

บทที่ 5 สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. ส่วนของการเจริญ

จากการทดลองเลี้ยงเชื้อยีสต์ในอาหารที่มีความเข้มข้นของโลหะหนักแต่ละชนิดที่ 5, 10 และ 20 ppm พบว่า เชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* (Bergandy) สามารถเจริญได้ดีโดยที่ความเข้มข้นไม่เกิน 20 ppm ของ Zn (รูปที่ 2) หรือ Mn (รูปที่ 9) จะไม่มีผลต่อการเจริญของเชื้อยีสต์ตัวนี้สามารถเจริญได้ดีเท่า ๆ กับ Control ซึ่งไม่มีโลหะหนักปนเปื้อนอยู่เลย ส่วน Co (รูปที่ 7) และ Cr (รูปที่ 8) ที่ความเข้มข้นไม่เกิน 20 ppm เชื้อยีสต์จะสามารถเจริญได้ในช่วงเวลา 15 ชั่วโมงแรก แต่จะเจริญได้ไม่ดีเมื่อเทียบกับ control ที่ไม่มี Co หรือ Cr อยู่เลย แต่หลังจาก 15 ชั่วโมงไปแล้วนั้น Co หรือ Cr จะมีผลยับยั้งการเจริญของเชื้อยีสต์ เป็นผลมาจากการเกิดการแลกเปลี่ยน anion ที่ผิวเซลล์กับ Cation ของ Co หรือ Cr เข้ามาเก็บไว้ที่ผนังเซลล์ เมื่อเวลาผ่านไปจะมีการสะสม Co หรือ Cr ในปริมาณที่มากขึ้น และจะมีการหลุดเข้ามาอยู่ภายในเซลล์ได้ จึงมีผลยับยั้งการเจริญเพิ่มขึ้นของเซลล์ แต่จะมีการตายเกิดขึ้นสำหรับผลของ Hg (รูปที่ 10) ที่ความเข้มข้นไม่เกิน 10 ppm จะมีผลต่อการเจริญของเชื้อยีสต์ คือจะเจริญได้ไม่ดีเมื่อเทียบกับ control แต่ที่ความเข้มข้น 20 ppm จะยับยั้งการเจริญของยีสต์ ยีสต์จะไม่เจริญเลยเนื่องจากความเป็นพิษต่อเซลล์ของ Hg ส่วน Cd (รูปที่ 6) ทุกความเข้มข้นคือ 5, 10 และ 20 ppm จะมีผลยับยั้งการเจริญของ *S. cerevisiae* (Bergandy) มาก เนื่องจากโลหะนี้มีความเป็นพิษต่อเซลล์มาก

จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า ถ้าเป็นการดูดซับโลหะ Zn หรือ Mn ในน้ำเสียจากโรงงานเราสามารถนำยีสต์ไปเลี้ยง ในขณะเดียวกันก็ใช้เป็นตัวดูดซับโลหะนั้นได้ ดังตัวอย่างของการประยุกต์ใช้แบบให้มีการเจริญไปพร้อม ๆ กับมีการดูดซับโลหะหนักของ Shumate และคณะ (20) ที่ทำการทดลองเพื่อพัฒนาระบบการดูดซับโลหะหนัก โดยตัวอย่างโลหะหนักที่ใช้ทดลองคือ ยูเรเนียม

แต่ถ้าเป็นโลหะหนักที่มีผลยับยั้งการเจริญของเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* (Bergandy) ก็ควรเลี้ยงมาใช้วิธีเลี้ยงเชื้อยีสต์ ให้ได้เต็มที่แล้วจึงนำไปใช้เป็นตัวดูดซับโลหะหนัก หรือใช้เซลล์ที่ไม่มีชีวิตเฉพาะผนังเซลล์เป็นตัวดูดซับ เพราะถ้าเป็น Hg หรือ Cd เซลล์ที่ตายแล้วจะสามารถทนทานและดูดซับได้มากกว่าเซลล์ที่มีชีวิต แต่วิธีนี้อาจจะสิ้นเปลืองค่าใช้จ่ายในเรื่องของอาหาร, สารเคมีที่ใช้มาเชื้อเวลาและความสะดวก

2. ส่วนของการดูดซับโลหะหนัก

จากผลการทดลอง ทดลองความสามารถของเชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* (Bergandy) *Saccharomyces cerevisiae* (Champ.) และ *Saccharomyces cerevisiae* ATCC5094 ในการดูดซับโลหะหนัก Zn (รูปที่ 5) พบว่า living cells ของ *S. cerevisiae* (Bergandy) จะดูดซับ Zn ได้ปริมาณที่สูงกว่าเชื้อยีสต์อีก 2 สายพันธุ์ คือ 1.19 $\mu\text{mol/g dry cells}$ หรือ 342.86 $\mu\text{g/g dry cells}$ สำหรับ *S. cerevisiae* (Champ.) และ 1.34 $\mu\text{mol/g dry cells}$ หรือ 385.72 $\mu\text{g/g dry cells}$ สำหรับ *S. cerevisiae* ATCC5094 โดยที่ค่าการดูดซับโลหะจะเป็น 1.59 $\mu\text{mol/g dry cells}$ หรือ 457.15 $\mu\text{g/g dry cells}$ ในส่วนของ killed cells ก็พบว่ามีความสามารถดูดซับ Zn ได้ดีกว่า killed cells ของยีสต์อีก 2 สายพันธุ์ เช่นกันคือ 0.99 $\mu\text{mol/g dry cells}$ หรือ 285.72 $\mu\text{g/g dry cells}$ สำหรับ *S. cerevisiae* (Champ.) และ 1.09 $\mu\text{mol/g dry cells}$ หรือ 314.29 $\mu\text{g/g dry cells}$ สำหรับ *S. cerevisiae* ATCC5094 โดยที่ค่าการ

ดูดซับของ *S. cerevisiae* (Bergandy) จะเป็น 1.49 $\mu\text{mol/g dry cells}$ หรือ 428.58 $\mu\text{g/g dry cells}$ ดังนั้นเราจึงต้องการทราบว่านอกจากยีสต์ *S. cerevisiae* สายพันธุ์นี้จะสามารถดูดซับ Zn ได้แล้วจะสามารถดูดซับโลหะหนักตัวอื่น ๆ คือ Hg, Cd, Mn ได้หรือไม่และความสามารถระหว่าง living cells และ killed cells จะแตกต่างกันอย่างไรเซลล์แบบไหนจะมีความสามารถสูงกว่ากัน จากผลการทดลองที่ได้ รูปที่ 13 living cells ของ *S. cerevisiae* (Bergandy) จะดูดซับ Zn ได้สูงสุดที่เวลา 120 min ปริมาณการดูดซับเท่ากับ 1.36 $\mu\text{mol/g dry cells}$ หรือ 389.98 $\mu\text{g/g dry cells}$ และจะไม่มี การปลดปล่อย Zn ออกมาเมื่อมีการดูดซับสูงสุดจนถึงเวลา 240 min แต่ถ้าเป็น killed cells จะดูดซับสูงสุดที่เวลา 20 min ปริมาณการดูดซับ 0.49 $\mu\text{mol/g dry cells}$ หรือ 129.9 $\mu\text{g/g dry cells}$ เมื่อดูดซับได้สูงสุดแล้ว ก็จะมีการปลดปล่อยออกมาเป็นเพราะว่า killed cells ที่ดูดซับ Zn จะนำ Zn เข้าไปใช้ใน metabolism ภายในเซลล์ได้นั้นจะต้องใช้พลังงานในการ uptake เข้าไป ซึ่งถ้าเป็น living cells จะมี activity ที่ดีกว่า ดังนั้นการที่มีการดูดซับในช่วงแรกจึงเป็นเพียงการ binding ระหว่าง anion ที่มีวเซลล์กับ cation ของ Zn เท่านั้น จึงมีโอกาที่จะหลุดได้ง่าย ซึ่งจากการวิจัยของ Fuhrmann และ Rothstein (3) ศึกษาการถ่ายเท Zn^{2+} เข้าสู่เซลล์ยีสต์เปรียบเทียบกับระหว่างเซลล์ที่มีชีวิตกับเซลล์ที่ตายแล้ว พบว่าเซลล์ที่มีชีวิตจะดูดซับ Zn ได้ในปริมาณที่มากกว่าเซลล์ที่ตายแล้ว โดยที่ค่าการดูดซับเท่ากับ 0.40 $\mu\text{mol/kg yeast (wet wt)}$ ซึ่งมากกว่า killed cells 5-20 เท่า ทั้งนี้เนื่องจากการดึงเข้าไปใช้ใน metabolism ภายในเซลล์ ในกรณีของ Mn (รูปที่ 14) พบว่า living cells จะไม่ดูดซับโลหะหนักคือ Mn เลยเมื่อเวลาผ่านไปจนถึง 240 min ส่วน killed cells จะดูดซับ Mn ได้สูงสุดที่เวลา 40 min ปริมาณการดูดซับ 7.58 $\mu\text{mol/g dry cells}$ หรือ 1,499.91 $\mu\text{g/g dry cells}$ แต่จะมีการปลดปล่อยออกมาบางส่วนเมื่อเวลาผ่านไปจนถึง 240 min ส่วน Hg (รูปที่ 12) และ Cd (รูปที่ 11) จะให้ผลคล้ายกัน คือ killed cells จะสามารถดูดซับได้ในปริมาณที่สูงกว่า living cells โดยที่ค่าการดูดซับจะเป็นดังนี้ killed cells จะดูดซับ Hg ได้ 31.67 $\mu\text{mol/g dry cells}$ หรือ 6,860 $\mu\text{g/g dry cells}$ ที่เวลา 10 min มากกว่า living cells ที่ดูดซับเท่ากับ 25.60 $\mu\text{mol/g dry cells}$ หรือ 5,544.96 $\mu\text{g/g dry cells}$ ที่เวลา 60 min คิดเป็น 19% (รูปที่ 15) ในกรณีของ Cd killed cells จะดูดซับได้ 1.80 $\mu\text{mol/g dry cells}$ หรือ 395 $\mu\text{g/g dry cells}$ ที่เวลา 20 min มากกว่า living cells ที่ดูดซับเท่ากับ 1.00 $\mu\text{mol/g dry cells}$ หรือ 219.97 $\mu\text{g/g dry cells}$ ที่เวลา 40 min คิดเป็น 44% (รูปที่ 15) ถึงแม้ว่าเซลล์ทั้งสองแบบจะปลดปล่อยโลหะหนักคือ Hg หรือ Cd ออกมาบ้าง แต่ในปริมาณที่ไม่มากนัก ทั้งนี้เนื่องจาก Hg และ Cd ไม่มีประโยชน์ใด ๆ สำหรับ metabolism ของยีสต์ เมื่อดูดซับเข้าไปจนถึงสมดุลแล้วก็จะไม่ดูดซับเพิ่มอีก เช่นเดียวกับการทดลองของ Norris และ Kelly (15) ที่ศึกษาการดูดซับ Cd โดยเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* ซึ่งค่าการดูดซับสูงสุดได้เท่ากับ 10 nmol/0.41 mg dry wt/ml ที่เวลา 60 min

ดังนั้นจากการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่าเซลล์ยีสต์ *S. cerevisiae* (Bergandy) ที่ตายแล้วจึงเหมาะที่จะใช้เป็นตัวดูดซับ Hg, Cd และ Mn ส่วนเซลล์ยีสต์ที่มีชีวิตควรใช้ดูดซับ Zn แต่ผลในส่วนที่ขัดแย้งกับทฤษฎีบ้างนั้น คือตามปกติ Zn และ Mn เป็นโลหะหนักที่เซลล์ยีสต์โดยทั่วไปสามารถนำไปใช้ประโยชน์ในกระบวนการเปลี่ยนแปลงภายในเซลล์ (metabolism) ได้ ดังนั้นผลการทดลองควรจะเป็นดังนี้ living cells ของยีสต์ สามารถดูดซับ Zn และ Mn ได้เรื่อย ๆ จนหมดความจำเป็นที่จะต้องใช้จึงหยุดการดูดซับแต่ผลที่เกิดขึ้น Mn ไม่ถูกดูดซับโดย living cells ของยีสต์ *S. cerevisiae* (Bergandy) สายพันธุ์นี้เลย ทั้งนี้อาจเป็นเพราะการเตรียม living cells สำหรับการทดลองนี้เกิดความผิดพลาดเนื่องจากไม่ได้มีการ treat เซลล์ที่มีชีวิตซึ่งควรจะใช้สารละลายของเกลือ เช่น NaCl หรือ Saline solution ช่วยให้เซลล์มีเสถียรภาพที่ดีกว่าการล้างด้วยน้ำกลั่น ต่างกับ killed cells ที่มีการ treat เซลล์ก่อนด้วย HClO_4 ทำให้มีประสิทธิ

ภาพในการดูดซับโลหะหนักได้ดีกว่าส่วนโลหะหนักที่ไม่มีประโยชน์ใด ๆ ต่อเซลล์ยีสต์ หรือมีความเป็นพิษเซลล์ที่มีชีวิตจะสะสมไว้ที่ผนังเซลล์และผิวเซลล์ เมื่อถึงสมดุลของประจุจะหยุดการดูดซับและปลดปล่อยโลหะหนักที่เกินสมดุลนั้นออกมาเซลล์ที่ตายแล้วจะดูดซับได้ทั้งโลหะที่มีและไม่มีประโยชน์ต่อเซลล์ เนื่องจากไม่มีความจำเป็นต้องใช้ประโยชน์จากโลหะใด ๆ เมื่อถึงสมดุลจึงหยุดการดูดซับปลดปล่อยส่วนเกินออกมา

ในการประยุกต์ใช้ประโยชน์ของจุลินทรีย์ในวิธีการนี้ จึงควรใช้เซลล์มีชีวิตในการดูดซับโลหะหนักที่ประโยชน์ต่อเซลล์ จะทำให้ดูดซับได้ในปริมาณสูงแต่ถ้าโลหะหนักนั้นไม่เป็นประโยชน์ต่อเซลล์ ควรใช้เซลล์ที่เลี้ยงเรียบร้อยแล้วมาทำให้ตายแล้วจึงนำมาใช้ในการดูดซับโลหะหนัก วิธีการที่เป็นไปได้เช่น การตรึงเซลล์ไว้กับอนุภาคในคอลัมน์แล้วผ่านน้ำทิ้ง โดยวัดความสามารถในหน่วยของปริมาณของโลหะหนัก (kg)/น้ำหนักเซลล์ (kg)/ปริมาตรน้ำทิ้ง (m^3) จะทำให้ทราบว่าถ้ามีปริมาณน้ำทิ้งจำนวนหนึ่งควรจะใช้ปริมาณเซลล์จำนวนเท่าใด จึงจะทำให้ได้ประสิทธิภาพความสามารถในการดูดซับโลหะหนักสูงสุด เซลล์จุลินทรีย์ที่ดีเมื่อใช้ดูดซับโลหะหนักแล้ว ควรจะนำมาใช้เป็นตัวดูดซับได้ใหม่หลังจากแยกโลหะหนักออกจากเซลล์แล้ว แต่ในความเป็นจริงน้ำทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรม มักมีสถานะที่ไม่เอื้ออำนวยต่อการเจริญของเซลล์จุลินทรีย์ เช่น สารอาหาร ปริมาณสารพิษ pH ดังนั้นการนำ killed cells มาเป็นตัวดูดซับจะให้ผลที่ดีกว่า เพราะเป็นเซลล์ที่ตายแล้วไม่ต้องการอาหารหรือควบคุมสภาวะใด ๆ