รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการการลดคลอรีนแบบรีดักชันของสารประกอบอินทรีย์คลอรีนเสี่ยงอันตรายในตะกอน

โดย รศ.ดร. จินต์ อโณทัย

พฤศจิกายน 2552

สัญญาเลขที่ RMU5080012

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการการลดคลอรีนแบบรีดักชันของสารประกอบอินทรีย์คลอรีนเสี่ยงอันตรายในตะกอน

รศ.ดร. จินต์ อโณทัย
ภาควิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม
คณะวิศวกรรมศาสตร์
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี

สนับสนุนโดยสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย
และสำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา
(ความเห็นในรายงานนี้เป็นของผู้วิจัย สกว. ไม่จำเป็นต้องเห็นด้วยเสมอไป)

กิตติกรรมประกาศ

ผู้รับทุนขอขอบคุณอย่างยิ่งต่อสำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษาและสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัยที่ร่วมกันให้ความสนับสนุนทางด้านการเงินแก่โครงการนี้โดยผ่าน “ทุนเพิ่มขีดความสามารถด้านการวิจัยของอาจารย์รุ่นกลางในสถาบันอุดมศึกษา” ตามสัญญาเลขที่ RMU5080012 ตลอดจนให้อิสระและอำนวยความสะดวกแก่ผู้รับทุนอย่างเต็มที่ในการดำเนินการวิจัยในครั้งนี้

โครงการวิจัยนี้ดำเนินการในรูปของคณะวิจัยซึ่งประกอบด้วย ผศ. จารุรัตน์ วรนิสรากุล และ รศ.ดร. เฉลิมราช วันทวิน จากภาควิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยพระจอมเกล้าธนบุรี และ Assoc. Prof. Dr. I-Ming Chen จาก Department of Environmental Resources Management, Chia-Nan University of Pharmacy and Science ประเทศไต้หวัน นอกจากนี้ยังมีนิสิตและนักศึกษาระดับบัณฑิตศึกษาหลายรุ่นด้วยกันซึ่งประกอบด้วย นางสาวฑีรนุช จิรกิตตยากร นางสาวสุกานดา เสนาะนิติ นางสาววิจิตรา สุจริต นางสาวโรสนี สะมาแอ นางสาววัชราภรณ์ มั่นคง นางสาวอรอุมา พิสิทธิ์ศักดิ์ นางสาวนิตยา ผิวโชติ นายวนิช วณิชาภิชาติ นายประภัทธ์ ศิริเมือง และนายธีรนันท์ กระจิบทอง ด้วยความทุ่มเทและร่วมแรงร่วมใจของสมาชิกทุกท่านในคณะวิจัยที่ได้กล่าวมาแล้ว จึงทำให้โครงการวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี ผู้รับทุนจึงขอขอบคุณสมาชิกทุกท่านในคณะวิจัยมา ณ โอกาสนี้ด้วย

ขอขอบคุณศูนย์ความเป็นเลิศแห่งชาติด้านการจัดการสิ่งแวดล้อมและของเสียอันตราย มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี และ Chia-Nan University of Pharmacy and Science ที่ให้ความอนุเคราะห์เครื่องมือวิเคราะห์ชั้นสูงสำหรับงานวิจัยในครั้งนี้

ผู้รับทุน

บทคัดย่อ

รหัสโครงการ: RMU5080012

ชื่อโครงการ: การลดคลอรีนแบบรีดักชันของสารประกอบอินทรีย์คลอรีนเสี่ยงอันตรายในตะกอน

ชื่อนักวิจัย: รศ.ดร. จินต์ อโณทัย

ภาควิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี

อีเมล์: jin.ano@kmutt.ac.th

ระยะเวลาโครงการ: 1 ธันวาคม พ.ศ. 2549 ถึง 30 พฤศจิกายน พ.ศ. 2552

โครงการวิจัยนี้ได้ศึกษาถึงการย่อยสลายทางชีวภาพภายใต้สภาวะไร้อากาศในตะกอนลำน้ำของเฮกซะคลอโรเบนซินและโพลีคลอริเนเต็ดไบฟินิลซึ่งถูกจัดให้เป็นสารมลพิษอินทรีย์คงทนในสิ่งแวดล้อมตามอนุสัญญาสตอกโฮล์มว่าด้วยสารมลพิษที่ตกค้างยาวนานโดยใช้ตะกอนและน้ำจาก 10 ลำน้ำรวม 28 ตัวอย่างในรูปแบบของน้ำตะกอน ตะกอนเหลว และชั้นตะกอนที่จำลองสภาพลำน้ำ ผลการศึกษาพบว่าเฮกซะคลอโรเบนซินสามารถย่อยสลายทางชีวภาพได้เป็นอย่างดีในทุกรูปแบบที่ทดลอง โดยการย่อยสลายเกือบทั้งหมดผ่านทางกลไกหลักเป็นเพนตะคลอโรเบนซิน 1,2,3,5-เตตระคลอโรเบนซิน และ 1,3,5-ไตรคลอโรเบนซินตามลำดับ มีเพียงส่วนน้อยที่เกิดการย่อยสลายผ่านกลไกรองเป็นเพนตะคลอโรเบนซิน 1,2,4,5-เตตระคลอโรเบนซิน 1,2,4-ไตรคลอโรเบนซิน และ 1,4-ไดคลอโรเบนซินตามลำดับ ตัวแปรที่สำคัญที่สุดคืออุณหภูมิซึ่งพบว่าในช่วง 15 ถึง 45 เซลเซียสการย่อยสลายเฮกซะคลอโรเบนซินจะเกิดได้ดีในช่วง 30 ถึง 40 เซลเซียสซึ่งใกล้เคียงกับอุณหภูมิทั่วไปของประเทศไทย ในขณะที่ประเทศพัฒนาแล้วซึ่งพบว่าเฮกซะคลอโรเบนซินย่อยสลายได้ยากจะมีความแปรปรวนของอุณหภูมิค่อนข้างมาก เป็นผลให้ตะกอนลำน้ำในประเทศไทยมีความหลากหลายทางจุลชีพมากกว่า เฮกซะคลอโรเบนซินจึงถูกย่อยสลายได้ตามธรรมชาติและไม่เป็นสารมลพิษอินทรีย์คงทนในประเทศไทย จุลชีพที่สามารถย่อยสลายเฮกซะคลอโรเบนซินคือแบคทีเรียกลุ่มสร้างมีเทนและกลุ่มแกรมบวกที่สามารถทนต่อการยับยั้งของแวนโคมัยซินได้ดี จลนพลศาสตร์ของการย่อยสลายสามารถอธิบายได้ด้วยสมการของ Michaelis-Menten โดยมีค่าคงที่การลดคลอรีนสูงสุดปรากฏและค่าคงที่ครึ่งอิ่มตัวของการย่อยสลายเฮกซะคลอโรเบนซินเท่ากับ 0.45-0.73 มิลลิกรัมต่อลิตรต่อวันและ 3.2-17.2 มิลลิกรัมต่อลิตรตามลำดับ ส่วนโพลีคลอริเนเต็ดไบฟินิลพบว่าย่อยสลายทางชีวภาพได้ยาก กล่าวคือจากทั้งหมด 21 คอนเจนเนอร์ที่ทดสอบมีเพียง 2,3,4-ไตรคลอโรไบฟินิลเท่านั้นที่สามารถย่อยสลายได้ในทุกชุดทดสอบแต่ใช้เวลานานกว่าเฮกซะคลอโรเบนซินมาก ในขณะที่ 2,4,4'- และ 3,4,5-ไตรคลอโรไบฟินิล, 2,4,2',5'-, 2,3,2',5'- และ 2,3,4,4'-เตตระคลอโรไบฟินิลสามารถย่อยสลายได้เพียงบางสภาวะ ส่วนคอนเจนเนอร์ที่เหลือไม่สามารถย่อยสลายได้เลย ชี้ให้เห็นว่าโพลีคลอริเนเต็ดไบฟินิลย่อยสลายทางชีวภาพได้ยากกว่าเฮกซะคลอโรเบนซินและเป็นสารมลพิษอินทรีย์คงทนภายใต้สภาวะแวดล้อมของประเทศไทย

คำสำคัญ: การฟื้นฟูสภาพทางชีววิทยา เฮกซะคลอโรเบนซิน พีซีบี โพลีคลอริเนเต็ดไบฟินิล

Abstract

Project Code: RMU5080012

Project Title: Reductive Dechlorination of Hazardous Chlorinated Organic Compounds in Sediment

Investigator: Assoc. Prof. Dr. Jin Anotai

Dept. of Environmental Engineering, King Mongkut's U. of Tech. Thonburi

E-mail Address: jin.ano@kmutt.ac.th

Project Period: December 1, 2006 to November 30, 2009

This research project studied the biodegradability of hexachlorobenzene and polychlorinated biphenyls, both of which have been classified as the persistent organic pollutants (POPs) in the Stockholm Convention, under anaerobic condition in the stream sediments. Twenty eight sediment and water samples from 10 streams were collected and used in the study in three medium forms, i.e., filtered sediment slurry, non-filtered sediment slurry, and sediment layer to simulate actual condition of the stream sediment. Hexachlorobenzene could be dechlorinated effectively in all three media tested under all conditions via the major pathway to pentachlorobenzene, 1,2,3,5-tetrachlorobenzene, and 1,3,5-trichlorobenzene, respectively. Minor pathway to pentachlorobenzene, 1,2,4,5-tetrachlorobenzene, 1,2,4-trichlorobenzene, and 1,4-dichlorobenzene, respectively, was also detected in some cases. The most important factor was temperature. Within the studied range of 15 to 45°C, the optimum temperature were found in between 30 and 40°C, very close to the typical temperature in Thailand. This was significantly different from most developed countries, where the hexachlorobenzene was found to be very persistent in the environment, that have very fluctuated temperature. As a result from temperature variation, the indigenous microbes in the stream sediments in Thailand were more diverse than those in developed countries. Hence, hexachlorobenzene could be effectively degraded and, thus, should not be considered as a persistent organic pollutant in Thailand. Hexachlorobenzene dechlorinators were methanogens and gram-positive bacteria which could resist to vancomycin. The dechlorination kinetics followed the Michaelis-Menten equation with the apparent maximum dechlorination rate constant and the half-saturation constant of hexachlorobenzene were 0.45-0.73 mg/(l.day) and 3.2-17.2 mg/l, respectively. Dechlorination of polychlorinated biphenyls, however, was unimpressive as compared to hexachlorobenzene. Of all 21 congeners being tested, only 2,3,4-trichlorobiphenyl could be dechlorinated in all scenarios but took much longer time than hexachlorobenzene. The 2,4,4'-, 3,4,5-trichlorobiphenyls, 2,4,2',5'-, 2,3,2',5'- and 2,3,4,4'-tetrachlorobiphenyls could be merely degraded under certain conditions whereas the remaining congeners could not be dechlorinated by any means. These results indicate that polychlorinated biphenyls are highly resisted to biodegradation and become the persistent organic pollutants in Thailand.

Keywords: bioremediation, hexachlorobenzene, PCBs, polychlorinated biphenyls

สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	ii
บทคัดย่อภาษาไทย	iii
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	iv
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ปัญหาที่ทำการวิจัยและความสำคัญของปัญหา	1
1.2 วัตถุประสงค์	2
1.3 ขอบเขตการวิจัย	3
1.4 ระยะเวลาวิจัย	3
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	4
2.1 เฮกซะคลอโรเบนซิน	4
2.1.1 ข้อมูลทั่วไป	4
2.1.2 ผลกระทบต่อสิ่งมีชีวิต	4
2.1.2.1 ความเป็นพิษเฉียบพลัน	6
2.1.2.2 ความเป็นพิษเรื้อรัง	6
2.1.3 ความคงตัวและการย่อยสลายทางชีวภาพ	7
2.1.4 ผลของสารให้อิเลคตรอน สารรับอิเลคตรอน และธาตุอาหาร	9
2.1.5 ผลของอุณหภูมิ	10
2.1.6 จลนพลศาสตร์ของการย่อยสลาย	11
2.1.7 จุลชีพที่มีส่วนต่อการลดคลอรีน	12
2.2 โพลีคลอริเนเต็ดไบฟีนิล	14
2.2.1 ข้อมูลทั่วไป	14
2.2.2 ผลกระทบต่อสิ่งมีชีวิต	15
2.1.2.1 ความเป็นพิษเฉียบพลัน	15
2.1.2.2 ความเป็นพิษเรื้อรัง	16
2.2.3 ความคงตัวและการย่อยสลายทางชีวภาพ	17
2.2.4 ผลของสารให้อิเลคตรอน สารรับอิเลคตรอน และธาตุอาหาร	21
2.2.5 ผลของอุณหภูมิ	22
2.2.6 จลนพลศาสตร์ของการย่อยสลาย	22
2.2.7 จุลชีพที่มีส่วนต่อการลดคลอรีน	23

บทที่ 3 วิธีการศึกษาวิจัย 25
3.1 วัสดุและอุปกรณ์ 25
3.1.1 ตัวอย่างน้ำและตะกอน 25
3.1.2 การเตรียมตะกอนและน้ำตะกอนสำหรับทดลอง 38
3.2 การวิเคราะห์ 40
3.2.1 วิธีการสกัด 40
3.2.2 วิธีการวิเคราะห์ 41
3.3 การทดลอง 42

บทที่ 4 ผลการศึกษา 43
4.1 ลักษณะสมบัติของตะกอนและน้ำตะกอน 43
4.2 การลดคลอรีนของเฮกซะคลอโรเบนซิน 46
4.2.1 ผลการศึกษาในน้ำตะกอน 46
4.2.1.1 ความสามารถในการย่อยสลายของจุลชีพแบบไร้อากาศ 46
4.2.1.2 ผลของธาตุอาหารเสริม 48
4.2.1.3 ผลของสารอาหาร 50
4.2.1.4 ผลของสารรับอิเลคตรอน 51
4.2.1.5 ผลของอุณหภูมิ 53
4.2.1.6 กลุ่มจุลชีพที่มีส่วนร่วมต่อการลดคลอรีน 55
4.2.1.7 จลนพลศาสตร์ของการลดคลอรีน 58
4.2.2 ผลการศึกษาในตะกอนเหลว 61
4.2.3 ผลการศึกษาในแบบจำลองลำน้ำ 62
4.3 การลดคลอรีนของโพลีคลอริเนเต็ดไบฟีนิล 63
4.3.1 ผลการศึกษาในน้ำตะกอน 63
4.3.1.1 ความสามารถในการย่อยสลายของจุลชีพแบบไร้อากาศ 63
4.3.1.2 ผลของสารอาหาร 67
4.3.2 ผลการศึกษาในตะกอนเหลว 67
4.3.3 ผลการศึกษาในแบบจำลองลำน้ำ 67
4.4 บทความทางวิชาการที่เผยแพร่ 69

บทที่ 5 สรุปผลการทดลอง
5.1 การย่อยสลายเฮกซะคลอโรเบนซิน 71
5.2 การย่อยสลายโพลีคลอริเนเต็ดไบฟีนิล 72
5.3 ผลลัพธ์จากโครงการวิจัย 73

5.4 งานวิจัยในอนาคต 73

เอกสารอ้างอิง 74

ภาคผนวก 80

ภาคผนวก ก ภาพสถานที่และการเก็บตัวอย่างตะกอน 81

ภาคผนวก ข ผลงานตีพิมพ์ 103

บทที่ 1 บทนำ

1.1 ปัญหาที่ทำการวิจัยและความสำคัญของปัญหา

การพัฒนาด้านอุตสาหกรรมของประเทศไทยในช่วงหลายสิบปีที่ผ่านมาได้ก่อให้เกิดการปนเปื้อนของสารมลพิษอินทรีย์หลายชนิดที่เป็นอันตรายต่อสิ่งแวดล้อมโดยเฉพาะอย่างยิ่งในกลุ่มที่มีคลอรีนเป็นองค์ประกอบ เช่น chlorobenzenes, polychlorinated biphenyls (PCBs, พีซีบี) และ dioxins ซึ่งจากรายงานของสื่อต่างๆพบว่าได้มีการปนเปื้อนของ chlorobenzenes ในตะกอนจากคลองหัวลำภูในจังหวัดสมุทรปราการ (Brigden et al., 2003) และจากปากแม่น้ำบางปะกงในจังหวัดฉะเชิงเทรา (จาก Bangkok Post ฉบับวันที่ 24 พฤศจิกายน 2544) สารมลพิษเหล่านี้สามารถสะสมในสิ่งแวดล้อมและเข้าสู่มนุษย์ได้โดยผ่านทางห่วงโซ่อาหารอันจะนำไปสู่ปัญหาด้านสุขภาพของประชาชนเพราะเป็นสารก่อมะเร็ง ผลกระทบด้านลบต่อสุขภาพของประชาชนอันเนื่องมาจากการปนเปื้อนของสารมลพิษเสี่ยงอันตรายได้เคยเกิดขึ้นมาแล้วหลายครั้งในประเทศไทยโดยเฉพาะอย่างยิ่งในกรณีของการปนเปื้อนของโลหะหนัก เช่น “ปรอท” ในห้วยคลิตี้ จังหวัดกาญจนบุรี “สารหนู” ในแหล่งน้ำผิวดินและใต้ดินในอำเภอร่อนพิบูลย์ จังหวัดนครศรีธรรมราช และ “แคดเมียม” ในห้วยแม่ตาว อำเภอแม่สอด จังหวัดตาก ดังนั้นจึงจำเป็นต้องมีการวิจัยศึกษาเพื่อหาแนวทางที่เหมาะสมในการกำจัดสารมลพิษอินทรีย์คลอรีนเหล่านี้ เพื่อนำความรู้ที่ได้ไปบำบัดน้ำเสียที่ปนเปื้อนและฟื้นฟูสภาพ (clean-up) แหล่งที่ปนเปื้อนเช่น บริเวณคลองหัวลำภู และปากแม่น้ำบางปะกง ก่อนที่จะส่งผลกระทบต่อประชาชนที่อาศัยอยู่ในพื้นที่

สารมลพิษอินทรีย์ที่มีโครงสร้างเป็นวง (aromatic compounds) ที่มีจำนวนอะตอมของคลอรีนในโมเลกุลสูงเช่น เฮกซะคลอโรเบนซิน (hexachlorobenzene) และพีซีบีคอนเจนเนอร์ที่มีคลอรีนอะตอมสูงมักจะมีความเป็นพิษและคงทนต่อการย่อยสลายมากกว่าสารที่มีอะตอมคลอรีนต่ำ การบำบัดสามารถกระทำได้หลายวิธีทั้งทางด้านเคมีและชีวภาพ อย่างไรก็ดีสารมลพิษอินทรีย์คลอรีนเหล่านี้มักจะสะสมอยู่ในตะกอนมากกว่าในน้ำเนื่องจากความสามารถในการละลายน้ำต่ำ ดังนั้นการเลือกใช้กระบวนการทางชีวภาพจึงมีแนวโน้มที่จะประหยัดกว่ากระบวนการทางเคมี กระบวนการชีวภาพแบบใช้อากาศ (aerobic digestion) สามารถย่อยสลายสารมลพิษอินทรีย์ที่มีคลอรีนต่ำๆเท่านั้น ในขณะที่งานวิจัยหลายชิ้นบ่งชี้ว่ากระบวนการแบบไร้อากาศ (anaerobic digestion) สามารถลดคลอรีน (dechlorination) ในสารอินทรีย์คลอรีนที่มีจำนวนคลอรีนสูงได้แต่ต้องใช้เวลานานมาก เป็นผลให้สารมลพิษอินทรีย์คลอรีนในกลุ่มนี้หลายชนิดถูกจัดให้อยู่ในกลุ่มของ “สารมลพิษอินทรีย์คงทน (Persistent Organic Pollutants, POPs)” โดยสหประชาชาติ

อย่างไรก็ดีเนื่องจากประเทศไทยมีสภาพภูมิอากาศที่ค่อนข้างจะแตกต่างจากประเทศพัฒนาแล้วที่ได้ทำการศึกษาการตกค้างของเฮกซะคลอโรเบนซีนและพีซีบีเป็นส่วนใหญ่จึงอาจทำให้รูปแบบหรือการตกค้างในธรรมชาติต่างออกไป ประเทศไทยอยู่ในพื้นที่ที่มีภูมิอากาศแบบ tropical climate โดยจังหวัดสมุทรปราการซึ่งคลองหัวลำภูที่ตรวจพบการปนเปื้อนของเฮกซะคลอโรเบนซินไหลผ่านมีอุณหภูมิเฉลี่ยรายเดือนสำหรับกลางคืนและกลางวันในช่วง 30 ปีเท่ากับ 26.3 และ 30.3 $^{\circ}$C ตามลำดับ (ที่มา http://www.tmd.go.th/EN/) ในขณะที่ประเทศที่พัฒนาแล้วส่วนใหญ่จะมีสภาพภูมิอากาศแบบ temperate climate (อุณหภูมิเฉลี่ยในเดือนที่หนาวที่สุดอยู่ระหว่าง -3 ถึง 18°C) หรือ continental climate (อุณหภูมิเฉลี่ยในเดือนที่หนาวที่สุดต่ำกว่า -3°C) เป็นผลให้ความหลากหลายทางชีวภาพในดินหรือตะกอนลำน้ำแตกต่างกันซึ่งอาจส่งผลต่อความสามารถในการย่อยสลายของเฮกซะคลอโรเบนซินและพีซีบีในธรรมชาติ ตัวอย่างเปรียบเทียบที่เด่นชัดที่แสดงให้เห็นถึงผลของสภาพอากาศต่อกระบวนการทางชีวภาพคือการเปลี่ยนรูปแอมโมเนียในน้ำเสียให้เป็นไนเตรทด้วยกระบวนการไนตริฟิเคชัน (nitrification process) ประเทศที่พัฒนาแล้วซึ่งส่วนใหญ่มีอากาศหนาวเย็นในฤดูหนาวจำเป็นต้องควบคุมให้อายุสลัดจ์ (sludge age) สูงมากกว่า 6 วันจึงจะทำให้ไนตริฟายอิ้งแบคทีเรีย (nitrifying bacteria) ซึ่งทำหน้าที่เปลี่ยนแอมโมเนียให้เป็นไนไตร์ทและไนเตรทตามลำดับไม่ถูกไล่ล้าง (wash-out) ออกจากระบบ แต่ในประเทศไทยซึ่งมีอากาศร้อนพบว่าใช้อายุสลัดจ์เพียง 2-3 วันก็สามารถทำให้เกิดกระบวนการไนตริฟิเคชันขึ้นได้แล้ว (ธงชัย 2544) ดังนั้นจึงควรศึกษาลงลึกในรายละเอียดของการลดคลอรีนของสารมลพิษอินทรีย์คลอรีนแบบรีดักชันเพื่อให้ทราบถึงกลไกที่เกิดขึ้นภายใต้สภาวะแวดล้อมของประเทศไทย สารมลพิษอินทรีย์คลอรีนเป้าหมายที่ศึกษาคือเฮกซะคลอโรเบนซินและพีซีบี ความรู้ที่ได้สามารถนำไปสู่การประยุกต์ใช้ในการบำบัดน้ำเสียและฟื้นฟูสภาพดินและตะกอนในแหล่งน้ำธรรมชาติต่อไป

1.2 วัตถุประสงค์

-เพื่อศึกษาถึงความเป็นไปได้ของการลดคลอรีนทางชีวภาพภายใต้สภาวะไร้อากาศของเฮกซะคลอโรเบนซินและโพลีคลอริเนเต็ดไบฟินิล

-เพื่อศึกษาถึงกลไกและสภาวะที่เหมาะสมต่อการลดคลอรีนทางชีวภาพภายใต้สภาวะไร้อากาศของเฮกซะคลอโรเบนซินและโพลีคลอริเนเต็ดไบฟินิล

-เพื่อบ่งชี้กลุ่มจุลชีพที่สามารถลดคลอรีนของเฮกซะคลอโรเบนซินและโพลีคลอริเนเต็ดไบฟินิล

-เพื่อศึกษาทางจลนพลศาสตร์ของการลดคลอรีนของเฮกซะคลอโรเบนซินและโพลีคลอริเนเต็ดไบฟินิลทางชีวภาพแบบไร้อากาศ

1.3 ขอบเขตการวิจัย

-ทำการวิจัยที่ภาควิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรีภายใต้สภาวะห้อง (ยกเว้นในกรณีที่ศึกษาผลของอุณหภูมิ)

-หน่วยปฏิกรณ์ที่ใช้มีทั้งที่เป็นขนาดห้องปฏิบัติการ (ขวดเซรั่ม (serum bottle)) และขนาดโต๊ะทดลอง (ตู้ปลาขนาดใหญ่)

-สารมลพิษอินทรีย์คลอรีนเป้าหมายประกอบด้วยเฮกซะคลอโรเบนซินและพีซีบีบางคอนเจนเนอร์

1.4 ระยะเวลาวิจัย

โครงการนี้มีระยะเวลาดำเนินการทั้งหมด 3 ปีตั้งแต่วันที่ 1 ธันวาคม พ.ศ. 2549 จนถึงวันที่ 30 พฤศจิกายน พ.ศ. 2552

บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

โครงการวิจัยนี้เป็นผลสืบเนื่องมาจากการตรวจพบเฮกซะคลอโรเบนซินซึ่งถูกจัดให้เป็นสารมลพิษอินทรีย์คงตัวปนเปื้อนในตะกอนลำน้ำและเกิดการย่อยสลายได้อย่างรวดเร็วในธรรมชาติ ซึ่งแตกต่างจากผลงานวิจัยส่วนใหญ่จากต่างประเทศ จึงนำมาสู่การศึกษาในรายละเอียดของการย่อยสลายเฮกซะคลอโรเบนซินในตะกอนลำน้ำ อย่างไรก็ดีในระหว่างการตรวจสอบการปนเปื้อนภูมิหลังของตะกอนของลำน้ำต่างๆ ได้พบโพลีคลอริเนเต็ดไบฟินิลหรือพีซีบีปนเปื้อนร่วมอยู่ด้วย พีซีบีซึ่งถูกจัดให้เป็นสารมลพิษอินทรีย์คงตัวเช่นกันมีโครงสร้างเป็นสารอะโรเมติคเหมือนเฮกซะคลอโรเบนซินแต่มีความซับซ้อนมากกว่าเนื่องจากมีวงเบนซิน 2 วงเชื่อมต่อกัน อย่างไรก็ดีสามารถสกัดและตรวจวิเคราะห์ด้วยวิธีการและเครื่องมือเดียวกันโดยอาศัยการดัดแปรเล็กน้อย โครงการวิจัยนี้จึงทำการศึกษาถึงการย่อยสลายทางชีวภาพแบบไร้อากาศของสารมลพิษอินทรีย์คลอรีนทั้งสองชนิดนี้

2.1 เฮกซะคลอโรเบนซิน

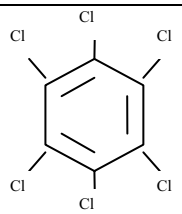
2.1.1 ข้อมูลทั่วไป

เฮกซะคลอโรเบนซินเป็นสารอินทรีย์สังเคราะห์ที่ไม่เกิดขึ้นเองตามธรรมชาติ ส่วนใหญ่จะถูกผลิตขึ้นเพื่อใช้เป็นสารป้องกันเชื้อราหรือเป็นสารปนเปื้อนที่เกิดจากการสังเคราะห์ตัวทำละลายอินทรีย์และสารคลอรีนอินทรีย์ เฮกซะคลอโรเบนซินยังถูกใช้เป็นสารกลางในการผลิตสีย้อมและสารอินทรีย์อื่นๆรวมถึงสารรักษาเนื้อไม้อีกด้วย (ATSDR 2000; HSDB 2001) สมบัติทางกายภาพและเคมีที่สำคัญได้แสดงไว้ในตารางที่ 2.1 เฮกซะคลอโรเบนซินจะเป็นผลึกคล้ายเข็มที่อุณหภูมิห้อง สามารถระเหยง่าย (volatilization) ได้เล็กน้อย ละลายน้ำได้น้อยแต่ละลายได้ดีมากในน้ำมันหรือไขมัน

2.1.2 ผลกระทบต่อสิ่งมีชีวิต

เฮกซะคลอโรเบนซินสามารถเข้าสู่ร่างกายของสิ่งมีชีวิตได้ทั้งทางปาก หายใจ และผ่านทางผิวหนัง เมื่อเข้าสู่ร่างกายแล้วเฮกซะคลอโรเบนซินจะสะสมในไขมันและเนื้อเยื่อ บางส่วนของเฮกซะคลอโรเบนซินจะถูกขับออกจากร่างกายผ่านทางอุจจาระเป็นส่วนใหญ่ ขณะที่ผ่านทางปัสสาวะเพียงเล็กน้อยเท่านั้น ส่วนที่สะสมอยู่ในร่างกายจะก่อให้เกิดความเป็นพิษขึ้น

ตารางที่ 2.1 สมบัติทางกายภาพและเคมีของเฮกซะคลอโรเบนซิน

Chemical name	hexachlorobenzene
CASRN (Chemical Abstract Service Registry Number)	118-74-1
Other names	amatin anticarie benzene hexachloride bunt-cure bunt-no-more ceku C.B. co-op hexa esclorobenzene granox nm HCB hexa c.b. hexachlorbenzol 1,2,3,4,5,6- hexachlorobenzene julen's carbon chloride julin's carbon chloride no bunt no bunt 40 no bunt 80 no bunt liquid pentachlorophenyl chloride perchlorobenzene phenyl perchloryl Saatbeizfungizid sanocid Sanocide smut-go Snieciotox
Molecular formula	C_6Cl_6
Structure formula	
Molecular weight	284.78
Melting Point (ºC)	231
Boiling Point (ºC)	323-326
Flash Point (ºC)	242
Density (g/ml)	2.044
Vapor Pressure (mm-Hg @ 20ºC)	1.09×10^{-5}
Water Solubility (mg L^{-1})	0.005
log K_{ow}	5.5

2.1.2.1 ความเป็นพิษเฉียบพลัน

เฮกซะคลอโรเบนซินมีความเป็นพิษอย่างเฉียบพลัน (acute toxicity) ค่อนข้างต่ำเมื่อเข้าสู่ร่างกายทางปาก จากการศึกษาพบว่า LD_{50} ทางปากสำหรับหนูใหญ่ (rat) หนูเล็ก (mouse) กระต่าย และแมวมีค่าเท่ากับ 3,500, 4,000, 2,600 และ 1,700 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมตามลำดับ พิษเฉียบพลันเมื่อสัมผัสผิวหนังไม่ได้มีการรายงานไว้ อย่างไรก็ดีเฮกซะคลอโรเบนซินเป็นพิษเฉียบพลันปานกลางเมื่อเข้าสู่ร่างกายทางการหายใจโดยมีค่า LD_{50} สำหรับหนูใหญ่ หนูเล็ก และแมวเท่ากับ 3.6, 4.0 และ 1.6 มิลลิกรัมต่อลิตรตามลำดับ ผลกระทบเฉียบพลันจะเกิดขึ้นกับระบบประสาทและกล้ามเนื้อ ทำให้ระบบดังกล่าวทำงานผิดปกติและล้มเหลวในที่สุด

2.1.2.2 ความเป็นพิษเรื้อรัง

ผลการวิจัยด้านความเป็นพิษเรื้อรัง (chronic toxicity) ในหนูใหญ่พบว่าการป้อนเฮกซะคลอโรเบนซินด้วยอัตรา 50 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักต่อวันสามารถทำให้เกิดการตายร้อยละ 95 และ 30 สำหรับหนูตัวเมียและตัวผู้ตามลำดับภายในระยะเวลา 4 เดือน หากอัตราการป้อนอยู่ระหว่าง 25 ถึง 50 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักต่อวันพบว่าจะเกิดผลกระทบต่อระบบประสาท กล่าวคือเกิดอาการตัวสั่น (tremor) ตื่นเต้นผิดปกติ (hyper excitability) ผิวหนังงอก (skin eruption) นอกจากนี้ยังพบว่าน้ำหนักของตับ ไต ม้ามและปอดเพิ่มขึ้นผิดปกติ แต่หากลดปริมาณลงเหลือ 5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักต่อวันพบว่าหนูส่วนใหญ่สามารถรอดชีวิตอยู่ได้ โดยพบฮีโมโกลบินและเอมไซน์ในเลือดลดลงในเพศเมียและน้ำหนักตับที่เพิ่มขึ้นในเพศผู้ นอกจากนี้ยังพบว่าเฮกซะคลอโรเบนซินเป็นหนึ่งในสารประกอบที่กระตุ้นให้เกิดporphyria (อาการที่เกิดขึ้นจากการผิดปกติในเอนไซม์จากตับและเลือด) ในมนุษย์และสัตว์ได้เป็นอย่างดี การป้อนเฮกซะคลอโรเบนซินที่ปริมาณ 15 และ 50 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักต่อวันเป็นเวลา 90 วันสามารถก่อให้เกิด porphyria ในกระต่ายและหมูซึ่งนำไปสู่การตายได้ ในปี ค.ศ. 1950 ประชากรของประเทศตุรกีได้รับเฮกซะคลอโรเบนซินในปริมาณ 50 ถึง 200 มิลลิกรัมต่อวันค่อคนอย่างไม่ตั้งใจผ่านทางการรับประทานธัญพืชที่มีเฮกซะคลอโรเบนซินตกค้างอยู่ เป็นผลให้ประชาชนหลายพันคนเกิดเป็น porphyria ขึ้นและร้อยละ 10 ของผู้ป่วยได้เสียชีวิตลง

นอกจากนี้ยังพบว่าการได้รับเฮกซะคลอโรเบนซินอย่างต่อเนื่องส่งผลกระทบต่อระบบสืบพันธุ์ของสัตว์ จากการศึกษาในลิงพบว่าเฮกซะคลอโรเบนซินที่ปริมาณ 4 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักต่อวันสามารถลดระดับของฮอร์โมนเอสโตรเจนในลิงเพศเมีย ในขณะที่ความเข้มข้นที่ 8 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักต่อวันส่งผลกระทบต่อระบบสืบพันธุ์ของลิง อย่างไรก็ดีไม่พบว่าเฮกซะคลอโรเบนซินที่ระดับปกติจะส่งผลต่อระบบสืบพันธุ์ของมนุษย์ ผลการทดลองในหนูยังพบว่าเฮกซะคลอโรเบนซินเป็นสารก่อมะเร็ง (carcinogen) โดยพบการเพิ่มขึ้นของเนื้องอกในหนูที่บริเวณ

ปอด ตับ และม้ามที่ความเข้มข้น 4 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักต่อวัน แต่ผลทางด้านการก่อมะเร็งในมนุษย์ยังไม่เป็นที่แน่ชัด

2.1.3 ความคงตัวและการย่อยสลายทางชีวภาพ

งานวิจัยในต่างประเทศพบว่าเฮกซะคลอโรเบนซินมีความคงตัวสูงจึงมีการพบเฮกซะคลอโรเบนซินตกค้างและปนเปื้อนในธรรมชาติเป็นเวลานานและสามารถเคลื่อนย้ายไปได้ไกลมาก เกิดการสะสมในไขมันของสิ่งมีชีวิตรวมถึงในนม เลือด และเนื้อเยื่อของมนุษย์ ทำให้เกิดผลกระทบด้านลบขึ้น เป็นผลให้เฮกซะคลอโรเบนซินถูกกำหนดให้เป็น 1 ใน 12 สารมลพิษอินทรีย์คงทน (Persistent Organic Pollutants, POPs) ในการประชุมของสหประชาชาติที่กรุงสต็อกโฮล์ม ประเทศสวีเดนในปี พ.ศ. 2544 ประเทศไทยได้ยกเลิกการใช้เฮกซะคลอโรเบนซินมาตั้งแต่ปี พ.ศ. 2523 อย่างไรก็ดียังมีการพบเฮกซะคลอโรเบนซินปนเปื้อนในตะกอนจากแหล่งน้ำต่างๆอยู่เสมอๆ (Brigden และคณะ, 2003; Anotai และคณะ, 2006) ทั้งนี้เนื่องจากการปนเปื้อนของเฮกซะคลอโรเบนซินในสารเคมีที่ใช้ในอุตสาหกรรมและการเกิดเป็นสารข้างเคียงจากกระบวนการผลิตสารประกอบอินทรีย์คลอรีนอื่นๆเช่น แอทราซีนและไสมาซีน (Bailey, 2001; ATSDR, 2002) Robert และคณะ (2001) ได้รวบรวมข้อมูลจากแหล่งต่างๆเพื่อให้เห็นภาพรวมของการปลดปล่อยเฮกซะคลอโรเบนซินในช่วงปีคริสต์ศักราช 1990 โดยพบว่าเฮกซะคลอโรเบนซินถูกปลดปล่อยออกสู่สิ่งแวดล้อมผ่านการใช้เป็นสารกำจัดแมลง สารตั้งต้นในการผลิต และการเผาไหม้เท่ากับ 6,500, 9,500 และ 7,000 กิโลกรัมต่อปี โดยในส่วนที่มาจากการเผาไหม้นั้นรวมถึงการเผามวลชีวภาพประมาณ 500 กิโลกรัมต่อปี คิดเป็นอัตราการปลดปล่อยเฉลี่ย 23,000 กิโลกรัมต่อปีโดยมีช่วงการปลดปล่อยอยู่ระหว่าง 12,000 ถึง 92,000 กิโลกรัมต่อปี

เป็นที่ทราบกันดีว่าเฮกซะคลอโรเบนซีนมีความคงตัวในธรรมชาติสูงมาก การย่อยสลายทางชีวภาพแบบใช้อากาศไม่ค่อยมีประสิทธิภาพสำหรับสารอินทรีย์คลอรีนที่มีจำนวนคลอรีนในโมเลกุลสูงๆเหมือนเช่นเฮกซะคลอโรเบนซิน อย่างไรก็ดีการย่อยสลายแบบไร้อากาศสามารถนำไปสู่การลดคลอรีนของสารอินทรีย์คลอรีนได้โดยการแทนที่ของอะตอมไฮโดรเจนและปล่อยอนุมูลคลอไรด์ออกมาเป็นผลให้อะตอมของคาร์บอนในโมเลกุลถูกลดค่าออกซิเดชันลงดังสมการที่ 2.1

$$R\text{-}Cl + 2e^- + H^+ \rightarrow R\text{-}H + Cl^- \qquad (2.1)$$

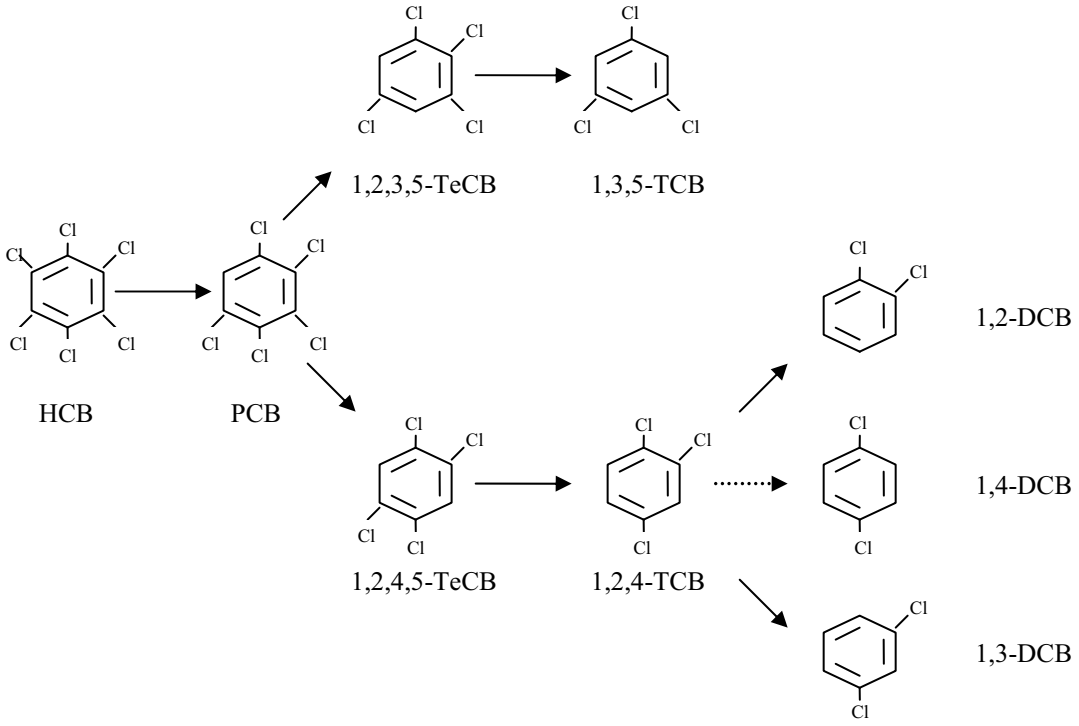
งานวิจัยในหลายๆประเทศที่พัฒนาแล้วต่างให้ผลที่สนับสนุนว่าเฮกซะคลอโรเบนซีนมีความเสถียรมาก Beurskens และคณะ (1994) พบว่ามีเพียงร้อยละ 80 ของเฮกซะคลอโรเบนซีนที่ปนเปื้อนในตะกอนก้นทะเลสาบ Ketelmeer ซึ่งเป็นพื้นที่ตกตะกอนของแม่น้ำ Rhine เปลี่ยนรูป

เป็น 1,3,5-ไตรคลอโรเบนซีนและ 1,3-ไดคลอโรเบนซีนตามลำดับในช่วงเวลา 20 ปี Chang และคณะ (1997) รายงานค่าครึ่งชีวิต (half-life) ของเฮกซะคลอโรเบนซีนในดินและน้ำใต้ดินประมาณ 3-6 และ 5.3-11.4 ปีตามลำดับ ในขณะที่ Griffin และ Chou (1981) พบค่าครึ่งชีวิตของเฮกซะคลอโรเบนซินในดินเท่ากับ 2.7 ถึง 5.8 ปีและส่วนใหญ่จะเคลื่อนย้ายสู่อากาศผ่านการระเหยง่าย (volatilization) Beck และ Hansen (1974) รายงานค่าครึ่งชีวิตในดินของเฮกซะคลอโรเบนซินเท่ากับ 2.7 ถึง 5.7 ปี ในขณะที่ Howard (1991) รายงานไว้ที่ 10.6 ถึง 22.9 ปี Isensee และคณะ (1976) ไม่พบการลดลงของเฮกซะคลอโรเบนซินในดินที่เก็บไว้ในภาชนะปิดเพื่อป้องกันการระเหยง่ายภายใต้สภาวะมีอากาศและไร้อากาศตลอดระยะเวลาศึกษา 1 ปี Mackay และคณะ (1992) ใช้ Fugacity Model และค่าคงที่ปฏิกิริยาต่างๆคำนวณหาครึ่งชีวิตของเฮกซะคลอโรเบนซินในตะกอนได้มากว่า 6 ปี Zhao และคณะ (2003) ศึกษาการย่อยสลายแบบไร้อากาศของเฮกซะคลอโรเบนซินในตะกอนพบค่าครึ่งชีวิตเท่ากับ 1.7 และ 0.7 ปีสำหรับตะกอนเดิมและตะกอนที่มีการเติมสารอินทรีย์ตามลำดับ Brahushi และคณะ (2004) ศึกษาการย่อยสลายแบบไร้อากาศของเฮกซะคลอโรเบนซินโดยจุลชีพในดินธรรมชาติในห้องปฏิบัติการ พบว่าการลดลงของเฮกซะคลอโรเบนซินเกิดขึ้นอย่างช้าๆในกรณีที่ไม่มีการเติมสารอินทรีย์ เฮกซะคลอโรเบนซินที่ความเข้มข้นเริ่มต้น 30 ไมโครกรัมต่อกรัมดินถูกย่อยสลายไปร้อยละ 50 ในช่วงเวลา 8 สัปดาห์ และไม่สามารถย่อยสลายได้หมดในช่วง 20 สัปดาห์ที่ทำการทดลอง เมื่อมีการเติมฟางข้าวเพื่อเพิ่มแหล่งคาร์บอนกลับพบว่าอัตราการย่อยสลายเฮกซะคลอโรเบนซินลดลง นอกจากนี้ยังพบว่าจุลชีพกลุ่มที่สร้างมีเทนไม่ได้มีส่วนร่วมในการย่อยสลายเฮกซะคลอโรเบนซิน ในขณะที่ Prytula และ Pavlostathis (1996) ซึ่งศึกษาการลดคลอรีนของเฮกซะคลอโรเบนซีนในตะกอนที่เก็บจากแหล่งน้ำที่ปนเปื้อนเฮกซะคลอโรเบนซีนพบว่ามีเพียงร้อยละ 43 ของเฮกซะคลอโรเบนซีนถูกลดคลอรีนในช่วงเวลา 481 วันที่อุณหภูมิ 23 องศาเซลเซียสในที่มืดโดยไม่มีการปรับสภาพคุ้นเคย (acclimation) และให้อาหารเสริม Rosenbrock และคณะ (1997) พบว่ามีเพียงร้อยละ 40 ของคลอไรด์ที่ถูกปล่อยออกมาจากการลดคลอรีนของเฮกซะคลอโรเบนซีนที่เติมลงไปในดินที่มีสารอินทรีย์สูงใน 140 วัน และพบว่าหากใช้ดินที่มีสารอินทรีย์ต่ำจะไม่เกิดการลดคลอรีนของเฮกซะคลอโรเบนซีนเลย Chen และคณะ (2004) ศึกษาการลดคลอรีนของเฮกซะคลอโรเบนซีนด้วยตะกอนเหลว (sediment slurry) ที่ไม่เคยปนเปื้อนด้วยเฮกซะคลอโรเบนซีนมาก่อนพบว่ามีเพียงตะกอนเหลว 2 ตัวอย่างเท่านั้นที่สามารถลดคลอรีนของเฮกซะคลอโรเบนซีนได้ โดยมีระยะเวลาพักตัว (lag phase) 90 วัน ข้อมูลเหล่านี้เป็นเครื่องยืนยันว่าเฮกซะคลอโรเบนซีนเป็นสารมลพิษอินทรีย์ที่มีความคงตัวสูงและตกค้างยาวนานในธรรมชาติได้เป็นอย่างดี อย่างไรก็ดีผลการศึกษาเหล่านี้ขัดแย้งกับผลการศึกษาเบื้องต้นของคณะทำงานนี้ (Anotai และคณะ, 2006) ที่พบว่าตะกอนเหลวจากคลองหัวลำภูและบริเวณปากคลองชายฝั่งทะเลสามารถลดคลอรีนที่ความเข้มข้น 17 มิลลิกรัมต่อกรัมของแข็งแห้งได้อย่างรวดเร็ว เฮกซะคลอโรเบนซีนถูกเปลี่ยนรูปไปหมดภายใน 60 วัน กลไกการลดคลอรีนที่พบคือ เฮกซะคลอโรเบนซีน $\rightarrow$ เพนตะคลอโรเบนซีน $\rightarrow$ 1,2,3,5-เตตระคลอโรเบนซีน $\rightarrow$ 1,3,5-ไตรคลอโรเบน

ซีน ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับผลงานวิจัยของ Fathepure และคณะ (1988) ที่พบว่าเฮกซะคลอโรเบนซีนสามารถถูกลดคลอรีนได้ 2 กลไก โดยกลไกหลักเป็นการเปลี่ยนไปเป็น 1,3,5-ไตรคลอโรเบนซีนเหมือนเช่นการศึกษานี้ ส่วนกลไกรองเป็นการเปลี่ยนจากเฮกซะคลอโรเบนซีนเป็นเพนตะคลอโรเบนซีน 1,2,4,5-เตตระคลอโรเบนซีน 1,2,4-ไตรคลอโรเบนซีน และ 1,2-, 1,3-, 1,4-ไดคลอโรเบนซีนตามลำดับดังแสดงในรูปที่ 2.1

2.1.4 ผลของสารให้อิเลคตรอน สารรับอิเลคตรอน และธาตุอาหาร

ตัวแปรต่างๆและสภาพแวดล้อมที่เกี่ยวข้องกับการย่อยสลายเฮกซะคลอโรเบนซินได้มีการศึกษากันอย่างต่อเนื่อง Chen และคณะ (2002) พบว่าจุลชีพที่ถูกทำให้คุ้นเคยกับเฮกซะคลอโรเบนซินและมีการเติมสารสกัดจากยีสต์สามารถลดคลอรีนของเฮกซะคลอโรเบนซินได้ การใช้แลคเทตไม่สามารถช่วยให้การลดคลอรีนดีขึ้น ในกรณีที่มีสารรับอิเลคตรอนเช่น ไนเตรต หรือซัลเฟต พบว่าดีไนตริไฟเออร์ (Denitrifiers) และแบคทีเรียลดซัลเฟต (Sulfate-reducing Bacteria) สามารถแย่งสารอาหารจากจุลชีพกลุ่มที่ทำการย่อยสลายเฮกซะคลอโรเบนซินเป็นผลให้ประสิทธิภาพการลดคลอรีนของระบบลดลง ในขณะที่ Pavlostathis และ Prytula (2000) ศึกษาถึงจลนพลศาสตร์ของการย่อยสลายเฮกซะคลอโรเบนซินและคลอโรเบนซินอื่นๆด้วยจุลชีพไร้อากาศที่ได้รับการปรับสภาพให้คุ้นเคยและเสริมบำรุง (enrichment) ภายใต้สภาวะที่มี



รูปที่ 2.1 การย่อยสลายเฮกซะคลอโรเบนซินทางชีวภาพภายใต้สภาวะไร้อากาศ (Fathepure และคณะ (1988))

สารอินทรีย์เหลือเฟือ พบว่าการย่อยสลายเฮกซะคลอโรเบนซินสอดคล้องกับกลไกที่เสนอโดย Fathepure และคณะ (1998) กล่าวคือเฮกซะคลอโรเบนซินส่วนใหญ่ย่อยสลายไปตามกลไกหลักจนถึง 1,3,5-ไตรคลอโรเบนซิน และ 1,3-ไดคลอโรเบนซิน มีเพียงส่วนน้อยเท่านั้นที่ผ่านทางกลไกรองเป็น 1,2,4-ไตรคลอโรเบนซิน และ 1,2-ไดคลอโรเบนซิน การเพิ่มสารอินทรีย์และธาตุอาหารจากภายนอกพบว่าสามารถช่วยเร่งอัตราการย่อยสลายเฮกซะคลอโรเบนซินได้ ตามที่ได้กล่าวถึงมาแล้วว่า Prytula และ Pavlostathis (1996) พบว่าการย่อยสลายของเฮกซะคลอโรเบนซินในตะกอนในแหล่งน้ำธรรมชาติแห่งหนึ่งเกิดขึ้นค่อนข้างช้ากล่าวคือเพียงร้อยละ 43 ของเฮกซะคลอโรเบนซินถูกเปลี่ยนรูปไปในช่วงเวลาถึง 481 วัน จึงได้มีการเติมสารอินทรีย์อย่างต่อเนื่องโดยใช้แลคเตทและอะซิเตท พบว่าการย่อยสลายของเฮกซะคลอโรเบนซินเกิดได้เร็วยิ่งขึ้นโดยใช้เวลาเพียง 205 วันสามารถกำจัดเฮกซะคลอโรเบนซินได้ถึงร้อยละ 95 แต่การป้อนธาตุอาหารเสริมไม่ได้ช่วยเร่งอัตราการย่อยสลายเฮกซะคลอโรเบนซินจึงสรุปว่าในตะกอนมีธาตุอาหารเสริมเพียงพอแล้ว อย่างไรก็ดีในกรณีที่ธาตุอาหารเสริมมีอยู่ไม่เพียงพอในตะกอนจำเป็นต้องมีการเติมธาตุอาหารเพิ่มเติมเพื่อช่วยกระตุ้นการทำงานของจุลชีพที่สามารถลดคลอรีนในเฮกซะคลอโรเบนซินได้ Chen และคณะ (2004) ศึกษาการลดคลอรีนของเฮกซะคลอโรเบนซินในตะกอนที่เก็บจากแหล่งน้ำ 4 แห่งในประเทศไต้หวันซึ่งไม่มีพบการปนเปื้อนของเฮกซะคลอโรเบนซินมาก่อนโดยไม่มีการทำให้คุ้นเคย พบว่ามีเพียงตะกอนจาก 2 แหล่งสามารถลดคลอรีนในเฮกซะคลอโรเบนซินได้โดยใช้เวลากว่า 150 วัน แต่หากมีการเติมสารสกัดยีสต์ (yeast extract) ที่ความเข้มข้น 5 กรัมต่อลิตรลงไปพบว่าตะกอนจากทั้ง 4 แหล่งสามารถย่อยสลายเฮกซะคลอโรเบนซินได้โดยมีช่วงเวลาพักตัว 45 ถึง 60 วันและสามารถย่อยสลายเฮกซะคลอโรเบนซินได้หมดหลังจากนั้นอีกเพียง 30 วัน ผลจากงานวิจัยที่ผ่านมาทั้งหมดชี้ให้เห็นว่าสารอินทรีย์ซึ่งทำหน้าที่เป็นสารให้อิเลคตรอนและธาตุอาหารเป็นสิ่งจำเป็นต่อการย่อยสลายเฮกซะคลอโรเบนซิน โดยจำเป็นต้องมีอยู่ในระดับที่เหมาะสมและยาวนานเพียงพอเพื่อให้จุลชีพสามารถดำเนินกิจกรรมต่างๆได้อย่างต่อเนื่องเพราะการลดคลอรีนของเฮกซะคลอโรเบนซินเกิดขึ้นช้า ส่วนสารรับอิเลคตรอนมักจะรบกวนการกำจัดเฮกซะคลอโรเบนซินเนื่องจากทำให้สภาวะไร้อากาศเปลี่ยนแปลงไปก่อให้เกิดการรบกวนต่อกิจกรรมของจุลชีพที่มีส่วนเกี่ยวข้องกับการลดคลอรีนของเฮกซะคลอโรเบนซิน

2.1.5 ผลของอุณหภูมิ

อุณหภูมิเป็นตัวแปรอีกตัวหนึ่งที่ส่งผลต่อการทำงานของจุลชีพ งานวิจัยหลายชิ้นพบว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการย่อยสลายเฮกซะคลอโรเบนซินและคลอโรเบนซินทางชีวภาพภายใต้สภาวะไร้อากาศอยู่ในช่วงเมโสฟิลิก (mesophilic range) Middeldorp และคณะ (1997) ศึกษาการย่อยสลายของ 1,2,4-ไตรคลอโรเบนซินพบว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมที่สุดคือ 37 $^{\circ}$C ในขณะที่ 20°C และ 30°C ให้ผลปานกลาง และการลดคลอรีนถูกจำกัดเมื่ออุณหภูมิเท่ากับ 4, 10 และ

55°C Chang และคณะ (1997) พบว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการลดคลอรีนของเฮกซะคลอโรเบนซินอยู่ในช่วง 29 ถึง 37°C ซึ่งสอดคล้องกับผลการวิจัยของ Chen และคณะ (2002) Jacobus และคณะ (1994) ศึกษาถึงผลของอุณหภูมิที่มีต่ออัตราการลดคลอรีนของเฮกซะคลอโรเบนซินโดยใช้ตะกอนจากทะเลสาบ Ketelmeer และใช้แลคเตทเป็นสารให้คาร์บอน พบว่าอุณหภูมิที่ดีที่สุดคือ 30°C อย่างไรก็ดีสามารถพบการลดคลอรีนของเฮกซะคลอโรเบนซินได้ถึงแม้ว่าอุณหภูมิจะลดต่ำลงจนถึง 3°C ผลงานวิจัยที่ผ่านมาชี้ให้เห็นแนวโน้มว่าจุลชีพที่สามารถลดคลอรีนในเฮกซะคลอโรเบนซินได้นั้นจะทำงานได้ดีที่อุณหภูมิประมาณ 30 ถึง 37°C อันเป็นค่าที่ใกล้เคียงกับอุณหภูมิเฉลี่ยของประเทศไทยซึ่งอยู่ในเขตร้อน (Tropical Zone) ซึ่งมีอุณหภูมิต่ำสุดในเดือนที่หนาวเย็นที่สุดสูงกว่า 18°C และจากข้อมูลตั้งแต่ปี พ.ศ. 2504 ถึง พ.ศ. 2533 ของกรมอุตุนิยมวิทยาพบว่าในพื้นที่กรุงเทพมหานครมีอุณหภูมิเฉลี่ยรายเดือนต่ำสุดและสูงสุดเท่ากับ 24.1°C และ 32.7°C ตามลำดับ ในขณะที่จังหวัดสมุทรปราการซึ่งเป็นพื้นที่ที่คลองหัวลำภูไหลผ่านมีค่าเท่ากับ 26.3°C และ 30.3°C ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับประเทศที่พัฒนาแล้วซึ่งส่วนใหญ่อยู่ในเขตภูมิอากาศแบบอบอุ่น (Temperate Zone) หรือแบบภาคพื้นทวีป (Continental Zone) ที่มีอุณหภูมิต่ำสุดเฉลี่ยในเดือนที่หนาวเย็นที่สุดอยู่ในช่วง -3 ถึง 18°C และ -3°C ตามลำดับ

2.1.6 จลนพลศาสตร์ของการย่อยสลาย

การย่อยสลายของสารอาหารและเฮกซะคลอโรเบนซินแบบเมตาบอริซึมร่วม (co-metabolization) โดยจุลชีพจะสามารถอธิบายได้ด้วยสมการของ Michaelis-Menten Kinetics ดังแสดงในสมการที่ (2.2) (Pavlostathis และ Prytula, 2000)

$$\frac{d[HCB]}{dt} = -\left(\frac{k_m X [HCB]}{K_{HCB} + [HCB]}\right)\left(\frac{S}{K_S + S}\right) \qquad (2.2)$$

โดย k_m = ค่าคงที่อัตราการลดคลอรีนของเฮกซะคลอโรเบนซินสูงสุดต่อมวลชีวภาพ

K_{HCB} และ K_S = ค่าคงที่ครึ่งอิ่มตัว (half-saturation constant) สำหรับเฮกซะคลอโรเบนซินและสารอินทรีย์ตามลำดับ

X = ความเข้มข้นมวลของจุลชีพที่ย่อยสลายเฮกซะคลอโรเบนซิน

[HCB] = ความเข้มข้นของเฮกซะคลอโรเบนซิน

S = ความเข้มข้นของสารอินทรีย์

ในกรณีของกระบวนการทางชีวภาพแบบไร้อากาศและมีสารอินทรีย์เป็นจำนวนมากดังเช่นที่เกิดขึ้นในตะกอนจากแหล่งน้ำ สมการที่ (2.2) สามารถเปลี่ยนเป็น

$$\frac{d[HCB]}{dt} = -\left(\frac{k'_m [HCB]}{K_{HCB} + [HCB]}\right) \quad (2.3)$$

โดย k'_m = ค่าคงที่ปรากฏอัตราการลดคลอรีนของเฮกซะคลอโรเบนซินสูงสุดต่อมวลชีวภาพ

สมการที่ (2.3) นี้สามารถลดรูปเป็นปฏิกิริยาอันดับที่หนึ่งถ้าความเข้มข้นของเฮกซะคลอโรเบนซิน ([HCB]) ต่ำกว่าค่า K_{HCB} มาก ในทำนองกลับกันสามารถลดรูปเป็นปฏิกิริยาอันดับที่ศูนย์ได้ถ้าความเข้มข้นของเฮกซะคลอโรเบนซินสูงกว่า K_{HCB} มาก ดังนั้นการจะใช้สมการจลนพลศาสตร์รูปแบบใดย่อมขึ้นอยู่กับสภาวะแวดล้อมที่เกิดขึ้นในระหว่างการย่อยสลายเฮกซะคลอโรเบนซิน จากการค้นคว้าในวารสารวิชาการพบว่ามีนักวิจัยอธิบายจลนพลศาสตร์ของการย่อยสลายเฮกซะคลอโรเบนซินทางชีวภาพแบบไร้อากาศโดยใช้ทั้งปฏิกิริยาอันดับที่หนึ่ง (Beurskens และคณะ, 1994; Prytula และ Pavlostathis, 1996) และปฏิกิริยาอันดับที่ศูนย์ (Yuan และคณะ, 1999) อย่างไรก็ดี Pavlosththis และ Prytula (2000) ได้ใช้ปฏิกิริยาการย่อยสลายที่เอนไซม์เกี่ยวข้องด้วยอย่างรูปแบบเต็มดังสมการที่ 2.3 ในการอธิบายทางด้านจลนพลศาสตร์ของการย่อยสลายเฮกซะคลอโรเบนซินในสภาวะที่มีการเพิ่มสารอาหารและธาตุอาหารให้อย่างเพียงพอโดยได้ค่า k'_m และ K_{HCB} เท่ากับ 0.015 ± 0.001 มิลลิกรัมต่อลิตรต่อวัน และ 0.024 ± 0.003 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ

2.1.7 จุลชีพที่มีส่วนร่วมต่อการลดคลอรีน

นักวิจัยหลายกลุ่มได้พยายามค้นหากลุ่มหรือสายพันธุ์ของจุลชีพที่มีความสามารถเฉพาะหรือมีบทบาทสำคัญในการย่อยสลายเฮกซะคลอโรเบนซิน กลุ่มจุลชีพที่คาดว่าจะเกี่ยวข้องกับการย่อยสลายเฮกซะคลอโรเบนซินหรือคลอโรเบนซินอื่นๆที่ได้รับความสนใจมากที่สุดคือเมธาโนเจน (methanogens) Middeldorp และคณะ (1997) สร้างสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการทำงานของเมธาโนเจนเพื่อนำไปสู่การย่อยสลาย 1,2,4-ไตรคลอโรเบนซิน พบว่ากลูโคส เอธานอล เมธานอล แลคเตท โพรพิโอเนท อะซิเตท และไฮโดรเจนยกเว้นฟอร์เมทเป็นสารให้อิเลคตรอนที่สามารถก่อให้เกิดการลดคลอรีนของ 1,2,4-ไตรคลอโรเบนซินได้ โดยกลูโคส แลคเตท และโพรพิโอเนทให้ผลดีที่สุด Chang และคณะ (1997) พบว่าแลคเตทและไพรูเวทสามารถช่วยเร่งอัตราการลดคลอรีนของเฮกซะคลอโรเบนซินได้ ในขณะที่อะซิเตทไม่มีผล นอกจากนี้ยังพบว่าเมธาโนเจนเป็นจุลชีพกลุ่มหลักที่เกี่ยวข้องกับการย่อยสลายเฮกซะคลอโรเบนซินเนื่องจากเมื่อมีการเติมเอนไซม์หยุดยั้งการทำงานของเมธาโนเจนลงไปจะทำให้การย่อยสลายเฮกซะคลอโรเบนซินสิ้นสุด ยิ่งไปกว่านั้น Nowak และคณะ (1996) ยังพบว่าการย่อยสลาย

ไตรคลอโรเบนซินเกิดขึ้นช้าลงเมื่อมีการเติม 2-bromoethane sulfonic acid (BES) ซึ่งเป็นสารยับยั้งการทำงานของเมธาโนเจนลงไปในตะกอน ชี้ให้เห็นว่าแบคทีเรียกลุ่มเมธาโนเจนมีความสำคัญต่อการลดคลอรีนของคลอโรเบนซิน อย่างไรก็ดีมีงานวิจัยหลายชิ้นชี้ให้เห็นในทางตรงกันข้ามว่าการย่อยสลายเฮกซะคลอโรเบนซินไม่ได้เกี่ยวข้องโดยตรงกับแบคทีเรียกลุ่มเมธาโนเจน เช่น Rosenbrock และคณะ (1997) พบว่าเฮกซะคลอโรเบนซินสามารถเปลี่ยนรูปได้ในสภาวะที่ไม่เหมาะสมกับเมธาโนเจนกล่าวคือมีไนเตรต ซัลเฟต และเฟอร์ริกอยู่ด้วย จึงสรุปว่าเมธาโนเจนไม่ได้เป็นจุลชีพหลักที่ก่อให้เกิดการย่อยสลายของเฮกซะคลอโรเบนซิน ยิ่งไปกว่านั้นยังพบว่าแบคทีเรียกลุ่มเมธาโนเจนยังอาจรบกวนหรือขัดขวางการย่อยสลายคลอโรเบนซินอีกด้วย Adrian และคณะ (1998) ศึกษาผลของ 2-bromoethanesulfonicacid ที่มีต่อการลดคลอรีนของไตรคลอโรเบนซินและพบว่า 0.4 มิลลิโมล่าร์ของ BES สามารถยับยั้งการทำงานของเมธาโนเจนได้โดยสมบูรณ์ และกลับส่งผลให้การลดคลอรีนของไตรคลอโรเบนซินเกิดได้ดีขึ้น จึงสรุปว่าเมธาโนเจนรบกวนการทำงานของจุลชีพที่ทำการลดคลอรีน ผลงานวิจัยในส่วนที่ใช้สายพันธุ์ผสมหรือที่ไม่ได้มีการคัดพันธุ์นี้ยังค่อนข้างขัดแย้งกันอยู่โดยสามารถแบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มที่เห็นว่าเมธาโนเจนมีบทบาทสำคัญต่อการลดคลอรีนของเฮกซะคลอโรเบนซิน และกลุ่มที่พบว่าเมธาโนเจนไม่ได้มีส่วนร่วมในการย่อยสลายเฮกซะคลอโรเบนซินเลย

ในขณะเดียวกันนักวิจัยบางกลุ่มได้ศึกษากับจุลชีพสายพันธุ์บริสุทธิ์ โดยพยายามคัดสายพันธุ์หรือหาสายพันธุ์ที่เหมาะสมที่สุดสำหรับการลดคลอรีนของเฮกซะคลอโรเบนซิน Fennell และคณะ (2004) ใช้ *Dehalococcoides ethenogenes* Strain 195 ในการลดคลอรีนของสารอินทรีย์คลอรีนหลายชนิดในห้องปฏิบัติการและพบว่าจุลชีพสายพันธุ์นี้สามารถลดคลอรีนใน 1,2,3,4-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin ให้เป็น 1,2,4-trichlorodibenzo-*p*-dioxin และ 1,3-dichlorodibenzo-*p*-dioxin ได้ และสามารถลดคลอรีนใน 2,3,4,5,6-pentachlorobiphenyl ให้เป็น 2,3,4,6- และ/หรือ 2,3,5,6-tetrachlorobiphenyl และ 2,4,6-trichlorobiphenyl ได้ นอกจากนี้ยังสามารถลดคลอรีนในเฮกซะคลอโรเบนซินให้เป็นเพนตะคลอโรเบนซินและ 1,2,3,5-เตตระคลอโรเบนซิน และ 1,3,5-ไตรคลอโรเบนซินได้ตามลำดับอีกด้วย ซึ่งชี้ให้เห็นว่าการลดคลอรีนของสารอินทรีย์คลอรีนในกลุ่มนี้มีความสัมพันธ์หรือเกี่ยวโยงกันในแง่ของกระบวนการทางชีวเคมีของจุลชีพ Wu และคณะ (2002) ใช้จุลชีพที่มีการเติมแบกทีเรียสายพันธุ์เฉพาะ (DF-1) ที่คุ้นเคยและมีความสามารถในการลดคลอรีนของโพลีคลอริเนเต็ดไบฟีนิลมาทำการย่อยสลายเฮกซะคลอโรเบนซินภายใต้สภาวะไร้อากาศและพบว่าเฮกซะคลอโรเบนซินถูกย่อยสลายเป็นเพนตะคลอโรเบนซิน 1,2,3,5-เตตระคลอโรเบนซิน และ 1,3,5-ไตรคลอโรเบนซินตามลำดับซึ่งเป็นกลไกหลักที่เสนอโดย Fathepure และคณะ (1988) นอกจากนี้ยังพบว่าเชื้อ DF-1 ที่ผ่านการป้อนด้วยคลอโรเบนซินแล้วยังมีความสามารถในการลดคลอรีนของโพลีคลอริเนเต็ดไบฟีนิลได้ดังเดิม ชี้ให้เห็นว่าการย่อยสลายโพลีคลอริเนเต็ดไบฟีนิลและคลอโรเบนซินของกลุ่มจุลชีพมีความเชื่อมโยงกัน

2.2 โพลีคลอริเนเต็ดไบฟีนิล

2.2.1 ข้อมูลทั่วไป

โพลีคลอริเนเต็ดไบฟินิลหรือพีซีบีเป็นกลุ่มของสารอินทรีย์สังเคราะห์ที่ไม่สามารถเกิดขึ้นเองตามธรรมชาติโดยจัดอยู่ในกลุ่มของสารอะโรเมติคไบฟินิลที่ถูกคลอริเนชัน (Chlorination) พีซีบีถูกสังเคราะห์ขึ้นเป็นครั้งแรกเมื่อปี ค.ศ. 1929 เพื่อวัตถุประสงค์ทางการค้า พีซีบีมีสภาพเป็นของเหลวหรือของแข็งที่อุณหภูมิห้องและมีสีเหลืองอ่อนถึงไม่มีสี พีซีบีบางคอนเจนเนอร์สามารถระเหยง่ายได้แต่ไม่พบว่ามีกลิ่นหรือรส พีซีบีส่วนใหญ่ละลายน้ำได้น้อยดังนั้นจึงเป็นกลุ่มที่ชอบไขมัน (lipophilic) พีซีบีถูกผลิตเพื่อการค้าในรูปของสารประกอบพีซีบีหลายๆ คอนเจนเนอร์ (congeners) ภายใต้ชื่อทางการค้าต่างๆกันที่สำคัญได้แก่ Aroclor ของ Monsanto Corporation สัดส่วนของคลอรีนในพีซีบีผสมจะอยู่ระหว่างร้อยละ 18 ถึง 68 โดยน้ำหนัก พีซีบีถูกใช้เป็นสารหล่อลื่นและสารลดความร้อนในหม้อแปลงไฟฟ้า คาปาซิเตอร์ และอุปกรณ์ทางด้านไฟฟ้าอื่นๆเนื่องจากมีสมบัติที่คงตัวสูง ทนความร้อนได้ดี และเป็นฉนวน ปริมาณการผลิตพีซีบีเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องจาก 10^6 กิโลกรัมในช่วงปีคริสต์ศักราช 1930 เป็น 2×10^9 กิโลกรัมในปี ค.ศ. 1975 อย่างไรก็ดีหลังจากพีซีบีถูกใช้งานมาประมาณ 4 ทศวรรษ ได้มีการศึกษาพบว่าพีซีบีย่อยสลายทางชีวภาพได้ยากในธรรมชาติ ทำให้มีการตกค้างและแพร่กระจายทั่วไปในสิ่งแวดล้อมผ่านการรั่วไหลจากภาชนะกักเก็บ จากการปนเปื้อนของน้ำชะซึมจากหลุมฝังกลบ จากเถ้าลอยของเตาเผา และจากน้ำเสียอุตสาหกรรม การปนเปื้อนของพีซีบีในสิ่งแวดล้อมที่ได้รับความสนใจมากที่สุดกรณีหนึ่งคือที่ Hudson River ในมลรัฐ New York สหรัฐอเมริกา โดยโรงงานของ General Electric Company ผู้ผลิตหม้อแปลงและอุปกรณ์เก็บประจุไฟฟ้ารายใหญ่ของโลกที่ตั้งอยู่ริมแม่น้ำได้ระบายพีซีบีประมาณ 600,000 กิโลกรัมลงสู่ Hudson River ตลอดระยะเวลา 30 ปีก่อนที่จะถูกสั่งห้ามในปี ค.ศ. 1977 เป็นผลให้เกิดการปนเปื้อนและแพร่กระจายของพีซีบีไปทั่วแม่น้ำและไปสะสมในสิ่งมีชีวิตผ่านทางห่วงโซ่อาหาร นำไปสู่ปัญหาสิ่งแวดล้อมอันเนื่องมาจากสารมลพิษเสี่ยงอันตรายครั้งร้ายแรงที่สุดครั้งหนึ่งในประวัติศาสตร์ของสหรัฐอเมริกา นอกจากจะปนเปื้อนในแหล่งน้ำแล้ว พีซีบีที่ซับบนอนุภาคและส่วนที่ระเหยง่ายสามารถแพร่กระจายไปในบรรยากาศได้อีกด้วย โดยประมาณว่าร้อยละ 98 ของพีซีบีที่พบในมหาสมุทรเป็นผลมาจากพีซีบีที่ปนเปื้อนอนุภาคในบรรยากาศตกตะกอนลงมา เนื่องจากความสามารถในการละลายน้ำที่ต่ำในขณะที่ K_{ow} มีค่าสูง พีซีบีที่ปนเปื้อนในธรรมชาติส่วนใหญ่จึงซับอยู่บนของแข็ง เช่น ดิน และตะกอน และสุดท้ายจะเข้าสู่สิ่งมีชีวิตได้ เมื่อเข้าสู่ร่างกายของสิ่งมีชีวิตแล้ว พีซีบีจะสะสมในไขมันและเนื้อเยื่อซึ่งส่งผลกระทบต่อสุขภาพของมนุษย์และระบบนิเวศวิทยาโดยรวม จากผลกระทบดังกล่าวส่งผลให้การผลิตพีซีบีในประเทศสหรัฐอเมริกาได้ยุติลงในเดือนสิงหาคม ค.ศ. 1977 ในปัจจุบันการผลิตและใช้งานของพีซีบีถูกควบคุมอย่างเคร่งครัดเนื่องจากพีซีบีถูกจัดสารมลพิษอินทรีย์คงทนตามอนุสัญญาสต็อกโฮล์ม

(Stockholm Convention on Persistent Organic Polllutants: POPs) เช่นเดียวกับเฮกซะคลอโรเบนซิน

ลักษณะสมบัติทางกายภาพและเคมีของพีซีบีได้แสดงไว้ในตารางที่ 2.2 และ 2.3 ลักษณะทางโครงสร้างโมเลกุลของพีซีบีทำให้คลอรีนสามารถแทนที่ในโครงสร้างของไบฟินิลได้หลากหลายมากจนเกิดเป็นคอนเจนเนอร์ถึง 209 คอนเจนเนอร์ (ดังแสดงในตารางที่ 2.3) การจัดกลุ่มย่อยของพีซีบีสามารถกระทำได้โดยพิจารณาจากจำนวนคลอรีนอะตอมในโครงสร้างไบฟินิล “Homolog” ใช้สื่อถึงพีซีบีที่มีจำนวนคลอรีนในโมเลกุลเท่ากัน เช่น ไตรคลอโรไบฟินิล (trichlorobiphenyls) คือเป็น homolog ที่มีคลอรีนอยู่ 3 อะตอม โดยคลอรีนทั้ง 3 อะตอมนี้สามารถจับกับไบฟินิลได้ทั้งหมด 24 รูปแบบหรือเรียกว่า “isomer” พีซีบีสามารถถูกเผาไหม้ได้และก่อให้เกิดสารผลิตภัณฑ์ที่มีความเป็นพิษมากกว่าพีซีบี เช่น โพลีคลอริเนเต็ด ไดเบนโซไดออกซิน (polychlorinated dibenzodioxins (PCDDs)) และโพลีคลอริเนเต็ด ไดเบนโซฟูแรน (polychlorinated dibenzofurans (PDCFs))

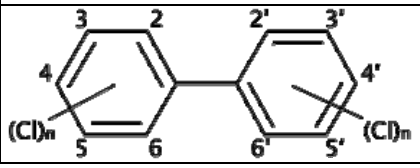
2.2.2 ผลกระทบต่อสิ่งมีชีวิต

พีซีบีสามารถเข้าสู่ร่ายกายของสิ่งมีชีวิตได้หลายทางทั้งทางปาก ผิวหนัง และหายใจ เมื่อเข้าสู่ระบบทางเดินอาหาร พีซีบีจะถูกดูดซึมและกระจายไปทั่วร่างกาย ประสิทธิภาพของการดูดซึมพีซีบีผ่านทางอาหารสูงมากคืออยู่ในช่วงร้อยละ 75 จนถึงมากกว่าร้อยละ 90 เนื่องจากพีซีบีมีสมบัติชอบน้ำมันจึงสะสมอยู่ในอวัยวะที่มีไขมันมาก เช่น ตับ ผิวหนัง และในน้ำนม ร่ายกายของสิ่งมีชีวิตสามารถขับพีซีบีออกมาได้บ้างขึ้นอยู่กับคอนเจนเนอร์ของพีซีบีแต่ส่วนใหญ่จะใช้เวลานาน ค่าครึ่งชีวิตของพีซีบีที่มีคลอรีนต่ำๆจะอยู่ระหว่าง 1 ถึง 6 ปี ในขณะที่คอนเจนเนอร์ที่มีคลอรีนสูงๆจะมีค่าครึ่งชีวิตอยู่ในช่วง 8 ถึง 24 ปี

2.2.2.1 ความเป็นพิษเฉียบพลัน

ผลการศึกษาในสัตว์ทดลองพบว่าการได้รับพีซีบีที่ความเข้มข้นสูงๆจะก่อให้เกิดความเสียหายต่อตับและไต และมีผลกระทบต่อระบบประสาทและการเจริญเติบโต หากได้รับที่ความเข้มข้นสูงมากๆอาจทำให้ตายได้ ค่า LD_{50} สำหรับการได้รับพีซีบีจาก Aroclor อยู่ในช่วง 1,000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมต่อวัน ถึงมากกว่า 4,000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมต่อวัน ขึ้นอยู่กับชนิดของสัตว์ทดลอง อย่างไรก็ดียังไม่มีข้อมูลทางการแพทย์เกี่ยวกับความเป็นพิษเฉียบพลันที่เกิดขึ้นกับมนุษย์ที่ได้รับพีซีบีในปริมาณสูงๆ

ตารางที่ 2.2 รายละเอียดทางเคมีของโพลีคลอริเนเต็ดไบฟีนิล

Chemical name	Polychlorinated biphenyls (PCBs)
CASRN (Chemical Abstract Service Registry Number)	01336-36-3
Other names	Aroclor (Monsanto, USA) biphenyl chlorinated Kanechlor (Kanegafuchi,Japan) Clophen (Bayer, Germany) Phenoclor (Prodelec, France) Fenclor (Caffaro, Italy) Fenoclor (S.A. Cros, Spain)
Molecular formula	$C_{12}H_{10-n}Cl_n$ (n = 1-10)
Structure formula	

ตารางที่ 2.3 ลักษณะสมบัติทางกายภาพและเคมีของโพลีคลอริเนเต็ดไบฟีนิล (Rice และ O'Keefe, 1995)

PCBs	CASRN	No. Of Congener(s)	Molecular Weight	Solubility ($\mu g\ l^{-1}$)	Vapor Pressure (Pa at 20°C)	Log K_{ow}
Mono-	27323-18-8	3	188.7	1.3×10^{3}-7.0×10^{3}	2.2×10^{3}-9.2×10^{2}	4.6-4.7
Di-	55512-42-9	12	233.1	0.6×10^{2}-7.9×10^{2}	3.7×10^{2}-7.5×10^{1}	5.2-5.3
Tri-	25323-68-6	24	257.6	0.1×10^{2}-6.4×10^{2}	1.1×10^{2}-1.3×10^{1}	5.7-6.1
Tetra-	26914-33-0	42	292.0	0.2×10^{2}-1.7×10^{2}	1.8-4.0	5.9-6.1
Penta-	25429-29-2	46	326.4	4.2-12	0.88-5.3	6.4-7.6
Hexa-	26601-64-9	42	360.9	0.4-0.9	0.2-1.9	6.4-7.6
Hepta-	28655-71-2	24	395.3	0.5	$0.53\text{-}4.8\times10^{-2}$	7.0-7.7
Octa-	55722-26-4	12	429.8	0.2-0.3	7.8×10^{-2}-9.0×10^{2}	7.0-7.6
Nona-	53742-07-7	3	464.2	0.1	3.2×10^{-2}-1.1×10^{-2}	7.7-7.9
Deca-	2051-24-3	1	498.7	0.02	5.6×10^{-3}	8.4

2.2.2.2 ความเป็นพิษเรื้อรัง

ผลการศึกษาส่วนใหญ่พบว่าพีซีบีจะก่อให้เกิดผลกระทบต่อสิ่งมีชีวิตในรูปของความเป็นพิษเรื้อรังมากกว่าความเป็นพิษเฉียบพลับเพราะโอกาสที่จะได้รับพีซีบีในปริมาณสูง ๆเป็นไปได้

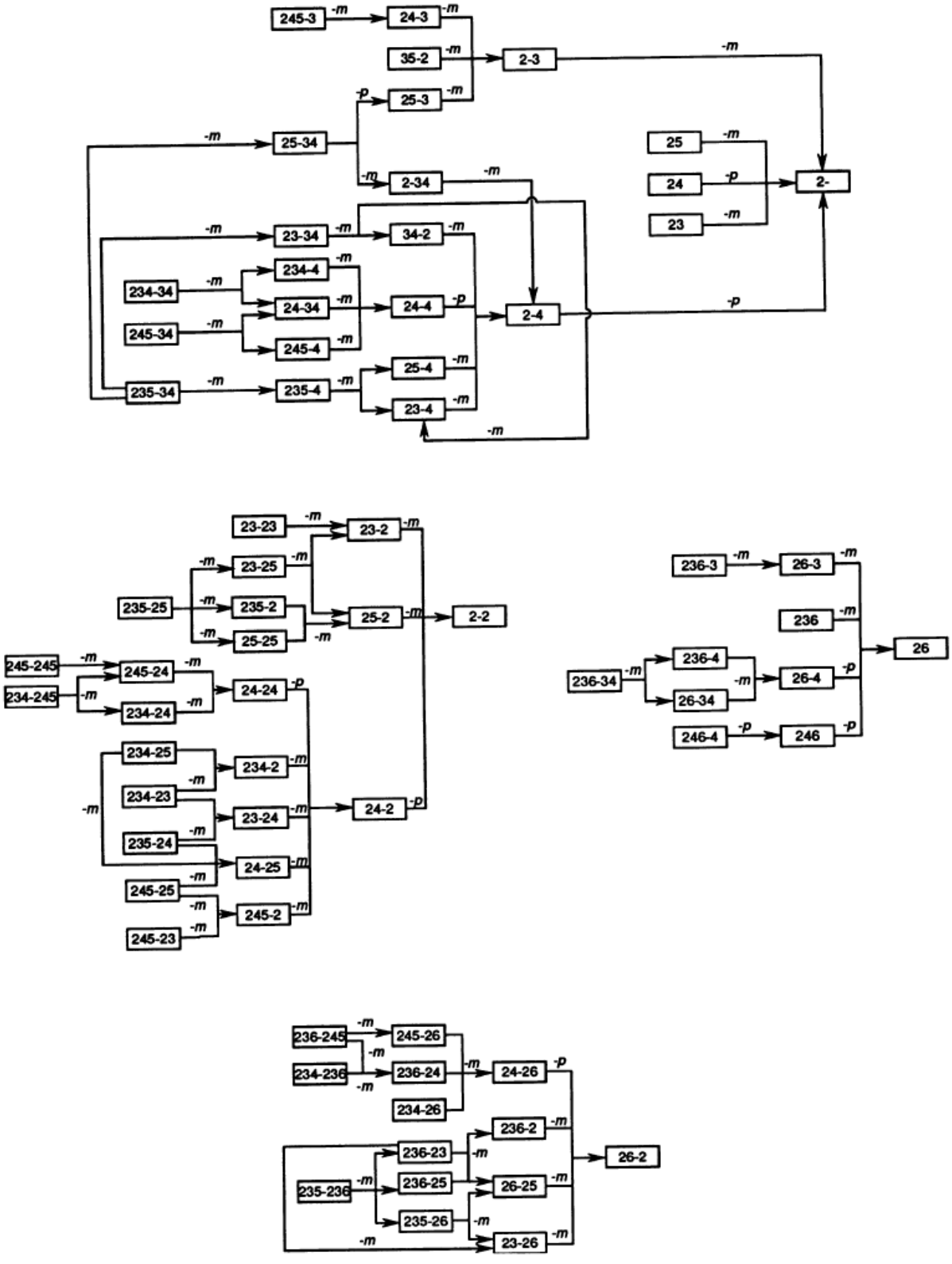
ยาก การศึกษาด้านความเป็นพิษเรื้อรังในสัตว์ทดลองที่กระทำโดยการป้อนพีซีบีผ่านทางปาก ส่วนใหญ่พบว่าพีซีบีเป็นสารก่อมะเร็งในสัตว์ ข้อมูลจากการศึกษาในหนูพบว่าเกิดเนื้องอกในตับขึ้นเมื่อป้อน Aroclors 1260, 1254, 1242 และ 1016 ให้ทางปาก นอกจากนี้ยังพบว่าสารผสมพีซีบีที่มีคลอรีนเป็นองค์ประกอบร้อยละ 54 โดยน้ำหนัก (Aroclor 1254) ก่อให้เกิดการสร้างเนื้องอกในตับมากกว่าที่องค์ประกอบอื่นๆ อย่างไรก็ดีผลการศึกษาระบาดวิทยาในมนุษย์และคนงานที่ต้องสัมผัสกับพีซีบีเป็นระยะเวลายาวนานไม่สามารถชี้ชัดได้ว่าพีซีบีเป็นสารก่อมะเร็งในมนุษย์โดยตรง แต่พบความเป็นไปได้ที่พีซีบีอาจมีส่วนเกี่ยวข้องกับการเกิดมะเร็งเต้านม รวมถึงเพิ่มความเสี่ยงในการเป็นมะเร็งที่อวัยวะอื่นๆเช่น ตับ ตับอ่อน ลำไส้ กระเพาะปัสสาวะ เป็นต้น ยิ่งไปกว่านั้นยังพบว่าสารผสมพีซีบีที่สะสมในสิ่งแวดล้อมและสิ่งมีชีวิตซึ่งเป็นห่วงโซ่อาหารของมนุษย์เช่น ปลา และสัตว์น้ำอาจมีการเปลี่ยนองค์ประกอบที่มีความเป็นพิษมากขึ้นได้ เป็นผลให้พีซีบีถูกจัดให้อยู่ใน Group B2 Probable Human Carcinogen โดยองค์กรพิทักษ์สิ่งแวดล้อมของสหรัฐอเมริกา (USEPA) องค์กรอื่นๆที่เกี่ยวข้องกับผลกระทบของพีซีบี เช่น International Agency for Research on Cancer และ US National Institute for Occupational Safety and Health ต่างก็กำหนดให้พีซีบีเป็นสารที่มีความเสี่ยงที่จะก่อให้เกิดมะเร็งในมนุษย์

นอกจากการก่อให้เกิดโรคมะเร็งแล้ว ผลการศึกษาในสัตว์ยังพบว่าพีซีบีมีผลกระทบต่อระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย ระบบสืบพันธุ์ และระบบประสาท การศึกษาในลิงพันธุ์ Rhesus ซึ่งมีระบบภูมิคุ้มกันคล้ายมนุษย์มากพบว่าพีซีบีทำให้ต่อไร้ท่อของลิงมีขนาดลดลงเป็นผลให้ระบบภูมิคุ้มกันลดลงตามไปด้วย นอกจากนี้ยังพบว่าพีซีบีทำให้อัตราการรอดระหว่างคลอดของสัตว์ทดลองลดลงและตัวอ่อนที่รอดจะมีน้ำหนักตัวลดลง พร้อมทั้งมีการพัฒนาการทางระบบประสาทและสมองช้าซึ่งรวมถึงการจดจำและการเรียนรู้ ผลการศึกษาในประชากรมนุษย์โดยพิจารณาจากคนงานที่มีอัตราเสี่ยงสูงที่จะได้สัมผัสกับพีซีบีได้ผลเช่นเดียวกับที่ทดลองในสัตว์

2.2.3 ความคงตัวและการย่อยสลายทางชีวภาพ

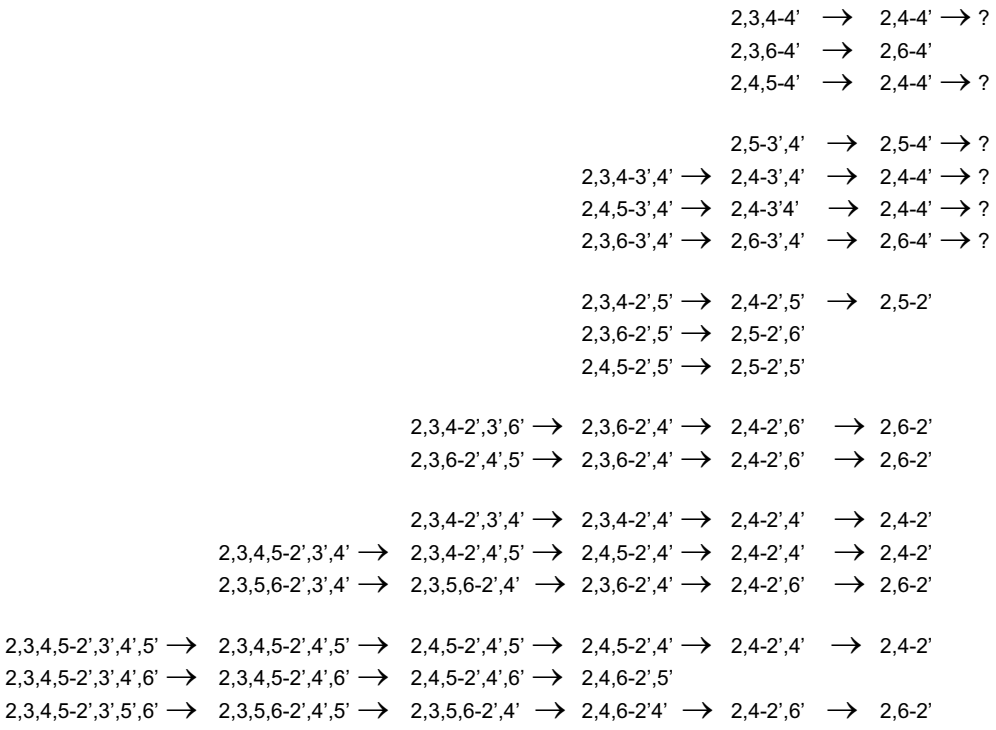
พีซีบีถูกนำเข้ามาในประเทศไทยตั้งแต่ปี พ.ศ. 2450 ส่วนใหญ่เพื่อใช้เป็นสารฉนวนและหล่อเย็นของหม้อแปลงและตัวเก็บประจุไฟฟ้า อย่างไรก็ดีเนื่องจากผลกระทบด้านลบของพีซีบีที่มีต่อสิ่งแวดล้อม ประเทศไทยได้ประกาศห้ามการผลิต การใช้งาน การเคลื่อนย้าย และการส่งออกพีซีบีมาตั้งแต่ปี พ.ศ. 2518 และปฏิบัติตามข้อตกลงในอนุสัญญาสต็อกโฮล์มว่าด้วยสารมลพิษที่ตกค้างยาวนานอย่างเคร่งครัด แต่ถึงกระนั้นก็ดีได้มีการตรวจพบพีซีบีปนเปื้อนอยู่ในตะกอนของแม่น้ำเจ้าพระยาช่วงที่ไหลผ่านกรุงเทพฯและจังหวัดสมุทรปราการ รวมถึงตอนบนของอ่าวไทยในระดับ 0.01-0.22, 0.02-0.05 และ 0-0.02 นาโนกรัมต่อกรัมตามลำดับ อย่างไรก็ดีตรวจไม่พบพีซีบีในตะกอนของแม่น้ำเจ้าพระยาช่วงที่ไหลผ่านจังหวัดอยุธยาและนนทบุรี (Boonyatumanond และคณะ, 2003; Boonyatumanond และคณะ, 2006)

การย่อยสลายพีซีบีทางชีวภาพสามารถเกิดขึ้นได้ทั้งในสภาวะมีอากาศและไร้อากาศ พีซีบีที่มีจำนวนคลอรีนอะตอมต่ำๆสามารถถูกย่อยสลายโดยจุลชีพแบบใช้อากาศได้ทั้งในรูปแบบของการเป็นสารอาหารโดยตรงและผ่านทางเมตาบอลิซึมร่วม อย่างไรก็ดีหากมีอะตอมของคลอรีนมากขึ้นจะไม่สามารถถูกย่อยสลายโดยจุลชีพแบบใช้อากาศได้แต่จะสามารถถูกลดคลอรีนด้วยกระบวนการทางชีวภาพแบบไร้อากาศผ่านกระบวนการเมตาบอลิซึมร่วม ความสามารถในการละลายน้ำของพีซีบีมีส่วนสำคัญต่อการย่อยสลายทางชีวภาพ พีซีบีที่มีอะตอมของคลอรีนต่ำมักจะลายน้ำได้มากกว่าพีซีบีที่มีอะตอมของคลอรีนสูง (แต่โดยรวมถือว่าความสามารถในการละลายน้ำของพีซีบีต่ำมากดังแสดงในตารางที่ 2.3) จึงเป็นผลให้พีซีบีที่มีจำนวนคลอรีนอะตอมไม่มากนักสามารถย่อยสลายทางชีวภาพได้ง่ายกว่ากลุ่มที่มีคลอรีนอะตอมมากเนื่องจากจุลชีพสามารถเข้าถึงได้ง่ายกว่า กลไกที่เกิดขึ้นจะเป็นในลักษณะการลดคลอรีนโดยแทนที่คลอรีนด้วยไฮโดรเจนเหมือนกรณีของเฮกซะคลอโรเบนซินดังที่ได้กล่าวมาแล้ว (สมการที่ 2.1) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Brown และคณะ (1987) ที่ทำการวิเคราะห์ตะกอนของ Hudson River ในมลรัฐ New York และ Silver Lake ในมลรัฐ Massachusetts สหรัฐอเมริกา ซึ่งอยู่ภายใต้สภาวะไร้อากาศและได้รับการปนเปื้อนจากพีซีบี ผลการวิเคราะห์พบว่าพีซีบีที่หลงเหลืออยู่ในตะกอนเป็นคอนเจนเนอร์ที่มีจำนวนคลอรีนอะตอมต่ำมากกว่าที่มีจำนวนคลอรีนอะตอมสูงแตกต่างจากองค์ประกอบของส่วนผสมพีซีบีที่มีจำหน่ายเชิงพาณิชย์ ผลการศึกษาตะกอนในห้องปฏิบัติการให้ผลเช่นเดียวกันกล่าวคือพีซีบีคอนเจนเนอร์ที่มีจำนวนคลอรีนสูงๆใน Aroclor 1242 ถูกเปลี่ยนรูปเป็นคอนเจนเนอร์ที่มีคลอรีนต่ำเช่น โมเนคลอโรเบนซินหรือไดคลอโรไบฟินิล (Quensen และคณะ, 1990) กลไกการลดคลอรีนของพีซีบีทางชีวภาพแตกต่างกันไปตามชนิดของจุลชีพ อย่างไรก็ดีพบว่าในกรณีที่มีคลอรีนสามอะตอมเรียงกันอยู่ในวงฟินิลเดียวกัน คลอรีนอะตอมที่อยู่ตรงกลางจะถูกกำจัดได้ง่ายที่สุด Williams (1994) ศึกษาการลดคลอรีนของไตรคลอโรไบฟินิลโดยใช้ตะกอนจาก 3 แหล่งคือ Hudson River ในมลรัฐ New York, Silver Lake และ Woods Pond ในมลรัฐ Massachusetts สหรัฐอเมริกา พบว่าตะกอนจาก Hudson River สามารถลดคลอรีนในตำแหน่งเมตา (meta-position) และพารา (para-position) ได้หมด แต่ไม่สามารถกำจัดคลอรีนที่ตำแหน่งออโธ (ortho-position) ได้เลย ในขณะที่ตะกอนจาก Silver Lake และ Woods Pond สามารถลดคลอรีนได้แค่อะตอมเดียวที่ตำแหน่งใดตำแหน่งหนึ่งรวมถึงตำแหน่งออโธด้วย อย่างไรก็ดีถึงแม้ว่าจะมีการพบการลดคลอรีนในตำแหน่งออโธบ้าง (Wu และคณะ, 1997; Van Dort และ Bedard, 1991; Kuiper และคณะ, 1999) แต่งานวิจัยส่วนใหญ่พบว่าคลอรีนในตำแหน่งเมตาและพาราของพีซีบีจะสามารถถูกลดคลอรีนได้ง่ายกว่าในตำแหน่งออโธ (Mavoungou และคณะ, 1991; Williams, 1994; Rhee และคณะ, 1993; Natarajan และคณะ, 1996) Fish และ Principe (1994) ศึกษาการย่อยสลายของพีซีบีในรูปของ Aroclor 1242 ที่ปนเปื้อนในตะกอนของ Hudson River ในมลรัฐ New York อย่างละเอียดและได้นำเสนอกลไกการย่อยสลายของพีซีบีคอนเจนเนอร์ต่างๆที่มีอยู่ใน Aroclor 1242 ดังแสดงในรูปที่ 2.2 ซึ่งพบว่าการลดคลอรีนส่วนใหญ่จะเกิดขึ้นกับคลอรีนอะตอม



รูปที่ 2.2 ผังการลดคลอรีนของพีซีบีคอนเจนเนอร์ต่างๆที่พบใน Aroclor 1242 ด้วยตะกอนที่ปนเปื้อนพีซีบีจาก Hudson River (Fish และ Principe, 1994)

ที่ตำแหน่งเมตาก่อนแล้วตามด้วยตำแหน่งพารา แต่ไม่พบการลดคลอรีนที่ตำแหน่งออโธเลย Wiegel and Wu (2000) ได้รวบรวมข้อมูลของ Bedard และ Quensen (1995) ซึ่งศึกษาการย่อยสลายของพีซีบีในตะกอนจาก Woods Pond ในมลรัฐ Massachusetts ประเทศสหรัฐอเมริกา และแจกแจงกลไกการย่อยสลายพีซีบีซึ่งผลที่ได้สอดคล้องกับผลงานวิจัยต่างๆที่ได้กล่าวมาแล้ว Van Dort และคณะ (1997) ใช้จุลชีพจากตะกอนของ Woods Pond ซึ่งปนเปื้อนด้วยสารไฮโดรคาร์บอนและ Aroclor ย่อยสลาย 2,3,5,6-เตตระคลอโรไบฟีนิล พบว่าเกิดเป็น 2,5-ไดคลอโรไบฟีนิล (ร้อยละ 21) 2,6-ไดคลอโรไบฟีนิล (ร้อยละ 63) และ 2,3,6-ไตรคลอโรไบฟีนิล (ร้อยละ 16) ในระยะเวลา 37 สัปดาห์ จากการรวบรวมข้อมูลของ Wiegel และ Wu (2000) พบว่าจุลชีพจากหลายๆพื้นที่ที่ปนเปื้อนด้วยพีซีบีทั้งในประเทศแคนาดา สหรัฐอเมริกา เยอรมัน ญี่ปุ่น และเนเธอร์แลนด์สามารถย่อยสลายพีซีบีภายใต้สภาวะไร้อากาศได้ ยิ่งไปกว่านั้นยังพบว่าจุลชีพจากบางพื้นที่ในสหรัฐอเมริกาที่ไม่ได้ปนเปื้อนพีซีบีเลยก็สามารถลดคลอรีนได้เช่นกัน เช่น Sandy Creek Nature Center ในมลรัฐ Georgia, Center Pond ในมลรัฐ Massachusetts, Red Cedar River และ Saline River ในมลรัฐ Michigan และ Hudson River (Spiers Falls) ในมลรัฐ New York สหรัฐอเมริกา พร้อมกับเสนอกลไกในการลดคลอรีนของพีซีบีคอนเจนเนอร์ต่างๆดังแสดงในรูปที่ 2.3



รูปที่ 2.3 กลไกการลดคลอรีนของพีซีบีในตะกอนจาก Woods Pond ในมลรัฐ Massachusetts สหรัฐอเมริกาที่พีเอช 6.0-7.5 และอุณหภูมิ 25°C (Wiegel and Wu, 2000)

2.2.4 ผลของสารให้อิเลคตรอน สารรับอิเลคตรอน และธาตุอาหาร

การลดคลอรีนของพีซีบีด้วยกระบวนการชีวภาพแบบไร้อากาศเป็นกลไกแบบเมตาบอลิซึมร่วม (co-metabolism) ดังนั้นการเติมสารอินทรีย์เพื่อเป็นแหล่งให้อิเลคตรอนหลักแก่จุลชีพจึงสามารถช่วยเร่งให้เกิดการย่อยสลายพีซีบีได้เช่นเดียวกับกรณีของเฮกซะคลอโรเบนซิน Nies และVogel (1990) พบว่าการเติมเมธานอล กลูโคส อะซีโตน และอะซิเตทสามารถช่วยเร่งการลดคลอรีนของ Aroclor 1242 โดยอาศัยจุลชีพจากตะกอนของ Hudson River ในมลรัฐ New York สหรัฐอเมริกาที่มีการปนเปื้อนพีซีบีได้ตามลำดับ อย่างไรก็ดีกลไกในการลดคลอรีนยังคงเหมือนกันโดยการลดคลอรีนเกิดขึ้นที่คลอรีนตำแหน่งเมตา (meta-position) และพารา (para-position) ได้ดีกว่าที่ตำแหน่งออโธ (ortho-position) เมื่อเปรียบเทียบระหว่างสารผสมพีซีบีต่างๆกันคือ Aroclor 1242, 1248, 1254 และ 1260 พบว่า Aroclor 1254 เกิดการลดคลอรีนได้ดีที่สุด หรือในกรณีงานวิจัยของ Alder และคณะ (1993) ที่พบว่าการเพิ่มกรดไขมันเช่น อะซิเตท โพรพิโอเนท บิวทิเรท และกรดเฮกซะโนอิก (hexanoic acid) ลงในตะกอนที่มีสารอินทรีย์คาร์บอนจำกัดอย่างต่อเนื่องสามารถช่วยเหนี่ยวนำให้เกิดการลดคลอรีนของพีซีบีได้ แต่ในขณะเดียวกันเมื่อทดลองกับตะกอนทีมีสารอินทรีย์สูงอยู่แล้วกลับไม่พบว่าทำให้เกิดการลดคลอรีนของพีซีบีดีขึ้น นอกจากสารอินทรีย์ที่สามารถทำหน้าที่เป็นสารให้อิเลคตรอนได้แล้ว ก๊าซไฮโดรเจน (H_2) ก็สามารถทำหน้าที่เป็นสารให้อิเลคตรอนได้เช่นกัน Sokol และคณะ (1994) พบว่าไฮโดรเจนรบกวนการทำงานของจุลชีพที่สามารถย่อยสลายพีซีบีได้ เป็นผลให้ประสิทธิภาพโดยรวมลดลง อย่างไรก็ดีเนื่องจากจุลชีพในตะกอนจะมีทั้งกลุ่มที่สามารถย่อยสลายพีซีบีได้และย่อยสลายไม่ได้ ดังนั้นหากสารอินทรีย์ที่เพิ่มให้ถูกใช้โดยจุลชีพกลุ่มที่ไม่สามารถย่อยสลายพีซีบีได้เป็นหลักจะทำให้จุลชีพกลุ่มที่ย่อยพีซีบีได้ถูกรบกวนเนื่องจากการแย่งธาตุอาหารอื่นๆ เป็นผลให้ประสิทธิภาพในการย่อยสลายพีซีบีลดลง (Wiegel และ Wu, 2000)

การเติมสารรับอิเลคตรอนลงไปในตะกอนให้ผลที่หลากหลายต่อการลดคลอรีนของพีซีบีทางชีวภาพ Morris และคณะ (1992) ศึกษาถึงผลของสารรับอิเลคตรอนที่มีต่อการลดคลอรีนของพีซีบีพบว่าการเติมสารรับอิเลคตรอนมีผลต่อการย่อยสลายพีซีบีภายใต้สภาวะไร้อากาศ กล่าวคือซัลเฟตจะหยุดยั้งการลดคลอรีนในขณะที่ไนเตรตและคาร์บอนไดออกไซด์ช่วยให้เกิดการลดคลอรีนดีขึ้น ในขณะที่ Morris และคณะ (1992) และ Rhee และคณะ (1993) กลับพบว่าไนเตรตที่ความเข้มข้น 10-16 มิลลิโมล่าร์ไม่มีผลต่อการลดคลอรีนของพีซีบี งานวิจัยของ Chang (1995) พบว่าซัลเฟต ไธโอซัลเฟต ซัลไฟท์ หรือไนเตรตที่ความเข้มข้น 5 มิลลิโมล่าร์รบกวนต่อการลดคลอรีนของ 2,3,4,6-เตตระคลอโรไบฟีนิลและ 2,4,6-ไตรคลอโรไบฟีนิล พร้อมทั้งเสนอสมมุติฐานว่าผลที่ได้อาจมาจากจุลชีพชอบที่จะใช้สารรับอิเลคตรอนเหล่านี้มากกว่าพีซีบี

หรืออาจเป็นเพราะจุลชีพที่ไม่สามารถย่อยสลายพีซีบีได้สามารถดูดซึมสารรับอิเลคตรอนเหล่านี้และเติบโตเพิ่มจำนวนขึ้นจนแย่งสารให้อิเลคตรอน (สารอินทรีย์) จากจุลชีพที่ลดคลอรีนได้

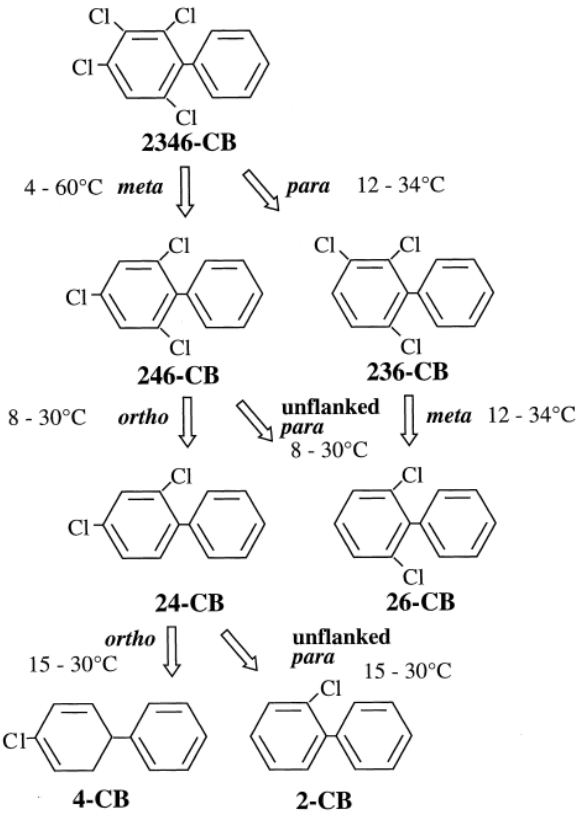
จากผลการศึกษาทั้งหมดที่รวบรวมมาพบว่าการลดคลอรีนของพีซีบีสามารถเกิดขึ้นได้ภายใต้สภาวะ methanogenic, sulfidogenic และ denitrifying conditions ได้ทั้งสิ้นขึ้นอยู่กับองค์ประกอบและความหลากหลายของจุลชีพในตะกอน สภาวะแวดล้อม และธาตุอาหารเสริม

2.2.5 ผลของอุณหภูมิ

อุณหภูมิเป็นตัวแปรที่สำคัญที่มีผลต่อการลดคลอรีนทางชีวภาพของสารประกอบอินทรีย์คลอรีนรวมถึงเฮกซะคลอโรเบนซินและพีซีบี โดยส่งผลโดยตรงต่อการเจริญเติบโตของจุลชีพ การสร้างเอนไซม์และความไวปฏิกิริยาของเอนไซม์ ถึงแม้ว่าอุณหภูมิจะมีผลต่อการดูดซับของพีซีบีในตะกอนซึ่งนำไปสู่ความเข้าถึงได้ของจุลชีพ แต่งานวิจัยส่วนใหญ่พบว่าอุณหภูมิมีผลสำคัญต่อการสร้างเอนไซม์และความไวปฏิกิริยาของเอนไซม์มากกว่า ซึ่งส่งผลให้เกิดการคัดพันธุ์ประชากรจุลชีพที่รวมถึงกลุ่มที่ย่อยสลายพีซีบีที่สามารถเจริญเติบโตได้ดีที่อุณหภูมิต่างๆกัน งานวิจัยที่ศึกษาถึงผลของอุณหภูมิต่อการลดคลอรีนของพีซีบีที่สำคัญคืองานของ Wu และคณะ (1996, 1997a, 1997b) ซึ่งพบว่า 2,3,4,6-เตตระคลอโรไบฟีนิลและ Aroclor 1260 ที่ปนเปื้อนในตะกอนจาก Woods Pond ในมลรัฐ Massachusetts สหรัฐอเมริกา สามารถถูกย่อยสลายได้ในช่วงอุณหภูมิ 18-30°C และ 50-60°C โดยมีช่วงอุณหภูมิที่ดีที่สุดระหว่าง 18-30°C อุณหภูมิยังมีผลอย่างมากต่ออัตราการลดคลอรีนที่เกิดขึ้น Tiedje และคณะ (1993) ศึกษาการย่อยสลายของ Aroclor 1242 ด้วยตะกอนจาก Hudson River ในช่วงที่ปนเปื้อนพีซีบีที่อุณหภูมิต่างๆกันคือ 12, 25, 37, 45 และ 60°C พบว่าการลดคลอรีนของ Aroclor 1242 ที่ 12°C มีอัตราประมาณสองเท่าของที่อุณหภูมิ 25°C แต่พบว่า Aroclor 1242 ไม่สามารถถูกย่อยสลายได้เลยเมื่ออุณหภูมิเท่ากับ 37°C หรือสูงกว่า ยิ่งไปกว่านั้นยังพบว่ากลไกในการลดคลอรีนของพีซีบีขึ้นอยู่กับอุณหภูมิด้วยดังแสดงในรูปที่ 2.4 ซึ่งเป็นผลงานวิจัยของ Wiegel และ Wu (2000)

2.2.6 จลนพลศาสตร์ของการย่อยสลาย

จากการสืบค้นข้อมูลไม่พบว่ามีการแจกแจงถึงจลนพลศาสตร์ของการย่อยสลายพีซีบีโดยตรงซึ่งต่างจากกรณีของเฮกซะคลอโรเบนซินที่มีงานวิจัยหลายชิ้นที่ศึกษาถึงอัตราการย่อยสลายและตัวแปรทางจลนพลศาสตร์ ที่เป็นเช่นนี้คาดว่าเป็นผลมาจากพีซีบีย่อยสลายช้ากว่าเฮกซะคลอโรเบนซินมาก จำเป็นต้องใช้เวลานานมากกว่าจะสามารถหาแนวโน้มการลดลงของพีซีบีได้ จึงทำให้อัตราการย่อยสลายของพีซีบีไม่ได้รับความสนใจเท่าที่ควร อย่างไรก็ดีเนื่องจากนักวิจัยส่วนใหญ่เชื่อว่ากลไกส่วนใหญ่ของการย่อยสลายทางชีวภาพของพีซีบีเป็นกระบวนการ



รูปที่ 2.4 ผลของอุณหภูมิที่มีต่อกลไกการลดคลอรีนของ 2,3,4,6-เตตระคลอโรไบฟีนิลในตะกอนจาก Woods Pond มลรัฐ Massachusetts สหรัฐอเมริกา ในช่วงอุณหภูมิระหว่าง 4 และ 66°C (Wiegel และ Wu, 2000)

เมตาบอลิซึมร่วม (co-metabolism) เหมือนเช่นในกรณีของเฮกซะคลอโรเบนซิน สมการจลนพลศาสตร์ของการย่อยสลายของ Modified Monod Kinetics Model (สมการที่ 2.2 และ 2.3) จึงน่าจะสามารถนำมาประยุกต์ใช้กับกรณีของพีซีบีได้เช่นกัน

2.2.7 จุลชีพที่มีส่วนร่วมต่อการลดคลอรีน

การลดคลอรีนของพีซีบีส่วนใหญ่จะเกิดขึ้นภายใต้สภาวะที่มีการสร้างก๊าซมีเทน (methanogenic conditions) (Alder และคณะ, 1993; May และคณะ, 1992; Morris และคณะ, 1992; Rhee และคณะ, 1993) งานวิจัยส่วนใหญ่พบว่าการหยุดกิจกรรมของจุลชีพกลุ่มเมธาโนเจนด้วย bromoethane sulfonic acid (BES) ซึ่งเป็นสารยับยั้งการทำงานของกระบวนการเมธาโนเจเนซิส (methanogenesis) มีผลต่อการลดของพีซีบี (Morris และคณะ, 1992; Rhee และคณะ, 1993; Williams, 1994) อย่างไรก็ดีมีงานวิจัยบางชิ้นให้ผลตรงกันข้าม เช่น Ye และคณะ (1992) พบว่าการเติม BES ไม่มีผลต่อการลดคลอรีนใน Aroclor 1242 ด้วยตะกอนจาก Hudson River ที่ผ่านการสเตอไรซ์มาแล้ว ชี้ให้เห็นเป็นนัยว่าจุลชีพกลุ่มเมธาโนเจนไม่ได้มีส่วน

ร่วมต่อการย่อยสลายพีซีบีในงานวิจัยดังกล่าว ผลดังกล่าวค่อนข้างจะสอดคล้องกับในกรณีของเฮกซะคลอโรเบนซินที่กล่าวมาแล้ว กล่าวคือผลการวิจัยส่วนหนึ่งระบุว่าเมธาโนเจนมีส่วนเกี่ยวข้องกับการลดคลอรีนของพีซีบี ในขณะที่อีกส่วนหนึ่งพบว่าเมธาโนเจนไม่มีส่วนเกี่ยวข้องโดยตรงต่อการย่อยสลายพีซีบี ในทำนองเดียวกันงานวิจัยบางชิ้นพบว่าไนตริฟายอิ้งแบคทีเรียไม่มีส่วนเกี่ยวข้องกับการลดคลอรีนของพีซีบี (Morris และคณะ, 1992; และ Rhee และคณะ, 1993) ซึ่งขัดแย้งกับงานวิทยานิพนธ์ของ Chang (1995) ที่พบว่าไนตริฟายอิ้งแบคทีเรียอาจรบกวนการทำงานของจุลชีพที่ลดคลอรีนในพีซีบีได้ นอกจากนี้ยังพบอีกว่าจุลชีพกลุ่มที่ใช้ซัลเฟต (เช่น sulfate-reducing bacteria) ไธโอซัลเฟต หรือซัลไฟท์เป็นสารรับอิเลคตรอนรบกวนต่อการลดคลอรีนของ 2,3,4,6-เตตระคลอโรไบฟีนิล และ 2,4,6-ไตรคลอโรไบฟีนิล

งานวิจัยหลายชิ้นพยายามที่จะคัดสายพันธุ์บริสุทธิ์ของจุลชีพที่สามารถย่อยสลายพีซีบีได้ แต่ส่วนใหญ่ไม่ประสบความสำเร็จ (Hartcamp-Commandeur และคณะ, 1996; Williams, 1997; Bedard และคณะ, 1997; Natarajan และคณะ, 1996; Wu และ Wiegel, 1997) Wiegel และคณะ (1999) ใช้ *Desulfitobacterium dehalogenans* ซึ่งเป็นแบคทีเรียกลุ่มแกรมบวก (gram positive) ที่สามารถลดคลอรีนในตำแหน่งออโธของคลอโรฟีนอลและสามารถลดคลอรีนในตำแหน่งเมตาของ para-hydroxylated PCBs (3,3',5,5'-tetrachloro-4,4'dihydroxybiphenyl) ได้มาศึกษาถึงความเป็นไปได้ในการลดคลอรีนในพีซีบี ผลที่ได้พบว่าจุลชีพสายพันธุ์ดังกล่าวไม่สามารถลดคลอรีนของพีซีบีได้

บทที่ 3 วิธีการศึกษาวิจัย

3.1 วัสดุและอุปกรณ์

3.1.1 ตัวอย่างน้ำและตะกอน

คณะทำงานได้ทำการเก็บตัวอย่างตะกอนและน้ำในลำน้ำต่าง ๆทั้งในพื้นที่ที่คาดว่าจะมีการปนเปื้อนเฮกซะคลอโรเบนซิน/พีซีบีและในพื้นที่ที่คาดว่าจะไม่มีการปนเปื้อนรวมทั้งสิ้น 10 พื้นที่ 21 จุดเก็บตัวอย่างดังแสดงในรูปที่ 3.1 และตารางที่ 3.1 (ภาพของสภาพสถานที่และการเก็บตัวอย่างได้แสดงไว้ในภาคผนวก ก) ก่อนเก็บตัวอย่างตะกอนจะทำการปาดหน้าชั้นตะกอนด้านบนออกประมาณ 1-2 เซนติเมตร จากนั้นจึงตักตะกอนชั้นล่างใส่ภาชนะและปิดผนึก ส่วนน้ำตัวอย่างจะตักใส่ภาชนะปิด ตัวอย่างตะกอนและน้ำถูกเก็บรักษาไว้ในห้องเย็นที่อุณหภูมิ 4^{o}C

คลองหัวลำภูเป็นคลองรับน้ำจากชุมชนบริเวณถนนสุขุมวิทและชุมชนวัดหัวลำภู จังหวัดสมุทรปราการ นอกจากนี้ยังรับน้ำทิ้งที่ผ่านการบำบัดแล้วจากนิคมอุตสาหกรรมบางปูและโรงงานอุตสาหกรรมในพื้นที่ก่อนไหลออกสู่ทะเลที่อ่าวไทย คลองหัวลำภูเป็นจุดเริ่มต้นของโครงการนี้เมื่อทาง Green Peace ได้ทำป้ายประกาศเตือนประชาชนในชุมชนบริเวณริมคลองทราบว่าน้ำและตะกอนในคลองได้รับการปนเปื้อนจากสารมลพิษเสี่ยงอันตราย (hazardous pollutants) หลายชนิดรวมถึงเฮกซะคลอโรเบนซิน (รูปที่ 3.2) ทำให้คาดว่าสัตว์น้ำบริเวณชายฝั่งของอ่าวไทยในบริเวณดังกล่าวอาจได้รับสารมลพิษเสี่ยงอันตรายและเกิดการสะสมอยู่ใน

รูปที่ 3.1 สถานที่เก็บตัวอย่าง 10 พื้นที่ (รายละเอียดของพื้นที่แสดงไว้ในตารางที่ 3.1)

ตารางที่ 3.1 จุดเก็บตัวอย่างและตำแหน่งพิกัดทางภูมิศาสตร์

จุดที่	แหล่งน้ำที่เก็บตัวอย่าง		พิกัดทางภูมิศาสตร์	
			N	E
1	คลองหัวลำภู ถนนสุขุมวิท สมุทรปราการ	Site A1	13°32′39″	100°37′36″
		Site A2	13°32′04″	100°37′34″
		Site A3	13°32′03″	100°37′33″
		Site A4	13°32′01″	100°37′32″
		Site A5	13°31′59″	100°37′31″
		Site A6	13°31′57″	100°37′29″
		Site A7	13°31′54″	100°33′27″
		Site A8	13°31′51″	100°33′26″
		Site A9	13°31′44″	100°33′22″
		Site A10	13°31′43″	100°33′23″
2	คูระบายข้างถนนบางเมฆขาว สมุทรปราการ	Site B1	13°33′40″	100°36′33″
		Site B2	13°33′24″	100°36′22″
		Site B3	13°33′12″	100°36′16″
		Site B4	13°33′06″	100°36′07″
3	คลองใกล้โรงไฟฟ้าพระนครใต้	Site C1	13°32′27″	100°33′31″
4	คลองรับน้ำทิ้งจากนิคมอุตสาหกรรมบางพลี	Site D1	13°32′57″	100°47′25″
		Site D2	13°32′56″	100°47′26″
		Site D3	13°33′49″	100°47′42″
		Site D4	13°33′54″	100°47′43″
5	คลองข้าง ถ. ตำหรุ-บางพลี สมุทรปราการ	Site E1	13°31′44″	100°47′43″
		Site E2	13°45′39″	100°46′52″
6	คลองบางฝ้ายซึ่งรับน้ำทิ้งจากนิคมอุตสาหกรรมลาดกระบัง	Site F1	13°45′39″	100°46′52″
7	คลองแพรกษา สมุทรปราการ	Site G1	13°34′42″	100°39′06″
8	คูน้ำข้าง บ. ไทยเซ็นทรัลเคมิคัล จก. (มหาชน) ถ. สุขสวัสดิ์ สมุทรปราการ	Site H1	13°36′35″	100°33′04″
		Site H2	13°36′35″	100°33′04″
9	คูน้ำข้างถนนสุขสวัสดิ์ สมุทรปราการ	Site I1	13°35′39″	100°33′53″
10	คลองบางปลากด ถนนสุขสวัสดิ์ สมุทรปราการ	Site J1	13°35′57″	100°33′39″
		Site J2	13°35′55″	100°33′38″

(ก) ป้ายเตือนบริเวณต้นคลองใกล้ถนนสุขุมวิท

(ข) ป้ายเตือนบริเวณใกล้ปากคลองก่อนไหลลงสู่ทะเล

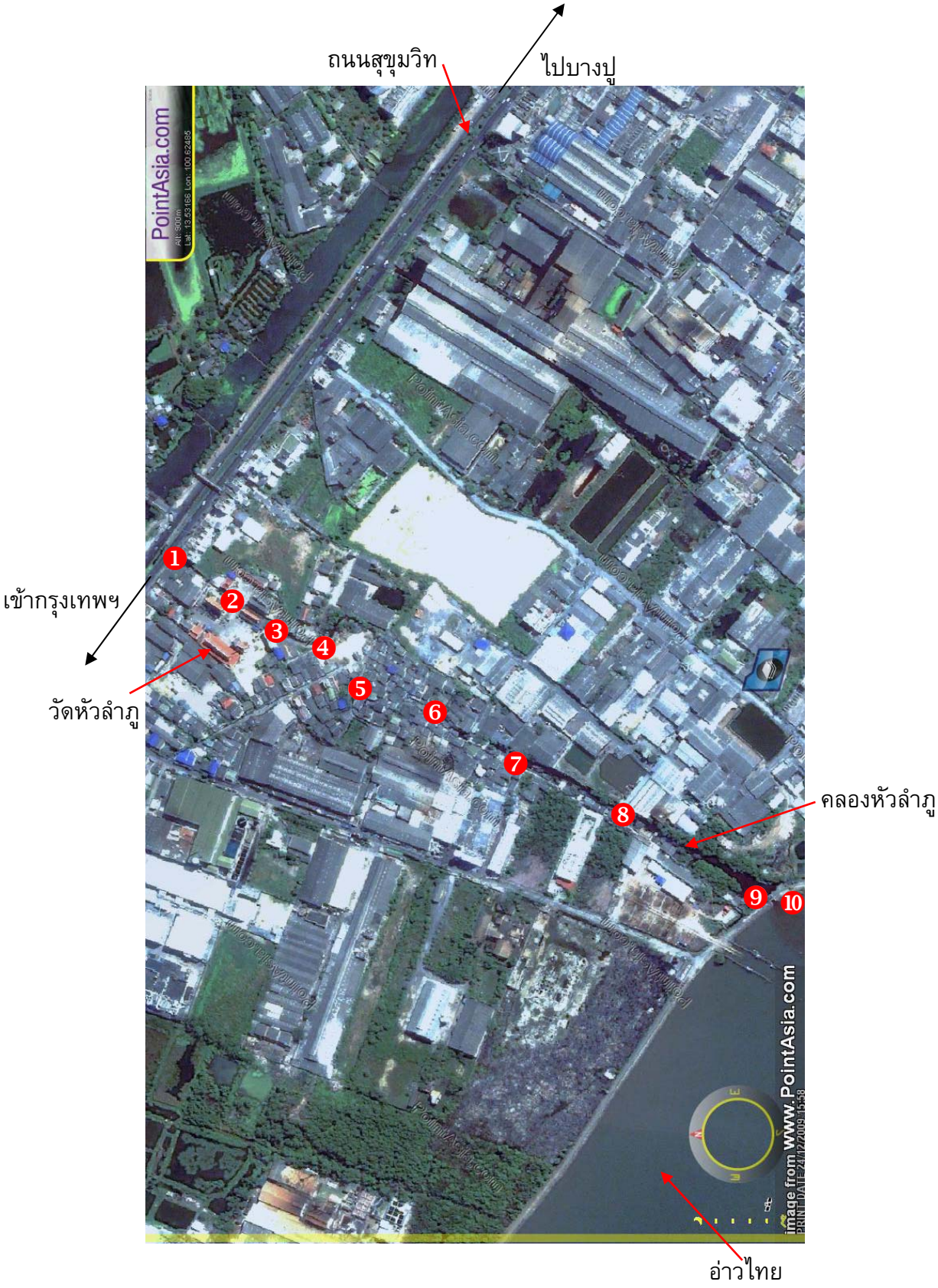
รูปที่ 3.2 ป้ายเตือนการปนเปื้อนของสารมลพิษเสี่ยงอันตรายในน้ำและตะกอนในคลองหัวลำภู ซึ่งจัดทำโดย Green Peace ในปี พ.ศ. 2537

อวัยวะต่างๆ ที่สำคัญกว่านี้คือประชาชนในชุมชนบางส่วนหาเลี้ยงชีพด้วยการทำประมงชายฝั่ง และสัตว์น้ำที่จับได้จะถูกนำมาขายในชุมชน ทำให้ประชาชนในพื้นที่มีโอกาสได้รับสารมลพิษเสี่ยงอันตรายผ่านห่วงโซ่อาหารอันอาจนำไปสู่ผลกระทบต่อสุขภาพในระยะยาวได้ คณะทำงานได้ทำการเก็บตัวอย่างน้ำและตะกอนจากคลองหัวลำภูตลอดทั้งสายรวมถึงบริเวณปากคลองที่ไหลลงสู่อ่าวไทยด้วยรวมทั้งสิ้น 10 จุดเก็บตัวอย่างดังแสดงในรูปที่ 3.3

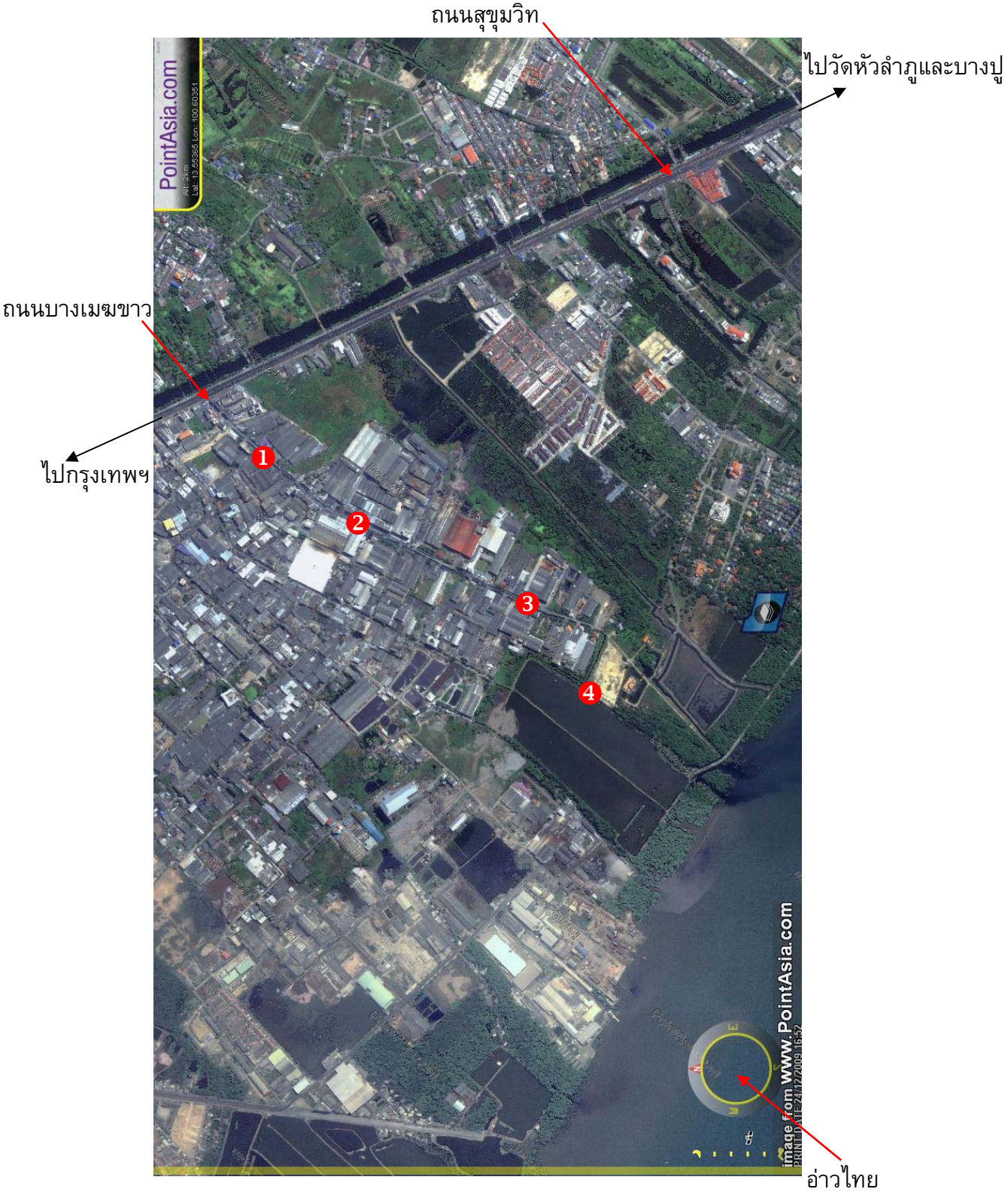
จุดเก็บตัวอย่างต่อไปคือคูระบายน้ำริมถนนบางเมฆขาว จังหวัดสมุทรปราการ ซึ่งเป็นที่ตั้งของโรงงานอุตสาหกรรมประเภทฟอกย้อมและฟอกหนังอย่างหนาแน่น จากการสำรวจพบว่าคูสายนี้รองรับทั้งน้ำทิ้งที่ผ่านการบำบัดแล้วและน้ำเสียที่ยังไม่ได้รับการบำบัดอย่างเหมาะสม ทำให้สภาพของคูน้ำเน่าเสีย และท้ายที่สุดน้ำในคูจะระบายลงสู่อ่าวไทย คณะทำงานได้กำหนดจุดเก็บตัวอย่าง 4 จุดตลอดสายของคูน้ำดังแสดงในรูปที่ 3.4

พื้นที่เก็บตัวอย่างในลำดับต่อไปมุ่งเน้นในแหล่งน้ำที่คาดว่ามีโอกาสจะได้รับการปนเปื้อนจากพีซีบี พื้นที่แรกคือบริเวณคลองใกล้กับโรงไฟฟ้าพระนครใต้ จังหวัดสมุทรปราการ (รูปที่ 3.5) เนื่องจากมีเคยมีประวัติการใช้งานหม้อแปลงไฟฟ้าและตัวเก็บประจุรุ่นเก่าที่ยังใช้พีซีบีเป็นสารหล่อเย็นอยู่ โดยคาดว่าในช่วงฤดูฝนเมื่อเกิดน้ำหลากจะทำให้น้ำบางส่วนที่อาจปนเปื้อนพีซีบีจากพื้นที่ภายในโรงไฟฟ้าไหลลงสู่คลองสายนี้ได้ คลองสายนี้ได้ไหลลงสู่แม่น้ำเจ้าพระยาใกล้บริเวณปากแม่น้ำในที่สุด พื้นที่ลำดับต่อไปคือคลองรับน้ำทิ้งจากนิคมอุตสาหกรรมบางพลี จังหวัดสมุทรปราการ จากการสำรวจข้อมูลเบื้องต้นพบว่าโรงงานอุตสาหกรรมในนิคมอุตสาหกรรมแห่งนี้เกี่ยวข้องการผลิตสารเคมี ผลิตภัณฑ์อิเลคโทรนิกส์ อาหาร นม เฟอร์นิเจอร์ พลาสติก พีวีซี สี กาว เครื่องหนัง ผลิตภัณฑ์ที่เกี่ยวข้องกับการชุบโลหะ และอื่นๆ จึงคาดว่าโรงงานบางส่วนน่าจะมีแนวโน้มที่จะใช้พีซีบีในอดีตและน้ำเสียที่เกิดขึ้นอาจมีโอกาสปนเปื้อนสารมลพิษอินทรีย์คงทนอื่นๆ คณะทำงานได้กำหนดจุดเก็บตัวอย่างในคลองสายนี้ทั้งหมด 4 จุดดังแสดงในรูปที่ 3.6

คลองข้างถนนตำหรุ-บางพลีถูกเลือกให้เป็นพื้นที่เก็บตัวอย่างเนื่องจากมีร้านขายของเก่าตั้งอยู่ริมคลองเป็นจำนวนมาก จึงคาดว่าจะมีการล้างภาชนะบรรจุสารเคมีต่างๆซึ่งน่าจะรวมถึงของเสียเสี่ยงอันตรายและระบายน้ำทิ้งลงสู่คลอง คณะทำงานได้กำหนดจุดเก็บตัวอย่าง 2 จุดโดยจุดแรกอยู่ในคูน้ำก่อนไหลลงสู่คลองข้างถนนตำหรุ-บางพลี และอีกจุดอยู่ในคลองข้างถนนตำหรุ-บางพลีตรงข้ามกับร้านขายของเก่า (รูปที่ 3.7) ส่วนคลองบางฝ้ายซึ่งรับน้ำทิ้งจากนิคมอุตสาหกรรมลาดกระบัง (รูปที่ 3.8) คลองแพรกษาซึ่งรับน้ำทิ้งจากชุมชนและอุตสาหกรรม (รูปที่ 3.9) คูน้ำข้าง บ. ไทยเซ้นทรัลเคมิคัล จก. (มหาชน) (รูปที่ 3.10) และคูน้ำข้างถนนสุขสวัสดิ์ (รูปที่ 3.11) ซึ่งรับน้ำทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรมในพื้นที่ใกล้เคียงถูกคัดเลือกเป็นพื้นที่เก็บตัวอย่างเนื่องจากมีโอกาสที่จะได้รับการปนเปื้อนจากของเสียเสี่ยงอันตราย พื้นที่เก็บ

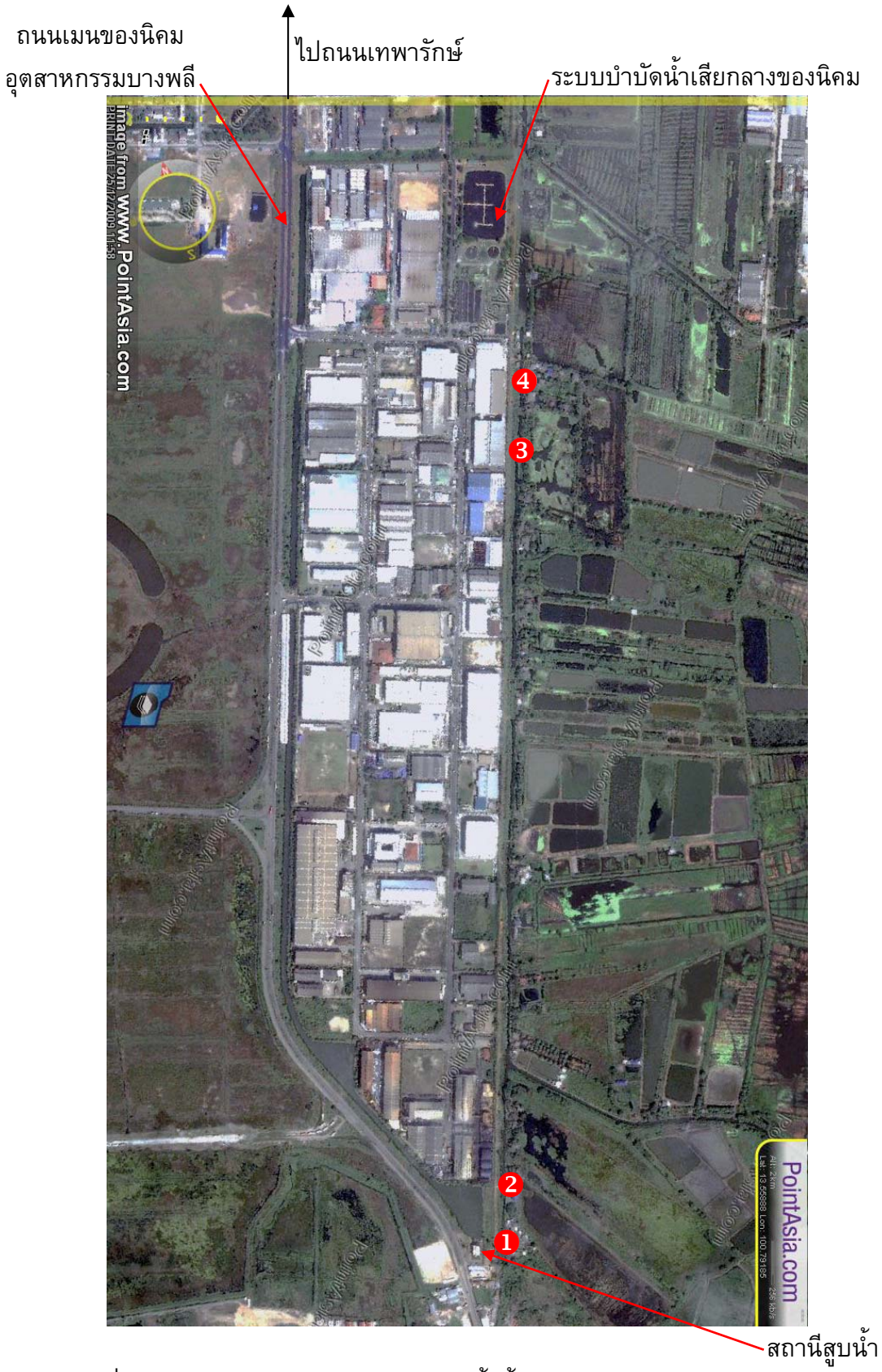


รูปที่ 3.3 จุดเก็บตัวอย่าง 10 จุดในคลองหัวลำภูและบริเวณปากคลอง



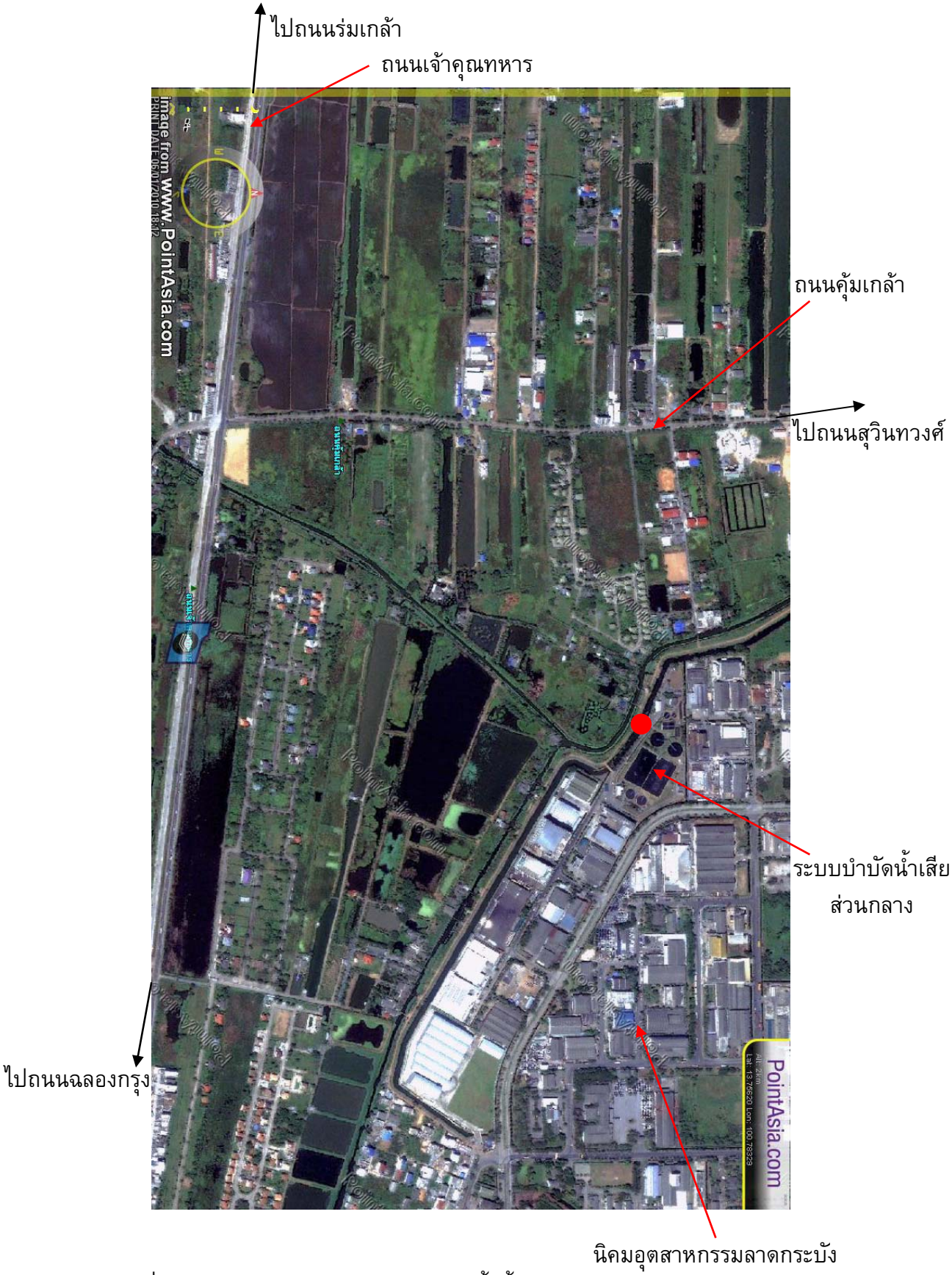
รูปที่ 3.4 จุดเก็บตัวอย่าง 4 จุดในคูระบายน้ำข้างถนนบางเมฆขาว

รูปที่ 3.5 จุดเก็บตัวอย่างในคลองใกล้โรงไฟฟ้าพระนครใต้

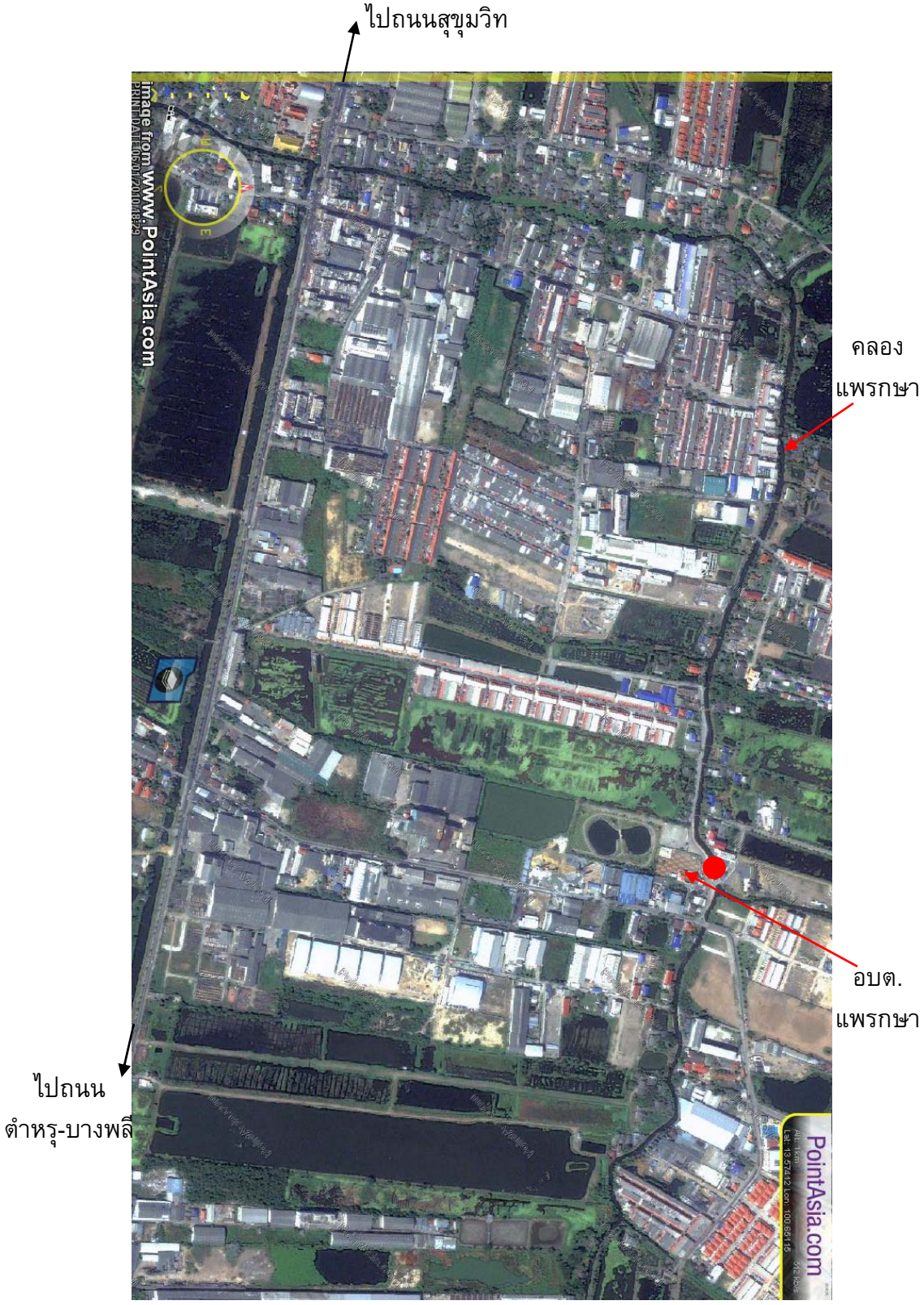


รูปที่ 3.6 จุดเก็บตัวอย่าง 4 จุดในคลองรับน้ำทิ้งจากนิคมอุตสาหกรรมบางพลี

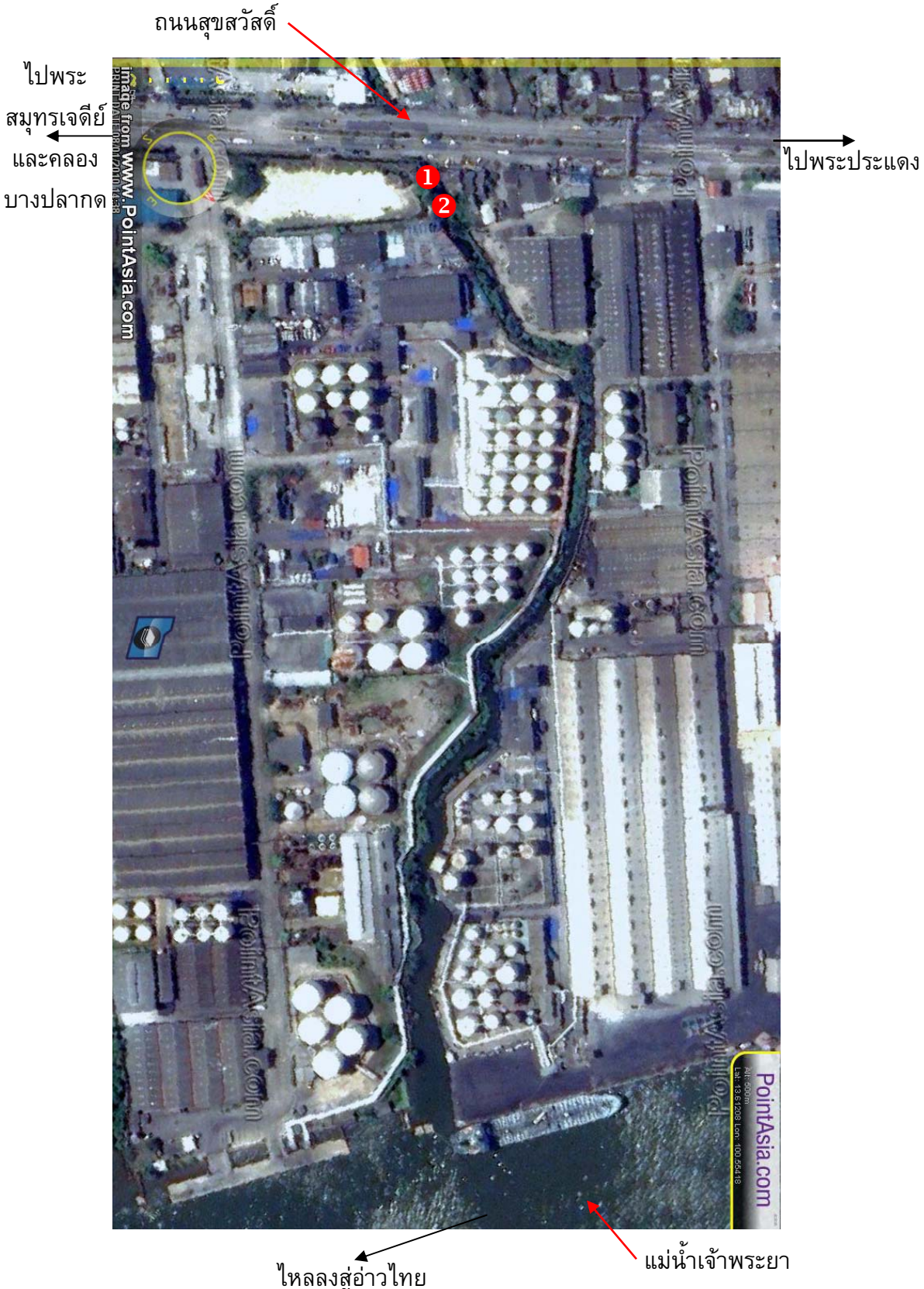
รูปที่ 3.7 จุดเก็บตัวอย่าง 2 จุดในคลองข้างถนนตำหรุ-บางพลี



รูปที่ 3.8 จุดเก็บตัวอย่าง 4 จุดในคลองรับน้ำทิ้งจากนิคมอุตสาหกรรมลาดกระบัง



รูปที่ 3.9 จุดเก็บตัวอย่างในคลองแพรกษา



รูปที่ 3.10 จุดเก็บตัวอย่างในคูน้ำข้างบริษัทไทยเซ้นทรัลเคมีคัลจำกัด (มหาชน) ถนนสุขสวัสดิ์ สมุทรปราการ

รูปที่ 3.11 จุดเก็บตัวอย่างในคูน้ำข้างถนนสุขสวัสดิ์ สมุทรปราการ

ตัวอย่างสุดท้ายคือคลองบางปลากด ถนนสุขสวัสดิ์ (รูปที่ 3.12) เป็นคลองขนาดใหญ่ถูกคัดเลือกเป็นพื้นที่อ้างอิงเนื่องจากเป็นแหล่งน้ำที่มีคุณภาพดี มีสัตว์น้ำอาศัยอยู่เป็นจำนวนมาก คณะทำงานคาดว่าจะได้รับการปนเปื้อนน้อย

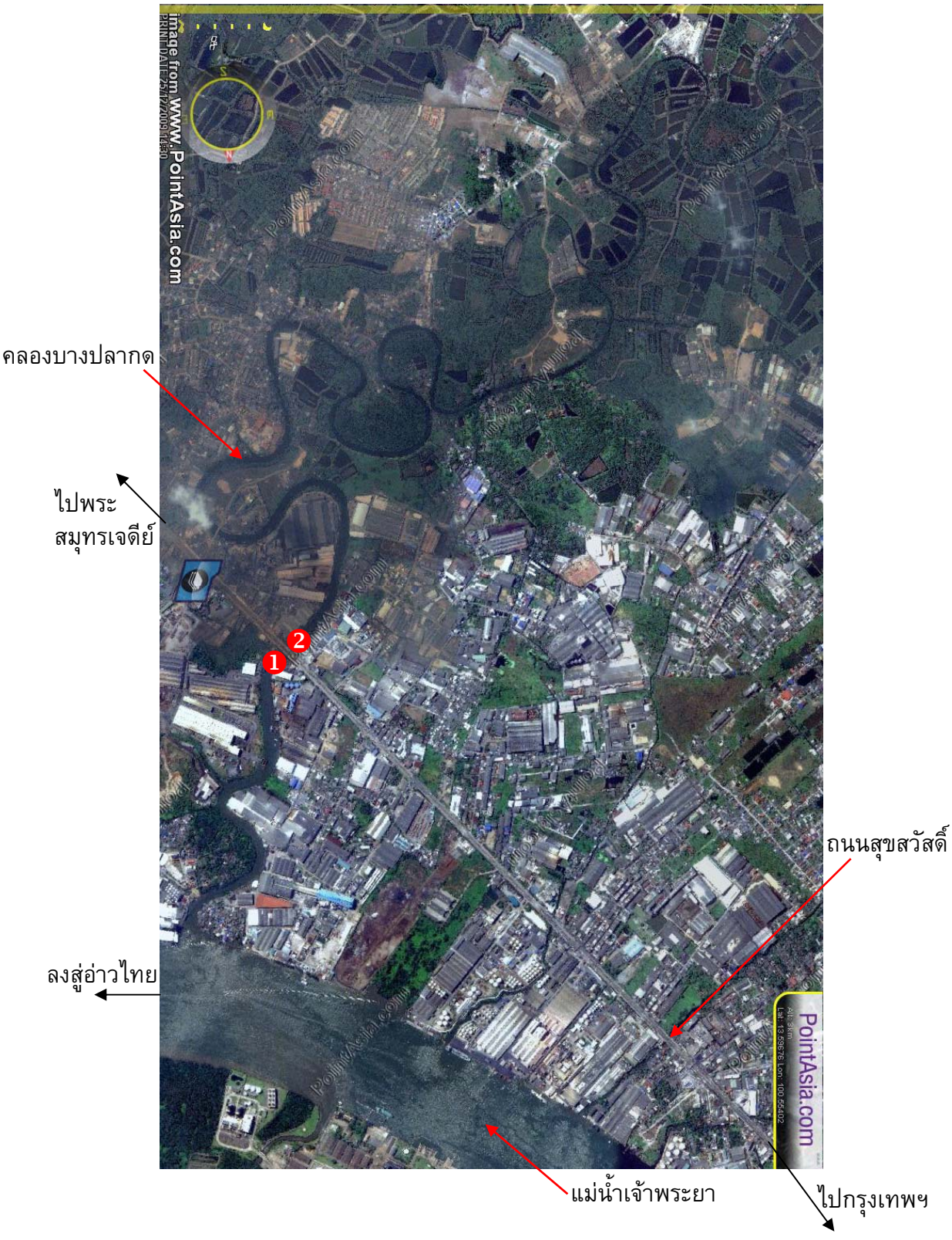
3.1.2 การเตรียมตะกอนและน้ำตะกอนสำหรับทดลอง

งานวิจัยนี้ได้ทำการศึกษาการลดคลอรีนของเฮกซะคลอโรเบนซินและพีซีบีในตะกอน 3 ลักษณะคือ น้ำตะกอน ตะกอนเหลว และชั้นตะกอน โดยแต่ละรูปแบบของตะกอนจะให้ความแตกต่างกันในแง่ของการเข้าถึงของจุลชีพ (bioavailability) กล่าวคือเมื่อปริมาณของแข็งในตะกอนที่ศึกษาเพิ่มขึ้น จะทำให้การดูดซับของสารมลพิษอินทรีย์คลอรีนเกิดมากขึ้น การเข้าถึงของจุลชีพจะยากขึ้น เป็นผลให้การลดคลอรีนแตกต่างกัน อย่างไรก็ดีในการศึกษาการลดคลอรีนของเฮกซะคลอโรเบนซินและพีซีบีนี้ไม่ได้ใช้ตะกอนจากจุดเก็บตัวอย่างทั้งหมดทุกจุด

การเตรียมน้ำตะกอนจะนำตะกอนและน้ำตัวอย่างประมาณ 1:1 โดยปริมาตรใส่ลงในขวดแก้ว เขย่าด้วยมือเป็นเวลา 2 นาที แล้วปล่อยให้ตกตะกอนเป็นเวลา 30 นาที จากนั้นใช้หลอดฉีดยาแก้วที่มีเข็ม 22G×2 hypodermic-needle ซึ่งมีขนาดรูเปิด 0.7 มิลลิเมตรทำการดูดน้ำตะกอนออกจากขวดแก้วแล้วเก็บไว้ในขวดเซรั่มขนาด 1,000 มิลลิลิตร การกระทำเช่นนี้เปรียบเสมือนเป็นการกรองอนุภาคของแข็งในน้ำตะกอน ทำให้อนุภาคเหล่านั้นมีขนาดเล็กกว่า 0.7 มิลลิเมตร และเมื่อทำการทดลองและเก็บตัวอย่างด้วยเข็มฉีดยาขนาดเดียวกัน จะทำให้ตัวอย่างที่ดูดออกจากขวดเซรั่มเป็นเนื้อเดียวกันและเป็นตัวแทนที่แท้จริงของน้ำตะกอนในขวดทดลอง การทดสอบในลักษณะของน้ำตะกอนนี้จะให้ข้อมูลถึงความสามารถตามธรรมชาติในการย่อยสลายสารมลพิษเป้าหมายโดยไม่มีข้อจำกัดทางด้านการเข้าถึงของจุลชีพและการดูดซับ

ตะกอนเหลวจะเตรียมเหมือนในกรณีของน้ำตะกอน เพียงแต่ไม่มีการใช้เข็มฉีดยาดูดกรองน้ำตะกอนออกจากขวดแก้ว กล่าวคือเมื่อทำการผสมตะกอนกับน้ำแล้วก็ใช้งานทันที ในกรณีนี้ปริมาณของแข็งในน้ำตะกอนจะสูงกว่าเป็นผลให้การดูดซับเกิดขึ้นมากกว่า ตะกอนเหลวในลักษณะนี้เป็นตัวแทนของตะกอนในแหล่งน้ำที่มีการไหลค่อนข้างเชี่ยว ทำให้ตะกอนขนาดต่างๆที่ถูกปนเปื้อนด้วยสารมลพิษอินทรีย์คลอรีนถูกพัดพาไปกับน้ำ การสกัดเพื่อหาปริมาณสารมลพิษอินทรีย์คลอรีนที่เหลืออยู่จะทำการสกัดทั้งขวดโดยไม่ใช้เข็มฉีดยาในการเก็บตัวอย่างเพื่อให้มั่นใจว่าไม่เกิดผลผิดพลาดจากตัวอย่างที่ไม่เป็นเนื้อเดียวกันอันเนื่องมาจากการดูดเก็บตัวอย่างด้วยเข็มฉีดยา

ส่วนในกรณีสุดท้ายเป็นรูปแบบของชั้นตะกอน ในกรณีนี้ตะกอนจะถูกนำไปใส่ภาชนะที่จะทดลอง(เช่น ตู้ปลา)โดยไม่มีการผสมกับน้ำ แต่จะเทน้ำไว้เหนือชั้นตะกอนอีกทีหนึ่ง การ



รูปที่ 3.12 จุดเก็บตัวอย่าง 2 จุดในคลองบางปลากด ถนนสุขสวัสดิ์ สมุทรปราการ

กระทำเช่นนี้เป็นการจำลองสภาพที่เกิดขึ้นจริงในชั้นตะกอนก้นลำน้ำตามธรรมชาติ การหาปริมาณสารมลพิษเป้าหมายที่หลงเหลืออยู่และสารผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นจะใช้วิธีผสมตะกอนเข้าด้วยกันแล้วสุ่มเก็บตัวอย่างในปริมาณที่ต้องการไปทำการสกัดดังจะได้กล่าวต่อไป

3.2 การวิเคราะห์

3.2.1 วิธีการสกัด

วิธีการสกัดสารกลุ่มคลอโรเบนซินและพีซีบีจะใช้วิธีของ Chen และคณะ (2000, 2002) และ Chen (2004) เป็นหลัก กล่าวคือเมื่อต้องการสกัดตัวอย่างของน้ำตะกอน จะใช้หลอดฉีดยาแก้วที่มีเข็ม 22G×2 hypodermic needle ดูดตัวอย่างตะกอนออกมาจากขวดซีรั่ม 2 มิลลิลิตรใส่ลงในขวดสกัดที่บรรจุ 6 N NaOH และเฮกเซน 0.2 และ 2 มิลลิลิตรตามลำดับ เขย่าขวดสกัดด้วยมือประมาณ 100 ครั้งแล้วตามด้วย sonication เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นนำขวดสกัดไปเหวี่ยงแยก (centrifuge) ที่ความเร็วรอบ 4,000 rpm เป็นเวลา 5 นาทีเพื่อแยกชั้นตะกอน น้ำ และเฮกเซน ทำการถ่ายเฮกเซนซึ่งอยู่ชั้นบนสุดไปยังขวดวิเคราะห์ด้วย glass dropper ให้มากที่สุดเท่าที่จะทำได้ ชั้นตะกอนและน้ำที่เหลืออยู่จะถูกสกัดด้วยวิธีการเดิมอีก 2 ครั้ง โดยในครั้งสุดท้ายเฮกเซนจะถูกถ่ายไปยังหลอดวิเคราะห์ให้ได้ปริมาตรรวม 5 มิลลิลิตร จากนั้นทำการเติม anhydrous Na_2SO_2 เพื่อกำจัดความชื้นก่อนทำการวิเคราะห์ด้วย gas chromatography เพื่อหาปริมาณสารมลพิษอินทรีย์คลอรีนที่เหลืออยู่และสารผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้น

ในกรณีที่เป็นตะกอนเหลวจะทำการแยกน้ำและของแข็งออกจากกัน น้ำตัวอย่างจะถูกสกัดด้วยวิธีการเดียวกันกับน้ำตะกอน ส่วนชั้นตะกอนที่เหลืออยู่จะทำการสกัดโดยเติม 6N H_2SO_4 และสารละลายเฮกเซน-อะซิโตนที่สัดส่วน 9:1 โดยปริมาตรในปริมาณ 1 และ 4 มิลลิลิตรตามลำดับ จากนั้นทำการเขย่าด้วยมือ 200 ครั้งและ sonication เป็นเวลา 10 นาที ทำการแยกของแข็งและสารสกัดด้วยการเหวี่ยงแยกที่ความเร็ว 4,000 rpm เป็นเวลา 5 นาที ชั้นของสารสกัดจะถูกถ่ายไปยังหลอดเก็บให้มากที่สุดเท่าที่จะมากได้ จากนั้นทำการสกัดด้วยวิธีการเดิมอีก 2 ครั้ง โดยในการสกัดครั้งสุดท้ายสารสกัดจะถูกถ่ายไปยังหลอดเก็บให้มีปริมาตรรวมเท่ากับ 10 มิลลิลิตร จากนั้นทำการดูด 7 มิลลิลิตรของสารสกัดจากหลอดเก็บไปใส่ในหลอดล้างที่เติมน้ำปราศจากไอออน 1 มิลลิลิตรและ 6 N NaOH 1 มิลลิลิตร เขย่าด้วยมือ 100 ครั้งตามด้วย sonication 10 นาที และเหวี่ยงแยกที่ความเร็วรอบ 4000 rpm เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นดูดสารสกัด 5 มิลลิลิตรใส่ลงในหลอดใหม่เพื่อไล่ความชื้นด้วย anhydrous Na_2SO_4 จากนั้นดูดสารสกัด 2 มิลลิลิตรมากรองผ่าน SPE column พร้อมทั้งไล่ล้าง column ด้วย 2 มิลลิลิตรเฮกเซน ตัวอย่างที่ได้จึงนำไปวิเคราะห์หาสารตั้งต้นและสารผลิตภัณฑ์ด้วยวิธี gas chromatography ต่อไป

ส่วนการสกัดชั้นตะกอนจะทำการชั่งตัวอย่างตะกอนที่จะทำการสกัดประมาณ 2 กรัม (โดยทราบน้ำหนักที่แน่นอน) จากนั้นทำการสกัดด้วยวิธีการเดียวกับการสกัดของแข็งในกรณีของตะกอนเหลว พร้อมกับหาความชื้นในตะกอนเพื่อคำนวณหามวลแห้งของตะกอน

คณะทำงานได้มีการทดสอบความแม่นยำของวิธีการสกัดคลอโรเบนซินและคลอโรไบฟินิลด้วยการเติมเฮกซะคลอโรเบนซินลงไปในตะกอนเหลวที่ผ่านการกรองและให้สัมผัสกันเป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นจึงทำการสกัดด้วยวิธีการที่ได้กล่าวมาแล้วพบว่ามี % recovery อยู่ที่ร้อยละ 88-95 ในขณะที่การทดสอบกับ 2,3,4,2',4',5'- และ 2,3,6,2',4',5'-เพนตะคลอโรไบฟินิลที่ย่อยสลายทางชีวภาพได้น้อยมากหรือย่อยไม่ได้เลยโดยมีระยะเวลาสัมผัสนาน 18 สัปดาห์พบว่าตลอดระยะเวลาดังกล่าวได้ % recovery อยู่ระหว่างร้อยละ 88 และ 112 สำหรับ 2,3,4,2',4',5'-เพนตะคลอโรไบฟินิล และร้อยละ 91 และ 110 สำหรับ 2,3,6,2',4',5'-เพนตะคลอโรไบฟินิล โดยไม่พบสารผลิตภัณฑ์เลย ชี้ให้เห็นว่าวิธีการสกัดนี้ให้ผลเชื่อถือได้

3.2.2 วิธีการวิเคราะห์

การวิเคราะห์หาสารประกอบอินทรีย์คลอรีนด้วย Gas Chromatograph จะใช้สภาวะตาม Chen และคณะ (2000, 2002) และ Chen (2004) โดยในการวิเคราะห์หาเฮกซะคลอโรเบนซินและสารผลิตภัณฑ์จะใช้ Gas Chromatograph ที่ติดตั้งด้วย ECD detector (Agilent 6890N) และ capillary column DB-5 โดยอุณหภูมิเริ่มต้นที่ 80^{o}C เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นเพิ่มขึ้นด้วยอัตรา 3^{o}C ต่อนาที จนถึง 140^{o}C แล้วเพิ่มต่อขึ้นไปจนถึง 240^{o}C ด้วยอัตรา 10^{o}C ต่อนาทีและคงที่อุณหภูมิดังกล่าวอีก 8 นาที อุณหภูมิของ injector และ detector ถูกตั้งไว้ที่ 240 และ 280^{o}C ตามลำดับ ก๊าซฮีเลี่ยมและก๊าซไนโตรเจนถูกใช้เป็น carrier และ make-up gases ที่อัตราไหล 20 และ 60 มิลลิลิตรต่อนาทีตามลำดับ แต่ถ้าเป็นกรณีของพีซีบีและสารผลิตภัณฑ์จะเปลี่ยนโปรแกรมอุณหภูมิเป็นเริ่มต้นที่ 120^{o}C เป็นเวลา 2 นาที จากนั้นเพิ่มขึ้นเป็น 225^{o}C ด้วยอัตรา 3^{o}C ต่อนาที และคงไว้ที่อุณหภูมิดังกล่าวเป็นเวลา 3 นาที จากนั้นเพิ่มอุณหภูมิขึ้น 5^{o}C ต่อนาทีจนถึง 270^{o}C และคงไว้เป็นเวลา 11 นาที อุณหภูมิของ injector และ detector ถูกตั้งไว้ที่ 280 และ 300^{o}C ตามลำดับและใช้ split ratio เท่ากับ 10:1

การวิเคราะห์ก๊าซมีเทนที่เกิดขึ้นจากการย่อยสลายแบบไร้อากาศจะตรวจวัดด้วย Gas Chromatograph (Shimadzu GC-8A) ที่ติดตั้งด้วย Unibeads C 80/100 MESLT column และ 3% Unisole 30t on Flusin P 30/60 mesh column โดยใช้ก๊าซฮีเลียมเป็น carrier gas อุณหภูมิของ injector และ detector เท่ากับ 160^{o}C ในขณะที่อุณหภูมิของ column ถูกตั้งไว้ที่ 110^{o}C และใช้เวลาในการวิเคราะห์ 22 นาที

การวิเคราะห์ลักษณะสมบัติของน้ำเช่น บีโอดี ซีโอดี ทีเคเอ็น ฟอสฟอรัส คลอไรด์ เอส เอส และวีเอสเอสดำเนินการตามวิธีการของ Standard Methods (1992)

3.3 การทดลอง

เมื่อเริ่มทดลองจะทำการฉีดสารมลพิษอินทรีย์เป้าหมายและ/หรือสารอื่นๆที่ต้องการศึกษาลงไปในขวดซีรั่มปิดด้วย Rubber Stopper และ Alumina-cap ในกรณีของชุดทดลองน้ำตะกอนและตะกอนเหลว ส่วนในกรณีของชุดทดลองชั้นตะกอนจะผสมกับตะกอนในภาชนะก่อนบรรจุลงในถังปฏิกรณ์ สารกลุ่มคลอโรเบนซินจะถูกเตรียมในเฮกเซน ในขณะที่สารกลุ่มคลอโรไบฟินิลจะเตรียมในอะซิโตน ในระหว่างการทดลองหากจำเป็นต้องมีการเปิดขวดซีรั่มจะกระทำในตู้ไนโตรเจนเพื่อป้องกันการรบกวนจากก๊าซออกซิเจนในบรรยากาศ การทดลองส่วนใหญ่กระทำที่อุณหภูมิห้องในที่มืด ยกเว้นการทดลองที่ศึกษาผลของอุณหภูมิจะใช้ Refrigerator (15 และ 20°C) Air-incubator (35 และ 40°C) และ Water Bath (45°C)

บทที่ 4 ผลการศึกษา

4.1 ลักษณะสมบัติของตะกอนและน้ำตะกอน

ตะกอนที่เก็บตัวอย่างมาบางส่วนมีการปนเปื้อนของเฮกซะคลอโรเบนซินและพีซีบี โดยเฮกซะคลอโรเบนซินพบว่าปนเปื้อนอยู่ในตะกอนจากคลองหัวลำภูเท่านั้น และตรวจพบเฉพาะในส่วนต้นคลองคือ Site 1 ถึง Site 4 โดยมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.18, 1.25, 0.16 และ 0.11 ไมโครกรัมต่อกรัมตะกอนแห้งตามลำดับ เป็นการยืนยันว่าเฮกซะคลอโรเบนซินซึ่งถูกห้ามใช้ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2523 ยังคงถูกปล่อยออกสู่สิ่งแวดล้อมซึ่งอาจเป็นผลมาจากเป็นสารปนเปื้อนในสารเคมีที่ใช้ในอุตสาหกรรมหรือถูกสร้างขึ้นในระหว่างการผลิต ผลที่ได้สอดคล้องกับรายงานของ Brigden และคณะ (2003) นอกจากนี้ข้อมูลที่ได้ยังชี้ให้เห็นว่าเฮกซะคลอโรเบนซินน่าจะซับอยู่บนอนุภาคของแข็งในน้ำที่ระบายลงสู่คลอง จึงทำให้ตรวจพบเพียงแค่ 4 จุดเก็บตัวอย่างต้นน้ำเนื่องจากอนุภาคเหล่านี้ตกตะกอนหมด ที่สำคัญกว่านั้นคือการตรวจพบ 1,3,5-ไตรคลอโรเบนซินซึ่งไม่มีการผลิตเพื่อการใช้งานทางการค้ามาก่อนเช่นเดียวกับผลของ Brigden และคณะ (2003) ซึ่งชี้ให้เห็นว่าเฮกซะคลอโรเบนซินอาจถูกลดคลอรีนภายใต้สภาวะไร้อากาศในตะกอนก้นคลองหัวลำภูแห่งนี้ แต่ตะกอนจากแหล่งอื่นๆไม่พบการปนเปื้อนของเฮกซะคลอโรเบนซิน ในขณะที่พีซีบีพบว่ามีแนวโน้มที่จะปนเปื้อนในตะกอนจากทุกจุดเก็บตัวอย่างยกเว้นตะกอนจากคลองบางปลากลด(ตรวจสอบเบื้องต้นด้วย GC/ECD) อย่างไรก็ดีเนื่องจากการพีซีบีมีถึง 209 คอนเจนเนอร์และที่ผลิตในเชิงพาณิชย์สำหรับใช้งานจะอยู่ในรูปของสารประกอบพีซีบีผสมหลายๆคอนเจนเนอร์ เช่น Aroclor จึงเป็นเรื่องยากและเสียเวลามากที่จะวิเคราะห์ยืนยัน (identify) พีซีบีทุกคอนเจนเนอร์ด้วย GC/MS

ลักษณะสมบัติของตะกอนตัวอย่าง น้ำตัวอย่าง และน้ำตะกอนที่เตรียมได้ถูกรวบรวมไว้ในตารางที่ 4.1, 4.2 และ 4.3 ตามลำดับ เป็นที่น่าสังเกตุว่าตัวอย่างที่มีอยู่ไม่ได้ทำการวิเคราะห์หาลักษณะสมบัติเหมือนกันทั้งหมด ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับแผนการวิจัยที่กำหนดไว้ อย่างไรก็ดีพบว่าในตะกอนและน้ำตะกอนที่เตรียมขึ้นมีสารอาหารและธาตุอาหารเพียงพอต่อการย่อยสลายทางชีวภาพแบบไร้อากาศตามที่เสนอแนะโดย Droste (1997) อย่างไรก็ดีการเพิ่มสารอาหารหรือธาตุอาหารบางประเภทอาจช่วยให้เกิดการย่อยสลายเฮกซะคลอโรเบนซิน/พีซีบีดีขึ้นหรือเร็วขึ้นได้ดังจะได้กล่าวต่อไปภายหลัง นอกจากนี้ยังเป็นที่น่าสังเกตุว่าสารอาหารและธาตุอาหารส่วนใหญ่ในน้ำตะกอนจะอยู่ในรูปของของแข็งที่แขวนลอยอยู่ในน้ำ ตัวอย่างน้ำจากคลองหัวลำภูพบว่ามีคลอไรด์ค่อนข้างสูงคือ 3,283-12,100 มิลลิกรัมต่อลิตรอันเป็นผลมาจากการปนเปื้อนของน้ำทะเลจากการขึ้น-ลงของระดับน้ำทะเลในช่วงที่ทำการเก็บตัวอย่าง พีเอชของน้ำตะกอนส่วนใหญ่อยู่ในช่วงที่เป็นกลางซึ่งเหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของจุลชีพ มีเพียงน้ำตะกอนจากคลองรับน้ำทิ้งจากนิคมอุตสาหกรรม

ตารางที่ 4.1 ลักษณะสมบัติของตะกอนตัวอย่าง

Site	COD (mg/kg)	BOD (mg/kg)	TKN (mg/kg)	TP (mg/kg)	VSS:SS (%)	Moisture Content (%)
D1	37,426-48,403 (42,915)	1,305-11,000 (6,153)	913-2,155 (1,534)	361-615 (488)	4.50-17.25 (10.89)	36.23-66.93 (51.58)
D4	29,042-49,731 (39,387)	2,954-11,667 (7311)	935-1,339 (1,137)	143-463 (303)	4.33-8.08 (6.21)	41.12-43.03 (41.08)
E1	38,817-45,176 (41,997)	1,066-12,500 (6,783)	1,019-3,801 (2,410)	296-341 (319)	3.12-7.14 (5.13)	53.69-54.17 (53.93)
E2	41,949-51,401 (46,675)	2,067-10,000 (6,034)	930-1,855 (1,393)	88-567 (328)	3.79-15.09 (9.44)	49.52-61.89 (55.71)
C1	25,815-45,944 (35,880)	2,569-16,667 (9,618)	692-1,170 (931)	252-594 (423)	3.27-9.20 (6.24)	38.87-57.04 (47.96)
J2	35,496-39,094 (37,295)	1,532-8,000 (4,766)	231-930 (581)	520-788 (654)	3.37-7.80 (5.59)	43.98-53.44 (48.69)
F1	43,406	2,465	3,518	740	3.52	35.35
A3	80,000	-	-	-	-	-
A4	60,000	-	-	-	-	-

หมายเหตุ: -COD คือ chemical oxygen demand

-BOD คือ biochemical oxygen demand

-TKN คือ total Kjeldahl nitrogen

-TP คือ total phosphorus

-SS คือ suspended solids

-VSS คือ volatile suspended solids

-ตัวเลขในวงเล็บคือค่าเฉลี่ย

ตารางที่ 4.2 ลักษณะสมบัติของน้ำตัวอย่าง

Site	pH	DO	COD	BOD	TKN	TP	SS	VSS
A3	-	-	112	-	-	-	-	-
A4	-	-	128	-	-	-	-	-
C1	7.3	2.3	32	6	21	0.8	320	14
D1	7.6	0.2	40	8	13	1.5	280	14
D4	7.9	1.4	40	4	14	1.1	300	20
E1	7.9	3.0	57	5	28	0.6	120	24
E2	7.7	2.4	57	8	35	0.4	220	42
F1	-	-	293	12	5	2.6	63	19
J2	7.3-7.7	2.3	32	6	21	0.8	320	14

ตารางที่ 4.3 ลักษณะสมบัติของน้ำตะกอน (sediment slurry)

Site	pH	COD (mg/kg)	BOD (mg/kg)	TKN (mg/l)	TP (mg/l)	SS (mg/l)	VSS (mg/l)
A1	7.0	40,400	-	-	-	96,900	10,200
A2	7.0	20,100	-	-	-	141,500	15,600
A3	7.0-7.7	37,440-80,000 (51,147)	-	-	-	131,000-273,000 (184,300)	18,400-27,400 (21,867)
A4	7.2-7.7	30,600-60,000 (43,933)	-	-	-	62,100-242,600 (137,767)	14,700-48,000 (26,100)
A5	7.1	19,200	-	-	-	75,900	16,300
A6	7.0	24,300	-	-	-	142,600	17,700
A7	7.2	18,800	-	-	-	135,000	15,400
A8	7.3	30,200	-	-	-	216,250	18,000
A9	7.3	14,900	-	-	-	313,000	13,100
A10	7.4	14,900	-	-	-	367,200	15,200
B1	6.3	26,280	-	-	-	198,300	12,00
B2	6.8	31,680	-	-	-	117,400	20,100
B3	6.8	28,800	-	-	-	186,800	18,000
B4	6.7	22,320	-	-	-	257,000	17,200
C1	-	19,361	2,500	896	176	61,560	15,860
D1	5.3	13,680-22,588 (18,134)	5,000	773	111	93,740-312,400 (203,070)	9,600-21,800 (15,700)
D2	5.9	21,600	-	-	-	293,800	21,600
D3	5.2	16,490	-	-	-	209,700	21,300
D4	5.2	22,750-25,815 (24,283)	4,000	652	18	92,100-251,100 (171,600)	10,800-19,400 (15,100)
E1	-	12,908	1,833	431	100	96,100	8,320
E2	-	14,521	2,167	515	15	83,380	9,720
F1	-	35,870	946	619	72	208,360	13,960
G1	6.6	36,000	-	-	-	249,900	16,000
H1	6.5	5,760	-	-	-	86,500	8,700
H2	6.4	8,640	-	-	-	98,200	7,100
I1	6.6	20,800	-	-	-	246,200	17,500
J1	6.6	20,800	-	-	-	251,600	18,000
J2	6.5	18,000-22,588 (20,294)	2,167	697	86	83,680-222,800 (153,240)	16,100-18,540 (17,320)

บางพลีเท่านั้น (Site D) ที่มีพีเอชเป็นกรดเล็กน้อยอันเนื่องมาจากการสังเคราะห์แสงของสาหร่ายในน้ำ (เก็บตัวอย่างในช่วงกลางวัน) อย่างไรก็ดีไม่มีผลต่อการทำงานของจุลชีพดังจะได้กล่าวต่อไป

4.2 การลดคลอรีนของเฮกซะคลอโรเบนซีน

4.2.1 ผลการศึกษาในน้ำตะกอน

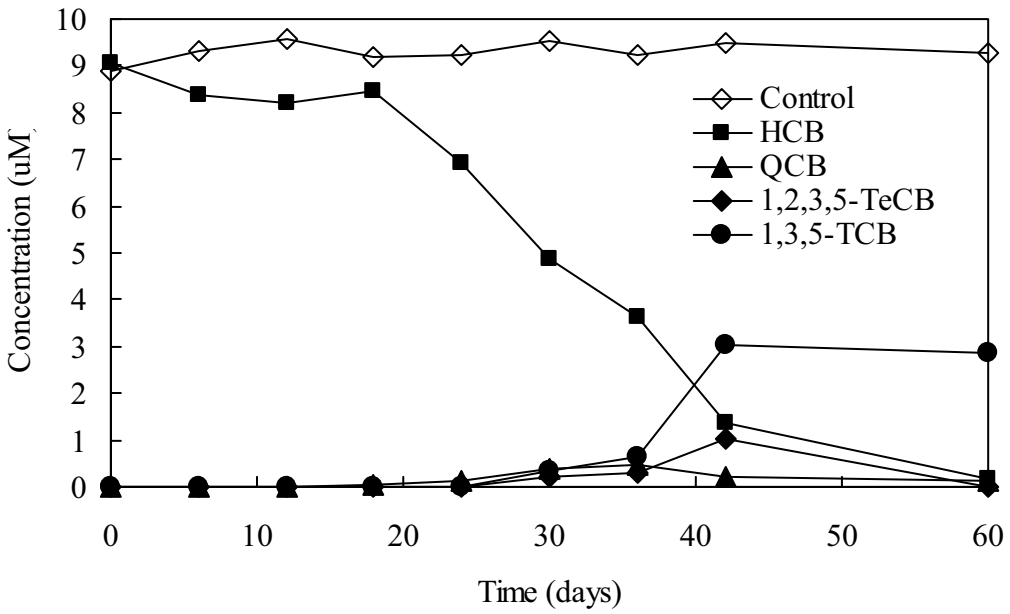
4.2.1.1 ความสามารถในการย่อยสลายของจุลชีพแบบไร้อากาศ

ผลการทดลองในน้ำตะกอนพบว่าทุกตัวอย่างสามารถลดคลอรีนของเฮกซะคลอโรเบนซินได้ดังแสดงในตารางที่ 4.4 จากข้อมูลจะพบว่าน้ำตะกอนทุกตัวอย่างที่ทดสอบโดยไม่มีการปรับสภาพและเพิ่มสารอาหาร/ธาตุอาหารเสริมสามารถลดคลอรีนในเฮกซะคลอโรเบนซินได้เป็นอย่างดีโดยมีระยะเวลาพักตัว (Lag Phase) น้อยกว่า 77 วัน แต่ในชุดทดลองที่มีการนึ่งฆ่าเชื้อ (autoclaved) ซึ่งใช้เป็นชุดควบคุมพบว่าไม่มีการลดของเฮกซะคลอโรเบนซินเกิดขึ้นและไม่พบสารกลางใดๆทั้งสิ้น ชี้ให้เห็นว่าเฮกซะคลอโรเบนซินที่หายไปเป็นผลมาจากกิจกรรมการย่อยสลายของจุลชีพในน้ำตะกอน รูปที่ 4.1 เป็นกราฟตัวอย่างของการเปลี่ยนแปลงสารคลอโรเบนซินเทียบกับเวลา กลไกการย่อยสลายส่วนใหญ่เป็นไปตามกลไกหลักตามที่เสนอโดย Fathepure และคณะ (1988) คือ เฮกซะคลอโรเบนซิน $\rightarrow$ เพนตะคลอโรเบนซิน $\rightarrow$ 1,2,3,5-เตตระคลอโรเบนซิน $\rightarrow$ 1,3,5-ไตรคลอโรเบนซิน อย่างไรก็ดีในบางตัวอย่างพบว่ามีการย่อยสลายผ่านกลไกรองไปพร้อมๆกัน (เฮกซะคลอโรเบนซิน $\rightarrow$ เพนตะคลอโรเบนซิน $\rightarrow$ 1,2,4,5-เตตระคลอโรเบนซิน $\rightarrow$ 1,2,4-ไตรคลอโรเบนซิน $\rightarrow$ 1,4-ไดคลอโรเบนซิน) โดย 2 มิลลิกรัมต่อลิตรของเฮกซะคลอโรเบนซินส่วนใหญ่สามารถถูกย่อยสลายได้หมดภายในเวลาไม่เกิน 80 วันจาก 24 ตัวอย่างน้ำตะกอนโดยไม่จำกัดว่าตะกอนจะมีประวัติการปนเปื้อนเฮกซะคลอโรเบนซินหรือไม่ ซึ่งเมื่อเทียบกับงานวิจัยที่ผ่านมาในบทที่ 3 พบว่าค่าครึ่งชีวิตอยู่ในช่วง 8 สัปดาห์ (Brahushi และคณะ, 2004) ถึงมากกว่า 1 ปีขึ้นไป ชี้ให้เห็นว่าเฮกซะคลอโรเบนซินไม่น่าจะเป็นสารมลพิษคงตัวในสภาวะแวดล้อมของประเทศไทย ผลดังกล่าวยังสอดคล้องกับการตรวจพบ 1,3,5-ไตรคลอโรเบนซินในตะกอนจากคลองหัวลำภูโดยงานวิจัยนี้และของ Brigden และคณะ (2003) อีกด้วย จึงเป็นที่น่าสนใจว่าทำไมจุลชีพในแหล่งน้ำของประเทศไทยจึงมีความสามารถในการย่อยสลายเฮกซะคลอโรเบนซินได้สูงกว่าจุลชีพจากแหล่งอื่นๆ

ตารางที่ 4.4 การลดคลอรีนของ 2 มิลลิกรัมต่อลิตรของเฮกซะคลอโรเบนซินด้วยน้ำตะกอน

Site	Time to detect intermediates/products (days)					HCB-complete dechlorination (days)
	QCB	1,2,3,5-/1,2,4,5-TeCB	1,3,5-TCB	1,2,4-TCB	1,4-DCB	
A1	18	30	30	ND	ND	60
A2	18	18	42	ND	ND	>60
A3	18	18	42	ND	ND	60
A4	12	18	24	ND	ND	60
A5	12	12	18	ND	ND	42
A6	18	18	30	ND	ND	60
A7	12	18	24	ND	ND	60
A8	18	30	30	ND	ND	>60
A9	18	18	24	ND	ND	>60
A10	18	18	30	ND	ND	>60
B1	ND	ND	28	ND	ND	49
B2	77	ND	77	ND	ND	91
B3	ND	ND	49	ND	ND	49
B4	ND	ND	49	ND	ND	63
C1	NT	NT	NT	NT	NT	NT
D1	28	49	63	63	ND	77
D2	28	49	49	63	ND	77
D3	49	49	63	63	ND	63
D4	ND	49	49	63	ND	63
E1	NT	NT	NT	NT	NT	NT
E2	NT	NT	NT	NT	NT	NT
F1	NT	NT	NT	NT	NT	NT
G1	28	ND	49	ND	ND	49
H1	ND	ND	28	ND	ND	49
H2	ND	ND	28	ND	ND	49
I1	28	ND	63	ND	ND	63
J1	14	ND	49	ND	ND	49
J2	28	ND	63	ND	ND	63

หมายเหตุ: -ND คือตรวจไม่พบ และ NT คือไม่ได้ทดสอบ



รูปที่ 4.1 โพรไฟล์ของการย่อยสลาย 2 มิลลิกรัมต่อลิตรของเฮกซะคลอโรเบนซินและการเกิดสารกลางในชุดทดลองน้ำตะกอนของ Site A1

4.2.1.2 ผลของธาตุอาหารเสริม

งานวิจัยหลายชิ้นพบว่าการเติมธาตุอาหารเสริม (nutrients) ที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของจุลชีพสามารถช่วยกระตุ้น และ/หรือ เร่งให้เกิดการลดคลอรีนของเฮกซะคลอโรเบนซินได้ (Chang และคณะ, 1997; Chen และคณะ, 2004) คณะทำงานจึงได้ทำการเติมธาตุอาหารเสริมโดยเตรียมตัวกลางซึ่งประกอบด้วยธาตุอาหารต่างชนิดกัน จากนั้นทำการเติมหัวเชื้อที่ผ่านการย่อยสลายเฮกซะคลอโรเบนซินจากชุดการทดลองที่แล้วของ Site A3 หรือ Site A4 ที่ปริมาตร 5 มิลลิลิตรลงในตัวกลางต่างๆที่เตรียมขึ้น 45 มิลลิลิตร ผลการทดลองพบว่าการเติมสารสกัดยีสต์และเกลือแร่ไม่ได้มีผลอย่างมีนัยสำคัญต่อการลดคลอรีนของเฮกซะคลอโรเบนซินเลย (ตารางที่ 4.5) กล่าวคือช่วงเวลาพักตัว (Lag Phase) และเวลาในการลดคลอรีนของ 2 มิลลิกรัมต่อลิตรของเฮกซะคลอโรเบนซินจนหมดยังคง ใกล้เคียงกัน เป็นที่น่าสังเกตุว่าการลดคลอรีนของเฮกซะคลอโรเบนซินในชุดการทดลองควบคุมนี้มีประสิทธิภาพมากกว่าในชุดการทดลองที่ผ่านมาทั้งๆที่ใช้น้ำตะกอนจากจุดเก็บตัวอย่างเดียวกัน(จาก Sites A3 และ A4) ที่เป็นเช่นนี้เพราะหัวเชื้อที่ใช้ในชุดการทดลองนี้นำมาจากน้ำตะกอนชุดก่อนที่ผ่านการย่อยสลายเฮกซะคลอโรเบนซินมาแล้ว 1 ครั้ง จึงทำให้เมื่อทำการเติมเฮกซะคลอโรเบนซินซ้ำ จุลชีพมีความพร้อมในด้านของเอนไซม์ที่ต้องใช้ จึงทำให้ระยะเวลาพักตัวและเวลาที่ย่อยสลายทั้งหมดสั้นลงหากพิจารณาในรายละเอียดจะเห็นผลที่น่าสนใจหลายประการ ประการแรกคือในชุดทดลองที่ใช้น้ำคลอง 45 มิลลิลิตรและเติมหัวเชื้อเพียง 5 มิลลิลิตร (CW) ที่พบว่าสามารถย่อยสลายเฮกซะคลอโรเบนซินได้ดีไม่ต่างจากชุดการทดลองอื่น ชี้ให้เห็นเป็นนัยว่าสารอาหารและธาตุอาหารที่มีอยู่ในหัวเชื้อ

ตารางที่ 4.5 ผลของธาตุอาหารเสริมที่มีต่อการลดคลอรีนของ 2 มิลลิกรัมต่อลิตรของเฮกซะคลอโรเบนซินในน้ำตะกอนที่เติมหัวเชื้อที่ผ่านการย่อยสลายเฮกซะคลอโรเบนซินมาแล้ว

Site	Medium	Lag Phase (days)	Complete Dechlorination (days)	$Methane_{max}$ (%)
A3	CW	0, 3	30, 30	6.10
	RW+YE	0, 0	30, 30	21.14
	SS	0, 3	37, 35	19.84
	SS+YE	0, 3	35, 30	34.22
	S+MM	3, 3	35, 30	41.07
	MM	0, 0	30, 30	36.41
A4	CW	0, 3	30, 30	0.72
	RW+YE	0, 0	30, 30	13.86
	SS	3, 3	37, 40	21.66
	SS+YE	3, 3	37, 35	41.54
	S+MM	3, 3	30, 30	43.34
	MM	3, 0	30, 30	36.31

หมายเหตุ: -CW คือ Canal Water ซึ่งเป็นน้ำตัวอย่างที่เก็บจากคลองหัวลำภู

-YE คือ Yeast Extract โดยทำการเติมลงในตัวกลางที่ความเข้มข้น 5 กรัมต่อลิตร

-SS คือ Sediment Slurry ซึ่งเป็นน้ำตะกอนที่เตรียมตามกรรมวิธีที่ได้กล่าวมาแล้ว

-MM คือ Mineral Medium ซึ่งเป็นสารละลายเกลือแร่ที่เหมาะสมต่อการย่อยสลายทางชีวภาพ เตรียมโดยการละลาย 0.35 กรัม KH_2PO_4, 0.27 กรัม K_2HPO_4, 2.7 กรัม NH_4Cl, 0.1 กรัม $CaCl_2.2H_2O$, 0.1 กรัม $MgCl_2.6H_2O$ และ 0.02 กรัม $FeCl_2.4H_2O$ ในน้ำกลั่น 1 ลิตร

-S + AM คือการเตรียมน้ำตะกอนโดยใช้ anaerobic medium แทนที่จะใช้น้ำตัวอย่างจากคลอง ส่วนกรรมวิธีอื่นๆเหมือนที่ได้กล่าวมาแล้ว

-ตัวเลขในตารางแสดงผลจากการทดลองซ้ำ 2 ครั้ง (duplication) ยกเว้นการวัดมีเทนที่วัดในชุดทดลองเดียว

เพียง 5 มิลลิลิตรนั้นเพียงพอต่อการย่อยสลายเฮกซะคลอโรเบนซินที่ 2 มิลลิกรัมต่อลิตรได้ ประการที่สองคือปริมาณเชื้อจุลชีพที่มีอยู่ในหัวเชื้อ 5 มิลลิลิตร (CW) เพียงพอต่อการย่อยสลายเฮกซะคลอโรเบนซินโดยไม่เป็นตัวจำกัดอัตราการย่อยสลาย เพราะเมื่อเปรียบเทียบกับการทดลองที่มีการเติมตะกอนเพิ่ม (SS, SS+YE และ S+MM) จะได้ผลไม่ต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ชี้ให้เห็นเป็นนัยว่าอัตราการลดคลอรีนของเฮกซะคลอโรเบนซินที่พบน่าจะเป็นอัตราเร็วที่สูงที่สุด

โดยไม่ขึ้นอยู่กับมวลของจุลชีพ สารอาหาร และธาตุอาหาร และประการสุดท้ายคือธาตุอาหารเสริมมีผลต่อการสร้างก๊าซมีเทนมาก โดยเมื่อเปรียบเทียบระหว่างชุดทดลองที่ใช้น้ำคลอง (CW) เทียบกับชุดทดลองที่ใช้น้ำเกลือแร่ (MM) จะพบว่าในกรณีทั้งสองนี้ซึ่งมีปริมาณเชื้อจุลชีพเท่ากัน มีการสร้างก๊าซมีเทนต่างกันมากทั้งที่ Site A3 และ Site A4 อย่างไรก็ดีการลดคลอรีนของเฮกซะคลอโรเบนซินไม่ได้มีความสัมพันธ์โดยตรงต่อปริมาณก๊าซมีเทนที่เกิดขึ้น ชี้ให้เห็นเป็นนัยว่าจุลชีพกลุ่มที่ลดคลอรีน (dechlorinators) อาจเป็นกลุ่มอื่นที่ไม่ได้สร้างมีเทนรวมอยู่ด้วย นอกเหนือจากกลุ่มสร้างมีเทนดังที่ระบุไว้ในงานวิจัยอื่นๆ

4.2.1.3 ผลของสารอาหาร

สารอาหาร (substrates) หรือสารอินทรีย์จะทำหน้าที่เป็นสารให้อิเลคตรอนหลักในกระบวนการย่อยสลายแบบไร้อากาศเพื่อใช้เป็นแหล่งคาร์บอนของจุลชีพ คณะทำงานได้ทำการเติมสารอินทรีย์ชนิดต่างๆเพื่อศึกษาผลกระทบที่เกิดขึ้นต่อกิจกรรมของจุลชีพในประชากรของน้ำตะกอนซึ่งจะส่งผลโดยตรงต่อการลดคลอรีน สารอินทรีย์ที่ศึกษามีดังนี้คือ ก) น้ำตาล (glucose) เป็นสารอาหารซึ่งแบคทีเรียส่วนใหญ่สามารถใช้ได้; ข) ไพรูเวท (pyruvate) เป็นสารกลางในวัฏจักรของกลไกการย่อยสลายสารอินทรีย์ของจุลชีพ สามารถถูกใช้โดยแบคทีเรียกลุ่มที่ก่อให้เกิดการหมัก (fermentors) หรือกลุ่มที่สร้างกรด (acidogens) ซึ่งผลิตภัณฑ์ที่ได้จะเป็นสารอาหารสำหรับจุลชีพกลุ่มอื่นๆเช่น กลุ่มลดซัลเฟต (sulfate-reducing bacteria) และกลุ่มสร้างมีเทน (methanogens) ต่อไป; ค) แลคเตท (lactate) เป็นสารอาหารสำหรับจุลชีพกลุ่มสร้างกรดและกลุ่มลดซัลเฟต; ง) อะซิเตท (acetate) เป็นสารอาหารสำคัญสำหรับจุลชีพกลุ่มสร้างมีเทน (methanogens) และกลุ่มลดซัลเฟตบางชนิด; และ จ) ฟอร์เมท (formate) เป็นสารอาหารให้กับแบคทีเรียกลุ่มสร้างมีแทนและกลุ่มลดซัลเฟตบางชนิด ความเข้มข้นของสารอาหารที่เติมคือ 5 กรัมต่อลิตร โดยใช้น้ำตะกอนที่เตรียมโดยใช้ mineral medium (S+MM) จาก Sites A3 และ A4 ผลการทดลองได้สรุปไว้ในตารางที่ 4.6 ซึ่งพบว่าสารอาหารเกือบทั้งหมดยกเว้นฟอร์เมทไม่มีผลที่ชัดเจนต่อการลดคลอรีนของเฮกซะคลอโรเบนซิน เป็นการยืนยันดังที่กล่าวมาแล้วว่าสารอาหารที่มีอยู่ในหัวเชื้อจุลชีพเพียงพอต่อการลดคลอรีนของ 2 มิลลิกรัมต่อลิตรเฮกซะคลอโรเบนซินแล้ว หรือจะกล่าวอีกนัยหนึ่งคือการลดคลอรีนของเฮกซะคลอโรเบนซินที่ความเข้มข้นดังกล่าวไม่จำเป็นต้องอาศัยสารอาหารจำนวนมาก อย่างไรก็ดีพบว่าฟอร์เมทมีแนวโน้มที่จะทำให้การลดคลอรีนเกิดขึ้นช้าลงเป็นผลให้เวลาในการย่อยสลายเฮกซะคลอโรเบนซินทั้งหมดนานขึ้นจาก 30-35 วันเป็น 45 วัน คาดว่าฟอร์เมทไปกระตุ้นการทำงานของจุลชีพกลุ่มอื่นที่ไม่ใช่กลุ่มที่ลดคลอรีน (dechlorinators) ทำให้เกิดการแย่งธาตุอาหารเสริม นำไปสู่การลดกิจกรรมของจุลชีพกลุ่มที่ลดคลอรีนและหน่วงการย่อยสลายเฮกซะคลอโรเบนซิน เนื่องจากฟอร์เมตเป็นสารอาหารเฉพาะสำหรับจุลชีพกลุ่มสร้างมีเทนและลดซัลเฟตบางกลุ่ม แต่ภายใต้สภาวะทดลองเชื่อว่ากิจกรรมของจุลชีพกลุ่มลดซัลเฟตไม่น่าจะมีมากเนื่องจาก

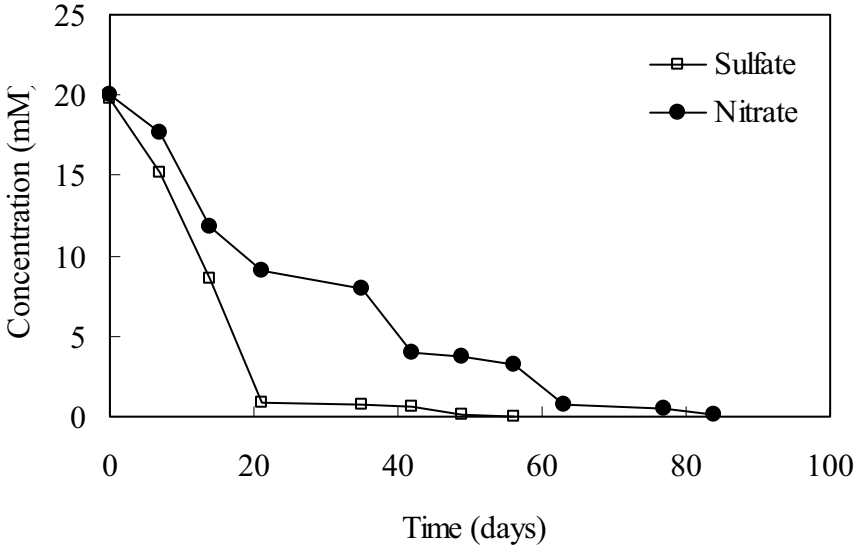
ตารางที่ 4.6 ผลของสารอาหาร 5 กรัมต่อลิตรที่มีต่อการลดคลอรีนของ 2 มิลลิกรัมต่อลิตรของเฮกซะคลอโรเบนซินของหัวเชื้อที่ผ่านการย่อยสลายเฮกซะคลอโรเบนซินมาแล้วในตัวกลาง S+MM

Site	Substrate	Lag Phase (days)	Complete Dechlorination (days)
A3	No addition	3, 3	35, 30
	Glucose	6, 6	36, 36
	Pyruvate	0, 0	36, 36
	Lactate	0, 0	30, 30
	Acetate	0, 12	36, 36
	Formate	0, 12	45, 45
A4	No addition	3, 3	30, 30
	Glucose	0, 0	45, 45
	Pyruvate	0, 0	36, 36
	Lactate	0, 0	30, 30
	Acetate	0, 0	36, 36
	Formate	0, 0	45, 45

ซัลเฟตในน้ำตะกอนมีอยู่น้อย จึงชี้ให้เห็นว่าจุลชีพกลุ่มสร้างมีเทนเพียงบางเผ่าพันธุ์ (species) เท่านั้นที่เกี่ยวข้องกับการลดคลอรีนของเฮกซะคลอโรเบนซิน

4.2.1.4 ผลของสารรับอิเลคตรอน

การทดลองส่วนนี้มุ่งศึกษาถึงผลของแบคทีเรียกลุ่มลดซัลเฟต (sulfate-reducing bacteria) และกลุ่มดีไนติฟายเออร์ (denitrifiers) ที่มีต่อการลดคลอรีนของเฮกซะคลอโรเบนซิน โดยการเติมซัลเฟตหรือไนเตรตเข้าไปในน้ำตะกอนจาก Site A4 เพื่อกระตุ้นการทำงานของจุลชีพทั้งสองกลุ่มตามลำดับ ผลการศึกษาพบว่าการลดลงของไนเตรตช้ากว่าซัลเฟตดังแสดงในรูปที่ 4.2 ผลดังกล่าวเป็นที่คาดหวังอยู่แล้วเนื่องจากตะกอนที่เก็บจากก้นลำคลองอยู่ภายใต้สภาวะไร้อากาศมาเป็นเวลานาน ทำให้จุลชีพกลุ่มลดซัลเฟตมีความไวงานมาก (active) เมื่อได้รับซัลเฟตเข้าไปในปริมาณมากจึงเกิดการเจริญเติบโตและจับใช้ซัลเฟตอย่างรวดเร็ว ในทำนองกลับกันจุลชีพกลุ่มดีไนตริฟายเออร์ในตะกอนจะมีปริมาณน้อยเพราะในชั้นตะกอนจะมีไนเตรตน้อยมาก โอกาสที่สภาวะแอนน็อกซิกจะเกิดขึ้นมีน้อยมาก การลดคลอรีนของเฮกซะคลอโรเบนซินภายใต้สภาวะที่มีซัลเฟตและไนเตรตได้แสดงในตารางที่ 4.7 ซึ่งจะเห็นได้ว่าซัลเฟตและไนเตรตไม่มีผลกระทบทั้งทางด้านบวกและลบต่อการลดคลอรีนของเฮกซะคลอโรเบนซิน เพราะตรวจพบเพนตะคลอโรเบนซินในวันที่ 14 เช่นเดียวกันโดยมีความเข้มข้นใกล้เคียงกันที่ 0.018



รูปที่ 4.2 การลดของสารรับอิเลคตรอนของน้ำตะกอนจาก Site A4 ที่เติม 2 มิลลิกรัมต่อลิตรเฮกซะคลอโรเบนซิน

ตารางที่ 4.7 การลดคลอรีนของ 2 มิลลิกรัมต่อลิตรเฮกซะคลอโรเบนซินของน้ำตะกอนจาก Site A4ภายใต้สภาวะแอนน็อกซิกและสภาวะการลดซัลเฟต

Electron Acceptor	Appearance Time (days)		
	QCB	1,2,3,5-TeCB	1,3,5-TCB
No addition	14	42	56
20 mM of $NaNO_3$	14	56	56
20 mM of Na_2SO_4	14	70	56

และ 0.019 มิลลิกรัมต่อลิตรสำหรับกรณีของไนเตรตและซัลเฟตตามลำดับ ระยะเวลาพักตัว (Lag Phase) ที่เกิดขึ้นต่างจากในการทดลองส่วนที่ผ่านๆมาที่ใช้น้ำตะกอนจาก Site A4 เหมือนกัน ที่เป็นเช่นนี้เพราะมีการเก็บตะกอนหลายครั้งตลอดระยะเวลาศึกษากว่า 3 ปี จึงทำให้ตะกอนตัวอย่างในแต่ละครั้งมีความแตกต่างกันบ้างเล็กน้อย อย่างไรก็ดีเนื่องจากการทดสอบผลของสารที่เติมเป็นการวิเคราะห์เชิงเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่กระทำทุกครั้งในแต่ละชุดทดลอง จึงทำให้ผลที่ได้สามารถเชื่อถือได้) ในช่วง 14 วันแรกนั้นแบคทีเรียกลุ่มที่ทำการลดซัลเฟตและกลุ่มดีไนติฟิเคชั่นค่อนข้างจะไวงานสูงมาก(พิจารณาจากอัตราการลดที่เป็นเส้นตรงในช่วงแรกหรือเกิดปฏิกิริยาอันดับที่ศูนย์ (zero-order reaction)) ดังนั้นจึงสรุปได้ว่าแบคทีเรียกลุ่มลดซัลเฟตและกลุ่มดีไนตริฟายเออร์ไม่มีส่วนเกี่ยวข้องโดยตรงต่อการลดคลอรีนของเฮกซะคลอโรเบนซิน นอกจากนี้ยังชี้ให้เห็นว่าสารอาหารและธาตุอาหารที่มีอยู่ในน้ำตะกอนมีอยู่อย่างเหลือเฟือ ถึงแม้ว่าแบคทีเรียกลุ่มลดซัลเฟตและกลุ่มเกิดดีไนตริฟายเออร์จะมีอัตราการเติบโตสูงมากก็ยังคงมีสารอาหารและธาตุอาหารเพียงพอต่อจุลชีพกลุ่มลดคลอรีน ผลดังกล่าวสอดคล้องกับ

งานวิจัยของ Chen และคณะ (2002) ซึ่งพบว่าซัลเฟตที่ความเข้มข้น 30 มิลลิโมล่าร์ไม่มีผลต่อการลดคลอรีนของเฮกซะคลอโรเบนซิน อย่างไรก็ดีได้เสนอแนะว่าในกรณีที่สารอาหารมีจำกัด แบคทีเรียกลุ่มลดซัลเฟตอาจแย่งสารอาหารกับจุลชีพกลุ่มลดคลอรีนจนทำให้การลดคลอรีนเกิดขึ้นได้ไม่ดี แต่ถึงกระนั้นพบว่าแบคทีเรียกลุ่มลดซัลเฟตรบกวนต่อการลดคลอรีนของเพนตะคลอโรเบนซินเป็น1,2,3,5-เตตระคลอโรเบนซินและ 1,3,5-ไตรคลอโรเบนซินตามลำดับ ทั้งนี้เนื่องจากชุดทดลองที่เติมซัลเฟตตรวจพบ 1,2,3,5-เตตระคลอโรเบนซินและ 1,3,5-ไตรคลอโรเบนซินช้ากว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ชี้ให้เห็นว่าจุลชีพที่ทำการลดคลอรีนของเฮกซะคลอโรเบนซินอาจเป็นคนละกลุ่มกับจุลชีพที่ลดคลอรีนของเพนตะคลอโรเบนซินและ 1,2,3,5-เตตระคลอโรเบนซิน ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Chen และคณะ (2000)

4.2.1.5 ผลของอุณหภูมิ

การศึกษาถึงผลของสารอาหารและธาตุอาหารเสริมชี้ให้เห็นว่าไม่มีผลกระทบอย่างชัดเจนต่อการลดคลอรีนของเฮกซะคลอโรเบนซิน ชี้ให้เห็นว่าการลดคลอรีนของเฮกซะคลอโรเบนซินทางชีวภาพภายใต้สภาวะไร้อากาศนี้ไม่จำเป็นต้องการสารอาหารหรือธาตุอาหารเสริมเป็นพิเศษเฉพาะ กิจกรรมการลดคลอรีนสามารถเกิดขึ้นได้เองภายใต้ปริมาณสารอาหารและธาตุอาหารที่มีอยู่ในตะกอนตามธรรมชาติ หรือกล่าวอีกนัยหนึ่งคือประชากรของจุลชีพในตะกอนจากแหล่งน้ำทั้งหมดที่เก็บตัวอย่างมามีกลุ่มจุลชีพที่พร้อมจะทำหน้าที่ลดคลอรีนของเฮกซะคลอโรเบนซินอยู่แล้วไม่ว่าตะกอนเหล่านั้นจะเคยถูกปนเปื้อนด้วยเฮกซะคลอโรเบนซินมาก่อนหรือไม่ ซึ่งนำไปสู่สมมุติฐานที่ว่าการลดคลอรีนของเฮกซะคลอโรเบนซินนั้นไม่จำเป็นต้องอาศัยจุลชีพกลุ่มที่ซับซ้อนนอกเหนือจากที่มีอยู่แล้วในธรรมชาติของประเทศไทย แต่โครงสร้างของจุลชีพที่มีอยู่ในตะกอนลำน้ำของประเทศไทยน่าจะแตกต่างจากที่มีอยู่ตามธรรมชาติในต่างประเทศ จึงส่งผลให้เฮกซะคลอโรเบนซินถูกย่อยสลายอย่างช้าถึงช้ามากในต่างประเทศ สภาวะแวดล้อมสำคัญอย่างหนึ่งที่ทำให้เมตริกซ์ (matrix) หรือความหลากหลายของจุลชีพในตะกอนลำน้ำตามธรรมชาติของประเทศไทยแตกต่างจากประเทศอื่นๆที่มีการศึกษาการลดคลอรีนของเฮกซะคลอโรเบนซินคืออุณหภูมิ ทั้งนี้เนื่องจากการศึกษาการลดคลอรีนของเฮกซะคลอโรเบนซินส่วนใหญ่กระทำโดยประเทศที่พัฒนาแล้ว เช่น สหรัฐอเมริกา ญี่ปุ่น ไต้หวัน และกลุ่มประเทศในยุโรปซึ่งตั้งอยู่ในภูมิภาคที่มีภูมิอากาศแบบ “Temperate-Climate” หรือ “Continental-Climate” ซึ่งมีอุณหภูมิเฉลี่ยในเดือนที่เยือกเย็นที่สุดอยู่ในช่วง -3 ถึง 18^{o}C และต่ำกว่า -3^{o}C ตามลำดับจากการจัดแบ่งโดย Koppen-Geiger Climate Classification System ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับประเทศไทยที่มีภูมิอากาศแบบ “Tropical Climate” ซึ่งมีอุณหภูมิเฉลี่ยในเดือนที่เยือกเย็นที่สุดสูงกว่า 18^{o}C จากข้อมูลของกรมอุตุนิยมวิทยาพบว่าอุณหภูมิเฉลี่ยของ 30 ปีในช่วงกลางวันและกลางคืนของจังหวัดสมุทรปราการมีค่าเท่ากับ 26.3 และ 30.3^{o}C ตามลำดับ โดยอุณหภูมิในช่วงกลางวันระหว่างการศึกษานี้อยู่ในช่วง 25 ถึง 31^{o}C จึงเป็นไปได้ว่าประชากรของจุลชีพ

ในตะกอนของประเทศไทยอาจมีความหลากหลายทางชีวภาพมากกว่าในประเทศที่พัฒนาแล้วที่มีอุณหภูมิเฉลี่ยต่ำกว่า

เพื่อทดสอบสมมุติฐานดังกล่าว คณะทำงานจึงได้ทำการทดลองการลดคลอรีนของ 2 มิลลิกรัมต่อลิตรเฮกซะคลอโรเบนซินในน้ำตะกอนจาก Sites A3 และ A4 ที่อุณหภูมิต่างๆกันในช่วง 15 ถึง 45°C ซึ่งผลที่ได้ได้แสดงไว้ในตารางที่ 4.8 ผลที่ได้ชี้ให้เห็นว่าการลดคลอรีนของเฮกซะคลอโรเบนซินด้วยน้ำตะกอนจาก Sites A3 และ A4 มีช่วงอุณหภูมิที่เหมาะสม (optimum) อยู่ในช่วง 30-40°C และ 30-35°C ตามลำดับ หากอุณหภูมิสูงกว่าหรือต่ำกว่าช่วงเหมาะสมดังกล่าวแล้วจะทำให้ระยะเวลาพักตัว (Lag Phase) นานขึ้นและการลดคลอรีนเกิดขึ้นช้าลง ผลการทดลองที่ได้ชี้ให้เห็นว่าถึงแม้ว่าน้ำตะกอนจะมีจุลชีพกลุ่มที่สามารถลดคลอรีนได้อยู่แล้ว แต่เมื่ออุณหภูมิไม่เหมาะสม จุลชีพกลุ่มดังกล่าวจะมีความไวงาน (activity) ที่เกี่ยวข้องกับการลดคลอรีนน้อยลง หรือกล่าวอีกนัยหนึ่งคือจุลชีพกลุ่มลดคลอรีนที่มีอยู่ในตะกอนจาก Sites A3 และ A4 นี้สามารถทำงานได้ดีในช่วงอุณหภูมิ 30-40°C ซึ่งใกล้เคียงกับอุณหภูมิห้องของประเทศไทย จึงเป็นไปได้ว่าในประเทศที่พัฒนาแล้วซึ่งมีช่วงอุณหภูมิที่ต่ำกว่า 30°C ค่อนข้างยาวนาน (โดยเฉพาะในช่วงฤดูหนาว) จะทำให้จุลชีพกลุ่มที่สามารถลดคลอรีนได้นี้เติบโตได้ช้าจนถูกไล่

ตารางที่ 4.8 ผลของอุณหภูมิที่มีต่อการลดคลอรีนของ 2 มิลลกรัมต่อลิตรเฮกซะคลอโรเบนซินของน้ำตะกอน

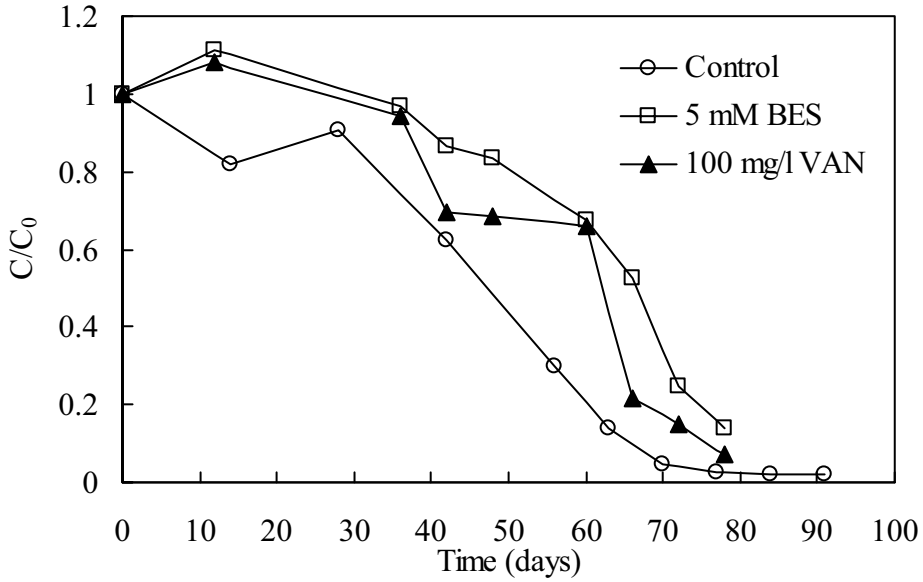
Site	Temperature ($^{\circ}$C)	Lag Phase (days)	Complete Dechlorination (days)
A3	15	34, 42	>154, >154
	20	28, 35	126, 126
	30	14, 7	70, 70
	35	7, 7	63, 63
	40	7, 7	63, 70
	45	14, 35	>154, >154
A4	15	70, 35	>154, >154
	20	49, 49	161, 164
	30	14, 14	70, 70
	35	7, 14	70, 70
	40	14, 14	>154, >154
	45	42, 35	>154, >154

หมายเหตุ: เวลาที่แสดงในตารางมาจากผลการทดลองซ้ำ 2 ชุด (duplication)

ล้าง (wash-out) ออกจากเมตริกซ์ของจุลชีพในตะกอนลำน้ำตามธรรมชาติ การลดคลอรีนจึงเกิดขึ้นได้ช้าจนทำให้เฮกซะคลอโรเบนซินตกค้างอยู่ในธรรมชาติได้นานจนถูกจัดให้เป็นสารมลพิษอินทรีย์คงทน ผลการทดลองในส่วนนี้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Chang และคณะ (1997) ซึ่งพบว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการลดคลอรีนของเฮกซะคลอโรเบนซินคือระหว่าง 29 ถึง 37^{o}C โดยความสามารถในการลดคลอรีนจะหมดสิ้นไปเมื่ออุณหภูมิเท่ากับ 18 และ 45^{o}C โดยงานวิจัยชิ้นนี้ได้กระทำในประเทศไต้หวันซึ่งมีภูมิอากาศแบบ Temperate Climate และใช้ตะกอนจากแม่น้ำที่ได้รับน้ำทิ้งจากอุตสาหกรรมปิโตรเคมี โดยจุลชีพในตะกอนที่เก็บมาไม่มีความสามารถในการลดคลอรีนของเฮกซะคลอโรเบนซินในทันทีเหมือนเช่นที่พบในโครงการวิจัยนี้ จำเป็นต้องมีการปรับสภาพโดยการเติม 1,3,5-ไตรคลอโรเบนซินที่ความเข้มข้น 0.4 มิลลิกรัมต่อลิตร สารสกัดยีสต์ และเกลือแร่ และควบคุมที่ 30^{o}C เป็นเวลา 1 เดือนจึงจะสามารถลดคลอรีนของเฮกซะคลอโรเบนซินได้ สอดคล้องกับการวิจารณ์ผลที่กล่าวมาแล้วคือ ในตะกอนธรรมชาติในประเทศไต้หวันซึ่งมีภูมิอากาศแบบ Temperate Climate ทำให้จุลชีพที่มีความสามารถในการย่อยสลายเฮกซะคลอโรเบนซินถูกจำกัดการเจริญเติบโตในช่วงฤดูหนาวจนกลายเป็นจุลชีพกลุ่มน้อยในประชากรจุลชีพ เมื่อนำมาปรับสภาพที่อุณหภูมิ 30^{o}C เป็นเวลา 1 เดือน ทำให้จุลชีพกลุ่มที่ลดคลอรีนเติบโตได้ดีและเพิ่มจำนวนประชากรมากขึ้นจนมีนัยสำคัญ เมื่อมีการป้อนเฮกซะคลอโรเบนซินจึงเป็นผลให้เกิดการลดคลอรีนได้เร็วขึ้น การเติม 1,3,5-ไตรคลอโรเบนซินน่าจะช่วยกระตุ้นให้จุลชีพผลิตเอนไซม์ที่ทำหน้าที่ลดคลอรีนในสารคลอโรเบนซินทำให้การลดคลอรีนเกิดได้ดียิ่งขึ้น

4.2.1.6 กลุ่มจุลชีพที่มีส่วนร่วมต่อการลดคลอรีน

การศึกษาในส่วนนี้มุ่งเน้นที่จะหากลุ่มจุลชีพที่มีส่วนร่วมต่อการลดคลอรีนของเฮกซะคลอโรเบนซิน จากเนื้อหาในหัวข้อที่ 4.2.1.4 จะพบว่าแบคทีเรียกลุ่มลดซัลเฟตและกลุ่มดีไนตริฟายเออร์ไม่ได้มีส่วนเกี่ยวข้องโดยตรงต่อการลดคลอรีนของเฮกซะคลอโรเบนซิน งานวิจัยในส่วนนี้จึงมุ่งทดสอบไปที่จุลชีพ 2 กลุ่ม กลุ่มแรกคือแบคทีเรียกลุ่มสร้างมีเทนหรือเมธาโนเจน (methanogens) และกลุ่มที่สองคือกลุ่มสร้างกรดหรือแอซิโดเจน (acidogens) ในกรณีที่ศึกษาถึงแบคทีเรียกลุ่มเมธาโนเจนจะทำการเติม bromoethanesulfonic acid (BES) ซึ่งเป็นสารยับยั้งการทำงานของแบคทีเรียกลุ่มเมธาโนเจนโดยเฉพาะ (Chang และคณะ (1997)) ลงไปในน้ำตะกอนจาก Site A4 ผลจากการทดสอบพบว่า BES ที่ความเข้มข้นเพียง 5 มิลลิโมล่าร์สามารถยับยั้งการทำงานของแบคทีเรียกลุ่มเมธาโนเจนได้อย่างมีนัยสำคัญ โดยปริมาณก๊าซมีเทนในขวดเซรั่มของชุดควบคุมที่ไม่มีการเติม BES มีค่าเท่ากับร้อยละ 38 ณ วันที่ 78 แต่ในชุดทดลองที่เติม BES 5 มิลลิโมล่าร์จะพบก๊าซมีเทนเพียงร้อยละ 1 ที่เวลาเดียวกัน แต่ถึงกระนั้นกลับพบว่าเฮกซะคลอโรเบนซินถูกย่อยสลายเป็นเพนตะคลอโรเบนซินได้ถึงแม้ว่าอัตราการลดคลอรีนจะต่ำกว่าดังแสดงในรูปที่ 4.3 ผลดังกล่าวชี้ให้เห็นเป็นนัยยะว่าไม่เพียงแต่แบคทีเรียกลุ่ม



รูปที่ 4.3 การลดคลอรีนของ 2 มิลลิกรัมต่อลิตรเฮกซะคลอโรเบนซินในน้ำตะกอนจาก Site A4 ภายใต้สภาวะที่มีการเติมสารยับยั้งการทำงานของจุลชีพ

เมธาโนเจนเท่านั้นที่มีบทบาทในการลดคลอรีนของเฮกซะคลอโรเบนซิน แต่ยังจุลชีพกลุ่มอื่นๆที่ไม่ได้รับผลกระทบจาก BES เกี่ยวข้องด้วย ดังนั้นในกรณีของชุดควบคุมจุลชีพทั้งสองกลุ่มนี้ร่วมกันลดคลอรีนของเฮกซะคลอโรเบนซิน เป็นผลให้อัตราการลดเกิดขึ้นได้อย่างรวดเร็ว แต่เมื่อแบคทีเรียกลุ่มเมธาโนเจนถูกยับยั้งด้วย BES แล้ว จึงเหลือจุลชีพเฉพาะส่วนที่ไม่ได้รับผลกระทบจาก BES ทำหน้าที่ลดคลอรีน จึงทำให้อัตราการลดคลอรีนลดลง (ณ วันที่ 78 เฮกซะคลอโรเบนซินลดลงมากกว่าร้อยละ 90 แต่ปริมาณก๊าซมีเทนในขวดเซรั่มมีเพียงร้อยละ 1 ในชุดทดลองที่เติม BES) เมื่อเพิ่ม BES ขึ้นเป็น 10 และ 50 มิลลิโมล่าร์ การลดคลอรีนของเฮกซะคลอโรเบนซินยังคงเกิดขึ้น ตราบเมื่อ BES ถูกเพิ่มขึ้นเป็น 250 มิลลิโมล่าร์ การลดคลอรีนของเฮกซะคลอโรเบนซินจึงจะหยุดอย่างสมบูรณ์ Middledorp และคณะ (1997) พบว่า BES ที่ความเข้มข้นสูงๆนอกจากจะยับยั้งการทำงานของแบคทีเรียกลุ่มเมธาโนเจนแล้ว ยังส่งผลกระทบต่อการทำงานของจุลชีพกลุ่มอื่นๆด้วย ดังนั้นจึงเป็นไปได้ที่ 250 มิลลิโมล่าร์ของ BES ไปยับยั้งการทำงานของจุลชีพที่สามารถลดคลอรีนของเฮกซะคลอโรเบนซินกลุ่มอื่นๆนอกเหนือไปจากแบคทีเรียกลุ่มเมธาโนเจน จึงทำให้การลดคลอรีนของเฮกซะคลอโรเบนซินสิ้นสุด ผลที่ได้จากการวิจัยครั้งนี้ช่วยเชื่อมต่อผลของงานวิจัยอื่นๆที่ศึกษาถึงกลุ่มจุลชีพที่มีบทบาทต่อการลดคลอรีนของเฮกซะคลอโรเบนซินเข้าด้วยกัน กล่าวคือ Pavlostathis และ Prytula (2000) พบว่าเฮกซะคลอโรเบนซินยังคงถูกย่อยสลายด้วยอัตราเดิมในน้ำตะกอนที่เติม BES ลงไปยับยั้งการทำงานของจุลชีพกลุ่มเมธาโนเจน จึงสรุปว่าจุลชีพกลุ่มเมธาโนเจนไม่มีส่วนร่วมในการลดคลอรีนของเฮกซะคลอโรเบนซิน ในทางตรงกันข้าม Chang และคณะ (1997) และ Chen และคณะ (2002) พบว่าเมื่อยับยั้งการทำงานของแบคทีเรียกลุ่มเมธาโนเจนด้วย BES แล้ว การลดคลอรีนของเฮกซะคลอโรเบนซินก็สิ้นสุดเช่นเดียวกัน จึงสรุปว่าการลดคลอรีนของเฮกซะคลอโรเบนซิน

ขึ้นอยู่กับจุลชีพกลุ่มเมธาโนเจน แต่จากผลงานวิจัยครั้งนี้พบจุลชีพที่ลดคลอรีนของเฮกซะคลอโรเบนซินทั้งสองกลุ่มในตะกอนคือทั้งกลุ่มที่เป็นเมธาโนเจนและกลุ่มที่ไม่ใช่เมธาโนเจน ทำให้อธิบายได้ว่าในกรณีของ Pavlostathis และ Prytula (2000) นั้นน้ำตะกอนมีเพียงจุลชีพที่ลดคลอรีนกลุ่มที่ไม่ใช่เมธาโนเจน และในทำนองกลับกันในกรณีของ Chang และคณะ (1997) และ Chen และคณะ (2002) จะมีแต่จุลชีพลดคลอรีนในกลุ่มของเมธาโนเจนเท่านั้น ผลเปรียบเทียบดังกล่าวยังเป็นจุดสนับสนุนที่ว่าลักษณะประชากรของจุลชีพในตะกอนในประเทศไทยมีความหลากหลายทางชีวภาพมากกว่าในประเทศที่มีสภาพภูมิอากาศหนาวเย็นกว่า

คณะวิจัยได้ศึกษาถึงกลุ่มจุลชีพที่เกี่ยวข้องกับการลดคลอรีนของเฮกซะคลอโรเบนซินต่อโดยใช้ vancomycin (VAN) ซึ่งเป็นสารยับยั้งการทำงานของแบคทีเรียกลุ่มแกรมบวก (gram-positive bacteria) ซึ่งรวมถึงแบคทีเรียกลุ่มแอซิโดเจน (กลุ่มสร้างกรด) ผลการทดลองพบว่า VAN ที่ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตรรบกวนการลดคลอรีนของเฮกซะคลอโรเบนซินเล็กน้อยแต่มีผลน้อยกว่า 5 มิลลิโมล่าร์ของ BES คาดว่าเป็นผลมาจากแบคทีเรียกลุ่มแอซิโดเจนทำงานได้ไม่ดีจึงทำให้ไม่มีการสร้างกรดไขมันระเหยง่ายที่เป็นสารอาหารสำหรับแบคทีเรียกลุ่มเมธาโนเจนซึ่งสามารถลดคลอรีนของเฮกซะคลอโรเบนซินอย่างเพียงพอ แต่จุลชีพที่สามารถลดคลอรีนกลุ่มที่ไม่ใช่เมธาโนเจนก็ยังสามารถทำงานได้ตามปกติหรือใกล้เคียงกับปกติ แต่เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ VAN ขึ้นเป็น 200 มิลลิกรัมต่อลิตรซึ่งเป็นระดับที่ยับยั้งการทำงานของแบคทีเรียแกรมบวกเกือบทั้งหมด การลดคลอรีนของเฮกซะคลอโรเบนซินก็สิ้นสุดตามไปด้วย ดังนั้นจึงชี้ให้เห็นว่าจุลชีพกลุ่มที่สามารถลดคลอรีนของเฮกซะคลอโรเบนซินได้แต่ไม่ใช่กลุ่มเมธาโนเจนนั้นน่าจะเป็นแบคทีเรียแกรมบวกที่มีความสามารถในการทน VAN ได้ในระดับหนึ่ง แต่เมื่อ VAN เข้มข้นเกินค่าจำกัดเทรชโฮลด์ (Threshold Limit) จุลชีพกลุ่มนี้จะถูกยับยั้ง (inactivation) ในทำนองเดียวกันเมื่อจุลชีพสร้างกรดหยุดทำงานก็จะส่งผลต่อเนื่องให้แบคทีเรียกลุ่มเมธาโนเจนไม่สามารถทำงานได้เนื่องจากขาดกรดอะซิติกซึ่งเป็นสารอาหาร ข้อสรุปดังกล่าวมีความเป็นไปได้เนื่องจากในงานวิจัยของ Swenson และคณะ (1990) พบว่าแบคทีเรียแกรมบวกบางสายพันธุ์ (species) เช่น *Leuconostoc*, *Pediococcus* และ *Lactobacillus* มีความคงทนต่อการยับยั้งของ VAN ได้ในระดับหนึ่ง อย่างไรก็ดีเชื่อว่าเมื่อ VAN สูงขึ้นไปถึงระดับ 200 มิลลิกรัมต่อลิตรแล้ว แบคทีเรียกลุ่มนี้อาจถูกยับยั้ง (inactivate) ได้

ผลจากการทดลองในส่วนนี้สามารถสรุปได้ว่าจุลชีพที่มีความสามารถในการลดคลอรีนของเฮกซะคลอโรเบนซินมีอยู่ 2 กลุ่มคือ แบคทีเรียเมธาโนเจนบางสายพันธุ์ และแบคทีเรียแกรมบวกสายพันธุ์ที่สามารถทนต่อการยับยั้งของ VAN ซึ่งนับเป็นการเชื่อมต่อผลการศึกษาของนักวิจัยที่ขัดแย้งกัน 2 กลุ่มเข้าด้วยกันดังที่ได้กล่าวมาแล้ว

4.2.1.7 จลนพลศาสตร์ของการลดคลอรีน

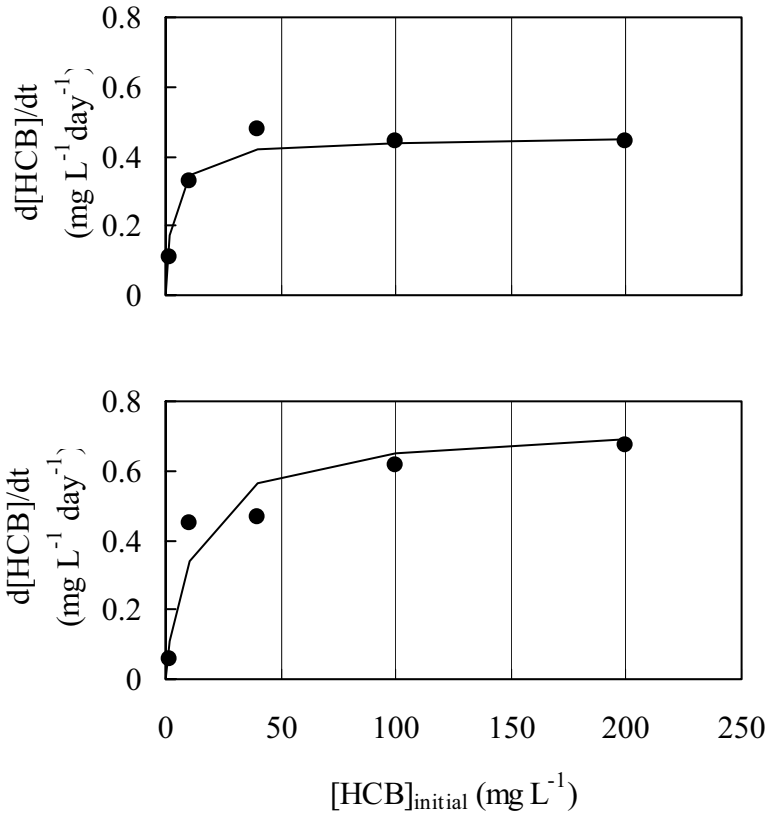
เมื่อได้ทราบข้อมูลเกี่ยวกับกลไกการลดคลอรีนของเฮกซะคลอโรเบนซินและกลุ่มจุลชีพที่รับผิดชอบแล้ว คณะวิจัยจึงได้ศึกษาหาข้อมูลทางด้านจลนพลศาสตร์ของการย่อยสลายเฮกซะคลอโรเบนซินทางชีวภาพแบบไร้อากาศ โดยทำการเพิ่มความเข้มข้นของเฮกซะคลอโรเบนซินในน้ำตะกอนจาก Sites A3 และ A4 ขึ้นจาก 2 มิลลิกรัมต่อลิตรเป็น 10, 40, 100 และ 200 มิลลิกรัมต่อลิตรหรือหากเทียบต่อมวลตะกอนจะเพิ่มขึ้นจาก 8.8 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมตะกอนแห้งเป็น 43.8, 175.2, 438.0 และ 876.0 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมตะกอนแห้งสำหรับ Site A3 และเพิ่มจาก 12.6 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมตะกอนแห้งเป็น 63.1, 252.4, 630.9 และ 1261.8 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมตะกอนแห้งสำหรับ Site A4 ตามลำดับ ผลการทดลองพบว่าเฮกซะคลอโรเบนซินยังคงถูกย่อยสลายทั้งๆที่ความเข้มข้นสูงถึง 200 มิลลกรัมต่อลิตรโดยมี Lag Phase และเวลาที่ตรวจพบสารกลางเท่ากันหรือใกล้เคียงกัน เพียงแต่ระยะเวลาที่กำจัดเฮกซะคลอโรเบนซินทั้งหมดนานขึ้นเมื่อความเข้มข้นสูงขึ้นดังแสดงในตารางที่ 4.9 ชี้ให้เห็นว่าเฮกซะคลอโรเบนซินที่ 200 มิลลิกรัมต่อลิตรหรือเทียบเป็น 876.0 และ 1261.8 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมตะกอนแห้งสำหรับ Sites A3 และ A4 ยังคงไม่เป็นพิษต่อจุลชีพในตะกอน และเนื่องจากน้ำตะกอนจากทั้งสองจุดนี้มีสารอินทรีย์และธาตุอาหารเสริมค่อนข้างมากจึงไม่จำกัดการย่อยสลายของเฮกซะคลอโรเบนซินผ่านกระบวนการเมตาบอริซึมร่วม (co-metabolism) และกลไกการลดคลอรีนยังคงเป็นกลไกหลักที่ได้ 1,3,5-ไตรคลอโรเบนซินเป็นสารผลิตภัณฑ์

ตารางที่ 4.9 ผลของความเข้มข้นของเฮกซะคลอโรเบนซินที่มีต่อการลดคลอรีนทางชีวภาพแบบไร้อากาศของน้ำตะกอน

Site	HCB (mg/l)	Appearance Time (days)			Complete Dechlorination Time (days)
		QCB	1,2,3,5-TeCB	1,3,5-TCB	
A3	2	14	14	14	70
	10	14	28	28	175
	40	14	28	35	>175
	100	14	28	42	>175
	200	21	28	49	>175
A4	2	14	21	28	70
	10	14	21	28	175
	40	14	21	28	175
	100	14	28	28	175
	200	14	28	35	>175

ในการหาค่าคงที่จลนพลศาสตร์ของการย่อยสลายเฮกซะคลอโรเบนซินนั้น นักวิจัยบางส่วนนิยมใช้ปฏิกิริยาอันดับที่หนึ่งเทียม (pseudo-1st-order reaction) เช่น Beurskens และคณะ (1994) และ Prytula และ Pavlostathis (1996) หรือปฏิกิริยาอันดับที่ศูนย์เทียม (pseudo-zeroth-order reaction) เช่น Yuan และคณะ (1999) อย่างไรก็ดีมีนักวิจัยบางกลุ่มเลือกที่จะใช้โมเดลการย่อยสลายทางชีวภาพที่มีเอนไซม์มาเกี่ยวข้อง (Michaelis-Menten Model) ซึ่งมีความซับซ้อนมากกว่าแต่มีรูปแบบที่ใกล้เคียงกับการย่อยสลายที่เกิดขึ้นจริงมากขึ้น เช่น Pavlostathis และ Prytula (2000) ในการศึกษาครั้งนี้เมื่อนำอัตราการลดคลอรีนของเฮกซะคลอโรเบนซินในช่วงเริ่มต้น (initial rate) มาพล็อตกับความเข้มข้นของเฮกซะคลอโรเบนซินเริ่มต้นจะได้ความสัมพันธ์ดังแสดงในรูปที่ 4.4 ซึ่งจะเห็นได้ว่าอัตราการลดคลอรีนเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของเฮกซะคลอโรเบนซินเพิ่มขึ้นจะถึงจุดๆหนึ่งที่อัตราการลดคลอรีนมีค่าคงที่ไม่ขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของเฮกซะคลอโรเบนซิน รูปแบบความสัมพันธ์ในลักษณะนี้เหมือนกับพฤติกรรมของปฏิกิริยาที่มีเอนไซม์มาเกี่ยวข้องซึ่งนิยมใน Michaelis-Menton Kinetics เป็นสมการในการอธิบายเหมือนในกรณีของ Pavlostathis และ Prytula (2000) ในกรณีนี้เป็นกลไกของกระบวนการเมตาบอลิซึ่มร่วมซึ่งแสดงความสัมพันธ์ได้ดังสมการที่ 4.1

$$\frac{d[HCB]}{dt} = -\left(\frac{k_m X [HCB]}{K_{HCB} + [HCB]}\right)\left(\frac{S}{K_S + S}\right) \qquad (4.1)$$



รูปที่ 4.4 ความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการลดคลอรีนและความเข้มข้นของเฮกซะคลอโรเบนซิน

โดย k_m = maximum dechlorination rate of HCB per unit biomass

K_{HCB} = half-saturation constant regarding on HCB

K_S = half-saturation constant regarding on organic substrate

X = HCB-dechlorinator intensity

S = organic substrate concentration

เนื่องจาก “S” มีค่าสูงมากเมื่อเทียบกับ “K_S” และความเข้มข้นของเฮกซะคลอโรเบนซิน และ “X” มีการเปลี่ยนแปลงน้อยมากสำหรับการย่อยสลายทางชีวภาพแบบไร้อากาศ สมการที่ 4.1 จึงสามารถดัดแปรได้เป็น

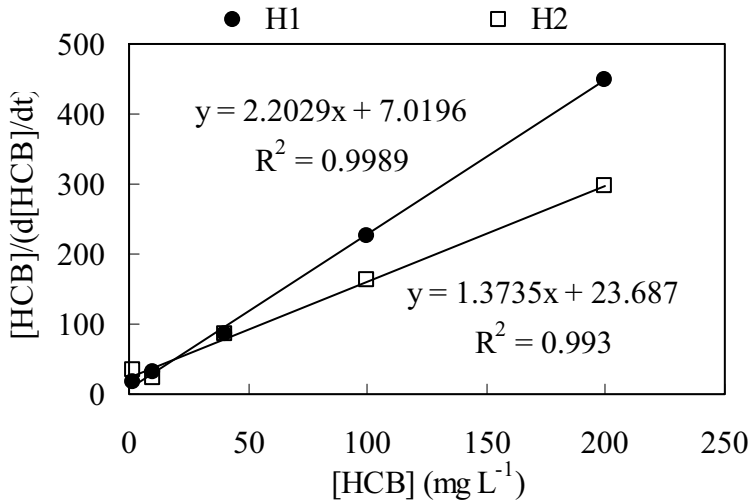
$$\frac{d[HCB]}{dt} = -\left(\frac{k'_m [HCB]}{K_{HCB} + [HCB]}\right) \quad (4.2)$$

โดย k'_m = maximum apparent dechlorination rate of HCB

เมื่อทำการจัดรูปแบบสมการใหม่และใช้ Hanes Linearization Method จะได้สมการที่ 4.3 ซึ่งเมื่อนำไปวาดกราฟจะได้เส้นตรงดังรูปที่ 4.5

$$\frac{[HCB]}{\left(-\frac{d[HCB]}{dt}\right)} = \frac{[HCB]}{k'_m} + \frac{K_{HCB}}{k'_m} \quad (4.3)$$

จากรูปที่ 4.5 จะได้ค่า “k'_m”, “K_{HCB}” และ “R^2” เท่ากับ 0.45 มิลลิกรัมต่อลิตรต่อวัน, 3.2 มิลลิกรัมต่อลิตร และ 0.993 สำหรับ Site A3 และ 0.73 มิลลิกรัมต่อลิตรต่อวัน, 17.2 มิลลิกรัมต่อลิตร และ 0.999 สำหรับ Site A4 ตามลำดับ ค่าจลนพลศาสตร์ “k'_m” และ “K_{HCB}”ที่ได้นี้สูง



รูปที่ 4.5 เส้นตรงแสดงความสัมพันธ์ตามสมการของ Hanes

กว่าของ Pavlostathis และ Prytula (2000) ประมาณ 30-50 และ 178-480 เท่าตามลำดับ ทั้งนี้คาดว่าเป็นผลมาจากความแตกต่างของเผ่าพันธุ์จุลชีพที่มีอยู่ในน้ำตะกอนโดยในกรณีของ Pavlostathis และ Prytula (2000) นั้นจะมีจุลชีพที่สามารถลดคลอรีนของเฮกซะคลอโรเบนซินในกลุ่มที่ไม่ได้เป็นเมธาโนเจน แต่ในงานวิจัยครั้งนี้พบจุลชีพที่ลดคลอรีนทั้งกลุ่มที่เป็นเมธาโนเจนและไม่ใช่เมธาโนเจนร่วมกันอยู่

4.2.2 ผลการศึกษาในตะกอนเหลว

ผลการศึกษาที่ผ่านมาในน้ำตะกอนพบว่าเฮกซะคลอโรเบนซินสามารถถูกย่อยสลายทางชีวภาพได้เป็นอย่างดี ชี้ให้เห็นว่าหากจุลชีพในธรรมชาติของประเทศไทยมีโอกาสสัมผัสหรือดูดซึมเฮกซะคลอโรเบนซินแล้ว จะสามารถผลิตเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการย่อยสลายเฮกซะคลอโรเบนซินได้ อย่างไรก็ดีสภาวะที่เกิดขึ้นในธรรมชาตินั้น เฮกซะคลอโรเบนซินจะดูดซับ ๆไปบนตะกอนของแข็งในน้ำภายใต้สภาวะที่มีปริมาณของแข็งสูงกว่าน้ำตะกอน คณะทำงานจึงได้ทดสอบการลดคลอรีนภายใต้สภาวะที่มีปริมาณของแข็งดูดซับสูงเช่นในตะกอนเหลวเพื่อศึกษาถึง bioavailability ของเฮกซะคลอโรเบนซินที่มีต่อจุลชีพ ผลการลดคลอรีนได้แสดงไว้ในตารางที่ 4.10 ซึ่งพบว่าจุลชีพในตะกอนเหลวยังคงลดคลอรีนของเฮกซะคลอโรเบนซินได้อย่างมีประสิทธิภาพ โดยเวลาที่พบเพนตะคลอโรเบนซินไม่แตกต่างจากในกรณีของน้ำตะกอน (ตารางที่ 4.4) เท่าใดนัก แต่เวลาที่ใช้ในการย่อยสลาย 2 มิลลิกรัมต่อลิตรของเฮกซะคลอโรเบนซินทั้งหมดมีแนวโน้มสูงขึ้นในกรณีของตะกอนเหลว ซึ่งน่าจะเป็นผลมาจากในตะกอนเหลวมีของแข็งให้ดูดซับมากกว่า การดึงเฮกซะคลอโรเบนซินของจุลชีพจึงเกิดขึ้นได้ยากกว่าและช้ากว่า ที่น่าสังเกตอีกกรณีหนึ่งคือตรวจพบ 1,2,4-ไตรคลอโรเบนซินซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์จากกลไกการย่อยสลายรองในเกือบทุกตัวอย่างของตะกอนเหลวซึ่งต่างจากในกรณีของน้ำตะกอนที่ส่วนใหญ่จะพบ 1,3,5-ไตรคลอโรเบนซินเป็นผลิตภัณฑ์จากการย่อยสลายเฮกซะคลอโรเบนซินเท่านั้น ชี้ให้เห็นเป็นนัยว่าจุลชีพกลุ่มที่สามารถย่อยสลายเพนตะคลอโรเบนซินเป็น 1,2,4,5-เตตระคลอโรเบนซินและเป็น 1,2,4-ไตรคลอโรเบนซินตามลำดับน่าจะมีอัตราการเจริญเติบโตที่ช้ากว่ากลุ่มที่ย่อยเพนตะคลอโรเบนซินเป็น 1,2,3,5-เตตระคลอโรเบนซินและเป็น 1,3,5-ไตรคลอโรเบนซินตามลำดับ ดังนั้นในกรณีของตะกอนเหลวที่มีพื้นที่ดูดซับมากกว่าน้ำตะกอน เพนตะคลอโรเบนซินจึงถูกย่อยสลายอย่างจำกัดและเกิดขึ้นอย่างช้า ๆจนทำให้จุลชีพกลุ่มที่ย่อยสลายผ่านทางกลไกรองสามารถเจริญเติบโตได้ทันหรือสร้างความไวปฏิกิริยา (activity) จนมีส่วนร่วมในการลดคลอรีนของเพนตะคลอโรเบนซิน

ตารางที่ 4.10 การลดคลอรีนของ 2 มิลลิกรัมต่อลิตรของเฮกซะคลอโรเบนซินด้วยตะกอนเหลว

Site	Time to detect intermediates/products (days)					HCB-complete dechlorination (days)
	QCB	1,2,3,5-/1,2,4,5-TeCB	1,3,5-TCB	1,2,4-TCB	1,4-DCB	
B1	28	28	28	49	ND	77
B2	ND	ND	49	63	ND	63
B3	28	ND	49	77	ND	77
B4	28	63	63	63	ND	91
D1	49	63	63	77	ND	91
D2	49	ND	63	63	119	91
D3	28	49	49	77	ND	91
D4	49	49	49	ND	ND	63
G1	14	49	49	63	ND	77
H1	14	28	49	ND	ND	77
H2	28	ND	49	77	ND	77
I1	14	49	49	77	ND	119
J1	28	49	49	63	ND	77
J2	14	ND	49	ND	ND	119

หมายเหตุ: -ND คือตรวจไม่พบ

4.2.3 ผลการศึกษาในแบบจำลองลำน้ำ

จากผลการศึกษาที่ผ่านมาพบว่าเฮกซะคลอโรเบนซินสามารถถูกย่อยสลายได้ทั้งในน้ำตะกอนและตะกอนเหลว คณะทำงานจึงได้ศึกษาในเชิงลึกโดยการจำลองสภาพการปนเปื้อนของเฮกซะคลอโรเบนซินในตะกอนก้นลำน้ำโดยใช้ตู้ปลาขนาดใหญ่ 2 ชุด ชุดหนึ่งบรรจุตะกอนที่ผสมกับเฮกซะคลอโรเบนซินบรรจุในภาชนะเปิดวางไว้ด้านล่างของตู้ปลาโดยมีชั้นตะกอนที่ไม่มีเฮกซะคลอโรเบนซินปนเปื้อนปิดทับอยู่ 10 เซนติเมตรและมีชั้นน้ำไหลอยู่เหนือชั้นตะกอนอีก 10 เซนติเมตร (จำลองสภาพของลำน้ำ) ส่วนตู้ปลาอีกชุดเป็นที่เก็บน้ำเพื่อใช้ในการหมุนเวียนน้ำเหนือชั้นตะกอน ปริมาณของเฮกซะคลอโรเบนซินที่ใช้เท่ากับ 5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมแห้งของตะกอนโดยใช้ตะกอนผสมจาก Sites A3 และ A4 ตะกอนเปียกมีสัดส่วนของแข็งอยู่เท่ากับร้อยละ 34 โดยเป็นของแข็งที่ระเหยง่ายเท่ากับร้อยละ 3.5 ผลการศึกษาพบว่าเฮกซะคลอโรเบนซินเริ่มถูกย่อยสลายในวันที่ 21 และถูกย่อยหมดสิ้นใน 9 สัปดาห์ และไม่พบผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากการย่อยสลายเฮกซะคลอโรเบนซินในชั้นตะกอนด้านบนที่ไม่มีเฮกซะคลอโรเบนซินปนเปื้อนและชั้นน้ำด้านบนสุดเลย ชี้ให้เห็นว่าเฮกซะคลอโรเบนซินน่าจะสามารถย่อยสลายภายใต้สภาวะไร้