บทที่ 4

สรุปผลการทดลอง

จากเก็บตัวอย่างดินในบริเวณที่มีการปนเปื้อนของสารหนูในเขตอำเภอร่อนพิบูลย์ จังหวัดนครศรีธรรมราช ได้แก่ ตัวอย่างดินจากบริเวณโครงการปฏิบัติการแก้ไขและลดการแพร่กระจายของสารหนูโดยใช้พืช ตัวอย่างดินบริเวณบ่อฝังกลบกากแร่สารหนูและบริเวณร่องน้ำเก่าบนเขาร่อนนาที่มีแนวทางไหลจากบ่อฝังกลบกากแร่พบว่าตัวอย่างดินสามารถแบ่งได้เป็น 2 กลุ่มคือโดยกลุ่มแรกตัวอย่างดินมีค่าความเป็นกรด-ด่างอยู่ในช่วง 7.22 - 8.13 และมีปริมาณสารหนูในตัวอย่างดิน 613.13 - 42.14 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักสำหรับตัวอย่างดินในกลุ่มที่สอง ความเป็นกรด-ด่างมีค่าอยู่ในช่วง 5.39 - 7.20 มีปริมาณสารหนูสูงสุดเท่ากับ 1010.96 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักแห้งของดิน และมีปริมาณสารหนูต่ำสุดเท่ากับ 73.17 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักแห้งของดินดังนั้นตัวอย่างดินที่มีการปนเปื้อนมีค่าความเป็นกรด-ด่างอยู่ในช่วงของกรดอ่อน-เบสอ่อน ปริมาณสารหนูที่วัดได้ยังมีค่าสูงเมื่อเทียบกับมาตรฐานปริมาณสารหนูที่กำหนดให้มีในดิน

เมื่อนำตัวอย่างมาทำการคัดเลือกเชื้อจุลินทรีย์ที่สามารถเจริญได้ในสภาวะที่มีสารหนูสูงสุด (40 มิลลิโมลาร์) พบว่าเชื้อจุลินทรีย์ที่สามารถทนต่อสารหนูความเข้มข้นสูงได้มีทั้งหมด 24 สายพันธุ์โดยเชื้อแบคทีเรียส่วนใหญ่เป็นแกรมลบ เมื่อจำแนกเชื้อโดยคุณสมบัติทางชีวเคมีสามารถจำแนกเชื้อจุลินทรีย์ที่คัดแยกได้ออกเป็น 7 สกุล ซึ่งแบคทีเรียกลุ่มที่หนึ่ง ได้แก่ *Enterobacter* ประกอบด้วยเชื้อแบคทีเรีย B-6, B-17, B-22 และ B-27 กลุ่มที่สอง ได้แก่ *Neisseria* ประกอบด้วยเชื้อ B-7, B-8 และ B-21 กลุ่มที่สาม ได้แก่ *Pseudomonas* ประกอบด้วยเชื้อ B-2, B-3, B-9, B-10, B-14, B-25, B-26 และ B-28 กลุ่มที่สี่ ได้แก่ *Staphylococcus* ประกอบด้วยเชื้อ B-5, B-18, B-20 และ B-23 กลุ่มที่ห้า ได้แก่ *Streptococcus* ประกอบด้วยเชื้อ B-4 และ B-19 กลุ่มที่หก ได้แก่ *Xanthobacter* ประกอบด้วยเชื้อ B-11 และ B-12 กลุ่มที่เจ็ด ได้แก่ *Xanthomonas* ประกอบด้วยเชื้อ B-13

เมื่อนำเชื้อแบคทีเรียทั้ง 24 สายพันธุ์มาศึกษาระยะการเจริญที่เหมาะสมต่อการดูดซับสารหนู พบว่า ปริมาณสารหนูจะลดลงเมื่อเชื้อแบคทีเรียอยู่ในระยะ exponential phase และ stationary phase ของการเจริญ และปริมาณของสารหนูในรูปของอาร์เซเนตมีปริมาณที่ค่อนข้างคงที่ไม่แตกต่างกันในช่วงระยะเวลาต่าง ๆ แสดงว่า สารหนูไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงรูปจากอาร์เซไนต์เป็นอาร์เซเนต จึงมีความเป็นไปได้ที่ปริมาณสารหนูที่ลดลงเกิดจากการดูดซับไว้บนแบคทีเรีย ซึ่งปริมาณของอาร์เซไนต์ที่ลดลงโดยเชื้อแบคทีเรียแต่ละสายพันธุ์ พบว่าเชื้อ B-13 สามารถลดปริมาณอาร์เซไนต์

ลงได้มากที่สุดคือร้อยละ 96.93 รองลงมาคือเชื้อ B-8, B-7, B-10, และ B-4 ซึ่งสามารถลดปริมาณของอาร์เซไนต์ลงได้ร้อยละ 87.08, 86.72, 84.36 และ 80.90 ตามลำดับ สำหรับเชื้อที่สามารถลดปริมาณอาร์เซไนต์ลงได้น้อยที่สุดคือ เชื้อ B-18 ซึ่งสามารถลดปริมาณลงได้เพียงร้อยละ 36.87

เมื่อนำเชื้อแบคทีเรีย B-4, B-7, B-8, B-10 และ B-13 มาศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการดูดซับสารหนู พบว่าสภาวะที่เหมาะสมต่อการดูดซับโดยใช้เชื้อ B-4 คือ พีเอชเริ่มต้นของสารละลายสารหนู เท่ากับ 7 ทำการดูดซับที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 12 ชั่วโมง โดยมีความเข้มข้นเริ่มต้นของสารหนูเท่ากับ 40 มิลลิโมลาร์ และปริมาณเชื้อแบคทีเรียที่เหมาะสมต่อการดูดซับเท่ากับ 0.5 กรัมต่อลิตรซึ่งสามารถลดปริมาณสารหนูได้ร้อยละ 50.91 เชื้อ B-7และB-8 พีเอชเริ่มต้นของสารละลายสารหนู เท่ากับ 8 ทำการดูดซับที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 12 ชั่วโมง โดยมีความเข้มข้นเริ่มต้นของสารหนูเท่ากับ 80 มิลลิโมลาร์ และปริมาณเชื้อแบคทีเรียที่เหมาะสมต่อการดูดซับเท่ากับ 0.5 กรัมต่อลิตรสามารถลดปริมาณสารหนูได้ร้อยละ34.23 และ 30.0 ตามลำดับ เชื้อ B-10 พีเอชเริ่มต้นของสารละลายสารหนู เท่ากับ 8 ทำการดูดซับที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 8 ชั่วโมง โดยมีความเข้มข้นเริ่มต้นของสารหนูเท่ากับ 40 มิลลิโมลาร์ และปริมาณเชื้อแบคทีเรียที่เหมาะสมต่อการดูดซับเท่ากับ 0.5 กรัมต่อลิตรสามารถลดปริมาณสารหนูได้ร้อยละ 35.71 เชื้อ B-13 พีเอชเริ่มต้นของสารละลายสารหนู เท่ากับ 8 ทำการดูดซับที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 2 ชั่วโมง โดยมีความเข้มข้นเริ่มต้นของสารหนูเท่ากับ 40 มิลลิโมลาร์ และปริมาณเชื้อแบคทีเรียที่เหมาะสมต่อการดูดซับเท่ากับ 0.5 กรัมต่อลิตร สามารถลดปริมาณสารหนูได้ร้อยละ 40.19 จากผลการศึกษานี้ พบว่าประสิทธิภาพในการลดลงของสารหนูโดยเชื้อแบคทีเรียทั้ง 5 สายพันธุ์มีค่าต่ำกว่าผลที่ได้จากการศึกษาการเจริญของเชื้อแบคทีเรียในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีการเติมสารหนู ซึ่งน่าจะมีสาเหตุจากการที่เชื้อแบคทีเรียอยู่ในสภาวะที่มีอาหารอยู่จะช่วยเสริมให้แบคทีเรียสามารถทนทานและมีประสิทธิภาพในการลดปริมาณของสารหนูได้ดีกว่าในสภาวะเชื้อแบคทีเรียไม่ได้อยู่ในอาหารเลี้ยงเชื้อ

จากผลการศึกษาการดูดซับ-การปลดปล่อยสารหนู พบว่าเชื้อแต่ละชนิดสามารถปลดปล่อยสารหนูได้ในปริมาณที่แตกต่างกันคือ เชื้อ B-4 มีร้อยละการปลดปล่อยสารหนูเท่ากับ 38.49 - 26.45 เชื้อ B-7 มีร้อยละการปลดปล่อยสารหนูเท่ากับ 7.27 - 7.76 เชื้อ B-8 มีร้อยละการปลดปล่อยสารหนูเท่ากับ 29.57 - 38.44 เชื้อ B-10 มีร้อยละการปลดปล่อยสารหนูเท่ากับ 30.55 - 20.19 และเชื้อ B-13 มีร้อยละการปลดปล่อยสารหนูเท่ากับ 30.91 - 22.09 ตามลำดับ หลังจากผ่านกระบวนการดูดซับ-ปลดปล่อยเป็นจำนวน 3 รอบ

เมื่อนำเชื้อ B-4, B-7, B-8, B-10 และ B-13 ไปทำการจำแนกโดยการวิเคราะห์ลำดับเบสของ 16S rDNA พบว่าเชื้อแต่ละลายพันธุ์สามารถจำแนกได้ดังนี้ เชื้อ B-7 มีความใกล้เคียงกับเชื้อ

แบคทีเรีย *Microbacterium oxydans* ร้อยละ 97 (707/724) เชื้อ B-8 มีความใกล้เคียงกับเชื้อแบคทีเรีย *Achromobacter* sp. ร้อยละ99 (1378/1379) และเชื้อ B-10 มีความใกล้เคียงกับเชื้อแบคทีเรีย *Ochrobactrum anthropi* ร้อยละ 97 (1106/1134) จะเห็นได้ว่าผลการจำแนกเชื้อโดยวิธีการหาลำดับเบสของ 16S rDNA นั้นให้ผลที่แตกต่างจากการจำแนกเชื้อเบื้องต้นด้วยวิธีทางสัณฐานวิทยาและคุณสมบัติทางชีวเคมี แต่เมื่อตรวจสอบข้อมูลทางชีวเคมีของเชื้อแบคทีเรียทั้ง 3 สายพันธุ์แล้วพบว่ามีความคล้ายคลึงกับคุณสมบัติทางชีวเคมีของเชื้อแบคทีเรีย B-7, B-8 และ B-10 ตามลำดับ

สำหรับเชื้อแบคทีเรีย B-4 และ B-13 มีลำดับเบสที่ใกล้เคียงกันมากแต่ยังไม่สามารถบอกได้ว่าใกล้เคียงกับเชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์ใด ซึ่งมีความเป็นไปได้ที่เชื้อทั้งสองเป็นเชื้อสายพันธุ์ใหม่ อย่างไรก็ตามต้องมีการศึกษาในระยะเวลาต่อไป

ข้อเสนอแนะ

1. การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการดูดซับสารหนู ควรเพิ่มการศึกษาผลของไอออนโลหะอื่น ด้วยเนื่องจากโลหะบางชนิดอาจมีผลทำให้การดูดซับลดลงหรืออาจเพิ่มประสิทธิภาพให้มีมากขึ้น ควรมีการศึกษาการใช้เชื้อผสมในการดูดซับสารหนู เพราะเชื้อบางชนิดต้องทำงานร่วมกันจึงจะเพิ่มประสิทธิภาพในการดูดซับโลหะ และควรมีการศึกษาเปรียบเทียบการดูดซับสารหนูโดยเซลล์ของเชื้อแบคทีเรียที่มีชีวิตและไม่มีชีวิต
2. การศึกษาการปลดปล่อยสารหนูอาจต้องมีการหาสภาวะที่เหมะสมซึ่งได้แก่ พีเอช ความเร็วรอบในการเขย่า ระยะเวลาในการปลดปล่อย และสารเคมีที่ใช้ในการปลดปล่อย
3. สำหรับเชื้อแบคทีเรีย B-4 และ B-13 ยังไม่สามารถจำแนกเชื้อได้แน่ชัด ซึ่งอาจต้องมีการปรับปรุงขั้นตอนในการหาลำดับเบสเพื่อให้เหมาะสมต่อเชื้อแบคทีเรียทั้ง 2 สายพันธุ์ต่อไปก่อนที่จะสรุปว่าเชื้อทั้งสองเป็นแบคทีเรียสายพันธุ์ใหม่ที่มีคุณสมบัติดูดซับสารหนูได้
4. ในการวิเคราะห์ปริมาณสารหนูอาจต้องมีการปรับปรุงวิธีการวิเคราะห์ที่เหมาะสมเพื่อให้เกิดค่าผิดพลาดในการวิเคราะห์น้อยที่สุด
5. ผลการศึกษาที่ได้อาจนำไปประยุกต์ใช้ในการบำบัดโลหะในสิ่งแวดล้อมโดยอาจมีการตรึงเซลล์ไว้เพื่อให้สามารถนำเซลล์แบคทีเรียกลับมาใช้ได้อีก