บทที่ 1

บทนำ

บทนำต้นเรื่อง

ปัจจุบันการพัฒนาและความเจริญทางด้านเทคโนโลยีและอุตสาหกรรมทำให้มีการปนเปื้อนของโลหะหนักในสิ่งแวดล้อมมากขึ้นจึงส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมและสิ่งมีชีวิต โดยสิ่งมีชีวิตสามารถรับพิษจากโลหะหนักได้โดยตรงและผ่านทางการสะสมในห่วงโซ่อาหาร หนึ่งในโลหะหนักที่มีความเป็นพิษสูงได้แก่สารหนู แหล่งของสารหนูในสิ่งแวดล้อมนั้นเกิดจากธรรมชาติและจากกิจกรรมของมนุษย์ เช่น การใช้สารหนูในรูปยาฆ่าแมลงและปราบศัตรูพืช เช่น เลดอาร์เซเนต (Lead arsenate) และโซเดียมอาร์เซเนต (Sodium arsenate) สารเติมแต่งในอาหาร เช่น กรด 4-ไนโตรฟีนิลอาร์โซนิก (4-Nitrophenylarsonic acid) ในอุตสาหกรรมยา และเป็นสารพิษเป็นต้น (คณะกรรมการสิ่งแวดล้อมแห่งชาติ, 2530)

ในประเทศไทยนั้นนอกจากสารหนูจะเป็นผลพลอยได้จากการถลุงแร่แล้วยังได้มีการนำเข้าจากต่างประเทศ เช่น จีน เยอรมัน ฝรั่งเศส สหรัฐอเมริกา เป็นต้น โดยนำเข้ามาในรูปสารประกอบอาร์เซนิกไตรออกไซด์และอาร์เซนิกเพนทอกไซด์สารประกอบที่สำคัญที่ใช้เป็นพื้นฐานของอุตสาหกรรมคือ อาร์เซนิกไตรออกไซด์ สารนี้เป็นผลพลอยได้จากการถลุงแร่ทองแดงและตะกั่ว มนุษย์ได้รับสารหนูในบรรยากาศจากการหายใจเข้าไปหรือทำงานเกี่ยวข้องกับสารหนู เช่น ในเหมืองแร่หรือโรงงานผลิตยาฆ่าแมลงประเภทสารหนู หรือรับประทานอาหารและเครื่องดื่มที่ปนเปื้อนสารหนู หรือจากยาบางชนิดเช่นยาที่ใช้รักษาโรคมะเร็งในเม็ดโลหิตและใช้เป็นยาบำรุงกำลังและเจริญอาหาร นอกจากนี้อาจได้รับจากการสูบบุหรี่และจากอาหารทะเล ซึ่งโดยทั่วไปร่างกายจะได้รับสารหนูวันละไม่เกิน 0.2 มิลลิกรัม (การไฟฟ้าฝ่ายผลิต, 2532) ประเทศไทยได้มีการตรวจพบโรคผิวหนังที่เกิดจากพิษสารหนูเรื้อรังในปี พ.ศ. 2530 ที่อำเภอร่อนพิบูลย์ จังหวัดนครศรีธรรมราช จากการศึกษาโดยกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ในปีพ.ศ. 2531 พบว่าประชาชนในบริเวณนี้มีปริมาณสารหนูในเลือด ผม เล็บ และปัสสาวะสูง รวมไปถึงมีลักษณะอาการของผิวหนังที่มีสีเข้มจนเป็นจุดสีดำ ถ้ามีอาการรุนแรงอาจกลายเป็นสีดำในบริเวณกว้าง ผิวหนังฝ่ามือและฝ่าเท้าจะหนาเป็นหย่อมๆ เมื่อมีอาการมากขึ้นจะเกิดผื่นและอาการชาที่ปลายมือและปลายเท้า จนถึงขั้นพัฒนาไปเป็นมะเร็งผิวหนังซึ่งชาวบ้านเรียกว่า “โรคไข้ดำ” (กองอนามัยสิ่งแวดล้อม, 2531 อ้างโดย อารี สุวรรณมณี, 2534) สาเหตุของโรคเกิดจากการใช้น้ำที่มีการปนเปื้อนของสารหนูในปริมาณที่สูง โดยมีรายงานว่าใน

หลายๆ พื้นที่ของอำเภอร่อนพิบูลย์มีปริมาณสารหนูสูงกว่าค่ามาตรฐานที่กำหนดไว้ตั้งแต่ 8 ถึง 100 เท่า (Mandal and Suzuki, 2002) สาเหตุที่มีสารหนูในน้ำสูง เนื่องจากในบริเวณดังกล่าวได้มีการทำเหมืองแร่ดีบุก สารหนูซึ่งอยู่ในรูปของแร่อาร์เซโนไพไรต์ (Arsenopyrite) ที่หลงเหลือจากการทำเหมืองได้เกิดการผุกร่อนตามธรรมชาติและกระจายปะปนไปกับน้ำที่ไหลผ่านลงสู่ลำธารและคลองปนเปื้อนเข้าไปในบ่อน้ำซึ่งเป็นแหล่งน้ำดื่มน้ำใช้ของชาวบ้าน นอกจากนี้กระบวนการทำเหมืองแร่และแต่งแร่ยังทำให้สารหนูปนเปื้อนลงในดินและตะกอนท้องน้ำในปริมาณระหว่าง 0.055 - 5.556 มิลลิกรัมต่อลิตร (อารี สุวรรณมณี, 2534) นอกจากนี้ยังพบการสะสมของสารหนูในพืชผักผลไม้ในเขตตำบลร่อนพิบูลย์ อำเภอร่อนพิบูลย์ จากการศึกษาการปนเปื้อนของสารหนู แคดเมียมและตะกั่วในลุ่มน้ำปากพนัง จังหวัดนครศรีธรรมราช พบว่า ปริมาณสารหนูมีค่าสูงสุดเท่ากับ 4.27 มิลลิกรัมต่อลิตร และประชาชนในเขตพื้นที่เสี่ยงร้อยละ 25 ยังนิยมบริโภคน้ำจากบ่อน้ำตื้นและน้ำบาดาล (วรพิณ วิทยวราวัฒน์, 2537) ซึ่งกฎหมายกำหนดไว้ให้มีสารหนูในน้ำดื่มได้ไม่เกิน 0.01 มิลลิกรัม

จากปัญหาความเป็นพิษที่กล่าวมาข้างต้น ได้มีการศึกษาวิธีการที่จะลดปริมาณโลหะหนักให้มีความเข้มข้นต่ำก่อนที่จะปล่อยสู่สิ่งแวดล้อม เช่น การฝังกลบ การตกตะกอนโดยใช้สารเคมี การแลกเปลี่ยนประจุ และการใช้เมมเบรน เป็นต้น ซึ่งวิธีการดังกล่าวถึงแม้ว่าสามารถที่จะบำบัดสารหนูที่ปนเปื้อนได้ในระดับหนึ่ง แต่มีข้อเสียในด้านของค่าใช้จ่ายที่สูง มีสารเคมีตกค้างในสิ่งแวดล้อม ต้องใช้เทคโนโลยีขั้นสูง ประสิทธิภาพในการบำบัดค่อนข้างต่ำหรืออาจต้องการการบำบัดขั้นที่สองเพื่อที่จะกำจัดสารตกค้างที่ใช้ในกระบวน ซึ่งจากสาเหตุดังกล่าวนี้จึงได้มีการพัฒนาวิธีการที่ใช้ค่าใช้จ่ายค่อนข้างต่ำและไม่มีสารตกค้างรวมถึงมีขั้นตอนในการบำบัดที่ไม่ซับซ้อน ซึ่งการดูดซับโลหะหนักโดยจุลินทรีย์เป็นอีกวิธีการหนึ่งที่มีความเป็นไปได้ในการบำบัดโลหะหนักที่มีการปนเปื้อนอยู่ในสิ่งแวดล้อม

ตรวจเอกสาร

1. คุณสมบัติโดยทั่วไปของสารหนู

สารหนู (Arsenic) เป็นธาตุกึ่งโลหะ ในธรรมชาติประกอบด้วยธาตุของสารหนูที่อยู่รวมกับธาตุอื่นและสารประกอบสารหนูในรูปของธาตุ ส่วนใหญ่จะพบอยู่ในรูปที่เป็นส่วนประกอบของแร่เช่น ในรูปของแร่อาร์เซไนด์ (Arsenide) ของทองแดงและเหล็ก เป็นต้น หรืออาจพบในรูปของอาร์เซนิกซัลไฟด์ ซึ่งได้แก่ แร่รีลการ์ (Realgar) และแร่ออร์พิเมนต์ (Orpiment) ส่วนสารหนูที่พบในรูปของสารประกอบสามารถพบได้ในรูปของสารประกอบออกไซด์ สารประกอบของอาร์เซไนต์ (As(III)) และอาร์เซเนต (As(V)) หรือพบในรูปของเมทิลเลตอาร์เซนิก (Methylated arsenic) สารหนูสามารถแบ่งออกได้เป็น 4 ประเภทได้แก่สารหนูที่เป็นโลหะ สารประกอบอนินทรีย์ของสารหนู สารประกอบอินทรีย์ของสารหนู และสารหนูที่อยู่ในรูปก๊าซ

สารประกอบของสารหนูจะถูกเปลี่ยนไปเป็นสารประกอบเมทิลเลตอาร์ซีน (Methylated arsine) ได้โดยอาศัยแบคทีเรีย อย่างไรก็ตามสารประกอบเมทิลเลตอาร์ซีนละลายน้ำได้ง่าย ระเหยและไวต่อปฏิกิริยากับอากาศจึงสามารถที่จะกลับเข้าสู่สิ่งแวดล้อมในรูปของสารประกอบมีเทนอาร์โซเนต (Methanearsonate) คาร์โคดิลเลต (Cacodylates) และไตรเมทิลอาร์ซีนออกไซด์ (Trimethylarsine oxide) โดยทั่วไปแล้วสามารถพบสารหนูในน้ำได้ในหลายรูปขึ้นอยู่กับค่าพีเอชและความสามารถในการเกิดออกซิเดชั่นของน้ำ ซึ่งในน้ำสามารถที่จะพบสารหนูได้ทั้งในรูปของอาร์เซไนต์และอาร์เซเนต โดยสารหนูในรูปของสารประกอบอาร์เซไนต์บางครั้งจะอยู่ในรูปของกรดอาร์เซเนียส (Arsenious acid) ในขณะที่สารประกอบอาร์เซเนตจะอยู่ในรูปของกรดอาร์เซนิก (Arsenic acid)

2. การแพร่เข้าสู่สิ่งแวดล้อมและความเป็นพิษของสารหนู

สารหนูที่พบในสิ่งแวดล้อมเกิดจากกระบวนการทั้งทางธรรมชาติ (ตารางที่ 1) เช่น การผุกร่อนของหิน การระเบิดของภูเขาไฟ (Kabata-Pendias, 1984 อ้างโดย Mandal and Suzuki, 2002) และเกิดจากกิจกรรมของมนุษย์ซึ่งได้มีการนำสารหนูมาใช้ในด้านต่างๆ ไม่ว่าจะเป็นการทำเหมืองแร่ หรือการถลุงแร่ ดังเช่นในกรณีของอำเภอร่อนพิบูลย์ จังหวัดนครศรีธรรมราช ที่มีการทำเหมืองแร่ดีบุกแล้วพบว่ามีสารหนูในรูปของแร่อาร์เซโนไพไรต์อยู่ปะปนกับตะกั่วด้วย (อารี สุวรรณมณี, 2534) ในด้านการเกษตรมีการนำสารหนูมาใช้เป็นยาฆ่าแมลง เช่น เลดอาร์เซเนต ใช้เป็นยากำจัดวัชพืช หรือใช้ผสมในอาหารสำหรับสัตว์ปีกเพื่อเร่งการเจริญเติบโต เช่น คาร์บาร์โซน (Carbarsone) (คณะกรรมการสิ่งแวดล้อมแห่งชาติ, 2530) ในทางอุตสาหกรรมได้มีการนำสารหนูมาใช้ในการ

ผลิตโลหะผสม ใช้ผลิตวัตถุกึ่งตัวนำ ใช้เป็นสารสี นอกจากนี้ยังมีการนำสารหนูมาใช้ในทางการแพทย์โดยนำมาใช้ในการรักษาโรคที่เกิดจากพยาธิต่างๆ ใช้ในการรักษาโรคโลหิตจาง (Leonard, 1991 อ้างโดย Nriagu, 1994) และในทางทหารได้มีการนำสารหนูมาใช้ในการเป็นสารพิษ เช่นไดฟีนิลคลอโรอาร์ซีน (Diphenyl chloroarsine)

จากกิจกรรมต่างๆ เหล่านี้ได้ทำให้เกิดการแพร่กระจายของสารหนูเข้าสู่สิ่งแวดล้อมไม่ว่าจะเป็นในดิน ตะกอนดิน แหล่งน้ำ หรือแม้แต่ในอากาศ ดังเช่น จากการสำรวจดินและอากาศในบริเวณใกล้แหล่งถลุงแร่ทองแดงในเมืองวอชิงตัน ประเทศสหรัฐอเมริกา พบปริมาณสารหนูสูงถึง 1,000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักแห้งดิน และ 1 – 4 ไมโครกรัมต่อลูกบาศก์เมตร ตามลำดับ (WHO, 1981 อ้างโดยอารี สุวรรณมณี, 2534) ในประเทศเม็กซิโก เมื่อตรวจที่ระดับผิวดินและใต้ดิน พบสารหนู 3 - 9 และ 20 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ แต่ในดินที่มีประวัติการปนเปื้อน พบสารหนูสูงถึง 550 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ในขณะที่ตะกอนดินพบสารหนูน้อยกว่า 10 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม จากรายงานการสำรวจน้ำในแม่น้ำท่าจีน ประเทศไทย แหล่งน้ำในแถบเมืองคอร์โดโบ (Cordobo) ประเทศอาร์เจนติน่า และน้ำจากบ่อบาดาลในเมืองไทนาน (Tainan) ประเทศไต้หวัน พบปริมาณของสารหนูอยู่ในช่วง 1.2 - 6.8 ไมโครกรัมต่อลิตร 0.9 – 3.4 มิลลิกรัมต่อลิตร และ 1.8 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ (คณะกรรมการสิ่งแวดล้อมแห่งชาติ, 2530)

ตารางที่ 1 แหล่งแร่ต่างๆ ที่มีปริมาณสารหนูปะปน

Table 1. Sources of arsenic deposited in various natural minerals.

Minerals	Arsenic concentration (mg/kg)
1. Enargite (Enargite-bearing copper-zinc-lead deposits)	1000
2. Arsenopyrite, Tennantite (Arsenical pyretic copper deposits)	40000
3. Safflorite, Cobaltite, Niccolite, Arsenopyrite (Native silver and nickle-cobalt arsenide bearing deposits	25000
4. Arsenopyrite, Loellingite (Arsenical gold deposits)	<5000
5. Realgar, Orpiment (Arsenic sulfide and gold deposits)	2000
6. Arsenopyrite (Arsenical tin deposits)	2000
7. Arsenopyrite (Arsenical quartz, silver and lead-zinc deposits)	6000

ที่มา: Mandal และ Suzuki (2002)

การแพร่กระจายของสารหนูในสิ่งแวดล้อมเป็นผลให้สารหนูสามารถแพร่เข้าไปในสิ่งมีชีวิตต่างๆ ได้โดยผ่านทางห่วงโซ่อาหาร เมื่อมีการสะสมของสารหนูในร่างกายในปริมาณมากจะก่อให้เกิดผลกระทบต่อระบบและอวัยวะต่างๆ ภายในร่างกาย สารประกอบของสารหนูแต่ละชนิดมีความเป็นพิษในระดับที่แตกต่างกัน เนื่องจากสถานะทางกายภาพของสารหนูมี 3 ลักษณะ คือ ก๊าซ สารละลาย และอนุภาคที่เป็นของแข็ง นอกจากนี้ยังขึ้นอยู่กับขนาดของอนุภาค ค่าการละลายของสาร อัตราการดูดซับสารหนูภายในเซลล์ อัตราการกำจัดสารหนูออกจากร่างกาย ธรรมชาติทางเคมีของสารหนูในสารประกอบของสารพิษ และความบริสุทธิ์ของสารประกอบสารหนูแต่ละชนิด เช่น สารประกอบของโซเดียมอาร์เซเนต มีปริมาณที่ไม่ทำให้เกิดพิษเมื่อร่างกายได้รับเข้าไปเท่ากับ 125 ส่วนในล้านส่วน (ppm) และจะถูกขับออกทางปัสสาวะได้อย่างรวดเร็ว ไม่เกิดการสะสมในเนื้อเยื่อ ในทางตรงกันข้ามสารประกอบอาร์เซไนต์ มีปริมาณที่ไม่ทำให้เกิดพิษเมื่อเข้าสู่ร่างกายเท่ากับ 62.5 ส่วนในล้านส่วน และจะถูกขับออกมากับปัสสาวะได้ในปริมาณน้อย ทำให้เกิดการสะสมในเนื้อเยื่อโดยรวมกับโปรตีนในเนื้อเยื่อของตับ กล้ามเนื้อ ผม เล็บ ผิวหนัง และเม็ดเลือดขาว

สำหรับความเป็นพิษของสารประกอบอินทรีย์ของสารหนูนั้นจะแตกต่างกันขึ้นอยู่กับสถานะของการออกซิเดชั่น อัตราการดูดซึม อัตราการขับทิ้งและการกระจายตัวไปตามอวัยวะต่างๆ โดยสารประกอบอินทรีย์ของสารหนูที่มีฤทธิ์รุนแรงที่สุด จะทราบได้จากการที่สารประกอบชนิดนั้นอยู่รวมกับเม็ดเลือดแดงมากที่สุด ซึ่งถ้าฉีดเข้าไปทางเส้นเลือดจะไปสะสมอยู่ที่ไตและตับ ส่วนสารประกอบใดที่ร่างกายสามารถที่จะขับออกมาได้อย่างรวดเร็วถือว่ามีความเป็นพิษน้อย นอกจากนี้สารประกอบของสารหนูบางชนิดยังมีผลต่อระบบประสาท โดยพบว่าก๊าซอาร์ซีนมีพิษมากที่สุด แต่จะพบได้น้อยมากโดยเฉพาะในอาหาร สารหนูที่พบส่วนใหญ่อยู่ในรูปของสารประกอบอาร์เซเนตและสารประกอบอินทรีย์ของสารหนู ซึ่งความเป็นพิษของสารประกอบของสารหนูสามารถเรียงลำดับได้ดังนี้ ก๊าซอาร์ซีน > สารประกอบอนินทรีย์ของอาร์เซไนต์ > สารประกอบอินทรีย์ของอาร์เซไนต์ > สารประกอบอนินทรีย์ของอาร์เซเนต > สารประกอบอินทรีย์ของอาร์เซเนต > สารประกอบอาร์โซเนียม > สารหนูที่อยู่ในรูปอิสระ

การเกิดพิษของสารหนูส่วนใหญ่มีสาเหตุจากการได้รับสารหนูเข้าสู่ร่างกายเป็นเวลานาน กลไกในการเกิดพิษของสารหนูเกิดขึ้นเนื่องจากคุณสมบัติของอาร์เซไนต์ที่ทำปฏิกิริยากับเอนไซม์ที่หมู่ไทออล (Sulfhydryl-reacting agent) เอนไซม์โคลีนเอสเทอเรส (Choline esterase) เอนไซม์แซนทีนออกซิเดส (Xantene oxidase) และเอนไซม์ในวิถีไกลโคไลซิสบางชนิด (Glycolysis pathway enzymes) สำหรับอาร์เซเนตนั้นจะทำหน้าที่เป็นตัวแย่ง (competitive) กับหมู่ฟอสเฟตในระหว่างที่เกิดปฏิกิริยาออกซิเดทีฟฟอสฟอริเลชัน (Oxidative phosphorylation) ยับยั้งการเกิดปฏิกิริยารีดักชั่นของ NAD กับซักซิเนสและลดอัตราส่วนของ ADP ต่อออกซิเจน

อาการที่เกิดจากพิษของสารหนูจะแสดงออกมาตามระบบต่างๆ ในร่างกายคือ ผิวหนังที่มีการสัมผัสกับสารหนูจะเป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดมะเร็งที่ผิวหนัง ทางตาจะมีผลทำให้เกิดตาอักเสบ ทางระบบหายใจ สารหนูจะเกิดการสะสมที่ปอดทำให้เป็นสาเหตุของการเกิดมะเร็งที่ปอด ทางระบบประสาท ทำให้การทำงานของระบบประสาทเสียไปและอาจมีผลทำให้เป็นอัมพาตได้ สมองสารหนูจะมีผลทำให้เกิดความจำเสื่อมได้ นอกจากนี้เมื่อร่างกายรับสารหนูเข้าไปแล้วอาจมีผลต่อเม็ดเลือดโดยทำให้เกิดโรคโลหิตจางได้ (คณะกรรมการสิ่งแวดล้อมแห่งชาติ, 2530)

ในกรณีของประเทศเม็กซิโก การดื่มน้ำที่มีสารหนูของประชาชนที่อาศัยอยู่บริเวณตอนเหนือของประเทศ ทำให้เกิดพิษเรื้อรังจากการสะสมสารหนู ความเข้มข้นของสารหนูในแหล่งน้ำอยู่ในช่วง 0.008 - 0.624 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยสารหนูจะอยู่ในรูปสารอนินทรีย์และมีวาเลนซี 5 อาการของโรคที่พบ ได้แก่ การเกิดสีผิวเปลี่ยนแปลงไปและโรคมะเร็งผิวหนัง โรคเกี่ยวกับระบบไหลเวียนโลหิตและระบบทางเดินอาหาร และการเปลี่ยนแปลงการสร้างยูโรพอร์ไฟริน (Del Razo *et al.*, 1990; Chen *et al.*, 1994 อ้างโดย Mandal and Suzuki, 2002)

ในประเทศไทย ที่อำเภอร่อนพิบูลย์ จังหวัดนครศรีธรรมราช ในปี ค.ศ.1987 มีการตรวจพบประชาชนที่อาศัยอยู่บริเวณนี้เป็นโรคผิวหนังจากสารหนู สาเหตุของการเกิดโรคมาจากการใช้น้ำที่ไหลมาจากบริเวณเทือกเขาสวนจันทร์และเขาร่อนนาซึ่งเป็นบริเวณที่มีสารหนูในปริมาณสูงเนื่องจากมีแร่อาร์เซโนไพไรต์ ซึ่งมีสารหนูในองค์ประกอบสูง ในพื้นที่ของอำเภอร่อนพิบูลย์มีบางบริเวณที่มีปริมาณสารหนูสูง 8 – 10 เท่าของปริมาณสารหนูที่องค์การอนามัยโลกกำหนดไว้

ในประเทศบังคลาเทศ พบปัญหาการปนเปื้อนของสารหนูในน้ำใต้ดินที่ใช้ในการอุปโภคและบริโภค โดยมีสารหนูปนเปื้อนอยู่ประมาณ 500 ไมโครกรัมต่อลิตร ทำให้มีคนเสียชีวิตเนื่องจากโรคมะเร็งปอดและมะเร็งผิวหนัง (Smith *et al.*, 2000)

3. วิธีการบำบัดสารหนู

จากปัญหาการแพร่กระจายและการตกค้างของสารหนูในสิ่งแวดล้อม ซึ่งนำไปสู่ความเป็นพิษที่ได้กล่าวมาข้างต้น จึงได้มีการนำวิธีการต่างๆ ทางกายภาพ เคมี และชีวภาพมาใช้ในการกำจัดสารหนูตามตัวอย่างต่อไปนี้

3.1 วิธีการทางกายภาพ

ได้แก่การเผา แต่วิธีนี้ไม่ค่อยนิยมใช้เนื่องจากในกระบวนการเผาจะเกิดไอระเหยของสารหนู คือ ก๊าซอาร์ซีน ซึ่งจะเป็นอันตรายต่อระบบหายใจของร่างกาย การตรึงหรือการห่อหุ้มสารหนูซึ่งจะเป็นการนำสารมาจับกับสารหนูเพื่อลดการแพร่กระจายและทำให้มีอันตรายน้อยลงก่อนทำการฝังกลบ ดังเช่น ในการศึกษาของ Carter และคณะ (1995 อ้างโดย Leist *et al.*, 2000) ได้ทำการ

ห่อหุ้มสารหนูโดยใช้พอลิเมอร์ผสมระหว่างพอลีเอทิลีน (Polyethylene) ที่มีความหนาแน่นสูงและโซลพรีน (Solprene) พบว่า เมื่อนำอาร์เซไนต์ออกไซด์ (Arsenite oxide) มาทำให้เสถียรด้วยแคลเซียมออกไซด์ ตามด้วยการห่อหุ้มโดยพอลิเมอร์ สามารถห่อหุ้มสารหนูด้วยพอลิเมอร์ได้ร้อยละ 17 โดยน้ำหนัก การฝังกลบเป็นอีกวิธีหนึ่งที่ใช้ในการกำจัดสารพิษอย่างเช่นสารหนู ในการฝังกลบนั้นต้องระมัดระวังไม่ให้สารหนูแพร่กลับเข้าสู่สิ่งแวดล้อมได้อีก รวมทั้งต้องระวังไม่ให้เกิดปฏิกิริยาของสารหนูเกิดขึ้นในหลุมฝังกลบเนื่องจากจะส่งผลต่อสิ่งแวดล้อม (การไฟฟ้าฝ่ายผลิต, 2532)

3.2 วิธีการทางเคมี

เป็นการเติมสารเคมีลงไปเพื่อลดความเป็นพิษของสารหนู ในการบำบัดสารประกอบของอาร์เซไนต์พบว่าทำได้ยากกว่าสารประกอบของอาร์เซเนตซึ่งในการบำบัดจำเป็นต้องเปลี่ยนสารประกอบของอาร์เซไนต์ให้อยู่ในรูปของอาร์เซเนตก่อนแล้วจึงทำการบำบัด ซึ่งวิธีการบำบัดที่ใช้กันโดยทั่วไป (ตารางที่ 2) ได้แก่

3.2.1 กระบวนการโคแอกกูเลชันและการตกตะกอน (Coagulation and Precipitation)

เป็นกระบวนการที่ทำให้อนุภาคคอลลอยด์รวมตัวกันและเกิดการจับตัวเป็นก้อนและตกตะกอนลงมา วิธีการนี้เกี่ยวข้องกับการเติมสารเคมีลงไปเพื่อทำลายความเสถียรของคอลลอยด์ ซึ่งไม่สามารถที่จะกรองหรือตกตะกอนได้ กระบวนการตกตะกอนมีด้วยกัน 4 วิธีขึ้นอยู่กับสารที่ใช้ในกระบวนการ คือ

- การตกตะกอนโดยใช้สารส้มหรือสารประกอบของอลูมิเนียม (Alum precipitation) วิธีการนี้เป็นการกำจัดโลหะที่เป็นของแข็งและที่ละลายได้ในน้ำ โดยในการกำจัดสารหนูนั้นจะต้องมีการเติมสารที่เป็นตัวออกซิแดนท์ (Oxidizing agent) เช่น คลอรีน ซึ่งมีผลทำให้พีเอชลดลงและมีอัตราในการกำจัดสารหนูสูงถึงร้อยละ 90 เมื่อเทียบกับกรณีที่ไม่มีการเติมคลอรีนลงไปพบว่าการกำจัดสารหนูสามารถทำได้เพียงร้อยละ 10 เท่านั้น หลังจากทำการตกตะกอนแล้วจึงทำการเติมสารโซเดียมไฮดรอกไซด์เพื่อทำให้น้ำที่ออกจากกระบวนการบำบัดใสและเพื่อเพิ่มค่าพีเอชสูงขึ้นให้อยู่ในระดับที่ยอมรับได้

- การตกตะกอนโดยใช้เหล็ก สารประกอบของเหล็กที่ใช้ในกระบวนการเช่น เฟอริคซัลเฟต (Ferric sulfate) ในกระบวนการนี้สารหนูจะเกิดการตกตะกอนโดยรวมอยู่กับเหล็ก หลังจากนั้นจะทำการกรองเพื่อกำจัดตะกอนของเหล็กและสารหนูออก กระบวนการตกตะกอนด้วยเหล็กนั้นถ้ามีการเติมคลอรีนลงไปจะมีผลทำให้สามารถกำจัดสารหนูสูงถึงร้อยละ 95 แต่ถ้าไม่มีการเติมคลอรีนลงไปจะมีผลทำให้การกำจัดสารหนูต่ำลงซึ่งสามารถกำจัดสารหนูได้ร้อยละ 50 เท่านั้น

ในการตกตะกอนโดยใช้เกลือของสารประกอบอลูมิเนียมหรือเหล็ก (Stevenson, 1997) สามารถใช้ในการกำจัดสารหนูได้โดยสารหนูจะสร้างแรงยึดเหนี่ยวกับอนุภาคของสารประกอบที่ใช้เป็นโคแอกกูแลนท์ (Coagulant) แล้วเกิดการตกตะกอน โดยดูดซับประจุไว้ที่ผิวหรือเกิดการทำปฏิกิริยาและตกตะกอนโดยตรง (Jekel, 1994 อ้างโดย รัชนก แซ่เจน, 2541) ตัวอย่างเช่นในการศึกษาของ Han และคณะ (2002) ซึ่งได้ทำการศึกษาการกำจัดสารหนูออกจากน้ำดื่ม โดยวิธีตกตะกอนและการกรองด้วยเฟอริคคลอไรด์ (Ferric chloride) และเฟอริคซัลเฟต (Ferric sulfate) เป็นตัวช่วยตกตะกอน พบว่าปัจจัยที่มีผลต่อการกำจัดสารหนู คือ พีเอชของน้ำและการมีไอออนของโลหะอื่นปน โดยอาร์เซเนตจะตกตะกอนได้น้อยลง เมื่อพีเอชเพิ่มขึ้น ในขณะที่ของอาร์เซไนต์จะตกตะกอนเพิ่มขึ้น

สุรพล อารีย์กุล และคณะ (2539) ได้ทำการบำบัดน้ำที่มีสารหนูปนเปื้อนจากอำเภอร่อนพิบูลย์ จังหวัดนครศรีธรรมราช โดยใช้วิธีการลดความเข้มข้นของสารหนูด้วยกระบวนการโคแอกกูเลชันและกระบวนการดูดซับ จากการศึกษาพบว่า การเติมคลอรีนให้มีความเข้มข้นเท่ากับ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับการเติมเฟอร์ริคคลอไรด์ที่อัตราส่วนโมเลกุลของสารหนูและเหล็กเท่ากับ 1 ต่อ 4 และกรองด้วยถ่านกัมมันต์ที่มีประจุของเหล็กวาเลนซี 2 จะมีประสิทธิภาพในการกำจัดสารหนูดีที่สุดและมีความปลอดภัยมากที่สุด

- การตกตะกอนโดยใช้ปูนขาว (Lime softening) ประสิทธิภาพในการกำจัดสารหนูโดยโดยใช้ปูนขาวขึ้นอยู่กับพีเอชและการมีคลอรีน โดยพบว่าที่พีเอชสูงกว่า 10.5 ประสิทธิภาพในการกำจัดสารหนูสูงถึงร้อยละ 80 และเมื่อมีการเพิ่มพีเอชจนมีค่าเท่ากับ 11 การกำจัดสารหนูจะสูงถึงร้อยละ 95 นอกจากนี้อาจทำการตกตะกอนได้โดยใช้เหล็กและแมงกานีสเป็นตัวช่วยในการตกตะกอนร่วมกัน

3.2.2 กระบวนการออกซิเดชั่น (Oxidation)

วิธีการนี้เกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนลักษณะทางเคมีของสารประกอบหรือกลุ่มของสารประกอบให้มีความเป็นพิษน้อยลง ประสิทธิภาพในการลดความเข้มข้นของสารหนูโดยกระบวนการนี้ขึ้นอยู่กับวิธีการที่ใช้ องค์ประกอบของสารหนูในน้ำ และระดับต่ำสุดของความเข้มข้นของสารหนูที่ต้องการ สารออกซิแดนท์ (Oxidant) ที่เหมาะสมในการกำจัดสารหนูคือ โพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนต และไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์/เหล็ก (II)

นิภา มหารัชพงศ์ (2540) ได้ทำการศึกษาการลดปริมาณของสารหนูโดยมีการออกซิไดซ์สารหนูให้เป็นอาร์ซิเนตก่อนที่จะตามด้วยกระบวนการโคแอกกูเลชั่น สามารถให้ประสิทธิภาพในการกำจัดสารหนูถึงร้อยละ 90 เมื่อความเข้มข้นเริ่มต้นของสารหนูเท่ากับ 3.72 มิลลิกรัมต่อลิตร Viraraghavan และคณะ (1999 อ้างโดย อุบลวรรณ ชุติเวทคู, 2546) ซึ่งได้ทำการศึกษาวิธีการลด

ความเข้มข้นของสารหนูโดยใช้โพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตมาทำการออกซิไดซ์สารหนู ตามด้วยกระบวนการกรองโดยใช้ทรายที่เคลือบด้วยแมงกานีสและเหล็กออกไซด์ โดยสามารถลดความเข้มข้นของสารหนูจาก 200 ไมโครกรัมต่อลิตรให้ต่ำกว่า 25 ไมโครกรัมต่อลิตร

3.2.3 กระบวนการแลกเปลี่ยนประจุ (Ion exchange)

เป็นอีกวิธีการหนึ่งที่ใช้ในการกำจัดโลหะหนัก สารที่ใช้ในการแลกเปลี่ยนประจุ ได้แก่ ซีโอไลท์ (Zeolite) แอนไอออนและแคทไอออนเรซิ่น (Anion and cation resin) เช่น คลอไรด์ไอออน (Chloride ion) ซึ่งในการบำบัดต้องเปลี่ยนสารหนูให้อยู่ในรูปของอาร์เซเนตโดยใช้ตัวออกซิไดซ์ และต้องปรับพีเอชให้มีค่าสูงกว่า 7.5 เพื่อที่จะให้การกำจัดสารหนูเกิดขึ้นได้ดี แต่การใช้ตัวออกซิไดซ์จะมีผลไปทำลายเรซิ่นที่ใช้ในกระบวนการทำให้อายุการใช้งานของเรซิ่นสั้นลง การใช้เรซิ่นที่เป็นซีโอไลท์จะมีความจำเพาะกับโลหะหนักหลายชนิด ส่วนคีเลตติงเรซิน (Chelating resin) จะมีความจำเพาะสูงกับโลหะเช่น ทองแดง นิกเกิล แคดเมียม และสังกะสี ปัจจัยที่มีผลต่อการแลกเปลี่ยนประจุคือ พีเอช ความจำเพาะของเรซิ่นต่อโลหะ อุณหภูมิ ไอออนของโลหะต่างๆ โดยในการกำจัดอาร์เซไนต์และอาร์เซเนตจะทำที่พีเอชต่างกันคือ ที่พีเอช 3 - 6 สำหรับอาร์เซเนตและที่พีเอช 8 - 9 สำหรับอาร์เซไนต์ (Yoshida and Ueno, 1978 อ้างโดย Jekel, 1994)

Korngold และคณะ (2001 อ้างโดย อุบลวรรณ ชุติเวทคู, 2546) ซึ่งศึกษาการลดความเข้มข้นของสารหนูวาเลนซี่ 5 (อาร์เซเนต) โดยใช้เรซิ่นที่แลกเปลี่ยนประจุลบและเป็นเบสแก่มาทำการทดลอง พบว่าพีเอชที่เหมาะสมคือ 7.1 หรือมากกว่า จากความเข้มข้นของสารหนูเริ่มต้น 600 – 800 ไมโครกรัมต่อลิตร ลดลงได้ต่ำกว่า 10 ไมโครกรัมต่อลิตร แต่ข้อเสียของวิธีนี้คือต้องใช้ระยะเวลาในการดำเนินการยาวนานและค่าใช้จ่ายสูง

3.2.4 กระบวนการใช้เมมเบรน

เป็นการกำจัดโละหะหนักเช่นสารหนูโดยอาศัยคุณสมบัติการเป็นเยื่อเลือกผ่านของเมมเบรน เมมเบรนที่นำมาใช้ในการกำจัดสารหนูสามารถแบ่งออกได้เป็นประเภทต่างๆ ตามขนาดของรูพรุนของเมมเบรนเช่น ไมโครฟิลเตรชั่น อัลตราฟิลเตรชั่น และรีเวอร์สออสโมซิส ในกระบวนการต้องระวังการปนเปื้อนของสารที่เป็นตัวออกซิไดซ์ ซึ่งเป็นสาเหตุทำให้เมมเบรนมีอายุการใช้งานสั้นลง สำหรับนาโนฟิลเตรชั่นเป็นกระบวนการที่ใช้ความดันต่ำ ส่วนใหญ่ใช้ในการกำจัดของแข็งที่ละลายได้ที่มีขนาดอนุภาคใหญ่

Sato และคณะ (2002) ได้ทำการนำวิธีนาโนฟิลเตรชั่นใช้ในการบำบัดสารหนู พบว่าสามารถกำจัดอาร์เซเนตได้มากกว่าร้อยละ 95 ภายใต้ความดันที่ต่ำกว่า 1.1 เมกะปาสคาล (MPa) และกำจัดอาร์เซไนต์ได้ร้อยละ 75 โดยในการใช้วิธีนี้จะไม่มีการเติมสารเคมีลงไปจึงทำให้การกำจัดสารหนูโดยวิธีนี้ไม่มีผลต่อแหล่งน้ำ

3.2.5 กระบวนการดูดซับ

เป็นวิธีการที่อาศัยตัวดูดซับแยกระหว่างสารที่ถูกดูดซับกับตัวทำละลายออกจากกัน เป็นการให้สารที่มีอำนาจในการดูดโมเลกุลให้มาติดที่ผิวได้ ซึ่งอาจเป็นสารอนินทรีย์ เช่น แมกนีเซียมคลอไรด์ สารอนินทรีย์สังเคราะห์ เช่น แอคติเวเตดอะลูมินา (Activated alumina) ซึ่งได้รับความนิยมมากสำหรับการบำบัดน้ำที่มีสารหนูปนเปื้อน โดยสารหนูจะถูกดูดซับอยู่ที่ผิวหน้าของแอคติเวเตดอะลูมินา พีเอชที่เหมาะสมของกระบวนการนี้อยู่ระหว่าง 5.5 - 6 สามารถดูดซับอาร์เซเนตได้มากกว่าอาร์เซไนต์ ดังนั้นในการบำบัดจึงจำเป็นต้องใช้ตัวออกซิไดซ์เพื่อเปลี่ยนอาร์เซไนต์เป็นอาร์เซเนต สำหรับตัวดูดซับอีกชนิดหนึ่งที่นิยมใช้คือ ถ่านกัมมันต์ (Activated carbon) เป็นถ่านที่ถูกสังเคราะห์ขึ้นเพื่อให้มีพื้นที่ผิวเพิ่มมากขึ้น โดยการทำให้มีรูพรุนภายในเนื้อคาร์บอนให้มากที่สุด ซึ่งจะทำให้ประสิทธิภาพในการดูดติดผิวเพิ่มขึ้น ถ่านกัมมันต์ที่กระตุ้นด้วยเฟอริคคลอไรด์จะมีประสิทธิภาพสูงกว่าถ่านที่กระตุ้นด้วยเกลือแกง เนื่องจากในกระบวนการดูดซับ เหล็กที่อยู่บนพื้นผิวของถ่านกัมมันต์จะทำปฏิกิริยาเกิดแรงยึดเหนี่ยวที่ค่อนข้างเสถียรระหว่างเหล็ก-สารหนูได้ดีในช่วงพีเอช 4 - 8 (Vircikova, 1995 อ้างโดย รัชนก แซ่เจน, 2541)

นอกจากนี้ยังมีการประยุกต์ใช้ไคโตแซนที่มีโมลิบเดต (Molybdate) ถูกดูดซับอยู่มาศึกษาการกำจัดอาร์เซเนตและอาร์เซไนต์ที่มีความเข้มข้นในช่วง 5 - 20 มิลลิกรัมสารหนูต่อลิตร พบว่าตัวดูดซับมีประสิทธิภาพสูงในการกำจัดอาร์เซเนตจากสารละลายกรด โดยพีเอชที่เหมาะสมต่อการดูดซับอยู่ในช่วง 2 - 3 ขณะที่อาร์เซไนต์จะถูกดูดซับได้น้อยกว่า โดยสามารถดูดซับอาร์เซเนตได้เท่ากับ 230 มิลลิกรัมของอาร์เซเนตต่อกรัมของโมลิบเดต และดูดซับอาร์เซไนต์ได้ 70 มิลลิกรัมของอาร์เซไนต์ต่อกรัมของโมลิบเดต ตามลำดับ โดยกลไกของการดูดซับอาร์เซเนตจะสัมพันธ์กับความสามารถของไอออนของโมลิบเดตที่จะเกิดเป็นสารเชิงซ้อนกับอาร์เซเนตในสารละลายกรด (Dambies *et al.,* 2002)

Jingtai และ Fyfe (2000) ได้ทำการศึกษาการกำจัดอาร์เซเนตและอาร์เซไนต์โดยใช้เหล็กซัลไฟด์เป็นตัวดูดซับ พบว่า อาร์เซไนต์ มีประสิทธิภาพในการถูกดูดซับได้ต่ำกว่าอาร์เซเนต และที่พีเอชน้อยกว่า 4 จะมีผลทำให้ประสิทธิภาพในการดูดซับสารหนูต่ำจนไม่สามารถดูดซับสารหนูอาร์เซเนตได้

ตารางที่ 2 ประสิทธิภาพในการกำจัดโลหะและเทคโนโลยีในการนำกลับมาใช้

Table 2. Efficiency of heavy metal removal and regeneration technologies.

Technology	Performance characteristics				
	pH change	Metal Selectivity	Influence of suspended solids	Tolerance to organic molecules	Working levels for appropriate metal (mg/l)
Adsorption	Limited tolerance	Moderate	Fouled	Can be poisoned	<10
Electrochemical	Tolerant	Moderate	Can be engineered to tolerate	Can be accommodated	>10
Ion exchange	Limited tolerance	Chelate resins can be selective	Fouled	Can be poisoned	<100
Membrane	Limited	Moderate	Fouled	Intolerant	>10
Precipitation					
- Hydroxide	Tolerant	Nonselective	Tolerant	Tolerant	>10
- Sulphide	Limited tolerance	Limited selectivity pH dependent	Tolerant	Tolerant	>10
Solvent extraction	Some systems tolerant	Metal-selective extractants available	Fouled	Intolerant	>100

ที่มา: Eccles (1999)

3.3 วิธีการทางชีวภาพ

เนื่องจากการกำจัดโลหะหนักด้วยวิธีการข้างต้นต้องเสียค่าใช้จ่ายสูง มีสารเคมีตกค้างหลังจากการกำจัดโลหะหนัก และในบางกรณีประสิทธิภาพในการกำจัดโลหะหนักยังค่อนข้างต่ำ (ตารางที่ 2) จึงได้มีการศึกษาการกำจัดสารหนูทางชีวภาพขึ้น โดยการกำจัดสารหนูโดยวิธีนี้จะเป็นการศึกษาการดูดซับสารหนูของสิ่งมีชีวิตต่างๆ ไม่ว่าจะเป็นพืช สาหร่าย หรือจุลินทรีย์ (ตารางที่ 3)

Visoottiviseth และคณะ (2002) ได้ทำการสำรวจตัวอย่างพืชจากบริเวณที่มีสารหนูปนเปื้อน พบว่าพืชตระกูลเฟิร์น เช่น *Pityrogramma calomelanos* และ *Pteris vittata* สามารถดูดซับสารหนูได้ดีที่สุด โดยเฉพาะในส่วนใบของ *Pityrogramma calomelanos* ซึ่งใน *Pteris vittata* จะสะสมในรูปสารอนินทรีย์ของอาร์เซเนต ในขณะที่การแพร่กระจายในพืชที่ใช้ พบว่า จะมีการสะสมอยู่ที่ใบ > ไรโซม > ราก ตามลำดับ (Zhang *et al.*, 2002)

การดูดซับโลหะของสาหร่ายมีลักษณะที่คล้ายกับการแลกเปลี่ยนไอออนของเรซิ่น โดยความสามารถในการจับโลหะเกี่ยวข้องกับหมู่คาร์บอซิลิก (Carboxylic) เอไมด์ (Amide) ไฮดรอกซิล (Hydroxyl) และซัลเฟต (Sulfate) (ตารางที่ 4) เช่น ในสาหร่ายสีน้ำตาลสามารถจับกับไอออนของโลหะได้เนื่องจากมีองค์ประกอบของสารโพลิแซคคาไรด์ ซึ่งในการกำจัดโลหะมี 2 ลักษณะ คือ แบบรวดเร็วซึ่งใช้เวลาน้อยกว่า 4 วินาที เป็นปฏิกิริยาดูดซับที่ผิว และการเปลี่ยนไอออนของหมู่คาร์บอกซิลิกและกรดยูโรนิกแบบช้าใช้เวลามากกว่า 4 วินาที เป็นการแพร่ไอออนเข้าไปภายในผนังเซลล์ (Crist *et al.,* 1992 อ้างโดย มาริสา จาตุพรพิพัฒน์, 2542)

Hasegawa และคณะ (2001) ได้ทำการศึกษาปฏิกิริยาการเปลี่ยนแปลงสารประกอบของสารหนูโดยสาหร่าย *Closterium aciculare* ในสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน พบว่าความเข้มข้นของอาร์เซเนตจะลดลง ขณะที่ระดับของอาร์เซไนต์ และเมทิลอาร์เซนิคอล (Methylarsenical) จะเพิ่มขึ้นพร้อมกับการเจริญของสาหร่าย โดยขั้นตอนของการเปลี่ยนแปลงจะเริ่มจากการเปลี่ยนอาร์เซเนตเป็นอาร์เซไนต์ในช่วงของการเจริญระยะ exponential phase หลังจากนั้นจะเกิดการสร้างเมทิลอาร์เซนิคอล ในระยะ stationary phase นอกจากนี้ในการทดลองยังพบสารไดเมทิลอะซิโนอิลอะซิเตต (Dimethylacenoyl acetate, DMAA) เมื่อมีอัตราส่วนของฟอสเฟตต่ออาร์เซเนตต่ำในอาหารสำหรับเลี้ยงสาหร่าย

วีนา ชูโชติและมงคล เพ็ญสายใจ (2543) ได้นำสาหร่ายคลอเรลลาจากบ่อน้ำทิ้งและคลังเก็บรักษาสายพันธุ์สาหร่ายมาใช้ในการดูดซับโครเมียม พบว่า *Chlorella vulgaris* เป็นสายพันธุ์สาหร่ายที่ดูดซับโครเมียมได้ดีที่สุด โดยดูดซับโครเมียมดีที่สุดที่ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัม เมื่อใช้สาหร่าย *C. vulgaris* 6.28 กรัม (น้ำหนักสด) และสามารถดูดซับโครเมียมได้อย่างสมบูรณ์ภายในเวลา 10 ชั่ว

โมง และที่ความเร็วรอบของเครื่องเขย่า 220, 180 และ 140 รอบต่อนาทีมีการดูดซับโครเมียมได้อย่างสมบูรณ์ภายในเวลา 8, 10 และ 24 ชั่วโมง ตามลำดับ

นอกจากพืชและสาหร่ายแล้ว ยังพบว่าจุลินทรีย์สามารถสะสมโลหะหนักจากสิ่งแวดล้อมได้เช่นเดียวกัน (ตารางที่ 3) จากความสามารถของจุลินทรีย์ในการใช้สารพิษได้หลายชนิดทั้งที่เป็นสารอินทรีย์และสารอนินทรีย์ อย่างไรก็ตามจุลินทรีย์ไม่สามารถใช้หรือทำลายโลหะได้ แต่จุลินทรีย์มีผลต่อการเคลื่อนที่ของโลหะในสิ่งแวดล้อมโดยการปรับปรุงลักษณะทางกายภาพและ/หรือลักษณะทางเคมี ซึ่งกระบวนการดูดซับและการสะสมโลหะโดยวิธีทางชีวภาพ (Biosorption and Bioaccumulative) มีลักษณะแบบ Pseudo-ion-exchange ซึ่งไอออนของโลหะถูกเปลี่ยนโดยการจับกับบริเวณรับของชีวมวล กระบวนการนี้จะเกี่ยวข้องกับหมู่ฟังก์ชั่นที่มากกว่า 1 หมู่ของชีวมวล โดยจะขึ้นอยู่กับพีเอชของสารละลายและลักษณะทางเคมีของโลหะ (Eccle, 1999) ชนิดของจุลินทรีย์ที่ใช้ในการดูดซับมีทั้งจุลินทรีย์ที่มีชีวิตและไม่มีชีวิต จุลินทรีย์บางชนิดมีช่วงกว้างในการจับและสะสมโลหะแต่บางชนิดก็มีความจำเพาะในการจับกับโลหะ ดังนั้นในการคัดเลือกโลหะสำหรับกระบวนการดูดซับขึ้นอยู่กับความสนใจและต้องคำนึงถึงผลกระทบของโลหะ เช่น ความเป็นพิษของโลหะและการเป็นสารกัมมันตรังสี (Ahatya *et al.,* 2003)

ตารางที่ 3 ตัวอย่างจุลินทรีย์ที่สามารถสะสมโลหะหนักและกัมมันตรังสีได้

Table 3. Microorganisms with heavy metals and radionucleotides uptake ability.

Organisms	Elements	Uptake capacity (% dry weight)
Bacteria		
Streptomyces sp.	Uranium	2 - 14
S. viridochromogenes	Uranium	30
Thiobacillus ferrooxidans	Silver	25
Bacillus cereus	Cadmium	4-9
Zoogloea sp.	Cobalt	25
	Copper	34
	Nickel	13
	Uranium	44
Citrobacter sp.	Lead	34 - 40
	Cadmium	40
	Cadmium	170
	Uranium	900
Pseudomonas aeruginosa	Uranium	15
Mixed culture	Copper	30
Mixed culture	Silver	32
Bacillus sp.	Lead	60.1
	Copper	15.2
	Zinc	13.7
	Cadmium	21.4
	Silver	8.6

ที่มา: Eccle (1999)

ตารางที่ 3 (ต่อ)

Table 3 (cont.)

Organisms	Elements	Uptake capacity (% dry weight)
Algae		
Chlorella vulgaris	Gold	10
Chlorella regularis	Uranium	15
C. regularis	Uranium	0.4
	Manganese	0.8
Fungi		
Phoma sp.	Silver	2
Penicillium sp.	Uranium	8 - 17
Rhizopus arrhizus	Copper	1.6
	Cadmium	3
	Lead	10.4
	Uranium	19.5
	Thorium	18.5
	Silver	5.4
	Mercury	5.8
Aspergillus niger	Thorium	18.5
	Thorium	13.8
	Uranium	21.5
Yeast		
Saccharomyces cerevisiae	Uranium	10.15
	Thorium	12
	Zinc	0.5

ที่มา: Eccle (1999)

ตารางที่ 4 หมู่ฟังก์ชั่นที่มีต่อการดูดซับโลหะโดยจุลินทรีย์

Table 4. Functional groups with relation to microorganism-metal binding an ability.

Group	Location	pKa value
Carboxyl	Uronic acid	3 - 4.4
Sulphonate	Cysteic acid	1.3
Phosphate	Polysaccharide	0.94 - 2.1
Hydroxyl	Tyrosine-phenolic	9.5 - 10.5
Amino	Cystidine	4.1
Imino	Peptide	13
Imidazole	Histidine	6 - 7

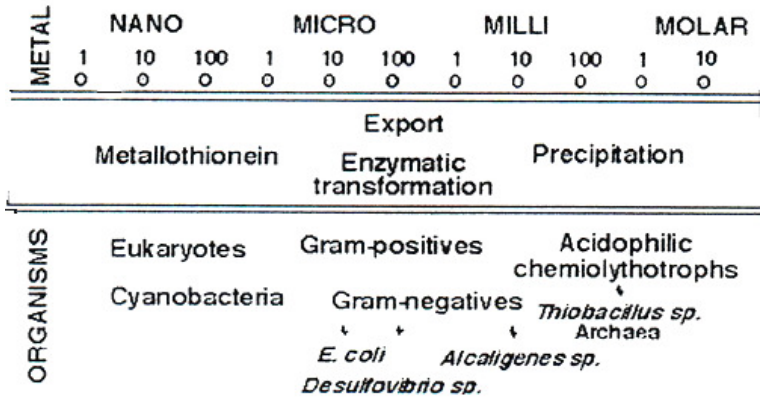
ที่มา: Eccle (1999)

4. ปฏิกิริยาระหว่างจุลินทรีย์กับโลหะ

โลหะหลายชนิดไม่ได้มีส่วนร่วมในกระบวนการเมทาบอลิซึมของสิ่งมีชีวิต แต่กลับมีส่วนทำลายเซลล์ซึ่งส่วนใหญ่มีผลต่อหมู่ sulfhydryl ของโปรตีนในเซลล์ จึงทำให้สามารถแบ่งโลหะออกได้เป็น 3 กลุ่มหลักคือ กลุ่มที่ 1 โลหะที่ไม่เป็นพิษและมีส่วนช่วยในกระบวนการเมทาบอลิซึมเช่น แคลเซียมและแมกนีเซียม กลุ่มที่ 2 โลหะที่ไม่เป็นพิษแต่เมื่อมีความเข้มข้นสูงอาจเป็นอันตรายต่อเซลล์ได้ได้แก่ เหล็ก แมงกานีส สังกะสี ทองแดง โคบอลท์ นิกเกิล และโมลิบดีนัม และกลุ่มที่ 3 โลหะที่เป็นพิษเช่น ปรอท แคดเมียม เป็นต้น

ปฏิกิริยาระหว่างเซลล์ของจุลินทรีย์กับโลหะจะขึ้นอยู่กับชนิดและประเภทของโลหะนั้นๆ สิ่งมีชีวิตต่างๆ มีความสามารถทนต่อความเข้มข้นของโลหะที่ต่างกันได้ (ภาพที่ 1) โดยใช้กลไกที่แตกต่างกัน เช่น ในกลุ่ม Eukaryote และ Cyanobacteria เชื้อ *Synechococcus* มีความสามารถในการทนต่อสังกะสีและแคดเมียมได้เนื่องจากมีการสร้าง Metallothionein ซึ่งเป็นโปรตีนที่มีคุณสมบัติในการจับกับโลหะ (Vall and Lorenzo, 2002) ในขณะที่ทั้งแบคทีเรียแกรมลบ (*E. coli* และ *Pseudomonas* sp.) และแบคทีเรียแกรมบวก (*Enterococcus hirae*) มีความสามารถในการความต้านทานทองแดงได้ (Albarracin *et al.,* 2005) โดยกลไกที่ใช้ได้แก่ การดูดซับที่ผิวเซลล์ (Microbial surface sorption) การเปลี่ยนรูปของโลหะโดยเอนไซม์ (Enzymatic transformation) การตกตะกอน

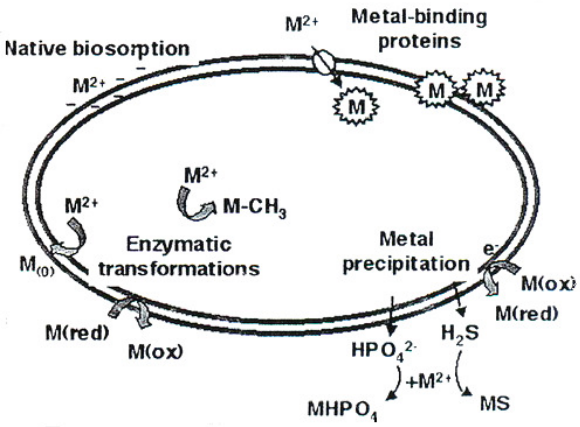
ด้วยปฏิกิริยาออกซิเดชั่น-รีดักชั่น (Precipitation by oxidation-reduction reaction) การสังเคราะห์โปรตีนที่มีคุณสมบัติจับกับโลหะ (Metal-binding proteins) (ภาพที่ 2)



ภาพที่ 1 ความสามารถของแบคทีเรียและกลไกในการทนต่อโลหะหนัก

Figure 1. Bacterial capacities and mechanisms of tolerance to heavy metals.

ที่มา : Valls และ Lorenzo (2002)



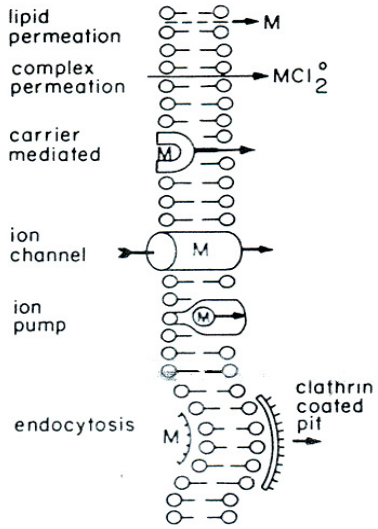
ภาพที่ 2 กลไกที่ใช้ในการต้านทานความเข้มข้นของโลหะ

Figure 2. Mechanism for microbial resistance with high concentrations of toxic heavy ions.

ที่มา : Valls และ Lorenzo (2002)

กลไกทั้งหมดนี้เป็นผลมาจากกระบวนการเมทาบอลิซึมของเซลล์ที่มีผลต่อชนิดและการเคลื่อนที่ในสิ่งแวดล้อม ของโลหะ กลไกโดยจุลินทรีย์ในดินมีบทบาทสำคัญในสิ่งแวดล้อมโดยเป็นส่วนหนึ่งของวงจร Biogeochemical ในธรรมชาติและมีความเป็นไปได้ในการนำมาใช้ในกระบวนการบำบัดทางชีวภาพสำหรับของเสียที่เป็นของเหลวและของแข็งที่มีโลหะเป็นส่วนประกอบ ปฏิกิริยาระหว่างจุลินทรีย์กับโลหะสามารถแบ่งได้เป็น 6 กลไกคือ

1. การสะสมภายในเซลล์ ความเข้มข้นของโลหะในแบคทีเรียและเซลล์จุลินทรีย์เป็นผลมาจากปฏิกิริยากับลิแกนด์(ligand) บนผิวของเซลล์ ตามด้วยการเคลื่อนอย่างช้าเข้าไปภายในเซลล์ ซึ่งเป็นกระบวนที่สำคัญในการกำจัดความเป็นพิษโดยอาศัยการทำงานของเอนไซม์และลักษณะทางกายภาพของเซลล์ (ภาพที่ 3)

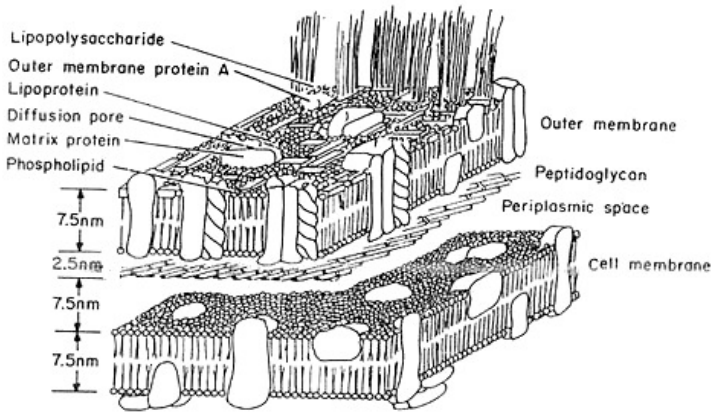


ภาพที่ 3 กลไกการเข้าไปในเซลล์ของโลหะ

Figure 3. Mechanism to explain the flux of metal ions (M) into a bacterial cell.

ที่มา : Ford และ Mitchell (1992)

2. การทำปฏิกิริยากับผนังเซลล์ การดูดซับโลหะกับเซลล์อาจเกิดจากการจับกับหมู่ฟังก์ชั่นที่อยู่ที่ผิวของเซลล์ในกรณีที่แบคทีเรียมีการสร้าง lipopolysaccharide (LPS) ออกมา ซึ่งจะประกอบด้วยส่วนที่เป็น hydrophobic, Lipid A, oligosaccharide และสาร o-specific side chain ของน้ำตาลซึ่งมีองค์ประกอบของหมู่ฟังก์ชันที่ทำหน้าที่จับกับโลหะ (ภาพที่ 4)



ภาพที่ 4 ลักษณะของ LPS ที่สร้างโดยเชื้อ *E. coli*

Figure 4. The possible molecular configuration of the *E.coli* envelope. LPS side chains are only shown partially covering the cell wall.

ที่มา : Ford และ Mitchell (1992)

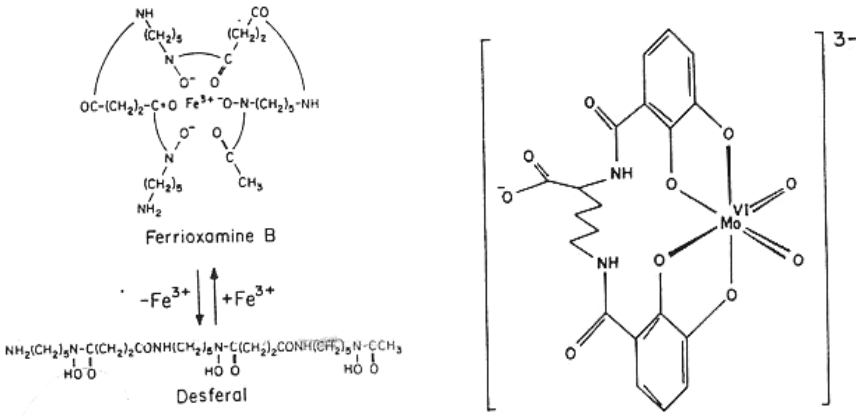
3. Siderophore เป็นสารประกอบอินทรีย์มี 2 ชนิดคือ Hydroxamate และ Catecholate siderophore (ภาพที่ 5) การทำงานจะขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของเหล็กในสิ่งแวดล้อม Hydroxamate siderophore มีความสามารถในการจับกับ Ferric ion และโลหะที่เป็น analog ของเหล็กได้เช่น อะลูมิเนียม แกลเลียม โครเมียม สำหรับ Catecholate siderophore สามารถจับกับโมลิบดีนัม ทองแดง และอะลูมิเนียม เป็นต้น

4. กระบวนการภายนอกเซลล์ เป็นการเคลื่อนที่ของโลหะโดยอาศัยจุลินทรีย์ มีการนำไปประยุกต์ใช้ในการทำเหมืองแร่ ซึ่งเกลือของโลหะมีคุณสมบัติไม่ละลายน้ำทำให้โลหะถูกดูดซับอยู่กับอนุภาคของดิน จุลินทรีย์ที่นำมาใช้ในกระบวนการนี้ได้แก่ *Thiobacillus*, *Serratia*, *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Penicillium* และ *Aspergillus* ซึ่งสามารถสกัดโลหะออกจากดินได้

5. ปฏิกิริยาระหว่าง Extracellular polymer กับโลหะ เกิดจากประจุลบของหมู่ฟังก์ชั่นบนโพลิเมอร์ซึ่งได้แก่ pyruvate, phosphate, hydroxyl, succinyl และ uronic acid การจับกับประจุของโลหะจะขึ้นอยู่กับพีเอช

6. การเปลี่ยนแปลงของโลหะ ซึ่งอาจเกิดจากปฏิกิริยาเมทิลเลชัน (Methylation) เช่น ปรอท การเปลี่ยนรูปโดยส่วนใหญ่แล้วจะเกิดในสภาวะที่ไม่มีอากาศ

A B



ภาพที่ 5 โครงสร้างของ siderophore A: โครงสร้างของ ferrioxamineB, B: โครงสร้างของ molybdenum complexing dicatechol

Figure 5. Typical siderophore. A: Structure of ferrioxamineB, B: Structure of a molybdenum complexing dicatechol.

ที่มา : Ford และ Mitchell (1992)

การดูดซับโลหะโดยจุลินทรีย์เกิดขึ้นจากผลของระบบ Electron transport และ Enzyme reducing system (Bruins *et al.,*2000) ซึ่งอาจเกิดขึ้นโดย 2 กระบวนการคือ การดูดซับโลหะหนักโดยไม่ใช้พลังงานซึ่งจะประกอบด้วยกลไกที่สำคัญ 2 กลไกคือ กลไกการจับโลหะหนักโดยสารที่จุลินทรีย์ปล่อยออกสู่ภายนอกเซลล์ เช่น พอลิเมอร์ที่จุลินทรีย์สร้างขึ้นซึ่งจะประกอบด้วยสารพวกโพลิแซคคาไรด์ โปรตีน และกรดนิวคลีอิก ที่มีความสามารถจับกับอิออนของโลหะหนักและตกตะกอนร่วมได้ พอลิเมอร์จากจุลินทรีย์ต่างชนิดกันจะมีตำแหน่งในการจับกับโลหะหนักต่างกันเช่น *Krebsiella aerogenes* สามารถจับกับนิกเกิลได้ดีที่สุด รองลงมาคือ ทองแดง และแคดเมียม

อีกกลไกหนึ่งคือ การดูดซับโลหะหนักที่ผนังเซลล์ของจุลินทรีย์ โดยจะประกอบด้วยวิธีการแลกเปลี่ยนประจุ การตกตะกอน และการเชื่อมจับโดยตรง ประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ที่ใช้เป็นตัวดูดซับจะขึ้นอยู่กับคุณสมบัติของพื้นผิวของชีวมวล ได้แก่ โครงสร้างทางเคมี ความเป็นไฮโดรโฟบิก และความมีขั้วของพื้นผิว นอกจากนี้ยังขึ้นอยู่กับประจุของชีวมวล ซึ่งสามารถเตรียมให้อยู่ในรูปของประจุที่แตกต่างกันได้ โดยการเตรียมจุลินทรีย์ด้วยกรด ด่างและ/หรือเกลือ เช่นอยู่ในรูปของไฮโดรเจนไอออนหรืออยู่ในรูปที่อิ่มตัวด้วยประจุบวกอื่นๆ เช่น แมกนีเซียมไอออน โซเดียมไอออน และแคลเซียมไอออน เป็นต้น นอกจากนี้ความแตกต่างขององค์ประกอบของผนังเซลล์ระหว่างกลุ่ม

จุลินทรีย์ ทั้งสาหร่าย แบคทีเรีย ไซยาโนแบคทีเรีย และเชื้อราจะก่อให้เกิดความแตกต่างของปริมาณและชนิดโลหะที่จะจับได้ เช่น สาหร่ายสีน้ำตาลมีผนังเซลล์ที่เป็นกรดแอลจินิก (Alginic acid) ที่มีประจุลบของหมู่คาร์บอกซิลิกและหมู่ซัลเฟต นอกจากนี้ยังมีกรดกาแลกทูโรนิก (Galacturonic acid) และเพคติน ซึ่งเป็นส่วนที่มีประจุลบเช่นกันทำให้สามารถจับกับโลหะได้ด้วยแรง Electrostatic ตัวอย่างโลหะที่สามารถจับได้เช่น ตะกั่ว ทองแดง และโครเมียม ในกรณีของผนังเซลล์ของแบคทีเรียและไซยาโนแบคทีเรียประกอบด้วยส่วนที่เป็นเปปติโดไกลแคนที่เป็นสายตรงของไดแซคคาไรด์ N-acetylglucosamine-β-1,4-N-acetylmuramic acid กับสายเปปไทด์ แบคทีเรียแกรมบวกสามารถเกิดการแลกเปลี่ยนประจุและเชื่อมกับโลหะหนักได้โดยตรง ส่วนผนังเซลล์ของแบคทีเรียแกรมลบมีข้อจำกัดในการจับกับโลหะหนักเนื่องจากมีชั้นเปปติโดไกลแคน (peptidoglycan) ที่หนา ในเชื้อราผนังเซลล์ประกอบด้วยส่วนที่เป็นพอลิแซคคาไรด์และโปรตีน ซึ่งประกอบด้วยหมู่ฟังก์ชันหลายชนิด ได้แก่ หมู่คาร์บอกซิล ไฮดรอกซิล ซัลเฟต ฟอสเฟต และหมู่อะมิโนซึ่งเป็นส่วนที่ใช้ในการจับกับโลหะ (Gupta *et al.,* 2000; Bayramoglu *et al.,* 2006)

กระบวนการของการดูดซับโลหะหนักโดยจุลินทรีย์อีกอย่างหนึ่งคือ การดูดซับโลหะหนักโดยใช้พลังงาน ซึ่งจะประกอบด้วยกลไกที่สำคัญ 4 กลไกคือ การตกตะกอนของโลหะหนักโดยจุลินทรีย์ ซึ่งกลไกนี้จะเกิดจากการที่จุลินทรีย์ผลิตสารออกมาแล้วทำปฏิกิริยากับโลหะหนักเกิดเป็นสารประกอบที่ไม่ละลายน้ำ โดยอาจผลิตสารประกอบออกมาในรูปของไฮโดรเจนซัลไฟด์ ซึ่งตัวอย่างของจุลินทรีย์ที่ดูดซับโลหะหนักโดยอาศัยกระบวนการนี้เช่น *Desulfovibrio* กลไกการดูดซับโลหะหนักอีกกลไกหนึ่ง เป็นการสะสมโลหะหนักไว้ภายในเซลล์โดยเริ่มจากการจับโลหะหนักไว้ที่ผนังเซลล์ของแบคทีเรีย หลังจากนั้นโลหะหนักจะถูกส่งไปในเซลล์โดยการใช้พลังงาน ซึ่งเป็นกระบวนการเดียวกับการขนส่งแมกนีเซียมและโพแทสเซียมผ่านผนังเซลล์ กลไกแบบที่สามได้แก่ การดูดซับโลหะหนักโดยอาศัยปฏิกิริยาออกซิเดชั่น-รีดักชั่น ซึ่งเกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนสถานะออกซิเดชั่นของโลหะหนัก ซึ่งจะมีผลให้ความเป็นพิษของโลหะหนักมีค่าลดน้อยลง กลไกการดูดซับโลหะหนักอีกกระบวนการจะเป็นการเติมหมู่เมทิลและการกำจัดหมู่เมทิล ทำให้เกิดสารประกอบโลหะอนินทรีย์ขึ้น ซึ่งอาจเป็นรูปที่จุลินทรีย์ชนิดอื่นๆ สามารถเปลี่ยนรูปต่อไปได้ สารประกอบที่เกิดขึ้นจากวิธีการนี้อาจเป็นรูป โมโน-, ได-, ไตร-, เตตรา- ซึ่งขึ้นอยู่กับการจับของโลหะหนักกับหมู่เมทิล กลไกต่างๆ เหล่านี้จะขึ้นอยู่กับชีวมวล สภาวะในการศึกษาโดยทั่วไปแล้วแบคทีเรียหรือเชื้อราที่ได้จากกระบวนการน้ำเสียหรือตะกอนของเสียจากกระบวนการบำบัดจะถูกใช้ในกระบวนการดูดซับเนื่องจากมีค่าใช้จ่ายต่ำและมีปริมาณมาก นอกจากนี้ยังมีรายงานการใช้สาหร่ายเพื่อสะสมโลหะซึ่งพบว่ามีความสามารถในการสะสมโลหะได้สูงแต่เนื่องจากการกำจัดโลหะหนักและการ recovery โลหะมีค่าใช้จ่ายจึงไม่เป็นที่นิยมใช้ (Muñoz *et al.,* 2006)

Kaewchai และ Prasertsan (2002) ศึกษาการดูดซับนิเกิลและแคดเมียม โดยใช้แบคทีเรียทนร้อนที่ผลิตพอลิเมอร์และสารช่วยตกตะกอน 3 สายพันธุ์ได้แก่ *Bacillus subtilis* WD90 และ SM29 และเชื้อ *Enterobacter agglomerans* SM38 พบว่าพีเอชที่เหมาะสมต่อการดูดซับนิเกิลและแคดเมียมโดยใช้เชื้อ *E. agglomerans* SM38 คือ 7.0 โดยสามารถดูดซับนิเกิลได้ร้อยละ 25.5 และที่พีเอช 8.0 ดูดซับแคดเมียมได้ร้อยละ 32 สำหรับแบคทีเรียอีก 2 สายพันธุ์คือ *B. subtilis* WD 90 และ SM29 พบว่า พีเอชที่เหมาะสมในการดูดซับนิเกิลและแคดเมียมของทั้ง 2 สายพันธุ์เท่ากับ 8.0 โดยดูดซับนิเกิลได้ร้อยละ 27 และ 25 และดูดซับแคดเมียมได้ ร้อยละ28 และ28.5 ตามลำดับ สำหรับสารตกตะกอนชีวภาพที่ผลิตจากเชื้อจุลินทรีย์ทั้ง 3 สายพันธุ์ พบว่า พีเอชที่เหมาะสมต่อการดูดซับนิเกิลและแคดเมียมของสารตกตะกอนชีวภาพจากเชื้อ *E. agglomerans* SM38 เท่ากับ 7.0 ซึ่งดูดซับโลหะหนักทั้งสองชนิดได้เท่ากับร้อยละ 92.8 และ84.2 ตามลำดับ ส่วนสารตกตะกอนที่ผลิตจากเชื้อ *B. subtilis* WD 90 และ SM29 พบว่ามีพีเอชที่เหมาะสมต่อการดูดซับเท่ากับ 8.0 โดยสามารถดูดซับนิเกิลได้ร้อยละ 90.7 และ87.0 ตามลำดับและดูดซับแคดเมียมได้ร้อยละ 90.9 และ 91.4 ตามลำดับ จากผลการศึกษานี้ทำให้ทราบว่าพีเอชเป็นปัจจัยที่มีความสำคัญต่อการดูดซับโลหะหนักโดยจุลินทรีย์ โดยการดูดซับโลหะหนักจะเพิ่มขึ้นเมื่อมีการเพิ่มพีเอช เนื่องจากการเพิ่มพีเอชจะเพิ่มประจุลบที่ผิวของเซลล์จุลินทรีย์ให้มากขึ้น แต่เมื่อเพิ่มพีเอชให้สูงมากเกินไปจะทำให้การดูดซับโลหะหนักโดยจุลินทรีย์ถูกจำกัดโดยจะมีการเกิดตะกอนของสารประกอบพวกไฮดรอกไซด์เกิดขึ้นแทน

Macy และคณะ (2000) ศึกษากลไกในการดูดซับสารหนูโดยเชื้อ *Desulfomicrobium* สาพันธุ์ Ben-RB พบว่า เมื่อมีการใช้แลคเตต (Lactate) เป็นตัวให้อิเล็กตรอนสามารถที่จะรีดิวซ์อาร์เซเนตความเข้มข้น 5.1 มิลลิโมลาร์ได้อย่างรวดเร็ว ในกรณีที่ไม่มีซัลเฟตในอาหารเลี้ยงเชื้ออาร์เซเนตอาจทำหน้าที่เป็นตัวรับอิเล็กตรอนตัวสุดท้ายในอาหาร Minimal medium อาร์เซเนตจะถูกรีดิวซ์โดยเอนไซม์ที่บริเวณเยื่อหุ้มเซลล์ของจุลินทรีย์ที่เรียกว่าเอนไซม์อาร์ซิเนตรีดักเทส (arsenate reductase) โดยกิจกรรมของเอนไซม์ชนิดนี้มีค่าสูงเมื่อจุลินทรีย์อยู่ในช่วงที่มีการเจริญเติบโตและในอาหารเลี้ยงเชื้อมีอาร์เซเนตและซัลเฟต

Lièvremont และคณะ (2003) ได้ทำการนำแบคทีเรียที่แยกได้จากแหล่งน้ำที่มีสารหนูปนเปื้อนมาทำการกำจัดสารหนูโดยวิธีการออกซิเดชั่นอาร์เซไนต์ให้เป็นอาร์เซเนต ในถังหมักที่มีคาบาไซต์ (Cabazite) ซึ่งเป็นซีโอไลต์พวกอะลูมิโนซิลิเกต และคัตนาโฮไรต์ (Kutnahorite) ซึ่งเป็นสารประเภทแมงกานีส-แคลเซียมคาร์บอเนต (Mn, Ca-carbonate, $CaMn(CO_3)_2$) เป็นตัวตรึงเซลล์ ซึ่งจากการทดลองพบว่ากระบวนการดูดซับสารหนูจะขึ้นอยู่กับชนิดของสารหนูและชนิดของของแข็ง (Solid phase) ที่ใช้ในการเป็นตัวดูดซับ (Support) โดยในการทดลองเมื่อความเข้มข้นของสารหนูเริ่มต้นเท่ากับ 1.33 มิลลิโมลาร์ ในสภาวะที่มีและมีการเติมเชื้อจุลินทรีย์ลงไปจะพบว่า เชื้อจุลินทรีย์

จะทำการออกซิเดชั่นอาร์เซไนต์ ไปเป็นอาร์เซเนต โดยอาศัยเอนไซม์อาร์ซิเนตออกซิเดส (Arsenate oxidase) แต่ในสภาวะที่มีคัตนาโฮไรต์ และมีการเติมเชื้อจุลินทรีย์ลงไป พบว่าจะเกิดการออกซิเดชั่นของอาร์เซไนต์ไปเป็นอาร์เซเนต ได้น้อยเมื่อเทียบกับในสภาวะที่ใช้คาบาไซต์และที่สภาวะการทดลองนี้จะไม่ตรวจพบอาร์เซเนต ซึ่งอาจเป็นเพราะอาร์เซเนต เกิดการดูดซับอยู่บนคัตนาโฮไรต์

Jenkis และคณะ (2003) ได้ทำการย่อยสลายสารอาร์เซโนบีเทน (Arsenobetaine) โดยใช้เชื้อ *Paenibacillus* sp. และ *Pseudomonas* sp. พบว่ากระบวนการย่อยสลายโดยอาศัยเอนไซม์เมทิลทรานสเฟอเรส (Methyltransferase) ซึ่งจะประกอบด้วย 2 ขั้นตอนคือ ขั้นแรกเป็นการย่อยสลายพันธะเมทิล-อาร์ซินิก (Methyl-arsenic) ไปเป็นอาร์ซีโนอิลอะซิเตตซึ่งจะเกิดขึ้นในช่วงระยะ log phase ของการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ จากนั้นจะเกิดการย่อยสลายพันธะคาร์บอกซิล-อาร์ซินิก (Carboxyl-arsenic) ในสภาวะที่สารอาหารที่เป็นแหล่งคาร์บอนจำกัด ได้เป็นไดเมทิลอาร์ซิเนต (Dimethyl arsenate) ซึ่งในขั้นตอนนี้จะเกิดขึ้นเมื่อเชื้อจุลินทรีย์มีการเจริญอยู่ในระยะ stationary phase

Turpeinen และคณะ (1999) ได้ทำการศึกษากิจกรรมของจุลินทรีย์ที่มีผลต่อสารหนูในดิน โดยทำการเลี้ยงเชื้อในอาหารที่มีพีเอชเท่ากับ 7 และใช้น้ำตาลกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน โดยทำการเลี้ยงเชื้อในที่มืดเป็นเวลา 5 วัน ที่อุณหภูมิห้อง และทำการศึกษาทั้งในสภาวะที่มีและไม่มีออกซิเจน จากการทดลองพบว่า ในสภาวะที่มีออกซิเจนสารหนูจะเกิดปฏิกิริยาเมทิลเลชั่น (Methylation) ออกซิเดชั่น (Oxidation) และรีดักชั่น (Reduction) สำหรับในสภาวะที่ไม่มีออกซิเจนนั้น พบว่าสารหนูจะเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชั่นและรีดักชั่น แต่จะไม่เกิดปฏิกิริยาเมทิลเลชั่น เนื่องจากการเกิดปฏิกิริยาเมทิลเลชั่น ในสภาวะที่ไม่มีออกซิเจนเริ่มแรกสารหนูจะเกิดปฏิกิริยาได้เป็นก๊าซอาร์ซีนแล้วจึงเกิดปฏิกิริยาการเปลี่ยนแปลงต่อไปได้เป็นกรดโมโนเมทิลอาร์เซนิก (Monomethyl arsenic acid, MMAA) และกรดไดเมทิลอาร์เซนิก (Dimethyl arsenic acid, DMAA) แต่ปฏิกิริยาจะเกิดช้ามาก ซึ่งในสภาวะการทดลองที่ทำการศึกษาเพียงแค่ 5 วันนั้นเป็นระยะเวลาที่สั้นเกินไปที่จะทำการศึกษาสาร MMAA และ DMAA ที่เกิดขึ้น

Hofmann และคณะ (2001) ได้ทำการศึกษาแบคทีเรียและราสายพันธุ์ที่ทนต่อสารหนูจากดินที่มีการปนเปื้อนของสารหนู พบว่าเชื้อ *Trichoderma harzianum* AS11 สามารถที่จะออกซิไดซ์สาร Triphenylarsine เป็น Triphenylarsineoxide เชื้อ *Trichosporon mucoides* SBUG 801 และ *Phanerochaete chrysosporium* สามารถที่จะออกซิไดซ์อาร์เซไนต์ในสารไตรฟีนิลอาร์ซีนได้

นอกจากนี้ได้มีการพยายามเพิ่มประสิทธิภาพในการบำบัด/ดูดซับโลหะโดยเชื้อจุลินทรีย์โดย การใช้สนามแม่เหล็กเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการดูดซับ การใช้ถังปฏิกรณ์ที่มีความสามารถในการจับกับโลหะได้ดีกว่าถังปฏิกรณ์ที่ใช้การตรึงเซลล์ การใช้ระบบ Flotation เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการเก็บชีวมวลและโลหะที่ถูกดูดซับ (Lovley and Coates, 1997)

5. ปัจจัยที่ต้องคำนึงถึงในกระบวนการดูดซับโดยจุลินทรีย์

ในการดูดซับสารหนูโดยใช้จุลินทรีย์นั้นจำเป็นที่จะต้องคำนึงถึงสภาวะแวดล้อมที่ใช้ในการดูดซับซึ่งจะมีผลต่อประสิทธิภาพในการดูดซับสารหนู ซึ่งได้แก่ พีเอช อุณหภูมิ ความเข้มข้นเริ่มต้นของสารหนู สารอาหารที่ใช้ อายุของเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในการศึกษา (Ahatya *et al.,* 2003; Wang and Chen, 2006) ดังแสดงในตารางที่ 5

5.1 คุณสมบัติของโลหะในสารละลาย ซึ่งจำแนกออกเป็นกลุ่มได้ตามค่าอิเล็กโตรเนกาติวิตีประจุและรัศมีไอออนของโลหะ ดังนี้

- Hard metal ได้แก่ โซเดียม โพแทสเซียม แคลเซียม แมกนีเซียม ซึ่งเป็นโลหะที่ไม่มีความเป็นพิษและเป็นสารอาหารที่จำเป็นสำหรับการเจริญของจุลินทรีย์ สามารถจับกับหมู่ฟังก์ชันที่มีออกซิเจน ได้แก่ หมู่ไฮดรอกซิล ฟอสเฟต คาร์บอเนต คาร์บอกซิล และหมู่คาร์บอนิล

- Soft metal เช่น ปรอท แคดเมียม และตะกั่ว ซึ่งมีความเป็นพิษสูงจะจับไนโตรเจนหรือซัลเฟอร์ของหมู่ฟังก์ชั่น ซึ่งได้แก่ หมู่ไซยาไนด์ ไทออล เอมีน และหมู่อิมิดาโซล

- Intermediate metal เช่น สังกะสี ทองแดง และโคบอลท์ ซึ่งมีความเป็นพิษน้อยและอยู่รวมกับสารชีวโมลกุล เกี่ยวข้องกับกระบวนการทางชีวเคมี

5.2 พีเอช จัดเป็นปัจจัยที่สำคัญ ค่าพีเอชของสารละลายมีผลต่อการเสียสภาพของบริเวณที่จับกับโลหะของชีวมวล เคมีของโลหะในสารละลาย และการแข่งขันของไอออนโลหะ เมื่อพีเอชมีค่าเพิ่มขึ้นทำให้ความสามารถในการดูดซับเพิ่มขึ้น แต่ค่าพีเอชที่สูงเกินไปมีผลทำให้โลหะตกตะกอนได้ และโลหะที่ต่างชนิดกันมีค่าพีเอชที่เหมาะสมต่อการดูดซับต่างกัน

5.3 อุณหภูมิ โดยทั่วไปแล้วอุณหภูมิที่ใช้ในการดูดซับเป็นอุณหภูมิที่ไม่สูง ซึ่งจัดได้ว่าการดูดซับเป็นปฏิกิริยาแบบ Exothermic ดังนั้นความสามารถในการดูดซับเพิ่มขึ้นเมื่ออุณหภูมิลดลง

5.4 ความเข้มข้นเริ่มต้นของโลหะ ถ้าปริมาณของชีวมวลคงที่ อัตราการสะสมโลหะเพิ่มขึ้นเมื่อมีการเพิ่มความเข้มข้นเริ่มต้น ที่ความเข้มข้นต่ำไอออนของโลหะในสารละลายไม่เพียงแต่จะถูกดูดซับบนชีวมวลเท่านั้น แต่จะเกิดการเคลื่อนที่เข้าไปในเซลล์ได้ด้วย

ตารางที่ 5 ปัจจัยที่มีผลต่อการดูดซับโลหะโดยจุลินทรีย์

Table 5. Parameter for microbial adsorption of heavy metal.

Biosorption parameter	Optimal condition	References
pH	5	Visoottiviseth and Panviroj (2001); Loukidou *et al.* (2003)
	2	Goyal *et al.* (2003)
	4.5	ยุพดี ชัยสุขสันต์ (2542)
Temperature	27ºC	Visoottiviseth and Panviroj (2001)
	35ºC	Goyal *et al.* (2003)
Initial metal concentration	10 mg/l	Visoottiviseth and Panviroj (2001)
	200 mg/l (*S. equisimilis)*	
	100 mg/l (*S. cerevisiae*)	Goyal *et al.* (2003)
	250 mg/l (*A. niger)*	
	50 ppm (arsenite)	อภิฤดี ชูโชติรส (2543)
	100 ppm (arsenate)	
Cell age	log phase	Goyal *et al.* (2003)
Cell concentration	0.75 g/l	Goyal *et al.* (2003)
Contact time	72 hours (arsenite)	อภิฤดี ชูโชติรส (2543)
	96 hours(arsenate)	
Co-ion	iron ion	อภิฤดี ชูโชติรส (2543)

5.5 ความเข้มข้นของชีวมวล ในสารละลายมีผลต่อการดูดซับ ความเข้มข้นของชีวมวลที่ต่ำจะเพิ่มความจำเพาะในการดูดซับโลหะ ความเข้มข้นของชีวมวลที่เพิ่มขึ้นทำให้เพิ่มบริเวณที่จับกับโลหะมากขึ้น

5.6 การมีไอออนร่วม ซึ่งการมีโลหะในสารละลายหลายชนิดจะมีผลต่อการกำจัดโลหะชนิดใดชนิดหนึ่งได้

5.7 อายุของเชื้อ มีผลต่อการดูดซับโลหะ โดยทั่วไปเซลล์ที่มีอายุอยู่ในระยะ log phase มีความสามารถในการดูดซับสูงกว่าในระยะ stationary phase

5.8 องค์ประกอบของอาหาร เช่น กลูโคส ซึ่งเป็นแหล่งพลังงานของเซลล์ที่มีชีวิต การเติมกลูโคสและ trace elements เข้าไปในกระบวนการดูดซับจะมีผลต่อการเจริญของเซลล์และทำให้การ

ดูดซับโลหะเพิ่มขึ้น ตัวอย่างเช่น การเติมกลูโคสในสารละลายเซลล์ที่มีชีวิตก่อนการเติมสตรอนเซียม (Sr^{2+}) เป็นเวลา 5 นาที จะมีผลกระตุ้นการสะสม สตรอนเซียม (Sr^{2+}) ให้เพิ่มขึ้น

Yun-Gou และคณะ (2006) ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการดูดซับแคดเมียมและสังกะสีโดยใช้ *Aspergillus niger* เป็นเชื้อดูดซับ พบว่า พีเอชที่เหมาะสมต่อการดูดซับแคดเมียมและสังกะสีเท่ากับ 4.0 และ 6.0 ตามลำดับ อุณหภูมิและอัตราการเขย่าที่ดีที่สุดอยู่ในช่วง 25 - 30 องศาเซลเซียสและ 120 รอบต่อนาที ภายใต้สภาวะที่เหมาะสมนี้ให้ค่าการดูดซับแคดเมียมและสังกะสีเท่ากับ 15 - 50 และ 23.70 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อมีความเข้มข้นเริ่มต้นเท่ากับ 75 และ150 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ

อย่างไรก็ตามประโยชน์ของการดูดซับโลหะนั้นจะขึ้นอยู่กับประสิทธิภาพในการนำตัวดูดซับกลับมาใช้ใหม่และสามารถนำโลหะกลับมาใช้หลังจากการปลดปล่อยโลหะจากชีวมวล ซึ่งเป็นสิ่งสำคัญในการลดค่าใช้จ่าย ในการปลดปล่อยโลหะต้องคำนึงถึงปริมาณของโลหะที่ถูกปลดปล่อยสามารถนำตัวดูดซับกลับมาใช้ใหม่ได้ และไม่มีการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพหรือทำลายตัวดูดซับชีวภาพ

การปลดปล่อยโลหะจากตัวดูดซับขึ้นอยู่กับค่าพีเอชของสารละลาย ซึ่งต้องมีการปรับให้เหมาะสมกับโลหะแต่ละชนิด ตัวอย่างสารที่ใช้สำหรับการปลดปล่อยโลหะได้แก่ คาร์บอเนตและไบคาร์บอเนต ซึ่งเป็นสารเคมีที่ไม่ทำลายโครงสร้างของตัวดูดซับ สารละลายแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ โพแทสเซียมไฮโดรเจนคาร์บอเนต โพแทสเซียมไซยาไนด์และสารละลาย EDTA อาจมีผลทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของเซลล์ได้ มีการใช้สารละลายกรดที่เจือจางเพื่อปลดปล่อยโลหะที่จับกับผนังเซลล์จุลินทรีย์อย่างกว้างขวางและการเพิ่มค่าความเป็นกรดทำให้ความสามารถในการปลดปล่อยโลหะเพิ่มขึ้น (Gupta *et al.,* 2000)

Krihna และ Philip (2005) ได้คัดแยกเชื้อจุลินทรีย์จากตัวอย่างดินที่มีการปนเปื้อนโลหะ พบว่าเชื้อจุลินทรีย์สามารถทนต่อความเข้มข้นของโครเมียม(VI) ได้ถึง 400 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อใช้สารละลาย EDTA ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ พีเอชเท่ากับ 9 สามารถให้ประสิทธิภาพในการปลดปล่อยโครเมียมสูงสุด นอกจากนั้นความเข้มข้นเริ่มต้นของโครเมียมและแหล่งคาร์บอนยังมีผลต่อการรีดิวซ์โครเมียม โดยพบว่ากากน้ำตาลมีความเหมาะสมมากที่สุดในการเป็นตัวให้อิเล็กตรอน ระยะเวลาในการรีดิวซ์โครเมียมเพิ่มขึ้นเมื่อมีความเข้มข้นเริ่มต้นของโลหะสูงขึ้น ซึ่งที่ความเข้มข้น 80 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถรีดิวซ์โครเมียมได้ร้อยละ 80 ภายในเวลา 8 ชั่วโมง

Shuttleworth และ Unz (1993) ศึกษาการปลดปล่อยทองแดง นิกเกิล และสังกะสี โดยใช้ตัวชะล้างคือสารละลายโพแทสเซียมคลอไรด์ 6 มิลลิโมลาร์ สารละลายแคลเซียมคลอไรด์ 5 มิลลิโมลาร์ และสารละลาย EDTA 5 มิลลิโมลาร์ที่ละลายในสารละลายบัฟเฟอร์ HEPES ความเข้มข้น 20 มิลลิโมลาร์ พีเอช 7.2 พบว่า การใช้สารละลาย EDTA มีประสิทธิภาพในการเป็น Desorbing agent

สูงสุด โดยสามารถทำให้เซลล์เกิดการปล่อยสารหนูได้ร้อยละ 80 - 83 ของโลหะที่ถูกดูดซับ รองลงมาคือสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ ส่วนสารละลายโพแทสเซียมคลอไรด์ไม่มีผลต่อการปลดปล่อยทองแดง แต่มีผลต่อการปลดปล่อยนิกเกิลและสังกะสี

Han และคณะ (2006) ได้ศึกษาการปลดปล่อยโครเมียม(III) ที่อยู่บนชีวมวลด้วย Desorbing agent ที่แตกต่างกันได้แก่ น้ำปราศจากไอออน สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.5 โมลาร์ สารละลายกรดไนตริก 0.1 โมลาร์ สารละลายกรดซัลฟูริก 0.1 โมลาร์ สารละลาย EDTA ความเข้มข้นร้อยละ 2 และสารละลายกรดไฮโดรคลอริก โดยพบว่าสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.5 โมลาร์ให้ประสิทธิภาพในการปลดปล่อยสูงสุดแต่พบว่าสารละลายที่เกิดขึ้นหลังจากการปลดปล่อยมีสีเขียวเข้มซึ่งแสดงว่าผนังเซลล์ถูกทำลายด้วยด่าง เมื่อใช้สารละลายกรดไฮโดรคลอริก พบว่าโครเมียมถูกปลดปล่อยออกมาได้ร้อยละ4.92 - 14.18 ของโลหะที่ถูกดูดซับ เมื่อใช้น้ำปราศจากไอออน สารละลายกรดไนตริก สารละลายกรดซัลฟูริก และสารละลาย EDTA สามารถปลดปล่อยโครเมียมได้น้อยกว่าร้อยละ 10

จากความสามารถของเชื้อจุลินทรีย์ที่สามารถเจริญได้ในสภาวะที่มีโลหะ ซึ่งสาเหตุที่เชื้อจุลินทรีย์สามารถเจริญได้นั้นอาจเป็นเพราะจุลินทรีย์ใช้โลหะเป็นตัวรับอิเลกตรอนในการผลิตพลังงานและการเจริญของเซลล์จุลินทรีย์ จึงมีความเป็นไปได้ที่จะนำจุลินทรีย์มาใช้ในการดูดซับสารหนู แต่ในการดูดซับสารหนูโดยเชื้อจุลินทรีย์นั้นจำเป็นต้องคำนึงถึงสภาวะที่เหมาะสมในการดูดซับ เพื่อที่จะให้การดูดซับสารหนูมีประสิทธิภาพสูงที่สุด โดยปัจจัยที่ต้องคำนึงถึงได้แก่ พีเอช อุณหภูมิที่ใช้ อายุและปริมาณของเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ ความเข้มข้นเริ่มต้นของสารหนูที่ใช้ในการดูดซับ และเวลาที่ใช้ในการดูดซับ ซึ่งปัจจัยดังกล่าวจะต้องควบคุมให้เหมาะสมต่อการทำงานของเชื้อจุลินทรีย์ นอกจากนี้อาจจะต้องคำนึงถึงปริมาณและชนิดของไอออนร่วมเพื่อที่จะช่วยให้การดูดซับสารหนูโดยเชื้อจุลินทรีย์เกิดได้ดีขึ้น

วัตถุประสงค์

1. เพื่อคัดเลือกและจำแนกเชื้อจุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการดูดซับสารหนูจากแหล่งที่มีการปนเปื้อน
2. เพื่อศึกษาสภาวะที่มีผลต่อการดูดซับสารหนูโดยจุลินทรีย์ที่คัดเลือกได้และจุลินทรีย์ผสมจากแหล่งปนเปื้อน

ขอบเขตการวิจัย

เก็บตัวอย่างดินและตะกอนดินที่มีการปนเปื้อนของสารหนู วิเคราะห์ปริมาณสารหนูในตัวอย่างดินที่มีการปนเปื้อน คัดเลือกจุลินทรีย์ที่สามารถเจริญได้ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีสารหนู ศึกษาระยะการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ที่เหมาะสมต่อการดูดซับสารหนู ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการดูดซับไอออนของสารหนูโดยจุลินทรีย์ที่คัดแยก ได้แก่ พีเอช อุณหภูมิ ระยะเวลาในการดูดซับ ความเข้มข้นเริ่มต้นของสารหนู และปริมาณจุลินทรีย์ที่ใช้ในการดูดซับ ศึกษาการดูดซับและการปล่อยสารหนูโดยจุลินทรีย์ และจำแนกจุลินทรีย์ที่ดูดซับสารหนู

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ได้จุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการดูดซับสารหนูจากแหล่งที่มีการปนเปื้อนของสารหนู
2. ทราบถึงสภาวะที่เหมาะสมต่อการดูดซับสารหนูโดยจุลินทรีย์ที่คัดแยกได้
3. เป็นแนวทางในการบำบัดสารหนูในบริเวณที่มีการปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อม
4. เป็นแนวทางในการประยุกต์การศึกษาและคัดเลือกเชื้อจุลินทรีย์เพื่อนำไปใช้ในการบำบัดโลหะหนักอื่นๆ ที่ปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อม