บทที่ 6

อภิปรายผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

จากผลการวิจัยที่สรุปว่า ราไอโซเลต W2 เป็นราที่มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายสารเอ็นโดซัลแฟน ซึ่งเมื่อนำมาบ่งชี้ชนิดโดยการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ในยีนที่ประมวลรหัสตำแหน่ง ITS พบว่า เป็นราไวต์รอตที่มีความคล้ายคลึงกับราในสกุล *Trametes* โดยราในสกุลดังกล่าว รวมทั้งในสกุลอื่นๆ ที่อยู่ในกลุ่มของราไวต์รอตนั้น มีความสามารถในการย่อยสลายมวลสารโมเลกุลสูง และสารที่มีโครงสร้างซับซ้อนได้ (Akhtar, Kirk และ Blanchette, 1999) ด้วยเหตุนี้จึงมีการนำราไวต์รอตมาใช้ในการเปลี่ยนโครงสร้างสารประกอบบางชนิดเพื่อไม่ให้เป็นอันตรายต่อสิ่งแวดล้อม โดยราไวต์รอตที่ได้รับความสนใจเพื่อนำมาศึกษาถึงการใช้ประโยชน์ในการบำบัดฟื้นฟูทางชีวภาพ (bioremediation) ได้แก่ *Trametes versicolor, Trametes trogii, Trametes hirsute*, *Phanerochaete chrysosporium* และ *Pleurotus pulmonarius* (Boopathy, 2000; Mechichi, Mhiri และ Sayadi, 2006; Abadulla และคณะ, 2000) ทั้งนี้ ลักษณะพิเศษที่ทำให้ราไวต์รอตสามารถย่อยสลายมวลสารโมเลกุลสูงได้ เนื่องจากสามารถผลิต extracellular enzyme ที่เข้าไปทำลายโครงสร้างที่ซับซ้อนของสาร โดยเอนไซม์ดังกล่าว ได้แก่ Lignin peroxidase, Manganese peroxidase และ Laccase (Hatakka, 1994)

ในงานวิจัยที่ได้มีการศึกษาเกี่ยวกับการย่อยสลายเอ็นโดซัลแฟนโดยราไวต์รอต แล้วพบว่ามีประสิทธิภาพในการย่อยสลายได้ดี ได้แก่ การใช้ราสายพันธุ์ *Phanerochaete chysosporium* (Kullman และ Matsumura, 1996) และ *Pleurotus pulmonarius* (Hernandez-Rodriguez และคณะ, 2006) ดังนั้นในงานวิจัยนี้ที่มีการพบว่า ราไวต์รอตไอโซเลต W2 ซึ่งเป็นราในกลุ่ม *Trametes* มีความสามารถในการย่อยสลายเอ็นโดซัลแฟนได้เช่นกัน จึงนับว่าข้อมูลใหม่เป็นซึ่งอาจมีประโยชน์ในการศึกษาเชิงลึกต่อไป ทั้งนี้ นอกจากราในกลุ่มไวต์รอต ยังมีราสายพันธุ์อื่นๆ ที่มีรายงานว่ามีความสามารถในการย่อยสลายเอ็นโดซัลแฟนได้ ได้แก่ *Trichoderma harzianum* (Katayama และ Matsumura, 1993), *Aspergillus niger* (Mukherjee และ Gopal, 1994), *Mucor thermohyalospora* MTCC 1384 (Shetty และคณะ, 2000), *Fusarium ventricosum* (Siddique และคณะ, 2003), *Aspergillus terreus* และ *Cladosporium oxysporum* (Mukherjee และ Mittal, 2005) ซึ่งราแต่ละชนิด ต่างก็มีข้อจำกัดในการย่อยสลายเอ็นโดซัลแฟนในอัตราที่มากน้อยแตกต่างกันไป ขึ้นอยู่กับปัจจัยต่างๆ เช่น ปริมาณความเข้มข้นของสาร แหล่งคาร์บอน ค่าความเป็นกรด-ด่างของสิ่งแวดล้อมหรืออาหารเลี้ยงเชื้อ เป็นต้น (Awasthi, Ahuja และ Kumar, 2000) ทั้งนี้ จากการศึกษาข้อจำกัดของราไอโซเลต W2 พบว่า ไม่สามารถย่อยสลายเอ็นโดซัลแฟนที่ความเข้มข้น 100 และ 200 มิลลิกรัมต่อลิตรได้ อาจเป็นผลเนื่องมาจากความเข้มข้นของสาร

ดังกล่าวในอาหารเลี้ยงเชื้อมีปริมาณสูงเกินกว่าระดับที่รา W2 จะยอมรับได้ จนอาจทำให้เกิดความเป็นพิษต่อเซลล์ หรืออาจเกิดจากคุณสมบัติทางกายภาพของเอ็นโดซัลแฟน ซึ่งเป็นสารที่มีสภาพการละลายน้ำได้ในระดับต่ำ (0.32 มิลลิกรัมต่อลิตร) (Oregon State University, 1996) เมื่อนำมาทดสอบในปริมาณความเข้มข้นที่สูง ราจึงมีการนำเอ็นโดซัลแฟนไปใช้ได้อย่างไม่เต็มที่ หรืออาจเกิดจากระยะเวลาที่รา W2 ต้องการใช้ในการปรับตัวให้เข้ากับสภาวะที่มีสารแปลกปลอมอย่างเอ็นโดซัลแฟนที่มีความเข้มข้นสูงนั้น นานกว่า 30 วัน ซึ่งในการทดลองนี้ได้ทำการสังเกตผลภายในระยะเวลา 30 วัน จึงอาจทำให้ไม่เห็นผลภายในระยะเวลาที่กำหนด

ปัจจัยเรื่องค่าความเป็นกรด-ด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อ ดังที่ได้ผลว่า สภาวะที่มีค่า pH 4 นั้น ราไอโซเลต W2 ไม่เกิดการย่อยสลายเอ็นโดซัลแฟน อาจเนื่องมาจากคุณสมบัติเฉพาะของราที่ไม่สามารถเจริญเติบโตได้ในสภาวะที่มีความเป็นกรดสูงเกินไป เป็นผลให้ไม่เกิดการสร้างเอนไซม์เพื่อการย่อยสลายสาร (กรรณิการ์ ชูเกียรติวัฒนา, 2543) นอกจากนี้ อาจเป็นเพราะคุณสมบัติเฉพาะอีกประการหนึ่งของเอ็นโดซัลแฟน ที่มีความคงทนในสภาพที่เป็นกรดสูงมากกว่าสภาพที่เป็นกลางหรือเป็นเบส (German Federal Environment Agency, 2004) ดังนั้น ค่า pH ของอาหารเลี้ยงเชื้อที่เท่ากับ 4 จึงช่วยสนับสนุนให้เอ็นโดซัลแฟนมีคงทนได้นาน และไม่ถูกย่อยสลายโดยรา W2

ส่วนปัจจัยที่เกิดจากความแตกต่างของปริมาณความเข้มข้นของกลูโคสที่ให้ผลว่า ระดับความเข้มข้นของกลูโคสที่ 2 เปอร์เซ็นต์ ทำให้เกิดอัตราการย่อยสลายได้สูงกว่าที่ระดับกลูโคส 0.5 เปอร์เซ็นต์ อาจอธิบายได้ว่า ตามปกติกลูโคสในอาหารเลี้ยงเชื้อจะถูกรานำไปใช้เป็นแหล่งคาร์บอนเพื่อสร้างการเจริญเติบโต และนำไปสู่การสร้างเอนไซม์ที่เหมาะสมต่อการย่อยสลายเอ็นโดซัลแฟน (Tanzer และคณะ, 2003) ดังนั้น ณ ระดับหนึ่ง ที่มีสภาวะความเข้มข้นของแหล่งคาร์บอนมากกว่าย่อมสนับสนุนให้รามีอัตราการเจริญเติบโตที่สูงกว่า ซึ่งเป็นผลต่อโอกาสที่ราจะสามารถย่อยสลายสารได้ในอัตราที่สูงกว่าเช่นกัน (Chualaksananukul และคณะ, 2006)

ผลจากการตรวจวัดค่าความเป็นกรด-ด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อ Czapek's Dox medium ณ วันสุดท้ายของการบ่มเชื้อที่พบว่า มีค่าสูงขึ้นเป็น 8.5 นับจากค่าความเป็นกรด-ด่างเริ่มต้นที่เท่ากับ 7 นั้น อาจเนื่องมาจากรา W2 มีการใช้ซัลเฟอร์ซึ่งเป็นองค์ประกอบของเอ็นโดซัลแฟนเพื่อเป็นแหล่งพลังงาน จนทำให้โครงสร้างที่มีลักษณะเป็นวงแหวนของเอ็นโดซัลแฟนแตกออก และสนับสนุนให้ปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสในอาหารเลี้ยงเชื้อเกิดขึ้นตามมา ซึ่งนำมาสู่การเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของเอ็นโดซัลแฟนไปเป็นสารเมทาโบไลท์รูปเอ็นโดซัลแฟนไดออล ที่มีคุณสมบัติเป็นเบสและส่งผลให้ค่าความเป็นกรด-ด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อเปลี่ยนแปลงไปในลักษณะดังกล่าว (Greve และ Wit, 1971)

ข้อเสนอแนะ

แนวทางการวิจัยนี้ เป็นการนำเสนอวิธีทางชีวภาพมาใช้ในการบำบัดการตกค้างปนเปื้อนของเอ็นโดซัลแฟน ซึ่งถือเป็นทางเลือกที่คำนึงถึงสิ่งแวดล้อม แต่อย่างไรก็ตาม สมควรที่จะต้องพิจารณาถึงเหตุผลทางด้านเศรษฐศาสตร์ ความคุ้มค่าในการใช้ประโยชน์ ควบคู่ไปกับความเป็นไปได้ที่จะนำไปใช้จริงในสิ่งแวดล้อม โดยอาจวางแผนการทดลองทดสอบความสามารถในการย่อยสลายในดินที่มีการปนเปื้อนของเอ็นโดซัลแฟน เพื่อการศึกษาถึงสภาวะอื่นๆ ที่มีผลต่ออัตราการย่อยสลาย หรืออาจนำราที่คัดเลือกได้มาประยุกต์ใช้ร่วมกับเทคโนโลยีอื่นๆ ด้านวิศวกรรม เพื่อให้มีประสิทธิภาพสูงสุด และใช้เวลาในการบำบัดได้รวดเร็วขึ้น ในส่วนของงานวิจัยควรมีการศึกษาในเชิงลึก ถึงกลไกการทำงานของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการย่อยสลายเอ็นโดซัลแฟนของรา เช่น การศึกษาถึงชนิดเอนไซม์ที่ราผลิตขึ้นเพื่อใช้ในการย่อยสลายเอ็นโดซัลแฟน หรืออาจมีการนำราที่มีความสามารถในการย่อยสลายเอ็นโดซัลแฟน ไปย่อยสลายมวลสารโมเลกุลสูงหรือสารกำจัดแมลงศัตรูพืชชนิดอื่นๆ ที่ตกค้างปนเปื้อน และมีความเป็นพิษต่อสิ่งแวดล้อม