การย่อยสลายสารไตรบิวทิลทินและสารอนุพันธ์ด้วยแบคทีเรียเดี่ยวและแบคทีเรียผสมภายใต้สภาวะที่มีซัลเฟตสูง

Degradation of Tributyltin and Derivatives by Single and Mixed Bacteria with High Concentration of Sulfate

สุบัณฑิต นิ่มรัตน์[1*] ปานจิต มีเพียร[2] วีรพงศ์ วุฒิพันธุ์ชัย[3]

[1] ภาควิชาจุลชีววิทยาและโครงการวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา ชลบุรี 20131
[2] ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา ชลบุรี 20131
[3] ภาควิชาวาริชศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา ชลบุรี 20131
*Corresponding author; E-mail: subunti@buu.ac.th

บทคัดย่อ

ไตรบิวทิลทินเป็นสารเคมีที่มีพิษร้ายแรงต่อสิ่งมีชีวิตที่อาศัยอยู่ในน้ำซึ่งถูกสังเคราะห์มาเพื่อใช้เป็นสารกันเพรียง สารเคลือบไม้ สารคงตัวในพลาสติกและยังใช้ประโยชน์อื่น ๆ อีกมากมาย แต่เนื่องจากไตรบิวทิลทินมีความเป็นพิษและพบว่าสะสมในสิ่งมีชีวิตในน้ำ ดังนั้นในการวิจัยครั้งนี้เป็นการศึกษาหาความสามารถในการย่อยสลายสารละลายที่มีสารไตรบิวทิลทิน ไดบิวทิลทินและโมโนบิวทิลทินของแบคทีเรียที่แยกมาจากดินตะกอนที่ปนเปื้อนสารไตรบิวทิลทินภายใต้สภาวะที่มีซัลเฟตในปริมาณสูง ผลการทดลองพบว่าแบคทีเรียเดี่ยวสายพันธุ์ TBT-BUU 006 TBT-BUU 007 TBT-BUU 011 TBT-BUU 012 และ TBT-BUU 013 ไม่สามารถเจริญในสารละลายที่มีสารไตรบิวทิลทิน ไดบิวทิลทินและโมโนบิวทิลทิน ณ ความเข้มข้น 10 ไมโครกรัม/ลิตร ส่วนแบคทีเรียผสมสามารถเจริญได้ในสารไตรบิวทิลทิน ไดบิวทิลทิน และโมโนบิวทิลทิน ณ ความเข้มข้น 2.5 ไมโครกรัม/ลิตร โดยใช้เวลาในการปรับตัวประมาณ 1 วัน และพบการเจริญสูงสุดในสารละลายที่มีสารไตรบิวทิลทิน ในวันที่ 2 ของการทดลอง (0.038 A.U.) ส่วนการเจริญในสารไดบิวทิลทินและโมโนบิวทิลทินของแบคทีเรียผสมพบว่าเจริญสูงสุดในวันที่ 3 ของการทดลอง คือ 0.0110 และ 0.038 A.U. ตามลำดับ ดังนั้นสรุปได้ว่าแบคทีเรียผสมกลุ่มนี้น่าจะมีความสามารถในการย่อยสลายสารไตรบิวทิลทินและสารอนุพันธ์ภายใต้สภาวะที่มีซัลเฟตสูงได้

คำสำคัญ: การย่อยสลาย ไตรบิวทิลทิน ไดบิวทิลทิน โมโนบิวทิลทิน

Abstract

Tributyltin (TBT) is one of organotins which is very toxic to aquatic organisms, synthesis for antifouling in paints, wood preservative, plastic stabilizer and so on. TBT was toxic and bioaccumulated in aquatic organisms. In this study, TBT, dibutyltin (DBT) and monobutyltin (MBT) degrading bacteria were isolated from TBT contaminated sediments under aerobic conditions with high concentrations of sulfate. Results demonstrated that pure cultures of strains TBT-BUU 006, TBT-BUU 007, TBT-BUU 011, TBT-BUU 012 and TBT-BUU 013 were not capable of growth in 10 μg/L of TBT, DBT or MBT. However, mixed cultures of all isolated strains were capable of growing in TBT, DBT and MBT at the concentration 2.5 μg/L with 1 day of acclimation period. The highest growth of mixed cultures in 2.5 μg/L of TBT found in day 2 (0.0380 A.U.), while highest growth in 2.5 μg/L of DBT and MBT were 0.011 and 0.038 A.U., respectively. Results concluded that mixed bacteria of all isolated strains could have potential to degrade TBT and its metabolites with high concentration of sulfate.

Keywords: Degradation, Tributyltin, Dibutyltin, Monobutyltin

บทนำ

ไตรบิวทิลทินเป็นสารกลุ่มที่ใช้กันอย่างแพร่หลายในอุตสาหกรรม เช่น สีกันการยึดเกาะของเพรียง สารเพิ่มความคงตัวและสารฆ่าแมลงซึ่งทำให้มีการปนเปื้อนไปสู่สิ่งแวดล้อม [1-12] การใช้ไตรบิวทิลทินในสีกันการยึดเกาะของเพรียงทำให้เกิดการปนเปื้อนของสารประกอบไตรบิวทิลทินลงสู่แหล่งน้ำในสิ่งแวดล้อมประมาณ 95 % ของไตรบิวทิลทินในน้ำจะเกาะติดกับอนุภาคแขวนลอยและแพลงค์ตอน นอกจากปริมาณที่ตกค้างในน้ำจะอยู่ในรูปที่เกาะติดกับอนุภาคของสารอินทรีย์และสารอนินทรีย์สูงพบว่าสารไตรบิวทิลทินในดินตะกอนมีปริมาณที่สูงมากกว่าในน้ำ [2,13-15]

จากการศึกษาเกี่ยวกับผลกระทบของไตรบิวทิลทินในทะเลและน้ำบริเวณใกล้ชายฝั่งทะเลพบว่าสารไตรบิวทิลทินในระบบนิเวศน์น้ำทะเลและน้ำจืด พบว่าการย่อยสลายไตรบิวทิลทินโดยวิธีทางกายภาพ เช่น การย่อยสลายด้วยแสง (Photolysis), การย่อยสลายที่เกี่ยวข้องกับพันธะเคมี (Chemical cleavage) และการย่อยสลายที่เกี่ยวข้องกับอุณหภูมิ (Thermal cleavage) ทำให้ไตรบิวทิลทินในธรรมชาติลดลงเล็กน้อย ถึงแม้ว่า แสงอัลตราไวโอเลตจะย่อยสลายไตรบิวทิลทินได้ แต่ปริมาณแสงที่ส่องผ่านลงในมหาสมุทรมีน้อยมาก ดังนั้นขบวนการย่อยสลายแบบนี้จึงแทบไม่มีผลต่อการลดลงของความเข้มข้นของสารไตรบิวทิลทินเลย ส่วนการย่อยสลายด้วยวิธีทางชีวภาพโดยใช้จุลินทรีย์ เช่น สาหร่าย แบคทีเรีย ราและแบคทีเรียที่สามารถย่อยสลายไตรบิวทิลทินในน้ำและดินตะกอนในสิ่งแวดล้อมได้ถือเป็นวิธีหนึ่งที่ประสบผลสำเร็จ [11] โดยผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการย่อยสลาย คือ ไดบิวทิลทินและโมโนบิวทิลทินและสุดท้ายโมโนบิวทิลทินจะถูกเปลี่ยนรูปไปเป็นสารอนินทรีย์ดีบุก (Inorganic tin)

แม้ว่าการย่อยสลายไตรบิวทิลทินโดยจุลินทรีย์จะเป็นปฏิกิริยาที่สำคัญในการลดความเป็นพิษของสารไตรบิวทิลทินแต่การย่อยสลายไตรบิวทิลทินด้วยวิธีนี้ก็มีข้อจำกัดคือ ความเข้มข้นของไตรบิวทิลทินและความสามารถในการทนต่อไตรบิวทิลทินของจุลินทรีย์ จากการศึกษาที่ผ่านมา

พบว่าการย่อยสลายสารไตรบิวทิลทิน ไดบิวทิลทินหรือโมโนบิวทิลทินของแบคทีเรียแกรมลบคือ *Pseudomonas aeruginosa* และ *Alcaligenes faecalis* สามารถย่อยสลาย สามารถย่อยสลายไตรบิวทิลทินไปเป็นโมโนบิวทิลทินเป็นผลิตภัณฑ์สุดท้าย ส่วนรายงานการวิจัยเกี่ยวกับการย่อยสลายโมโนบิวทิลทินเป็นสารอนินทรีย์ดีบุกมีน้อยมากและมีรายงานหนึ่งพบว่าสาหร่ายสีเขียว *Ankistrodesmus falcatus* สามารถย่อยสลายโมโนบิวทิลทินเป็นสารอนินทรีย์ดีบุกได้ในปริมาณเล็กน้อยเมื่อบ่มไว้ 28 วัน [11] และจุลินทรีย์กลุ่มที่ใช้ออกซิเจนที่เจริญในสภาวะที่มีสารซัลเฟตปริมาณสูงยังมีการค้นพบได้น้อย

ดังนั้นในการวิจัยครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อแยกแบคทีเรียที่มีความสามารถในการย่อยสลายไตรบิวทิลทิน ไดบิวทิลทินและ/หรือโมโนบิวทิลทินภายใต้สภาวะต่าง ๆ เพื่ออาจจะนำเอาแบคทีเรียเหล่านี้ไปใช้ประโยชน์ต่อไปในด้านการฟื้นฟูสภาพแวดล้อมในบริเวณที่มีการปนเปื้อนด้วยสารไตรบิวทิลทิน ไดบิวทิลทินและ/หรือโมโนบิวทิลทินในสภาวะต่าง ๆ ต่อไป

วิธีการทดลอง

2.1 การแยกและคัดเลือกแบคทีเรียบริสุทธิ์ [18]

นำดินตะกอนจากแหล่งที่มีการปนปื้อนของสารไตรบิวทิลทินมาทำการแยกแบคทีเรียที่สามารถย่อยสลายสารไตรบิวทิลทินหรือไดบิวทิลทินหรือโมโนบิวทิลทินบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีไตรบิวทิลทินหรือไดบิวทิลทินหรือโมโนบิวทิลทินเป็นแหล่งคาร์บอนและพลังงาน จากนั้นทำการคัดเลือกแบคทีเรียที่สามารถเจริญได้ในอาหารที่มีการเติมสารไตรบิวทิลทินหรือไดบิวทิลทินหรือโมโนบิวทิลทิน รวมทั้งนำดินตะกอนอีก 1 ชุดมาเติมสารละลายไตรบิวทิลทิน 2.5 ไมโครกรัม/ลิตร ต่อมานำ เพาะเลี้ยงอย่างต่อเนื่องในสารละลายที่มีไตรบิวทิลทิน 2.5 ไมโครกรัม/ลิตร จนไม่มีดินตะกอนหลงเหลือเพื่อนำมาใช้เป็นจุลินทรีย์ผสม

2.2 การย่อยสลายไตรบิวทิลทิน ไดบิวทิลทินและโมโนบิวทิลทินด้วยแบคทีเรียบริสุทธิ์

นำแบคทีเรียบริสุทธิ์ที่คัดเลือกได้มาศึกษาการย่อยสลายสารไตรบิวทิลทิน ไดบิวทิลทิน และโมโนบิวทิลทินภายใต้สภาวะที่ความเข้มข้นของซัลเฟตสูงเป็นระยะเวลา 14 วัน โดยทำการวัดการเจริญของแบคทีเรียในวันที่ 0 1 2 และ 14 ของการทดลอง โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 580 นาโนเมตร

2.3 การย่อยสลายไตรบิวทิลทิน ไดบิวทิลทินและโมโนบิวทิลทินด้วยแบคทีเรียผสม

เลี้ยงแบคทีเรียผสมที่คัดเลือกได้ภายใต้สภาวะที่ความเข้มข้นของซัลเฟตสูง โดยศึกษาการย่อยสลายสารไตรบิวทิลทิน ไดบิวทิลทิน และโมโนบิวทิลทินเป็นระยะเวลา 14 วัน โดยทำการวัดการเจริญของแบคทีเรียในวันที่ 0 1 2 3 9 และ 14 ของการทดลอง โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 580 นาโนเมตร

ผลการทดลอง

จากแหล่งที่มีการปนเปื้อนสารไตรบิวทิลทินสามารถแยกแบคทีเรียบริสุทธิ์ได้ทั้งหมด 15 ไอโซเลท และทำการคัดเลือกแบคทีเรียเพื่อนำไปศึกษาการย่อยสลายสารไตรบิวทิลทิน พบว่ามี 5 ไอโซเลท ที่สามารถเจริญในอาหารที่ผสมสารไตรบิวทิลทินได้ คือ สายพันธุ์ TBT-BUU 006 TBT-BUU 007 TBT-BUU 011 TBT-BUU 012 และ TBT-BUU 013 จะนำไปทดสอบความสามารถในการย่อยสลายสารไตรบิวทิลทิน ไดบิวทิลทินและโมโนบิวทิลทิน

การศึกษาการย่อยสลายสารไตรบิวทิลทินที่ความเข้มข้น 10 ไมโครกรัม/ลิตร พบว่าเมื่อวัดการเจริญในวันแรกจนกระทั่งวันสุดท้ายของการทดลองแบคทีเรียทั้ง 5 ไอโซเลท มีการเจริญที่ลดลง ณ วันสุดท้ายของการทดลอง โดยที่สายพันธุ์ที่มีร้อยละการลดลงสูงที่สุดคือ

TBT-BUU 007 ลดลงร้อยละ 96 รองลงมาคือ TBT-BUU 006 TBT-BUU 013 TBT-BUU 012 และ TBT-BUU 0011 ลดลงร้อยละ 93.33 80 60 และ 50 ตามลำดับ (Figure 1-5) ซึ่งในทุกชุดการทดลองมีการเจริญที่ต่ำกว่าชุดควบคุม

สำหรับการศึกษาการย่อยสลายสารไดบิวทิลทิน ที่ความเข้มข้น 10 ไมโครกรัม/ลิตร ของแบคทีเรียบริสุทธิ์ทั้ง 5 ไอโซเลท พบว่าแบคทีเรียมีแนวโน้มการเจริญลดลงเช่นเดียวกับการเพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีสารไตรบิวทิลทิน (Figure 6-10) พบว่าเมื่อวัดการเจริญในวันแรกจนกระทั่งวันสุดท้ายของการทดลองแบคทีเรียทั้ง 5 ไอโซเลท มีการเจริญที่ลดลง ณ วันสุดท้ายของการทดลอง โดยที่แบคทีเรียสายพันธุ์ที่มีร้อยละการลดลงสูงที่สุดคือ TBT-BUU 007 ลดลงร้อยละ 95.65 รองลงมาคือ TBT-BUU 006 TBT-BUU 013 TBT-BUU 011 และ TBT-BUU 0012 ลดลงร้อยละ 93.37 87.5 64.29 และ 40 ตามลำดับ ซึ่งการเจริญของแบคทีเรียแต่ละสายพันธุ์พบว่ามีการเจริญลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม

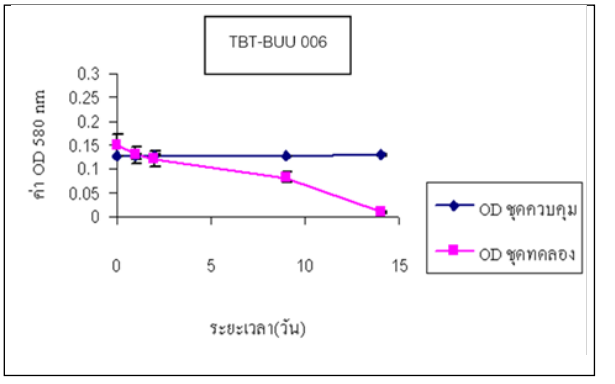

Figure 1. Growth of bacteria strain TBT-BUU 006 in degraded of 10 µg/L of tributyltin concentration

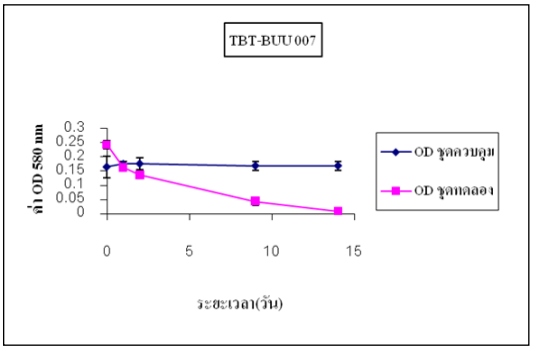

Figure 2. Growth of bacteria strain TBT-BUU 007 in degraded of 10 µg/L of tributyltin concentration

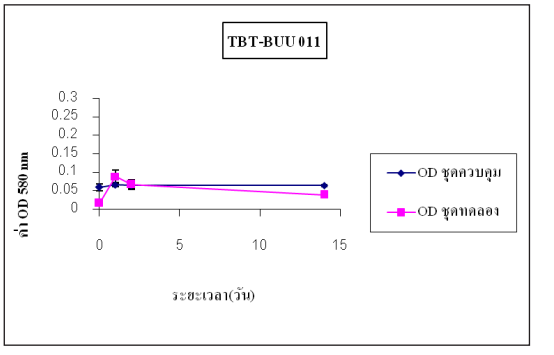

Figure 3. Growth of bacteria strain TBT-BUU 011 in degraded of 10 µg/L of tributyltin concentration

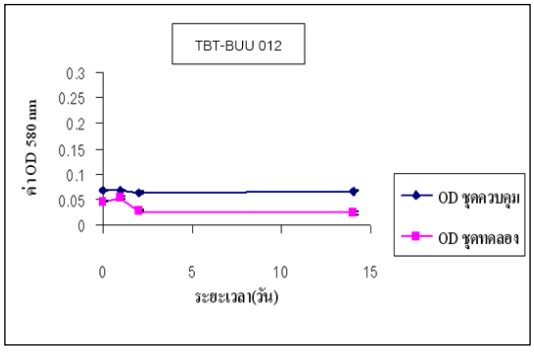

Figure 4. Growth of bacteria strain TBT-BUU 012 in degraded of 10 µg/L of tributyltin concentration

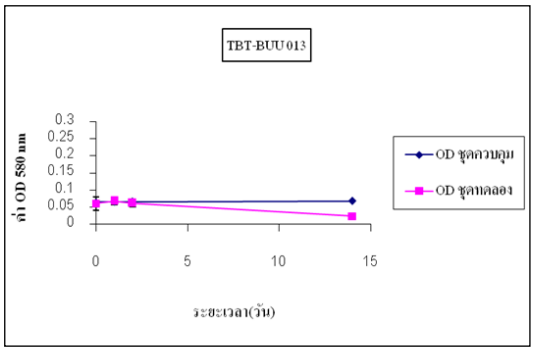

Figure 5. Growth of bacteria strain TBT-BUU 013 in degraded of 10 µg/L of tributyltin concentration

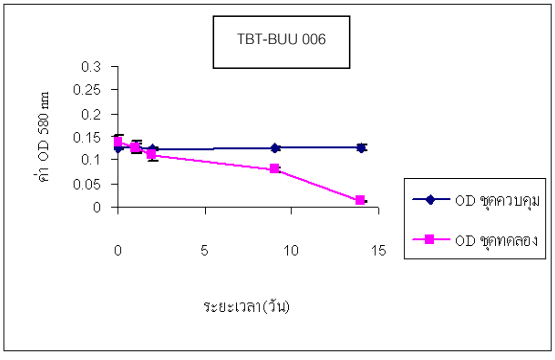

Figure 6. Growth of bacteria strain TBT-BUU 006 in degraded of 10 µg/L of dibutyltin concentration

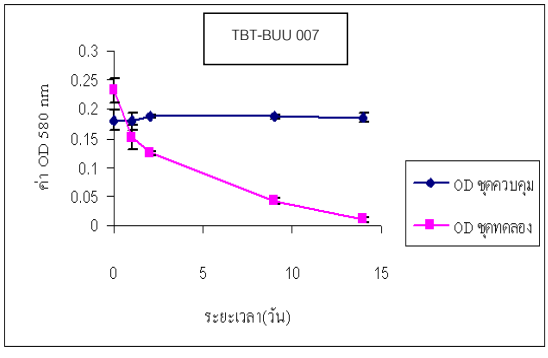

Figure 7. Growth of bacteria strain TBT-BUU 007 in degraded of 10 µg/L of dibutyltin concentration

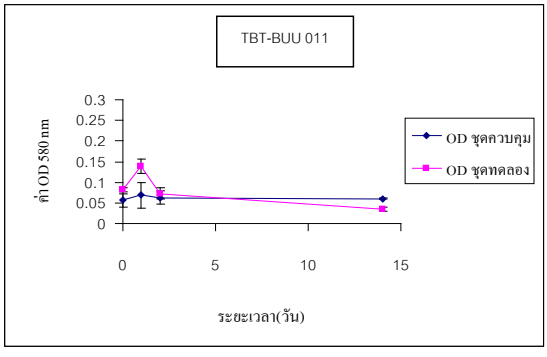

Figure 8. Growth of bacteria strain TBT-BUU 011 in degraded of 10 µg/L of dibutyltin concentration

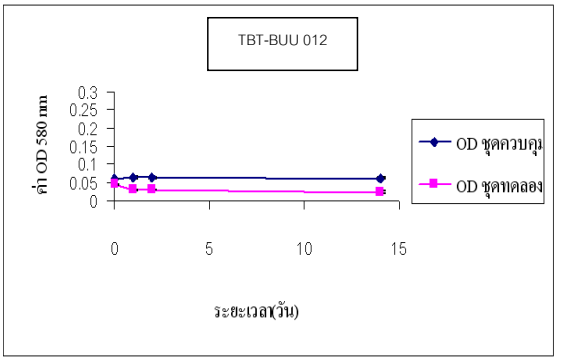

Figure 9. Growth of bacteria strain TBT-BUU 012 in degraded of 10 µg/L of dibutyltin concentration

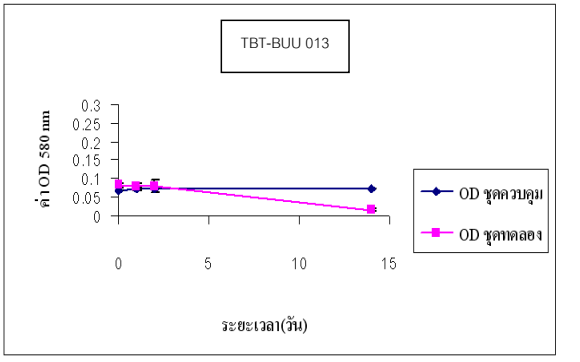

Figure 10. Growth of bacteria strain TBT-BUU 013 in degraded of 10 µg/L of dibutyltin concentration

และการศึกษาการย่อยสลายสารโมโนบิวทิลทินที่ความเข้มข้น 10 ไมโครกรัม/ลิตรของแบคทีเรียบริสุทธิ์ทั้ง 5 ไอโซเลท พบว่าแบคทีเรียมีการเจริญลดลง (Figure 11-15) เมื่อวัดการเจริญในวันแรกจนกระทั่งวันสุดท้ายของการทดลองแบคทีเรียทั้ง 5 ไอโซเลท มีการเจริญที่ลดลง ณ วันสุดท้ายของการทดลอง โดยแบคทีเรียสายพันธุ์ที่มีร้อยละการลดลงสูงที่สุดคือ TBT-BUU 007 ลดลงร้อยละ 95.65 รองลงมาคือ TBT-BUU 006 TBT-BUU 013 TBT-BUU 012 และ TBT-BUU 0011 ลดลงร้อยละ 93.33 75 71.43 และ 70 ตามลำดับ ซึ่งการเจริญของแบคทีเรียแต่ละสายพันธุ์ พบว่ามีการเจริญลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม

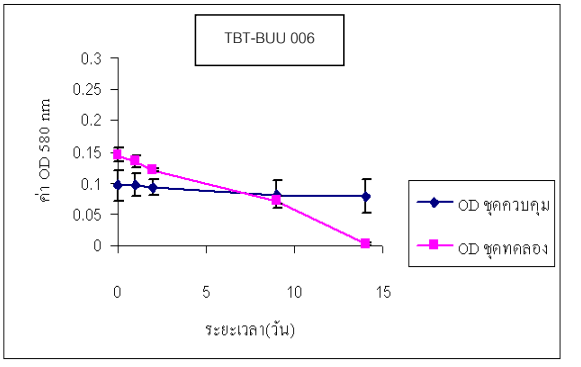

Figure 11. Growth of bacteria strain TBT-BUU 006 in degraded of 10 µg/L of monobutyltin concentration

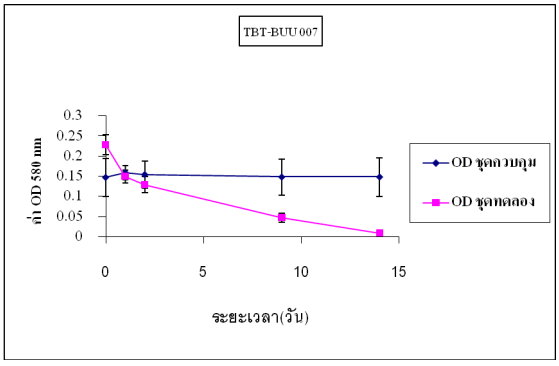

Figure 12. Growth of bacteria strain TBT-BUU 007 in degraded of 10 µg/L of monobutyltin concentration

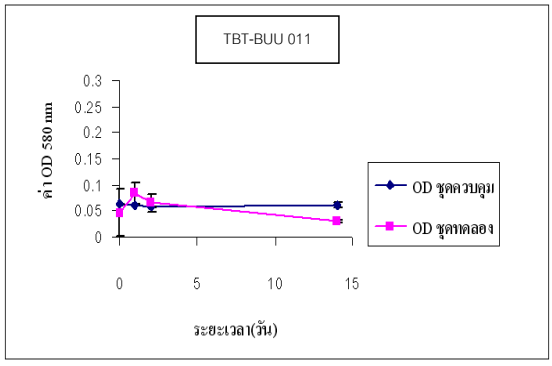

Figure 13. Growth of bacteria strain TBT-BUU 011 in degraded of 10 µg/L of dibutyltin concentration

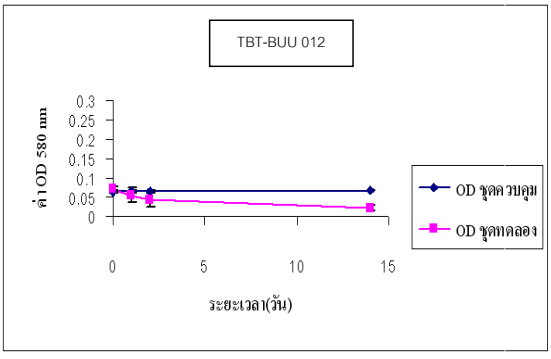

Figure 14. Growth of bacteria strain TBT-BUU 012 in degraded of 10 µg/L of monobutyltin concentration

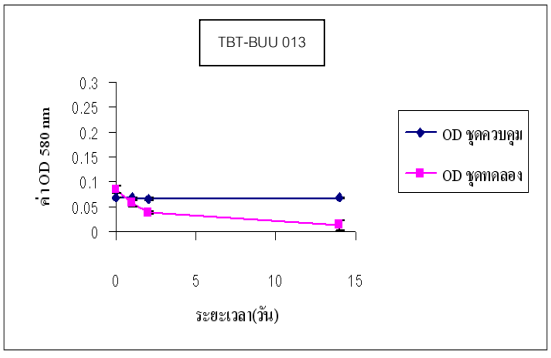

Figure 15. Growth of bacteria strain TBT-BUU 013 in degraded of 10 µg/L of dibutyltin concentration

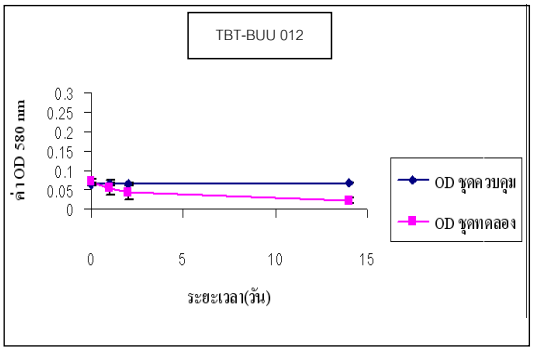

Figure 16. Growth of mixed bacteria in degraded of 2.5 µg/L of tributyltin concentration

การย่อยสลายสารไตรบิวทิลทิน ไดบิวทิลทิน และโมโนบิวทิลทินที่ความเข้มข้น 2.5 ไมโครกรัม/ลิตร ของแบคทีเรียผสม และวัดการเจริญของแบคทีเรียผสม โดยการวัดค่า OD ที่ 580 nm พบว่าแบคทีเรียมีการปรับตัวเป็นระยะเวลา1วันและหลังจากนั้นจะเริ่มมีการเจริญเพิ่มขึ้นในการย่อยสลายสารไตรบิวทิลทินแบคทีเรียสามารถเจริญได้อย่างรวดเร็วและเจริญได้สูงสุดในวันที่ 2 ของการทดลอง วัดการเจริญสูงสุดได้เท่ากับ 0.0400 A.U. จากนั้นจะเริ่มลดลงจนกระทั่งวันสุดท้ายของการทดลองมีค่าเป็น 0.0080 A.U. (Figure 16) เมื่อนำแบคทีเรียผสมมาทดสอบความสามารถในการย่อยสลายสารไดบิวทิลทินที่ความเข้มข้น 2.5 ไมโครกรัม/ลิตร พบว่าการเจริญของแบคทีเรียจะเพิ่มขึ้นในช่วงระยะเวลา 3 วันแรกของการทดลองโดยวัดการเจริญสูงสุดได้เท่ากับ 0.0110 A.U. และการเจริญเริ่มลดลงตั้งแต่วันที่ 4 จนกระทั่งสิ้นสุดการทดลองเหลือเท่ากับ 0.0020 A.U. (Figure 17) และจากการศึกษาสามารถในการย่อยสลายสารโมโนบิวทิลทิน ที่ความเข้มข้น 2.5 ไมโครกรัม/ลิตร พบว่าการเจริญของแบคทีเรียจะเพิ่มขึ้นในช่วงระยะเวลา 3 วันแรกของการทดลองเช่นเดียวกัน โดยวัดการเจริญสูงสุดได้เท่ากับ 0.0380 A.U. และเริ่มลดลงในวันที่ 4 (0.0380 A.U.) จนกระทั่งในวันสุดท้ายของการทดลองมีค่าเป็น 0.0090 A.U. (Figure 18) แต่อย่างไรก็ตามการเจริญของแบคทีเรียในแต่ละชุดการทดลองเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมพบว่าแบคทีเรียผสมมีการเจริญสูงกว่าชุดควบคุมตลอดระยะเวลาการทดลอง

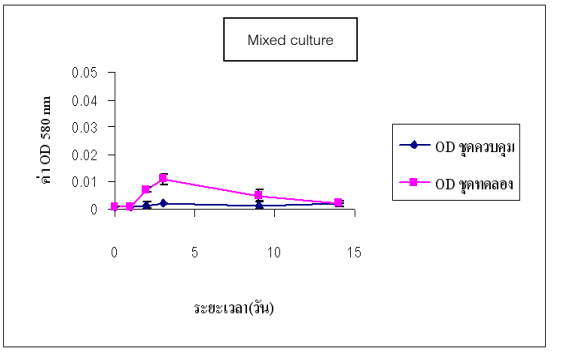

Figure 17. Growth of mixed bacteria in degraded of 2.5 μg/L of dibutyltin concentration

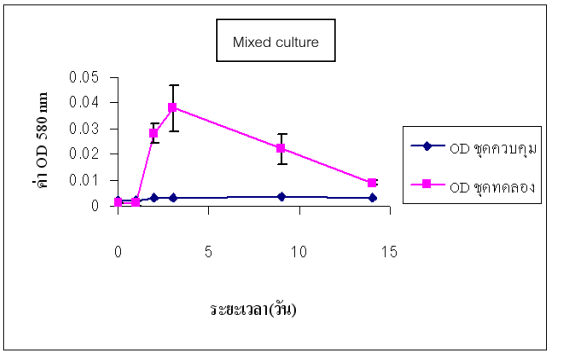

Figure 18. Growth of mixed bacteria in degraded of of 2.5 μg/L of monobutyltin concentration

อภิปรายผล

จากการศึกษาการย่อยสลายสารไตรบิวทิลทิน ไดบิวทิลทิน และโมโนบิวทิลทินภายใต้สภาวะที่มีความเข้มข้นของซัลเฟตสูงด้วยแบคทีเรียบริสุทธิ์และแบคทีเรียผสมที่แยกได้จากดินตะกอนที่มีการปนเปื้อนสารไตรบิวทิลทินและในการศึกษาครั้งนี้สามารถแยกแบคทีเรียบริสุทธิ์ได้ 15 ไอโซเลท และมีแบคทีเรีย 5 ไอโซเลทที่สามารถเจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อNutrientbroth คือ แบคทีเรียสายพันธุ์ TBT-BUU 006 TBT-BUU 007 TBT-BUU 011 TBT-BUU 012 และ TBT-BUU 013 จากการศึกษาการย่อยสลายสารไตรบิวทิลทินพบว่าเมื่อวัดการเจริญในวันแรกจนกระทั่งวันสุดท้ายของการทดลองแบคทีเรียทั้ง 5 ไอโซเลท มีการเจริญที่ลดลง การที่แบคทีเรียเจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient broth ที่เติมสารไตรบิวทิลทินความเข้มข้น 10 ไมโครกรัม/ลิตรได้

เนื่องจากมีปริมาณแบคทีเรียมากพอและมีสารอาหารที่จำเป็นต่อการเจริญครบถ้วนและแบคทีเรียสามารถทนต่อสารไตรบิวทิลทินซึ่งเป็นสารพิษได้จึงคาดว่าแบคทีเรียที่เจริญน่าจะมีความสามารถในการย่อยสลายสารไตรบิวทิลทินได้ จากการทดสอบความสามารถในการย่อยสลายสารไตรบิวทิลทิน ไดบิวทิลทิน และโมโนบิวทิลทินที่ความเข้มข้น 10 ไมโครกรัม/ลิตร ของแบคทีเรีย 5 ไอโซเลท ซึ่งในการทดลองนี้จะใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ BT medium ซึ่งเป็นอาหารที่ปราศจากแหล่งคาร์บอน ซึ่งในการทดลองนี้จะใช้สารไตรบิวทิลทิน ไดบิวทิลทิน และโมโนบิวทิลทินเป็นแหล่งคาร์บอนและแหล่งพลังงาน [19] จากการทดลองพบว่าแบคทีเรีย 5 ไอโซเลทนี้ไม่สามารถย่อยสลายสารไตรบิวทิลทิน ไดบิวทิลทิน และโมโนบิวทิลทินที่ความเข้มข้น 10 ไมโครกรัม/ลิตร อาจเนื่องจากมีปริมาณแบคทีเรียน้อยหรือสารไตรบิวทิลทิน ไดบิวทิลทิน และโมโนบิวทิลทินมีความเข้มข้นสูงเกินไปจึงไปยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียสอดคล้องกับการทดลองของ Kawai *et al.* ซึ่งได้ทำการทดลองศึกษาการย่อยสลายสารไตรบิวทิลทินโดยแบคทีเรียบริสุทธิ์และพบว่าที่ความเข้มข้นของไตรบิวทิลทิน 4 ไมโครกรัม/ลิตร ปริมาณเซลล์จะเพิ่มขึ้นในระยะเวลา 2 วันแรกจากนั้นจะเริ่มลดลงที่ความเข้มข้นของไตรบิวทิลทิน 20 ไมโครกรัม/ลิตร ปริมาณเซลล์จะลดลงเมื่อผ่านไป 1วัน และที่ความเข้มข้นของสารไตรบิวทิลทิน 40 ไมโครกรัม/ลิตร ปริมาณเซลล์จะลดลงเมื่อเวลาผ่านไป 4 ชั่วโมง จากการทดลองแสดงให้เห็นว่าสารไตรบิวทิลทินที่เติมลงไปสามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียแบคทีเรีย [20] นอกจากนี้ในรายงานของ Lascourreges *et al.* กล่าวว่าสารไตรออร์แกนิคทินน่าจะมีผลต่อเยื่อหุ้มเซลล์ของแบคทีเรียโดยจะเป็นอันตรายต่อกระบวนการสร้างพลังงานและความเป็นพิษของสารไตรบิวทิลทินต่อแบคทีเรียจะขึ้นอยู่กับโครงสร้างและหน้าที่ของผนังเซลล์รวมถึงชนิดของแบคทีเรีย [21]

จากผลการทดลองพบว่าแบคทีเรียบริสุทธิ์ไม่สามารถย่อยสลายสารไตรบิวทิลทิน ไดบิวทิลทิน และโมโนบิวทิลทินได้อาจเป็นเพราะความเข้มข้นของสารไตรบิวทิลทิน ไดบิวทิลทิน และโมโนบิวทิลทินที่ความเข้มข้น 10 ไมโครกรัม/ลิตร มีความเข้มข้นสูงเกินไปจึงยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียได้ แต่เมื่อทำการศึกษาในการนำแบคทีเรียผสมมาใช้ในการย่อยสลายสารดังกล่าวและลดความเข้มข้นของสารไตรบิวทิลทิน ไดบิวทิลทิน และโมโนบิวทิลทิน เป็นที่ความเข้มข้น 2.5 ไมโครกรัม/ลิตร เพื่อไม่ให้ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียพบว่าแบคทีเรียจะร่วมกันย่อยสลายสารไตรบิวทิลทิน ไดบิวทิลทิน และโมโนบิวทิลทินจึงย่อยสลายได้ดีกว่าแบคทีเรียบริสุทธิ์ โดยแบคทีเรียผสมสามารถเจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อ BT medium ที่เติมสารไตรบิวทิลทิน ไดบิวทิลทิน และโมโนบิวทิลทินที่ความเข้มข้น 2.5 ไมโครกรัม/ลิตรได้ โดยใช้ระยะเวลาในการปรับตัวก่อนการย่อยสลายประมาณ 1 วัน จากนั้นมีการเจริญเพิ่มขึ้นโดยชุดการทดลองที่เติมสารไตรบิวทิลทิน แบคทีเรียเจริญสูงสุดในวันที่ 2 ของการทดลองคือ 0.038 A.U. (Figure 16) ชุดการทดลองที่เติมสารไดบิวทิลทิน แบคทีเรียเจริญสูงสุดในวันที่ 3 ของการทดลองคือ 0.011 A.U. (Figure 17) และชุดการทดลองที่เติมสารโมโนบิวทิลทิน แบคทีเรียเจริญสูงสุดในวันที่ 3 ของการทดลองคือ 0.038 A.U. (Figure 18) แสดงว่าแบคทีเรียผสมสามารถย่อยสลายสารไตรบิวทิลทิน ไดบิวทิลทิน และโมโนบิวทิลทินที่มีความเข้มข้น 2.5 ไมโครกรัม/ลิตรได้ โดยใช้สารเหล่านี้เป็นแหล่งคาร์บอนและแหล่งพลังงานในการเจริญ ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Atlas & Bartha ที่กล่าวไว้ว่าในการย่อยสลายด้วยแบคทีเรียผสมแบคทีเรียจะเอื้อประโยชน์ต่อกัน โดยแบคทีเรียบางชนิดจะสร้างเอนไซม์ได้เมื่อเจริญร่วมกับแบคทีเรียชนิดอื่น แต่เมื่อเจริญเพียงชนิดเดียวจะไม่สามารถสร้างเอนไซม์ชนิดนี้ได้ เช่น มีแบคทีเรียชนิดหนึ่งคล้าย *Pseudomonas* sp. จะสร้างเอนไซม Lecithinase เมื่อเจริญร่วมกับ *Pseudomonas* sp. แต่จะไม่สร้างเมื่อเจริญอยู่เพียงชนิดเดียว [22]

ดังนั้นในการแยกแบคทีเรียกลุ่มที่ใช้ออกซิเจนที่ที่สามารถเจริญได้ในบริเวณที่มีซัลเฟตสูงและสามารถย่อยสลายสารไตรบิวทิลทิน ไดบิวทิลทิน และโมโนบิวทิลทินจากดินตะกอนในครั้งนี้ได้ 15 ไอโซเลท และมีแบคทีเรีย

5 ไอโซเลท ที่สามารถเจริญได้ในอาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient broth ที่เติมสารละลายไตรบิวทิลทิน 10 ไมโครกรัม/ลิตร คือ แบคทีเรียสายพันธุ์ TBT-BUU 006 TBT-BUU 007 TBT-BUU 011 TBT-BUU 012 และ TBT-BUU 013 และเมื่อนำไปศึกษาความสามารถในการย่อยสลายสารไตรบิวทิลทิน ไดบิวทิลทิน และโมโนบิวทิลทิน ที่ความเข้มข้น 10 ไมโครกรัม/ลิตร พบว่าแบคทีเรียทั้ง 5 ไอโซเลทไม่สามารถย่อยสลายสารไตรบิวทิลทิน ไดบิวทิลทิน และโมโนบิวทิลทินได้ ส่วนแบคทีเรียผสมสามารถย่อยสลายสารไตรบิวทิลทิน ไดบิวทิลทิน และโมโนบิวทิลทินที่ความเข้มข้น 2.5 ไมโครกรัม/ลิตร ภายใต้สภาวะที่มีซัลเฟตสูงได้โดยแบคทีเรียผสมจะใช้เวลาในการปรับตัวก่อนการย่อยสลายประมาณ 1 วัน

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา ที่ให้ความอนุเคราะห์อุปกรณ์และสถานที่ในการทำวิจัยในครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

1. สุบัณฑิต นิ่มรัตน์, มนทกานต์ วิสุทธิแพทย์ และวีรพงศ์ วุฒิพันธุ์ชัย. (2547). การย่อยสลายทางชีวภาพของไตรบิวทิลทิน ไดบิวทิลทินและโมโนบิวทิลทินในดินตะกอน. *วารสารวิทยาศาสตร์บูรพา*. 9: 46-57.
2. เพ็ญนภา ศรีสวัสดิ์, เสาวภา สวัสดิ์ภีระ, วีรพงศ์ วุฒิพันธุ์ชัย และสุบัณฑิต นิ่มรัตน์. (2548). การเปลี่ยสภาพและการสะสมของไตรบิวทิลทินและสารตัวกลางในหอยหวาน. การประชุมวิชาการสิ่งแวดล้อมแห่งชาติครั้งที่ 4 สมาคมวิศวกรรมสิ่งแวดล้อมแห่งประเทศไทย กรุงเทพฯ: 19-21 มกราคม.
3. สุบัณฑิต นิ่มรัตน์. (2548)ก. การวิเคราะห์ข้อมูลปริมาณการใช้สีกันเพรียงในประเทศไทยและสภาวะการปนเปื้อนสารไตรบิวทิลทินในสิ่งแวดล้อม. ในการประชุมระดมความคิดเห็น การจัดทำแผนปฏิบัติการการจัดการสารประกอบดีบุกอินทรีย์ชนิดไตรบิวทิลทินในประเทศไทย ณ โรงแรมสยามซิตี้ กรุงเทพฯ: 5 ตุลาคม.
4. สุบัณฑิต นิ่มรัตน์. (2548)ข. การจัดการกับกากของเสีย และน้ำเสียที่มีสารไตรบิวทิลทินบริเวณอู่ต่อเรือและอู่ซ่อมเรือ. ในการประชุมระดมความคิดเห็นการจัดทำแผนปฏิบัติการการจัดการสารประกอบดีบุกอินทรีย์ชนิดไตรบิวทิลทินในประเทศไทย ณ โรงแรมสยามซิตี้ กรุงเทพฯ: 5 ตุลาคม.
5. สุบัณฑิต นิ่มรัตน์. (2548)ค. การใช้สีกันเพรียงที่มีสารไตรบิวทิลทินเป็นส่วนประกอบในประเทศไทย. ในการประชุมแลกเปลี่ยนความคิดเห็นร่วมกับผู้เชี่ยวชาญจาก USEPA และปรับปรุงร่างแผนปฏิบัติการการจัดการสารประกอบดีบุกอินทรีย์ชนิดไตรบิวทิลทิน ณ โรงแรมเซ็นจูรี่พาร์ค. กรุงเทพฯ: 1-2 ธันวาคม.
6. สุบัณฑิต นิ่มรัตน์. (2548)ง. การจัดการกากของเสียและน้ำเสียของสีกันเพรียงที่มีสารไตรบิวทิลทินบริเวณอู่ต่อเรือและซ่อมเรือในประเทศไทย. ในการประชุมแลกเปลี่ยนความคิดเห็นร่วมกับผู้เชี่ยวชาญจาก USEPA และปรับปรุงร่างแผนปฏิบัติการการจัดการสารประกอบดีบุกอินทรีย์ชนิดไตรบิวทิลทิน ณ โรงแรมเซ็นจูรี่พาร์ค กรุงเทพฯ: 1-2 ธันวาคม.
7. สุบัณฑิต นิ่มรัตน์. (2548)จ. การปนเปื้อนสารไตรบิวทิลทินบริเวณท่าเทียบเรือ อู่ต่อเรือและอู่ซ่อมเรือ. ในการประชุมแลกเปลี่ยนความคิดเห็นร่วมกับผู้เชี่ยวชาญจาก USEPA และปรับปรุงร่างแผนปฏิบัติการการจัดการสารประกอบดีบุกอินทรีย์ชนิดไตรบิวทิลทิน ณ โรงแรมเซ็นจูรี่พาร์ค. กรุงเทพฯ: 1-2 ธันวาคม.
8. สุบัณฑิต นิ่มรัตน์, กนิกนันต์ ศรีสวัสดิ์, พงษ์รัตน์ ดำรงโรจน์วัฒนา และวีรพงศ์ วุฒิพันธุ์ชัย. (2549). สถานการณ์การใช้สารไตรบิวทิลทินและการเกิด Imposex ของหอยกลุ่ม Gastropod. *วารสารวิทยาศาสตร์บูรพา*. 11: 97-104.

9. เพ็ญนภา ศรีสวัสดิ์ เสาวภา สวัสดิ์ภีระ วีรพงศ์ วุฒิพันธุ์ชัย และ สุบัณฑิต นิ่มรัตน์. (2550). ผลของการสะสมทางชีวภาพของไตรบิวทิลทินต่อการเจริญเติบโตของหอยหวาน. *วารสารวิศวกรรมสิ่งแวดล้อมไทย*. 21: 107-118.
10. ธีรนาถ สุวรรณเรือง วีรพงศ์ วุฒิพันธุ์ชัย นิตยา ไชยเนตร และ สุบัณฑิต นิ่มรัตน์. (2553). พิษของสารโมโนบิวทิลทินไดบิวทิลทินและไตรบิวทิลทินต่อการเกิด Imposex ของหอยหวานในบริเวณอ่าวอุดม จังหวัดชลบุรี ประเทศไทย. *วารสารสาธารณสุขมหาวิทยาลัยบูรพา*. 5: 39-49.
11. Tsang, C.K., Lau, P.S., Tam, N.F.Y., and Wong, Y.S. (1999). Biodegradation capacity of tributyltin by two Chlorella species. *Enviromental Pollution*. 105: 289-297.
12. Nimrat, S. (2005). Fate and current status of organotin compound exposure in Thailand. In the Proceedings of the Conference: Current status and management of organotin compounds (TBT) in Thailand. The Twin Tower Hotel, Thailand. 7-9 June.
13. Gadd, G.M. (2000). Microbial interactions with tributyltin compounds: detoxification, accumulaion, and environmental fate. *The Science of the Total Environment*. 258: 119-127.
14. Nimrat, S., Sawangchite, P., and Vuthiphandchai, V. (2004). Removal of malachite green employing physical and biological processes. *Science Asia*. 30: 351-357.
15. Vuthiphandchai, V., Pengpun, B., and Nimrat, S. (2005). Effect of cryoprotectant toxicity and temperature sensitivity on the embryos of black tiger shrimp (*Penaeus monodon*). *Aquaculture*. 246: 275-284.
16. Suwanaruang, T., Vuthiphanchai, V., Chaiyanet, N., and Nimrat, S. (2009). Imposex in *Babylonia areolata* and tributyltin levels in sediments, seawater and tissues of *B. areolata* at Laem Chabung Port station, Chon Buri, Thailand. International Symposium on Recent Trend in Environmental Pollution and Impact (2009), Burapha University, Chon Buri, Thailand, March 4-6.
17. ธีรนาถ สุวรรณเรือง, วีรพงศ์ วุฒิพันธุ์ชัย, นิตยา ไชยเนตร และสุบัณฑิต นิ่มรัตน์. (2552). Relationship between the occurrence of imposex and tributylin levels in *Babylonia areolata* studied in Chon Buri marina, Thailand. ในการประชุมวิชาการสิ่งแวดล้อมแห่งชาติครั้งที่ 8 ณ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี จังหวัดนครราชสีมา: 25-27 มีนาคม.
18. Jeong, B.G., Hong, S.W., Choi, Y.S.,Kumaran, R.S., Kim, M., Kim, S., and Kim, H.J. 2011. Isolation of Tributyltin Chloride Resistance Bacteria and Rapid Electrochemical Determination of Bacterial Organotin Defradation Activty. *Bulletin of the Korean Chemical Society*. 32: 356.
19. Makekhayai, S. 2000. *Biodegradation of methyl parathion, p-nitrophenol and p-aminophenol under anoxic condition*. Ph.D. in Environmental Sciences. Department of Environmental Sciences, Rutgers, The State University of New Jersey, New Brunswick, USA.
20. Kawai, S., Kurokawa, Y., Harino, H., and Fukushima, M. 1998. Degradation of tributyltin by a bacterial strain isolated from polluted river water. *Environmental Pollution*. 102. 259-263.
21. Lascourreges, J.F., Caumette, P., and Donard, O.F.X. (2000). Toxicity of butyltin, phenyltin and inorganic tin compounds to sulfate-reducing bacteria isolated from anoxic marine sediments. *Applied Organometallic Chemistry*. 14: 98-107
22. Atlas, M.R., and Bartha, R. 1993. *Microbial Ecology Fundamentals and Applications*. Califoria: Benjamin/ Cummings.