูปที่ 4.15 และ รูปที่ 4.16)




**รูปที่ 4.15** ปริมาณสังกะสีที่ลดลงตามเวลา เมื่อเติมไอโซเลต E และค่าการดูดกลืนแสง (OD) ของ E ที่เวลาต่างๆ (ความเข้มข้นสังกะสีเริ่มต้น 10 และ 20 mg/L)




**รูปที่ 4.16** ร้อยละการกำจัดสังกะสีโดยไอโซเลต E (ความเข้มข้นสังกะสีเริ่มต้น 10 และ 20 mg/L)

แบคทีเรียไอโซเลต A, B, C, D และ E นี้มีความสามารถในการลดปริมาณสังกะสีได้ใกล้เคียงกัน (ตารางที่ 4.7) โดยร้อยละการลดสังกะสีที่ความเข้มข้นของสังกะสีเริ่มต้น 10 mg/L มีค่าสูงกว่าที่ความเข้มข้นของสังกะสีเริ่มต้น 20 mg/L สำหรับไอโซเลต A, B และE ส่วนไอโซเลต C ร้อยละการลดสังกะสีที่ความเข้มข้นของสังกะสีเริ่มต้น 20 mg/L สูงกว่ากรณีที่ความเข้มข้นของสังกะสีเริ่มต้น 10 mg/L เล็กน้อย เนื่องจากความสามารถในการทนต่อความเข้มข้นของสังกะสี และความสามารถในการนำสังกะสีเข้าสู่เซลล์ เพื่อเป็นแหล่งอาหาร และแหล่งพลังงานของจุลินทรีย์แต่ละชนิดแตกต่างกัน และไอโซเลตที่มีประสิทธิภาพต่ำที่สุดในการกำจัดสังกะสี คือไอโซเลต D (Bacillus gram negative) ซึ่งมีร้อยละการลดสังกะสีที่ความเข้มข้นสังกะสีเริ่มต้น 10 mg/L เท่ากับ 32.38 และที่สังกะสีความเข้มข้นเริ่มต้น 20 mg/L เท่ากับ 25.93 สำหรับไอโซเลต E พบว่าที่ความเข้มข้นของสังกะสีเริ่มต้น 10 mg/L จุลินทรีย์สามารถกำจัดสังกะสีได้สูงถึง 61.18% แต่ที่ความเข้มข้นของสังกะสีเริ่มต้น 20 mg/L ความสามารถของจุลินทรีย์กลับลดลงมาก และสามารถกำจัดสังกะสีได้เพียง 42.56% แสดงว่าที่ความเข้มข้นของสังกะสีในปริมาณสูงไอโซเลต E มีประสิทธิภาพในการนำสังกะสีเข้าสู่เซลล์ได้ต่ำ

เป็นที่น่าสังเกตว่าในกรณีไอโซเลตส่วนใหญ่การลดสังกะสีเกิดขึ้นมากกว่าร้อยละ 50 เมื่อใช้ปริมาณสังกะสีตั้งต้น 10 mg/L แต่การลดสังกะสีมีค่าต่ำกว่าร้อยละ 50 กรณีปริมาณสังกะสีตั้งต้น

20 mg/L ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากปริมาณสังกะสีที่มากขึ้นจะไปมีผลทำให้เกิดความเป็นพิษต่อเซลล์ของจุลินทรีย์ และมีผลทำให้อัตราการเจริญเติบโตช้ากว่ากรณีที่ใช้สังกะสีความเข้มข้นต่ำ (10 mg/L)

**ตารางที่ 4.7** ร้อยละการกำจัดสังกะสีของจุลินทรีย์ 5 ไอโซเลต ที่ความเข้มข้นสังกะสี 10 และ 20 mg/L

| Isolate | % Removal of Zn | |
|---|---|---|
| | Initial Zn =10 mg/L | Initial Zn =20 mg/L |
| A | 54.14 | 48.81 |
| B | 52.89 | 49.48 |
| C | 51.06 | 54.23 |
| D | 32.38 | 25.93 |
| E | 61.18 | 42.56 |

เชื้อที่คัดแยกได้ทั้ง 5 ไอโซเลตนี้ มีลักษณะและสมบัติการกำจัดสังกะสีที่ต่างจาก 2 ไอโซเลตคัดแยกจากน้ำทิ้งโรงงานผลิตภัณฑ์ยางพาราที่รายงานโดยจิติพร (2547) ซึ่งเป็นแบคทีเรียแกรมบวก รูปร่างแบบแท่ง และแบบกลม ลดปริมาณของสังกะสีในสารละลายได้ 53.3 และ 58.3% ตามลำดับ เมื่อใช้ความเข้มข้นสังกะสีเริ่มต้น 3.0 mg/L ในเวลา 14 วัน การที่ระยะเวลาในการทดลองแตกต่างกัน อาจเนื่องมาจากความเข้มข้นของสังกะสีตั้งต้นที่ใช้ต่างกัน โดยการศึกษาครั้งนี้มีค่าสูงกว่า คือ 10 และ 20 mg/L ซึ่งปริมาณของสังกะสีตั้งต้นจะมีผลต่ออัตราการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่จะนำสังกะสีไปใช้ในเซลล์ เพราะปริมาณโลหะหนักที่ความเข้มข้นสูงจะทำให้เกิดความเป็นพิษต่อจุลินทรีย์ ที่สังกะสีปริมาณ 3.0 mg/L จุลินทรีย์สามารถอยู่รอดได้นานกว่า

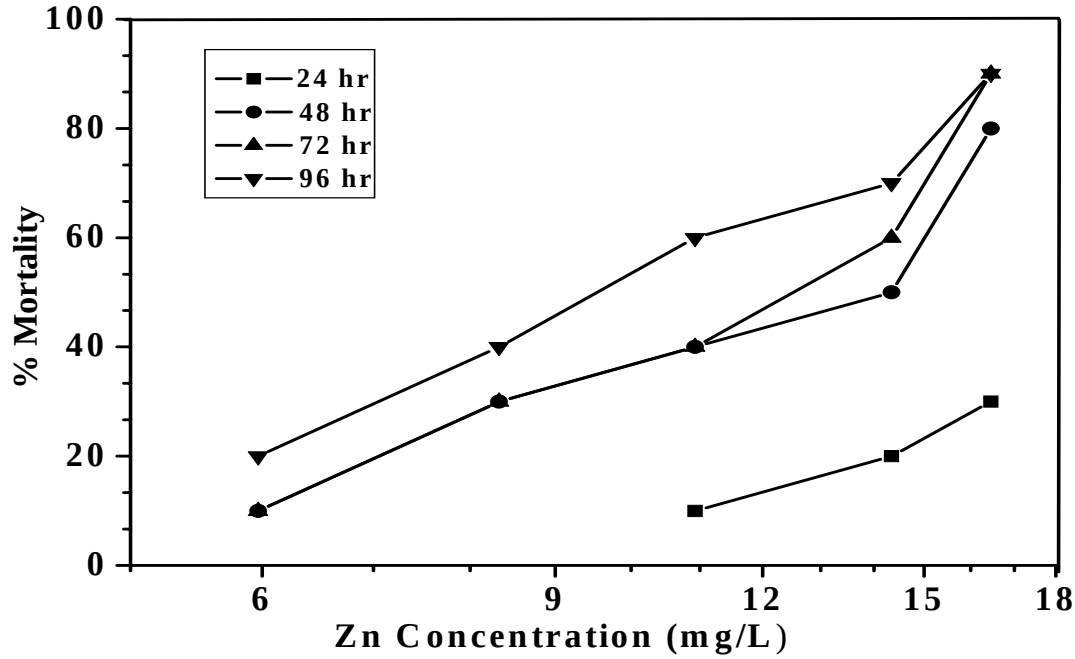
สำหรับไอโซเลต C ซึ่งเป็นแบคทีเรียแกรมลบ แบบแท่งท่อนสั้นมีขนาดของเซลล์ค่อนข้างเล็กกว่าแบคทีเรียชนิดอื่นๆ ที่คัดแยกได้ และมีการกระจายตัวของโคโลนีชนิดนี้มากกว่าแบคทีเรียชนิดอื่นเมื่อทำการ Steak plate หรือ Pore plate มีระยะเจริญแบบคงที่นานทำให้มีเซลล์ที่ยังมีชีวิตอยู่มากกว่าไอโซเลตอื่นๆ ไอโซเลต C จึงเป็นจุลินทรีย์ที่สามารถเจริญอยู่ได้ในตัวกลางที่มีสังกะสีปริมาณได้สูงถึง 20 mg/L และมีประสิทธิภาพในการลดสังกะสีได้มากกว่าร้อยละ 50 ทั้งที่ในสังกะสีตั้งต้น 10 และ 20 mg/L ดังนั้นจึงได้เลือกจุลินทรีย์ไอโซเลต C นี้มาศึกษาการลดสังกะสีจากกากตะกอน และทดสอบความเป็นพิษหลังการลดด้วยจุลินทรีย์

## 4.4 ความเป็นพิษของสังกะสีในกากตะกอนต่อหนอนแดงก่อนและหลังการกำจัดด้วยจุลินทรีย์ที่คัดแยกได้จากกากตะกอน

### 4.4.1 พิษเฉียบพลันของสังกะสีในกากตะกอนต่อหนอนแดงก่อนการกำจัดด้วยจุลินทรีย์ที่ คัดแยกได้

สารละลายสังกะสีที่ออกมาจากกากตะกอนมีความเข้มข้นเท่ากับ 108.3± 13.78 mg/L ใช้เป็น Stock solution สำหรับการทดสอบความเป็นพิษก่อนลดสังกะสีด้วยจุลินทรีย์ที่คัดแยกได้

ผลการทดสอบพิษเฉียบพลันของสังกะสีจากกากตะกอนต่อหนอนแดง พบว่าการตายของหนอนแดงมีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของสังกะสีเพิ่มขึ้นในทุกช่วงเวลาที่ศึกษา กล่าวคือ ที่ความเข้มข้นของสังกะสี 5.96 mg/L หนอนแดงมีการตาย 20% และมีการตาย 90% ที่ความเข้มข้นของสังกะสี 16.45 mg/L เมื่อเวลาผ่านไป 96 hr (รูปที่ 4.17)




**รูปที่ 4.17** ร้อยละการตาย (% Mortality) ของหนอนแดงที่เวลา 48, 72 และ 96 hr เมื่อใช้สารละลายสังกะสีจากกากตะกอนความเข้มข้นต่างๆ ก่อนลดด้วยจุลินทรีย์ไอโซเลต C

เมื่อคำนวณหาค่า $LC_{50}$ที่เวลา 24, 48, 72 และ 96 hr โดยใช้โปรแกรม Probit Analysis พบว่าเมื่อเวลาการได้รับสังกะสีมากขึ้น ค่า $LC_{50}$ มีค่าลดลง โดยค่า $LC_{50}$ ที่เวลา 24 hr เท่ากับ 29.59 mg/L ค่า $LC_{50}$ ที่เวลา 48 hr เท่ากับ 11.91 mg/L ค่า $LC_{50}$ ที่เวลา 72 hr เท่ากับ 10.58 mg/L และที่ 96 hr เท่ากับ 9.50 mg/L (ตารางที่ 4.8)

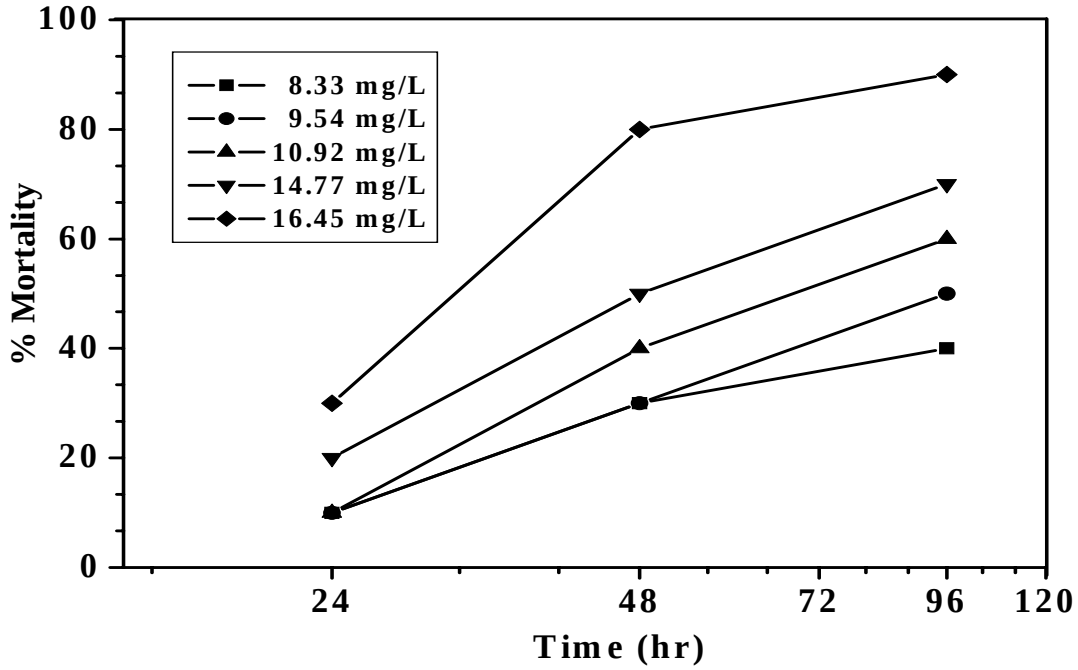
เมื่อเปรียบเทียบกับความเป็นพิษของสังกะสีในรูป ZnO พบว่ามีความสอดคล้องกันคือ มีความเป็นพิษมากขึ้นเมื่อเวลาเพิ่มขึ้น ที่เวลา 48 hr ค่า $LC_{50}$ ของ ZnO มีค่าสูงกว่าค่า $LC_{50}$ ของสังกะสีในกากตะกอนก่อนลดด้วยจุลินทรีย์ แสดงว่าที่เวลา 48 hr สังกะสีในกากตะกอนมีความเป็นพิษต่อหนอนแดงมากกว่าสารละลาย ZnO ในขณะที่เวลา 72 และ 96 hr สังกะสีในกากตะกอนก่อนลดด้วยจุลินทรีย์ มีค่าสูงกว่าค่า $LC_{50}$ ของ ZnO เนื่องจากการทดสอบพิษในสารละลายสังกะสีจากกากตะกอนช่วงเวลาก่อน 72 hr หนอนแดงไม่สามารถปรับตัวกับสภาพการเปลี่ยนแปลงของสารละลายที่อยู่ได้ โดยสารละลายจาก กากตะกอนมีการเปลี่ยนของค่าหลายปัจจัยที่อาจมีผลต่อหนอนแดง ในขณะที่สารละลาย ZnO ใช้น้ำกรองในห้องปฏิบัติการพิษวิทยาในการเตรียม อย่างเดียวกันกับที่ใช้เลี้ยงหนอนแดง ทำให้หนอนแดงเกิดการตายมากในช่วงแรก เมื่อผ่านไปที่เวลา 72 และ 96 hr ของสารละลายสังกะสีจากกากตะกอน หนอนแดงมีค่าการตายน้อยกว่าสารละลายสังกะสีในน้ำกรอง เนื่องจากสภาวะการละลายของสังกะสีจากกากตะกอนน้อยกว่าในสารละลาย ZnO เพราะค่า pH ที่เป็นกลาง และไอออนของแมกนีเซียมในขั้นการตกตะกอนทำให้น้ำมีความกระด้าง จึงทำให้เป็นพิษต่อหนอนแดงลดลง (พัชรภรณ์, 2546)

**ตารางที่ 4.8** ค่า $LC_{50}$ ของสังกะสีต่อหนอนแดงที่เวลา 48, 72 และ 96 hr ก่อนลดด้วยจุลินทรีย์ไอโซเลต C

| Time (hr) | $LC_{50}$ (mg/L) | 95% Confidence Interval | Slope $LC_{50}$ | Significant Difference (*) |
|---|---|---|---|---|
| 48 | 11.91 | 9.20-15.40 | 1.80 | a |
| 72 | 10.58 | 8.62-12.99 | 1.60 | a |
| 96 | 9.50 | 7.75-11.66 | 1.69 | a |

**หมายเหตุ** (*) มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อมีตัวอักษรที่ต่างกัน

ผลการทดสอบความเป็นพิษเฉียบพลัน แสดงให้เห็นว่าการตายของหนอนแดงเพิ่มขึ้นเมื่อเวลาผ่านไป และไม่มีการตายในชุดควบคุม ดัง รูปที่ 4.18 เมื่อคำนวณหาค่า $LT_{50}$ ที่เวลาต่างๆ โดยใช้โปรแกรม Probit Analysis พบว่าค่า $LT_{50}$ มีค่าลดลงเมื่อความเข้มข้นของสารละลายสังกะสีมีค่าเพิ่มขึ้น โดยที่ความเข้มข้นของสังกะสี 8.33 mg/L $LT_{50}$ เท่ากับ 104.5 hr ในขณะที่ความเข้มข้นสังกะสี 16.45 mg/L ค่า $LT_{50}$ เท่ากับ 32.98 hr (ตารางที่ 4.9)

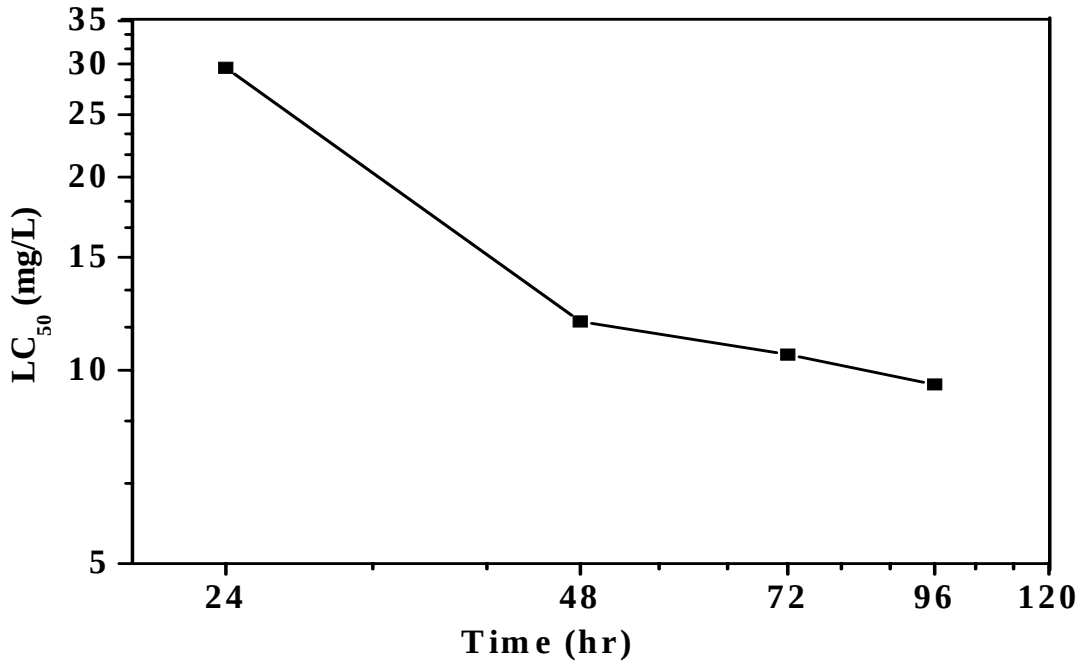



**รูปที่ 4.18** ร้อยละการตายของหนอนแดงที่เวลาต่างๆ (hr) เมื่อใช้สารละลายสังกะสีจากกากตะกอนเข้มข้น 8.33, 9.54, 10.92, 14.77 และ 16.45 mg/L ก่อนลดด้วยจุลินทรีย์ไอโซเลต C

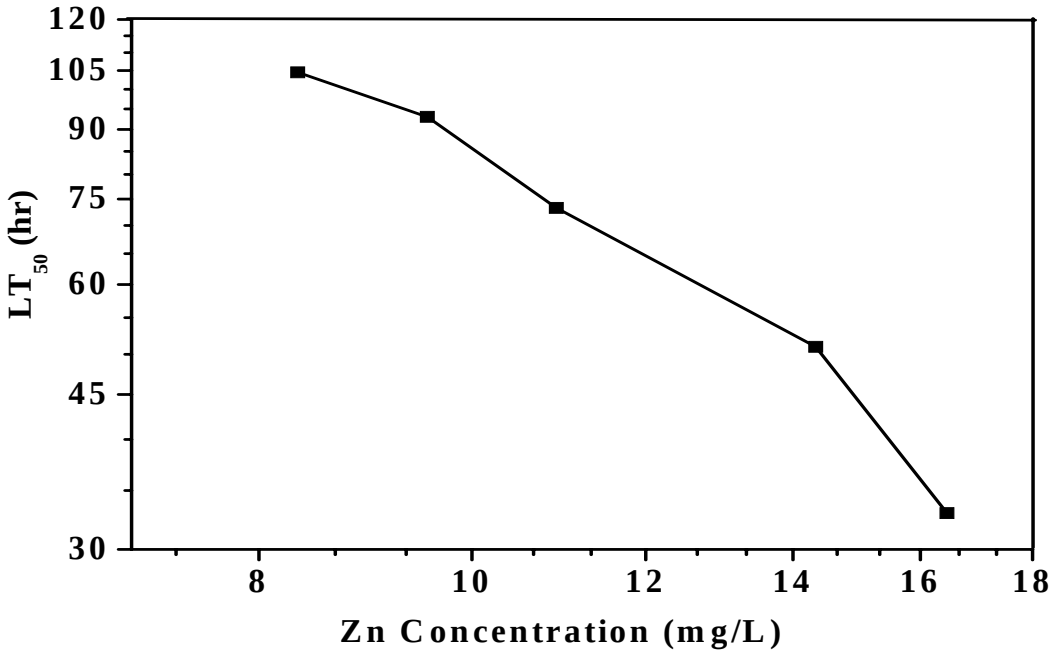
**ตารางที่ 4.9** ค่า $LT_{50}$ ของสังกะสีต่อหนอนแดงที่ความเข้มข้นต่างๆ ก่อนลดด้วยจุลินทรีย์ไอโซเลต C

| Zn Concentration (mg/L) | $LT_{50}$ (hr) | 95% Confidence Interval | Slope $LC_{50}$ | Significant Difference (*) |
|---|---|---|---|---|
| 8.33 | 104.5 | 36.49-299.21 | 3.36 | a |
| 9.54 | 93.02 | 40.38-214.24 | 2.98 | a |
| 10.92 | 73.32 | 35.98-149.40 | 2.76 | a |
| 14.34 | 50.95 | 26.58-97.68 | 2.68 | ab |
| 16.45 | 32.98 | 23.02-47.24 | 1.78 | b |

จากค่า $LC_{50}$ และค่า $LT_{50}$ ที่ได้จากการทดลองสามารถนำมาเขียนกราฟความเป็นพิษ (Toxicity curve) ได้ดังแสดงใน รูปที่ 4.19 และรูปที่ 4.20




**รูปที่ 4.19** ความเป็นพิษของสังกะสีจากกากตะกอนในรูป $LC_{50}$ (mg/L) ต่อหนอนแดงที่เวลา 24, 48, 72 และ 96 hr ก่อนลดด้วยจุลินทรีย์ไอโซเลต C




**รูปที่ 4.20** ความเป็นพิษของสังกะสีจากกากตะกอนในรูป $LT_{50}$ (hr) ต่อหนอนแดงที่ความเข้มข้นต่างๆ (mg/L) ก่อนลดด้วยจุลินทรีย์ไอโซเลต C

ปริมาณสังกะสีในกากตะกอนก่อนลดด้วยจุลินทรีย์ที่ทำให้สัตว์ทดลองตาย 50% ที่ระยะเวลา 96 hr เป็น 9.50 mg/L ซึ่งพบว่าความเป็นพิษของสังกะสีรวมในกากตะกอนต่ำกว่าความเป็นพิษของสังกะสีในรูป ZnO ที่เตรียมในห้องปฏิบัติการ ($LC_{50}$=5.90 mg/L) การที่เป็นเช่นนี้อาจเนื่องมาจากค่า pH ของสารละลาย โดยในสารละลายที่เตรียมจากกากตะกอนมีค่า pH ค่อนไปทางด่างเล็กน้อย (pH 7.15) ในขณะที่สารละลายสังกะสี (ZnO) ในน้ำกรองมีค่า pH ค่อนไปทางกรด ซึ่งมีผลทำให้สังกะสีละลายในน้ำได้เพิ่มขึ้น และอยู่ในรูปที่ก่อให้เกิดความเป็นพิษต่อสิ่งมีชีวิตได้มากขึ้นด้วย (พัชรภรณ์, 2546) นอกจากนี้สังกะสีรวมในกากตะกอนอาจมีการเปลี่ยนรูปจาก ZnO ที่เติมลงไปเป็นสารประกอบของสังกะสีในรูปอื่นเนื่องจากในกระบวนการของโรงงานอุตสาหกรรมยางพารามีการเติมสารเคมีชนิดอื่นร่วมด้วย เช่น Tetramethyl thiuram disulfide (TMTD) และ Diammonium phosphate (DAP) ซึ่งเติมเพื่อการรักษาสภาพน้ำยาง และตกตะกอนแมกนีเซียม (กรมควบคุมมลพิษ, 2548) โดยไอออนของแมกนีเซียมมีผลต่อการละลายของสังกะสีทำเกิดสารประกอบคาร์บอเนตที่ไม่ละลายน้ำทำให้คุณภาพน้ำในบ่อรวมน้ำเสียกลายเป็นน้ำกระด้าง โลหะหนักเปลี่ยนมาอยู่ในรูปที่สิ่งมีชีวิตไม่สามารถนำมาใช้ได้ เนื่องจาก $Mg^{2+}$ และ $Ca^{2+}$ สามารถเข้าไปแย่งจับที่ active site ของเนื้อเยื่อแทนโลหะหนัก ทำให้โลหะหนักสามารถเข้าสู่ร่างกายสิ่งมีชีวิตได้น้อยลง (พัชรภรณ์, 2546)

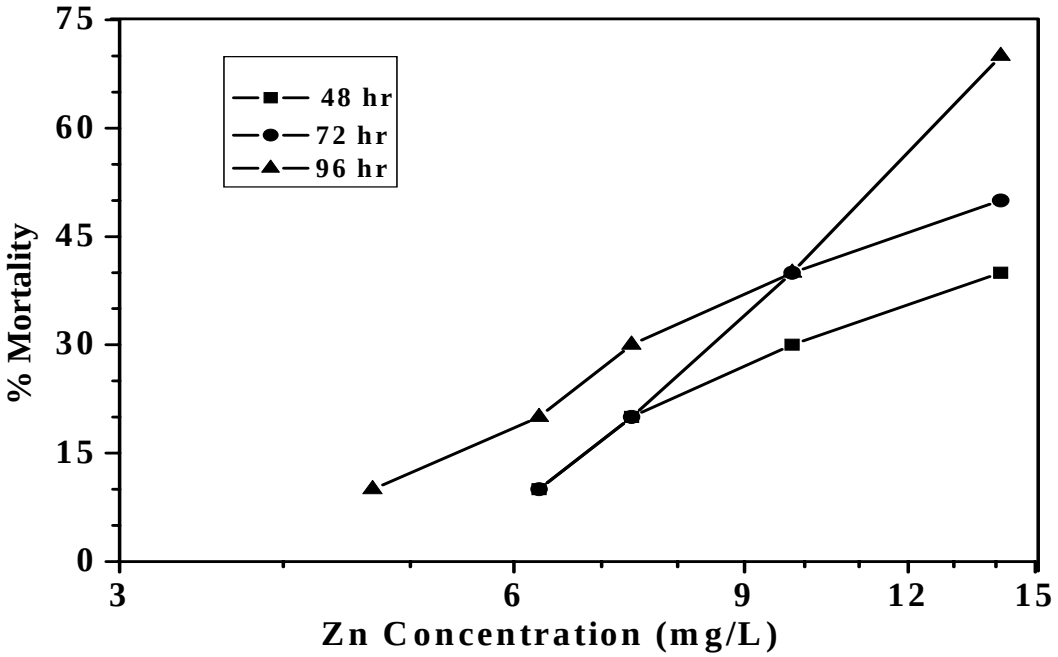
ส่วนการศึกษาผลของความกระด้างต่อความเป็นพิษของสังกะสีพบว่าความเป็นพิษของสังกะสีจะลดลงเมื่อความกระด้างของน้ำเพิ่มมากขึ้น (Everall *et al.,* 1989) Sayer *et al*. (1989) ทดลองให้สังกะสีกับ yolk –sac ของลูกปลา Brown trout (*Salmo trutta*) ที่ระดับความเข้มข้น 4.9, 9.8 และ 19.5 ไมโครกรัมต่อลิตร (75, 150 และ 300 นาโนโมลต่อลิตร) ที่ pH 4.5 และความเข้มข้นของแคลเซียมเป็น 20 และ 200 ไมโครโมล เป็นเวลา 30 วันพบว่ากลุ่มที่มีความเข้มข้นของแคลเซียมต่ำจะมีการตายของสัตว์ทดลองสูง (70-100%) สำหรับทุกชุดทดลองที่มีสังกะสีทั้ง 3 ระดับความเข้มข้น ส่วนในกลุ่มที่ความเข้มข้นของแคลเซียมสูงไม่มีการตายของลูกปลาเกิดขึ้น และพบว่าสังกะสีนั้นมีผลต่อการดูดซึมเกลือแร่ในปลาอย่างมีนัยสำคัญ นอกจากนี้สังกะสียังมีการจับตัวกับสารประกอบพวกฟอสเฟตและซัลเฟตทำให้เกิดการตกตะกอนสะสมอยู่ในชั้นของกากตะกอน ซึ่งมีจุลินทรีย์ร่วมอยู่ด้วย โดยจุลินทรีย์จะย่อยสังกะสีเพื่อใช้เป็นแหล่งอาหารและพลังงานภายในเซลล์ (สุทธิลักษ์, 2549) ดังที่ได้ทำการคัดแยกจุลินทรีย์จากกากตะกอน พบ 5 ไอโซเลตที่สามารถลดสังกะสีได้ โดยสังกะสีในกากตะกอนไม่เป็นพิษกับจุลินทรีย์ แต่อยู่ในรูปที่จุลินทรีย์สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ เนื่องจากความสามารถในการย่อยสลายของจุลินทรีย์จะขึ้นอยู่กับลักษณะของดินที่ปนเปื้อน ความเป็นพิษ และปริมาณเริ่มต้นของสารปนเปื้อน โดยบริเวณที่จุลินทรีย์ไม่สามารถย่อยสลายได้คือบริเวณที่มีปริมาณโลหะหนักชนิดต่างๆ สูง เช่น ไอออนโลหะหนักที่ปนเปื้อนจาก

โรงงานอุตสาหกรรมประเภท โรงงานชุบโลหะ โรงงานฟอกย้อม โรงงานผลิตแผ่นสังกะสี เป็นต้น โดยโลหะหนักที่ปนเปื้อน ได้แก่ ตะกั่ว แคดเมียม สังกะสี ปรอท มีความเป็นพิษสูง ไม่สามารถย่อยสลายตามธรรมชาติ เมื่อสะสมในเซลล์สิ่งมีชีวิตจะทำให้เกิดโรคร้ายแรง (Wang *et al.*, 2003)

### 4.4.2 พิษเฉียบพลันของสังกะสีในกากตะกอนต่อหนอนแดง หลังการกำจัดด้วยจุลินทรีย์ที่คัดแยกได้

สารละลายสังกะสีรวมจากกากตะกอนที่เหลือจากการลดด้วยจุลินทรีย์ไอโซเลต C มีความเข้มข้นเท่ากับ 62.05± 5.82 mg/L ใช้เป็น Stock solution สำหรับการทดสอบความเป็นพิษหลังการลดสังกะสีด้วยจุลินทรีย์

ผลการทดสอบพิษเฉียบพลันของสังกะสีจากกากตะกอนต่อหนอนแดงหลังการกำจัดด้วยจุลินทรีย์ไอโซเลต C แสดงให้เห็นว่าการตายของหนอนแดงมีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของสังกะสีเพิ่มขึ้นในทุกช่วงเวลาที่ศึกษา กล่าวคือ ที่ความเข้มข้นของสังกะสี 4.68 mg/L หนอนแดงมีการตาย 10% และมีการตาย 70% ที่ความเข้มข้นของสังกะสี 14.11 mg/L เมื่อเวลาผ่านไป 96 hr (รูปที่ 4.21)




**รูปที่ 4.21** ร้อยละการตาย (% Mortality) ของหนอนแดงที่เวลา 48, 72 และ 96 hr เมื่อใช้สารละลายสังกะสีจากกากตะกอนความเข้มข้นต่างๆ หลังลดด้วยจุลินทรีย์ไอโซเลต C

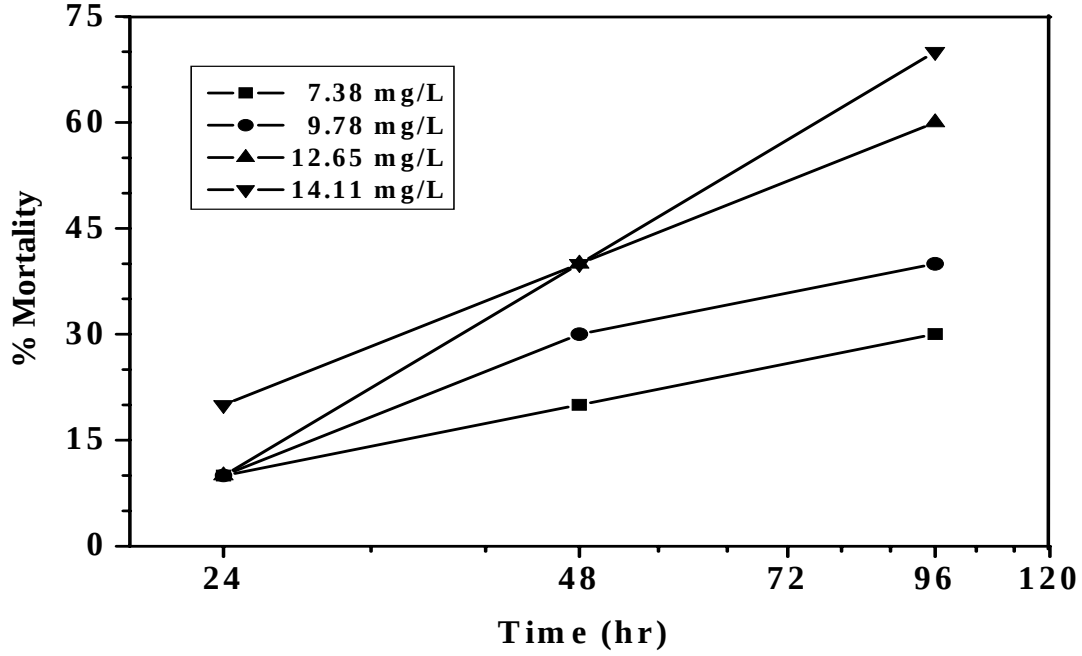
ค่า $LC_{50}$ ที่เวลา 48, 72 และ 96 hr ซึ่งคำนวนใช้โปรแกรม Probit Analysis เท่ากับ 14.66, 12.36 และ 10.64 mg/L ตามลำดับ (ตารางที่ 4.10)

**ตารางที่ 4.10** ค่า $LC_{50}$ ของสังกะสีต่อหนอนแดงที่เวลา 48, 72 และ 96 hr หลังลดด้วยจุลินทรีย์ไอโซเลต C

| Time (hr) | $LC_{50}$ (mg/L) | 95% Confidence Interval | Slope $LC_{50}$ | Significant Difference (*) |
|---|---|---|---|---|
| 48 | 14.66 | 10.20-21.07 | 2.05 | a |
| 72 | 12.36 | 8.80-17.36 | 1.98 | a |
| 96 | 10.64 | 8.31-13.62 | 1.88 | a |

**หมายเหตุ** (*) มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อมีตัวอักษรที่ต่างกัน

ผลการทดสอบความเป็นพิษเฉียบพลัน แสดงให้เห็นว่าการตายของหนอนแดงเพิ่มขึ้นเมื่อเวลาผ่านไป และไม่มีการตายในชุดควบคุม (รูปที่ 4.22) ค่า $LT_{50}$ มีค่าลดลงเมื่อความเข้มข้นของสารละลายสังกะสีมีค่าเพิ่มขึ้น โดยที่ความเข้มข้นของสังกะสี 7.38 mg/L $LT_{50}$ มีค่าเท่ากับ 241.54 hr ในขณะที่สังกะสี 14.11 mg/L ค่า $LT_{50}$ เท่ากับ 62.55 hr (ตารางที่ 4.11)

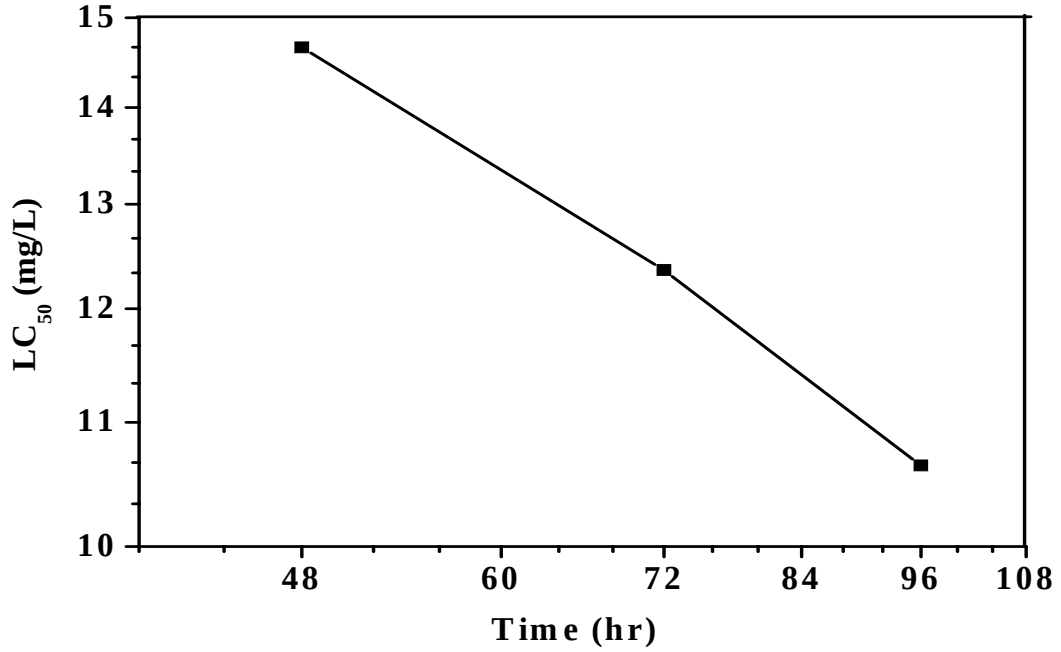



**รูปที่ 4.22** ร้อยละการตายของหนอนแดงที่เวลาต่างๆ (hr) เมื่อใช้สารละลายสังกะสีจากกากตะกอนเข้มข้น 7.38, 9.78, 12.65 และ 14.11 mg/L หลังลดด้วยจุลินทรีย์ไอโซเลต C

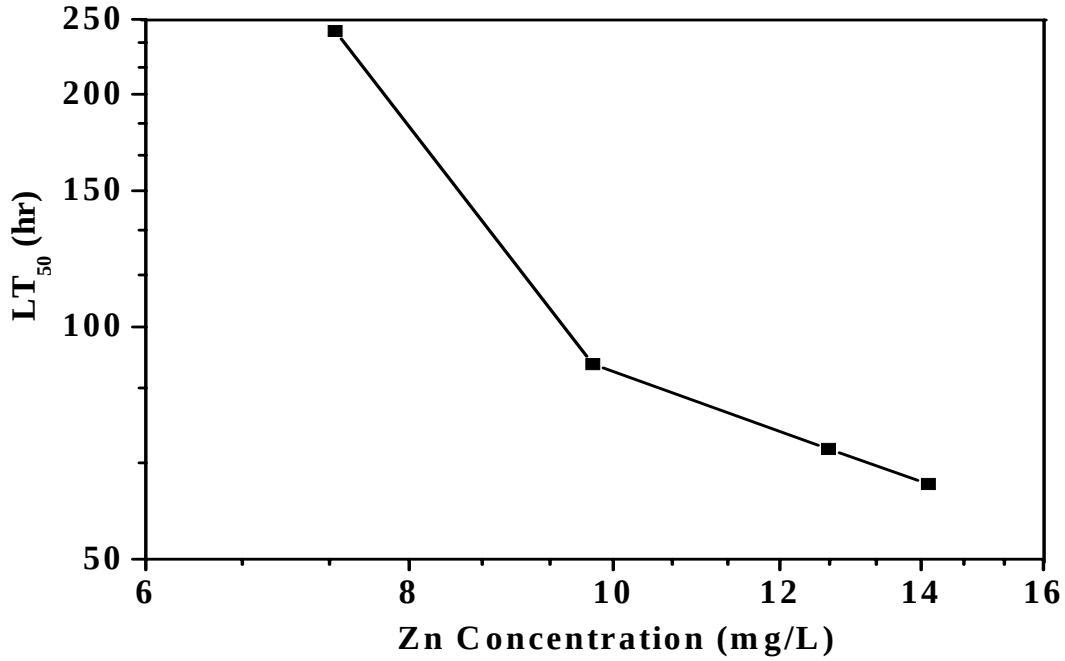
**ตารางที่ 4.11** ค่า $LT_{50}$ ของสังกะสีต่อหนอนแดงที่ความเข้มข้นต่างๆ หลังลดด้วยจุลินทรีย์ไอโซเลต C

| Zn Concentration (mg/L) | $LT_{50}$ (hr) | 95% Confidence Interval | Slope $LC_{50}$ | Sinificant Difference (*) |
|---|---|---|---|---|
| 7.38 | 241.54 | 33.95-1718.48 | 6.18 | a |
| 9.78 | 89.43 | 35.91-222.73 | 2.86 | a |
| 12.65 | 69.48 | 35.64-135.46 | 2.59 | a |
| 14.11 | 62.55 | 30.70-127.46 | 2.93 | a |

จากค่า $LC_{50}$ และค่า $LT_{50}$ ที่ได้จากการทดลองสามารถนำมาเขียนกราฟความเป็นพิษ (Toxicity curve) ได้ดังแสดงใน รูปที่ 4.23 และ รูปที่ 4.24




**รูปที่ 4.23** ความเป็นพิษของสังกะสีจากกากตะกอนในรูป $LC_{50}$ (mg/L) ต่อหนอนแดงที่เวลา 48, 72 และ 96 hr หลังลดด้วยจุลินทรีย์ไอโซเลต C




**รูปที่ 4.24** ความเป็นพิษของสังกะสีจากกากตะกอนในรูป $LT_{50}$ (hr) ต่อหนอนแดงที่ความเข้มข้นต่างๆ (mg/L) หลังลดด้วยจุลินทรีย์ไอโซเลต C

ความเข้มข้นของสังกะสีจากกากตะกอนหลังลดด้วยจุลินทรีย์ที่ทำให้สัตว์ทดลองตาย 50% ที่ระยะเวลา 96 hr คือ 10.64 mg/L ซึ่งพบว่าความเป็นพิษของสังกะสีจากกากตะกอนหลังลดด้วย จุลินทรีย์ไอโซเลต C ต่ำกว่าความเป็นพิษของสังกะสี (ZnO) ที่เตรียมในห้องปฏิบัติการและชุดทดลองก่อนการลดด้วยจุลินทรีย์ แสดงว่าหลังการลดด้วยจุลินทรีย์ ความเป็นพิษของสังกะสีจากกากตะกอนลดลง (ตารางที่ 4.12) โดยที่เวลา 48 hr ค่า $LC_{50}$ ของสารละลาย ZnO มีค่ามากกว่าค่า $LC_{50}$ ของสังกะสีจากกากตะกอนก่อนลดด้วยจุลินทรีย์อย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งเนื่องมาจากความแตกต่างของคุณภาพน้ำที่ใช้ทดลอง ในขณะที่เวลา 96 hr ค่า $LC_{50}$ ของสารละลาย ZnO มีค่าน้อยกว่า ค่า $LC_{50}$ ของสังกะสีจากกากตะกอนหลังลดด้วยจุลินทรีย์อย่างมีนัยสำคัญ (ตารางที่ 4.12)

**ตารางที่ 4.12** ค่า $LC_{50}$ ที่เวลาต่างๆ ของสารละลาย ZnO และสังกะสีรวมจากกากตะกอนต่อหนอนแดงก่อนและหลังการลดด้วยจุลินทรีย์

| Time (hr) | $LC_{50}$ (mg/L) | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | ZnO | Sinificant Difference (*) | Zn form sludge | | | |
| | | | Before | Sinificant Difference (*) | After | Sinificant Difference (*) |
| 48 | 21.00 | a | 11.91 | be | 14.66 | ae |
| 72 | 10.17 | ce | 10.58 | bc | 12.36 | abe |
| 96 | 5.90 | d | 9.50 | bcd | 10.64 | be |

**หมายเหตุ** (*) มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อมีตัวอักษรที่ต่างกัน

ความเป็นพิษของสังกะสีรวมจากกากตะกอนทั้งก่อนและหลังการลดปริมาณสังกะสีด้วยจุลินทรีย์ไอโซเลต C มีความเป็นพิษน้อยกว่าสังกะสีในรูป ZnO ที่เตรียมในห้องปฏิบัติการ ทั้งนี้เนื่องจากสังกะสีในรูป ZnO มีความเป็นพิษสูงเมื่อเทียบกับสังกะสีในรูปอื่นๆ ดังเช่นที่ Fargasova (2001) รายงานความเป็นพิษของสังกะสีในรูป $ZnSO_4$ ต่อหนอนแดง (*C. plumosus*) มีค่า $LC_{50}$ ที่เวลา 96 hr เท่ากับ 32.60 mg/L พัชรภรณ์ (2546) รายงานความเป็นพิษของสังกะสีในรูป $ZnCl_2$ ต่อปลานิล (*O. niloticus*) มีค่า $LC_{50}$ ที่เวลา 96 hr เท่ากับ 40.49 mg/L และ Karnthanut (2002) รายงานความเป็นพิษของสังกะสีในรูป $ZnCl_2$ ต่อไฮดรา (*H. valgaris*) มีค่า $LC_{50}$ ที่เวลา 96 hr เท่ากับ 14.00 mg/L สังกะสีในรูปต่างๆ เหล่านี้มีความเป็นพิษค่อนข้างต่ำเมื่อเทียบกับการทดลองครั้งนี้ ซึ่งใช้สังกะสีในรูป ZnO สังกะสีบางส่วนในกากตะกอนอาจรวมกับสารเคมีที่เติมลงไปในกระบวนการของโรงงานเป็นสารประกอบที่มีความเป็นพิษลดลงและจุลินทรีย์สามารถนำเข้าไปใช้ในเซลล์ได้ อีกทั้งคุณภาพของน้ำในบ่อรวมน้ำเสีย ทั้งค่า pH ที่เป็นด่างเล็กน้อย และความกระด้างยังมีผลต่อการละลายของสังกะสี และการเปลี่ยนรูปของสังกะสีให้อยู่ในรูปที่เป็นพิษต่อสิ่งมีชีวิตซึ่งแตกต่างจากสารละลาย ZnO ที่เตรียมในห้องปฏิบัติการ (พัชรภรณ์, 2546)

จุลินทรีย์นอกจากมีส่วนช่วยในการลดปริมาณสังกะสีที่ละลายในน้ำแล้ว ยังมีผลทำให้หนอนแดงตอบสนองต่อความเป็นพิษของสังกะสีได้ลดลง ดังนั้นกากตะกอนหรือน้ำเสียที่ออกจากโรงงานหากมีการกำจัดสังกะสีที่ปนเปื้อนอยู่ ด้วยจุลินทรีย์ก่อนในเบื้องต้นจะมีส่วนช่วยในการลดความเป็นพิษของสารละลายสังกะสีต่อสิ่งมีชีวิตตามแหล่งน้ำในสิ่งแวดล้อมได้ การใช้จุลินทรีย์ในการลดปริมาณสังกะสีจึงเป็นแนวทางที่เหมาะสม เนื่องจากมีค่าใช้จ่ายต่ำกว่าการกำจัดสังกะสีโดยวิธีอื่นๆ เช่น วิธีการทางเคมี (chemical precipitation) วิธีการทางไฟฟ้า (electroplating) การแยกด้วย

แผ่นเยื่อบาง (membrane separation) และการแลกเปลี่ยนไอออน (ion exchange chromatography) (Aderhold *et al*., 1996; Volesky and Holan, 1995) เพราะจุลินทรีย์ที่ใช้มีอยู่ในธรรมชาติ มีวิธีการที่ไม่ยุ่งยากในการคัดแยก และการเลี้ยงบนอาหารซึ่งใช้เวลาน้อยคือประมาณ 48 hr สำหรับการเจริญเติบโตของเชื้อ แต่สามารถลดความเข้มข้นของสังกะสีได้ถึง 50% ซึ่งอาจมีการเติมเชื้อใหม่ในทุกๆ 2 วัน เพื่อให้ได้เชื้อที่มีประสิทธิภาพในการลดสูงสุด ทั้งนี้ต้องมีการเจือจางน้ำจากกากตะกอนประมาณ 10 เท่า ให้อยู่ในช่วงที่เชื้อสามารถนำสังกะสีไปใช้ได้คือ ที่ 10 และ 20 mg/L เพราะในบ่อรวมน้ำเสียมีความเข้มข้นของสังกะสีที่เกินค่ามาตรฐาน เนื่องจากที่ความเข้มข้นสูง สังกะสีมีความเป็นพิษต่อจุลินทรีย์ และลดความสามารถของเชื้อ การลดปริมาณสังกะสีโดยใช้จุลินทรีย์ยังสามารถปรับปรุงให้มีประสิทธิภาพดีขึ้นได้อีก โดยต้องมีการศึกษาถึงปัจจัยด้านกายภาพ และชีวภาพเพื่อนำจุลินทรีย์ไปใช้ในระบบการบำบัด ให้ได้ระบบที่เหมาะสมและมีประสิทธิภาพสูงสุด ดังเช่นงานวิจัยของ ชยาภาส (2547) ที่ศึกษาการกำจัดไอออนของสังกะสีจากน้ำเสียด้วยตะกอนจุลินทรีย์ โดยศึกษาถึงระยะเวลา ปริมาณการใช้จุลินทรีย์ ปริมาณสังกะสีเริ่มต้น ซึ่งทำให้ได้ค่าการกำจัดไอออนสังกะสีได้สูงสุดถึง 97-99% นอกจากนี้การศึกษาถึงชนิดของจุลินทรีย์ที่ที่มีความทนต่อสังกะสีและมีความสามารถในการลดสังกะสีได้ดีจะช่วยให้ร้อยละการลดของสังกะสีเพิ่มขึ้น ดังรายงานของ Gadd (1990) ที่พบว่าเชื้อราสามารถทนต่อไอออนของตะกั่ว แคดเมียม และสังกะสีได้ดีกว่าแบคทีเรีย ดังนั้นการเลือก จุลินทรีย์ที่เหมาะสมจึงยิ่งช่วยเพิ่มศักยภาพของวิธีการนี้ได้ดีขึ้นอีกด้วย

น้ำจากกากตะกอนนี้สามารถนำมาใช้ประโยชน์ได้ในการเพาะปลูกพืช จากรายงานของรุจิรัตน์ (2542) ที่ใช้น้ำซีรัมที่แยกได้จากน้ำทิ้งของโรงงานผลิตน้ำยางข้นเพาะเห็ดนางฟ้าพบว่าปริมาณสังกะสีในดอกเห็ดมีค่าเฉลี่ย 60 mg/kg อาหาร ซึ่งต่ำกว่าค่ามาตรฐานคือ 100 mg/kg อาหาร ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข พ.ศ. 2529 นอกจากนี้ในรายงานวิจัยของวิภาพรรณ (2549) มีการนำกากขี้แป้งจากโรงงานอุตสาหกรรมน้ำยางข้นผสมกับกากตะกอนจากอุตสาหกรรมแปรรูปสัตว์น้ำและกากดีแคนเตอร์จากอุตสาหกรรมปาล์มน้ำมันใช้เป็นวัสดุปลูกหญ้าสนาม วลัยพร (2547) ใช้กากขี้แป้งเป็นวัสดุบำรุงดินสำหรับการปลูกผักกาดหอม มะเขือเทศ และข้าว พบว่าส่วนผสมระหว่างดิน: กากขี้แป้ง: กากตะกอนจากโรงงานไก่สด ในอัตราส่วน 1: 3: 1 ทำให้การเติบโตของพืชทดลองไม่แสดงอาการของการขาดธาตุอาหาร และปริมาณการสะสมของสังกะสีในดินอยู่ในช่วงที่ยอมรับได้ในดินเพื่อการเกษตร

จากผลการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่ากากตะกอนซึ่งเป็นของเสียในโรงงานอุตสาหกรรมยางพาราสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ โดยใช้เป็นองค์ประกอบของวัสดุปลูก หรือปุ๋ยอินทรีย์สำหรับการเพาะปลูกพืช โดยต้องมีการลดปริมาณสังกะสีที่ปนเปื้อนในกากตะกอนโดยเติมจุลินทีย์ที่คัดแยกได้ลงไปให้เหลือในระดับที่จุลินทรีย์ต่างๆ เจริญเติบโตได้ และสามารถกำจัดสังกะสีในกาก

ตะกอนได้ดีขึ้น ซึ่งเป็นการประหยัดต้นทุนและเวลา รวมถึงการเพิ่มมูลค่าของเสียกากตะกอนจากโรงงานอุตสาหกรรมน้ำยางข้น การทดลองครั้งนี้ได้ทดสอบความเป็นพิษของสังกะสีจากกากตะกอนต่อหนอนแดง เพื่อเป็นแนวทางในการประเมินความเป็นพิษของสังกะสีที่อาจมีการปนเปื้อนเข้าสู่สิ่งแวดล้อม พบว่าอย่างไรก็ตามหนอนแดงซึ่งจัดเป็นสัตว์หน้าดินที่มีความสำคัญในระบบห่วงโซ่อาหาร สามารถทนต่อความเป็นพิษของสังกะสีได้ค่อนข้างมาก การศึกษาครั้งนี้จึงเป็นข้อมูลพื้นฐานประกอบการพิจารณาในการกำหนดมาตรฐานคุณภาพน้ำเบื้องต้นเท่านั้น แต่สำหรับการกำหนดคุณภาพน้ำเพื่อให้เกิดความปลอดภัยต่อการดำรงชีวิตของสิ่งมีชีวิตในน้ำทุกชนิดนั้นจำเป็นต้องอาศัยข้อมูลอื่นๆ เช่นการทดสอบความเป็นพิษในระยะยาวของสังกะสีต่อการดำรงชีวิตของสัตว์ทดลองชนิดอื่นๆ ที่มีความไวต่อการตอบสนองต่อสังกะสีได้ดีที่สุด รวมถึงลักษณะทางกายภาพ และเคมีของแหล่งน้ำที่มีการปนเปื้อนมาประกอบการพิจารณาด้วย เพื่อให้สามารถกำหนดคุณภาพน้ำที่เหมาะสมและปลอดภัยต่อการดำรงชีวิตของสิ่งมีชีวิตที่อาศัยอยู่ในแหล่งน้ำนั้นๆ ได้อย่างถูกต้องและใกล้เคียงกับความเป็นจริงมากที่สุด