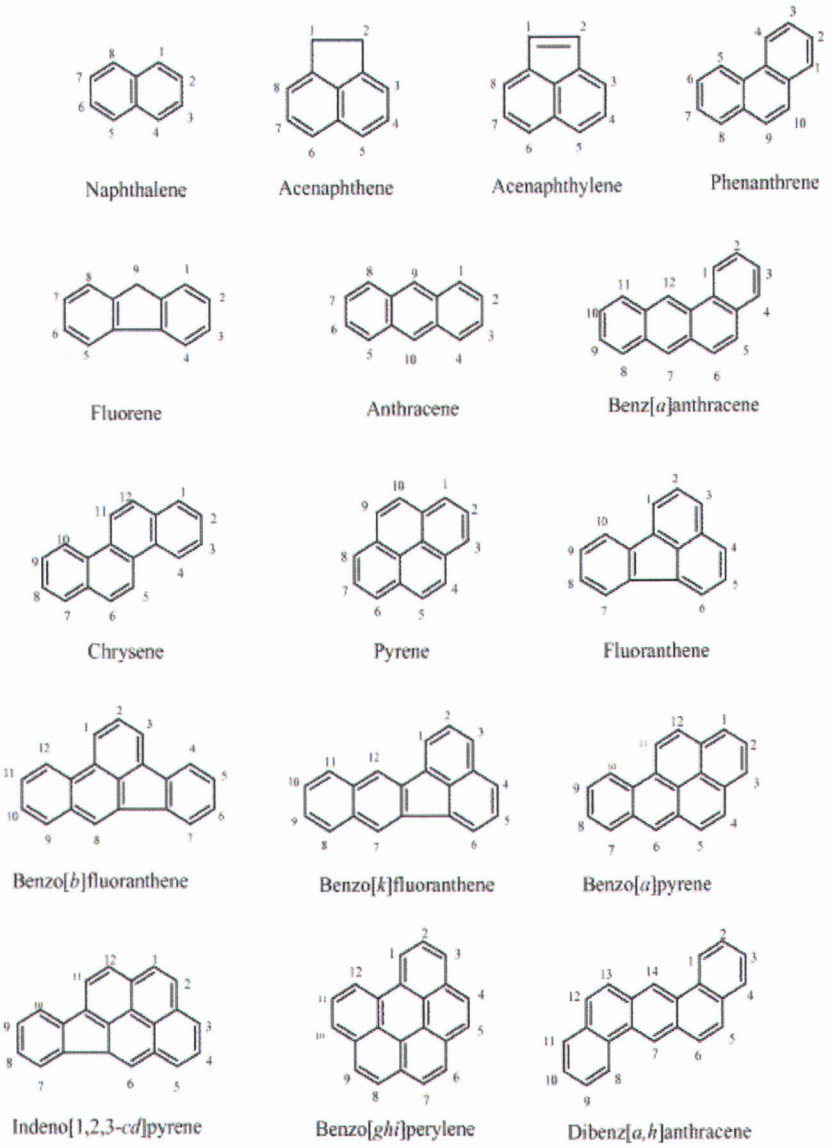
บทที่ 2

วารสารปริทัศน์

สารประกอบพอลิไซคลิกอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอน (Polycyclic Aromatic Hydrocarbon, PAHs) เป็นสารประกอบอินทรีย์ชนิดหนึ่งที่มีโครงสร้างโมเลกุลประกอบด้วยวงเบนซีนตั้งแต่ 2 วงขึ้นไปต่อกันในรูปเส้นตรง มุมงอ หรือเป็นกลุ่ม สารประกอบ PAHs เป็นสารประกอบที่ไม่ชอบน้ำ (hydrophobic) ที่มีมวลโมเลกุลสูง มีสมบัติละลายน้ำได้ยาก และความสามารถในการละลายน้ำลดลงเมื่อมีน้ำหนักโมเลกุลมากขึ้น จึงทำให้ทนทานต่อการย่อยสลาย (Trzesicka-Mlymarz และ Ward,1996)

สารประกอบ PAHs มี 2 พวก คือ PAHs ที่มีมวลโมเลกุลต่ำ ประกอบด้วยวงเบนซีน 2 – 3 วง เป็นพวกที่ย่อยสลายได้ง่าย (Bouchez และคณะ, 1995) อีกพวกคือสารประกอบ PAHs ที่มีมวลโมเลกุลสูง ประกอบไปด้วยวงเบนซีนตั้งแต่ 4 วงขึ้นไป สารประเภทนี้ถูกดูดซับในดิน เกิดการตกตะกอน และทนต่อการย่อยสลายได้ดีมาก ดังนั้นจึงพบสารประเภทนี้ปนเปื้อนอยู่ในสิ่งแวดล้อมได้มาก สารประกอบ PAHs จะทนทานต่อการย่อยสลายเมื่อมีมวลโมเลกุลสูงขึ้นเพราะละลายน้ำได้ยากขึ้น (Trzesicka – Mlynarz และ Ward, 1996) ในธรรมชาติพบสารประกอบ PAHs ที่มีโครงสร้างตั้งแต่ 2 วง เช่น แนพธาลีน ($C_{10}H_8$) จนไปถึงโครงสร้างที่ซับซ้อน เช่น โคโรนีน ($C_{24}H_{12}$) ซึ่งประกอบด้วยวงเบนซีนถึง 7 วง (Johnsen และคณะ, 2005)

สารประกอบ PAHs 16 ชนิดที่พบได้ทั่วไปในสิ่งแวดล้อมซึ่งถูกกำหนดให้เป็น Priority Pollutants โดย US. Environmental Protection Agency (EPA) (Yan และคณะ, 2004) ดังแสดงในรูปที่ 2.1



รูปที่ 2.1 PAHs 16 ชนิด ที่ถูกกำหนดเป็น Priority Pollutants โดย EPA (Yan และคณะ, 2004)

แหล่งกำเนิดและความเป็นพิษของสารประกอบ PAHs

สารประกอบ PAHs เกิดจากการเผาไหม้ที่ไม่สมบูรณ์ของสารพวกไฮโดรคาร์บอน ซึ่งสามารถเกิดขึ้นเองตามธรรมชาติหรือเกิดจากการกระทำของมนุษย์ก็ได้ โดยแหล่งที่มาของ PAHs ที่เกิดขึ้นเองตามธรรมชาติ เกิดจากปฏิกิริยาการเผาไหม้ของกระบวนการไพโรไลซิส (pyrolysis) ภายใต้พื้นโลกจากความร้อนสูงของลาวาและแมกมาในใจกลางโลกที่ยังไม่เย็นตัว ซึ่งทำให้สารประกอไฮโดรคาร์บอนเกิดไพโรไลซิสอย่างช้า ๆ โดยมีการเรียงตัวใหม่จากสายไฮโดรคาร์บอนได้เป็นวงเบนซีน จาก 1 เป็น 2 และ 3 วง ไปเรื่อย ๆ จนทำให้เกิดเป็นน้ำมันดิบและถ่านกัมมันต์ ซึ่งได้จากซากพืช ต้นไม้ในป่า รวมถึงปฏิกิริยาการสร้างสีในพืชและแบคทีเรียบางชนิด (Blumer, 1976) นอกจากนี้ยังเกิดโดยธรรมชาติ เช่น เกิดจากไฟไหม้ป่า เกิดจากภูเขาไฟระเบิด เกิดจากการรั่วซึมของน้ำมันที่เกิดขึ้นเองตามธรรมชาติ (Johnsen และคณะ, 2005) และแหล่งที่มาของ PAHs ที่เกิดจากการกระทำของมนุษย์ เช่น ไอเสียจากยานพาหนะชนิดต่างๆ การปรุงอาหารที่ใช้ความร้อนสูง การเผาขยะและสิ่งปฏิกูล การเผาไหม้ภาชนะและวัสดุทางการเกษตร น้ำเสียจากโรงงาน (Johnsen และคณะ, 2005) การกลั่นน้ำมันปิโตรเลียม และผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ ที่ได้จากน้ำมันดิบ (Jones และคณะ, 1989)

นอกจากนี้สารประกอบ PAHs ยังสามารถพบได้ทุกที่ไม่เฉพาะแต่ในบริเวณที่เป็นแหล่งปนเปื้อนใหญ่ๆ เท่านั้น Jones และคณะ (1989) รายงานว่าแม้จะมีความเข้มข้นของสารประกอบ PAHs ในระดับที่ต่ำมาก เช่น การเผาไหม้ที่ไม่สมบูรณ์ของน้ำมันเชื้อเพลิงในยานพาหนะ หรือการเกษตรกรรมทั่วไป แต่กิจกรรมเหล่านี้มีการเพิ่มขึ้นทุกปีและคาดการณ์ว่าจะยิ่งเพิ่มสูงขึ้นอีกในอนาคต สารประกอบ PAHs จะฝังแน่นอยู่ในสิ่งแวดล้อมและไม่มีการเคลื่อนที่ เป็นผลให้เกิดการสะสมของสารประกอบ PAHs จนมีความเข้มข้นอยู่ในระดับที่สูงและก่อให้เกิดอันตรายได้ และจากคุณสมบัติของสารประกอบ PAHs มีค่าสัมประสิทธิ์ของสัดส่วน ออคทานอลต่อน้ำ (log K_{ow}) สูง ซึ่งแปลผกผันกับความสามารถในการละลายน้ำของสาร ทำให้สารประกอบ PAHs ที่มีมวลโมกุลสูงขึ้นมีความสามารถในการละลายน้ำลดลง ทำให้ทนทานต่อการย่อยสลายและยากต่อการนำไปใช้ประโยชน์โดยจุลชีพในบริเวณปนเปื้อนนั้น จึงเกิดการสะสมและก่อให้เกิดความเป็นพิษในสิ่งแวดล้อม (Aronstein และคณะ, 1991)

สารประกอบ PAHs เป็นสารสำคัญที่มีความเสี่ยงต่อการเกิดปัญหาด้านสุขภาพของมนุษย์ เนื่องจากมีสมบัติเป็นสารก่อมะเร็ง (carcinogen) และเป็นสารที่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทาง

พันธุกรรม (mutagen) สารประกอบ PAHs บางชนิด เช่น เบนโซ [เอ] ไพรีน และ เบนซ [เอ] แอนทราซีน ซึ่งเป็นส่วนประกอบของน้ำมันเชื้อเพลิง น้ำมันดินและน้ำยารักษาเนื้อไม้นั้น เป็นสารประกอบ PAHs ที่ก่อมะเร็ง (carcinogens) อย่างรุนแรง (Wilson และ Jones,1993) และจากสมบัติการเป็นสารเคมีที่มีความเสถียรมาก ย่อยสลายได้ยาก จึงตกค้างอยู่ในธรรมชาติเป็นระยะเวลานาน ซึ่งส่งผลกระทบทำให้เกิดความเป็นพิษต่อสิ่งมีชีวิตในระยะยาว (Juhasz และ Naidu, 2000) ปัจจุบันพบสารประกอบ PAHs ปนเปื้อนได้ทั่วไปในอากาศ ดิน น้ำ และตะกอนใต้แม่น้ำเป็นต้น (Jones และคณะ, 1989)

นอกจากมนุษย์แล้วสารประกอบ PAHs ที่ปนเปื้อนในดินยังทำให้เกิดความเป็นพิษต่อพืช สัตว์ และจุลินทรีย์ด้วย โดยเฉพาะจุลินทรีย์ซึ่งอาศัยอยู่ในสิ่งแวดล้อมที่สัมผัสกับดินมากที่สุด โดยจุลินทรีย์จะมีความไวต่อสารปนเปื้อนในดินที่มีความเข้มข้นต่ำและตอบสนองได้อย่างรวดเร็ว ซึ่งการตอบสนองนี้จะส่งผลกระทบต่อการดำรงชีวิตและความหลากหลายของจุลินทรีย์ ด้วยเหตุนี้จึงได้นำจุลินทรีย์มาใช้เป็นตัววัดมลภาวะในดิน (Dick และคณะ, 1996) นอกจากนี้สารประกอบ PAHs อาจมีการสะสมอยู่ในสิ่งมีชีวิตในทะเลได้ เช่น หอยแมลงภู่ (Baumard และคณะ, 1999) โดยปริมาณที่มีการสะสมจะมากหรือน้อยขึ้นอยู่กับค่า bioavailability ของสารประกอบ PAHs และลักษณะทางสรีรวิทยาของสิ่งมีชีวิตชนิดนั้น ขนาดของสิ่งมีชีวิต อัตราการดูดซึมอาหารเข้าสู่ร่างกาย อัตราการเจริญเติบโต การซึมของน้ำผ่านเนื้อเยื่อ อัตราการแลกเปลี่ยนอากาศ ระยะเวลาที่อาหารอยู่ในท่อทางเดินอาหาร และการควบคุมกำกับความเข้มข้นของสารละลายภายนอกและภายในเซลล์ สิ่งเหล่านี้ล้วนเป็นกระบวนการทางชีววิทยาของสิ่งมีชีวิตที่ใช้ในการรับสารประกอบ PAHs เข้ามาสะสมอยู่ในตัว (Meador และคณะ, 1995)

การปนเปื้อนของสารประกอบ PAHs ในดิน

ดินมีแร่ธาตุและสารอินทรีย์ต่างๆ เป็นองค์ประกอบซึ่งมีผลต่อการรวมตัวกันของสารประกอบ PAHs เหนือผิวดิน โดยความสามารถในการดูดติดขึ้นอยู่กับสมบัติ ความชื้น และปัจจัยอื่นๆ ทั้งทางเคมี และกายภาพในดิน (Harayama, 1997) การปนเปื้อนสารประกอบ PAHs ในดินมีรูปแบบการอยู่ร่วมกันภายในอนุภาคดินหรือฮิวมัสที่แตกต่างกันออกไป การปนเปื้อนในอนุภาคดินอาจเกิดจากสารประกอบ PAHs ส่วนที่เป็นของแข็งปะปนในอนุภาคดินหรือการที่อนุภาคดินถูกเคลือบด้วยสารประกอบ PAHs ที่เป็นของเหลว สารประกอบ PAHs จะสามารถถูกชะออกจากอนุภาคดินได้ง่าย

โดยอาศัยตัวทำละลายอินทรีย์ แต่หากมีการปนเปื้อนของสารประกอบ PAHs ในดินเป็นเวลานาน ดินจะสามารถดูดซับสารปนเปื้อนนั้นไว้ได้แน่นขึ้น โดยการดูดติดและแทรกอยู่ระหว่างชั้นน้ำตามช่องว่างภายในอนุภาคดิน ทำให้สารประกอบ PAHs ถูกชะออกมาได้น้อย และหากสารปนเปื้อนจับกับอนุภาคดินโดยอาศัยพันธะทางเคมี เช่น สารประกอบ PAHs ที่ปนเปื้อนตั้งแต่เริ่มต้นจะถูกดูดติดอยู่ในอนุภาคดิน หรือเกิดจากสารเมตาบอไลท์ที่เกิดจากการย่อยสลายถูกออกซิไดส์และเข้ารวมตัวกับสารประกอบฟีนอลิก เกิดเป็นสารที่มีโมเลกุลขนาดใหญ่คล้ายกับกรดฮิวมิกในดิน (Kastner และคณะ, 1999) จะทำให้สารถูกชะออกมาได้ยากยิ่งขึ้น เนื่องจากอาจเกิดการเปลี่ยนแปลงลักษณะโครงสร้างและสมบัติทางเคมีของสาร ทำให้สารประกอบ PAHs อยู่ในรูป bound residue ซึ่ง bound residue ที่เกิดขึ้นนี้ทำให้จุลินทรีย์หรือสิ่งมีชีวิตในดินนำไปใช้ประโยชน์ได้น้อยกว่าในรูปแบบอื่นๆ (Verstraete และ Devliegher, 1996)

การบำบัดสาร PAHs ในสิ่งแวดล้อม

เมื่อสารประกอบ PAHs เข้าสู่สิ่งแวดล้อม อาจเกิดการสลายหรือเปลี่ยนแปลงรูปร่างได้โดยกระบวนการต่างๆ ทั้งทางด้านเคมี กายภาพ และชีวภาพ เช่น การระเหยกลายเป็นไอ (volatilization) การเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของแสง (photo-oxidation) การเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันทางเคมี (chemical oxidation) การสะสมอยู่ภายในสิ่งมีชีวิต (bioaccumulation) การย่อยสลายโดยจุลินทรีย์ (microbial degradation) หรือการดูดติดกับอนุภาคของดิน (adsorption) เป็นต้น (Cerniglia, 1992) นอกจากการสลายไปตามธรรมชาติแล้ว มีการศึกษาวิจัยเป็นจำนวนมากเพื่อหาแนวทางที่เหมาะสมในการบำบัดสารประกอบ PAHs ที่ปนเปื้อนอยู่นี้ออกไปจากสิ่งแวดล้อมให้มากที่สุดเท่าที่จะทำได้ หรือเพื่อเปลี่ยนแปลงรูปร่างของสารพิษเหล่านี้ให้ไปอยู่ในรูปของสารประกอบที่มีความเป็นพิษน้อยลง

การบำบัดสารประกอบ PAHs โดยวิธีทางเคมี เช่น การใช้ก๊าซโอโซนเป็นตัวออกซิไดซ์โมเลกุลของสารประกอบ PAHs หรือการใช้สารเคมีบางชนิด เพื่อสลายสารประกอบ PAHs ให้แตกตัวเป็นโมเลกุลที่เล็กลง พบว่าประสิทธิภาพยังไม่ดีนัก ใช้ได้ดีเฉพาะสารประกอบ PAHs ที่มีมวลโมเลกุลต่ำ (Nam และ Kukor, 2000) ข้อดีของการใช้สารเคมีคือจะใช้ประโยชน์ได้ในกรณีที่สารเคมีแพร่กระจายไปสู่บริเวณข้างเคียงอย่างรวดเร็ว แต่มีข้อเสียคือสารเคมีนั้นอาจก่อให้เกิดสารพิษชนิดใหม่ขึ้นได้ นอกจากนี้ขั้นตอนบำบัดยังเสียค่าใช้จ่ายสูงอีกด้วย (Lee, 1995)

การบำบัดทางกายภาพ เช่น การเผาที่อุณหภูมิสูง (incineration) และกำจัดกากที่เหลือโดยวิธีฝังกลบ (land disposal) อาจมีสารพิษชนิดอื่นหรืออาจมีผลเสียเกิดขึ้นจากการทำลายด้วยวิธีการดังกล่าวได้ ทำให้ต้องมีการกำจัดในขั้นต่อไป

การบำบัดทางชีวภาพ (bioremediation) เป็นทางเลือกหนึ่งในการช่วยลดความเป็นพิษของสารประกอบ PAHs เหล่านี้ มีข้อดีคือ เป็นกระบวนการทางธรรมชาติที่ไม่ก่อให้เกิดอันตรายต่อสิ่งแวดล้อม มีการทำลายสารปนเปื้อนตรงบริเวณที่ปนเปื้อนนั้น มักจะมีค่าใช้จ่ายต่ำกว่าวิธีการบำบัดอื่นๆ (Korda และคณะ, 1997) มีหลักการคือ นำกระบวนการย่อยสลายสารพิษของจุลินทรีย์มาใช้ในการบำบัดเพื่อทำให้ความเป็นพิษลดลงหรือหมดไปจากสิ่งแวดล้อม นำไปสู่การฟื้นฟูบริเวณที่มีการปนเปื้อนจากสารประกอบ PAHs ให้กลับมาสู่สภาพเดิม (Harayama, 1997) จุลินทรีย์หลายชนิดมีความสามารถที่จะทำให้เกิดการย่อยสลายสารประกอบ PAHs อย่างสมบูรณ์เพื่อใช้ในการเจริญเติบโต (Mineralization) หรือสามารถทำให้สารเหล่านี้เปลี่ยนรูปเป็นสารที่มีพิษน้อยลงได้ (Biotransformation) (Cerniglia, 1992)

เทคโนโลยีในการบำบัดด้วยวิธีทางชีวภาพในปัจจุบันมีหลายวิธีดังต่อไปนี้ (Trejo และ Quintero, 2000)

Bioaugmentation เป็นวิธีที่มีการเติมจุลินทรีย์ที่ทดสอบแล้วว่ามีประสิทธิภาพในการย่อยสลายสารพิษลงไปในบริเวณที่มีการปนเปื้อน

Biostimulation เป็นวิธีที่มีการเติมสารอาหารหรือปัจจัยต่างๆที่จำเป็นต่อการเจริญของจุลินทรีย์ลงไปในบริเวณที่มีการปนเปื้อน เพื่อกระตุ้นให้จุลินทรีย์ประจำถิ่นมีการเพิ่มจำนวนและมีกิจกรรมในการย่อยสลายสารพิษได้ดีขึ้น

Biofilters เป็นวิธีที่มีการใช้คอลัมน์ยาวที่มีจุลินทรีย์อยู่ภายในเพื่อบำบัดสารปนเปื้อนที่กระจายออกสู่บรรยากาศ

Bioreactor เป็นวิธีการย่อยสลายในถังหมัก

Bioventing เป็นวิธีการบำบัดแหล่งที่ปนเปื้อนโดยมีการให้อากาศและให้สารอาหารเพื่อกระตุ้นการเจริญและกิจกรรมการย่อยสลายของจุลินทรีย์ประจำถิ่น

Composting เป็นวิธีการบำบัดโดยใช้ออกซิเจนและอุณหภูมิสูงร่วมกับการเติมปุ๋ยหมักหรือวัสดุทางการเกษตรเพื่อเป็นวัสดุค้ำจุนการเจริญของจุลินทรีย์

Landfarming เป็นวิธีการบำบัดแหล่งที่มีการปนเปื้อนโดยการขุดดินหรือปั๊มน้ำขึ้นมา แล้วปล่อยให้มีการย่อยสลายของจุลินทรีย์แบบใช้อากาศ (aerobic)

การบำบัดทางชีวภาพที่เป็นที่นิยมนำมาใช้ในการบำบัดสารประกอบ PAHs ประกอบด้วย 2 วิธีการหลักคือ

Biostimulation คือการเสริมให้แบคทีเรียประจำถิ่นมีกิจกรรมในการบำบัดสารพิษเพิ่มขึ้น หรือมีโอกาสรอดชีวิตมากขึ้น เช่น การเติมสารอาหาร เช่น ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส การให้ออกซิเจน รวมถึงการเติมสารลดแรงตึงผิวซึ่งช่วยเพิ่มการละลายสารไฮโดรคาร์บอนลงในบริเวณที่ปนเปื้อนสารพิษ (Haigh, 1996)

มีการศึกษาพิสูจน์ว่าเชื้อแบคทีเรียในดินสามารถย่อยสลายสารประกอบ PAHs ได้อย่างมีประสิทธิภาพในพื้นที่จริง และพบว่าการใช้วิธี biostimulation ทำให้จุลินทรีย์ประจำถิ่นสามารถย่อยสลายสารประกอบ PAHs ที่มีมวลโมเลกุลต่ำได้ 82-97% และย่อยสลายสารประกอบ PAHs ที่มีมวลโมเลกุลสูงได้มากถึง 35% (Wilson และ Jones, 1993; Guerin, 1999; Guerin, 2000)

ถ้าในบริเวณการปนเปื้อนแหล่งใหญ่ที่มีการสะสมของสารพิษเป็นเวลานานและมีปริมาณมาก บริเวณดังกล่าวอาจไม่พบจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายสารพิษ หรือจุลินทรีย์ประจำถิ่นเองอาจไม่มีความสามารถเพียงพอที่จะกำจัดสารพิษให้หมดไปจากสิ่งแวดล้อมได้ จึงจำเป็นต้องอาศัยกิจกรรมของจุลินทรีย์ต่างถิ่น (exogenous microorganisms) เพื่อกระตุ้นให้เกิดกระบวนการย่อยสลาย ดังนั้นจึงได้นำการบำบัดทางชีวภาพที่มีประสิทธิภาพอีกวิธีหนึ่งคือ bioaugmentation เข้ามาช่วยในการบำบัดสารพิษ

Bioaugmentation คือการเติมจุลินทรีย์ต่างถิ่นที่มีความสามารถย่อยสลายสารประกอบ PAHs ลงในดินบริเวณนั้น เพื่อส่งเสริมให้เกิดการย่อยสลายสารพิษที่ปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อม (Watanabe, 2001) มีรายงานโดย Hwang และ Cutright (2002) ซึ่งได้ศึกษาการย่อยสลายไพรีนและฟีแนนทรีนทางชีวภาพที่มีการปนเปื้อนในแหล่งดินเป็นเวลานาน โดยวิธี biostimulation คือเติมสารอาหารที่จำเป็นลงไปในดิน และ bioaugmentation คือเติมจุลินทรีย์ร่วมกับการเติมสารอาหาร

พบว่าในการทดลองที่มีการเติมจุลินทรีย์นั้น การย่อยสลายมีประสิทธิภาพดีกว่าการเติมสารอาหารเพียงอย่างเดียว

อย่างไรก็ตามจุลินทรีย์ต่างถิ่นที่เติมลงไปในดินมักอยู่รอดได้น้อย สาเหตุเนื่องจากปัจจัยทางชีวภาพและปัจจัยทางกายภาพของดินที่แตกต่างกันแต่ละบริเวณ เช่น ภาวะการล่า (predation) ระหว่างแบคทีเรียกับโปรโตซัวในดิน ภาวะการแก่งแย่ง (competition) ระหว่างแบคทีเรียที่เติมลงไปกับแบคทีเรียประจำถิ่น สารบางอย่างจากรากพืชบริเวณนั้นมีผลรบกวนการเจริญของแบคทีเรียที่เติมลงไป และสมบัติต่างๆ ของดิน เช่น แร่ธาตุในดิน (clay minerals) แรงตึงผิวของน้ำ (water tension) สารอินทรีย์คาร์บอน ความเป็นกรดด่าง อุณหภูมิ และปริมาณสารพิษในดิน ซึ่งสมบัติของดินที่แตกต่างกันเป็นปัจจัยสำคัญในการบำบัดสารประกอบ PAHs ที่ปนเปื้อนในดินด้วยวิธีทางชีวภาพ ซึ่งมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงสารประกอบ PAHs ในสิ่งแวดล้อมและอัตราการย่อยสลายโดยจุลินทรีย์ (Wilson และ Jones, 1993) โดยสารประกอบ PAHs บางชนิดจะถูกย่อยสลายอย่างสมบูรณ์ (mineralization) จนได้เป็นคาร์บอนไดออกไซด์ น้ำ และพลังงานเพื่อใช้ในการเจริญของจุลินทรีย์ หรือ PAHs บางชนิดอาจเกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างบางส่วน (partially transform) ซึ่งกระบวนการย่อยสลายนี้อาจเกิดขึ้นด้วยจุลินทรีย์ชนิดเดียวหรือโดยกลุ่มจุลินทรีย์ (Cerniglia, 1992) การตอบสนองของจุลินทรีย์ต่อสภาวะของดินจะขึ้นอยู่กับลักษณะทางพันธุกรรมและทางสรีรวิทยาของเชื้อแต่ละชนิด ดังนั้นผลกระทบจากปัจจัยต่างๆ ของดินที่กล่าวมาข้างต้นต่อการอยู่รอดและการคงความสามารถในการย่อยสลายสารพิษของเชื้อจุลินทรีย์ต่างถิ่นที่เติมลงไปในดินจะแตกต่างกันในเชื้อแต่ละชนิดด้วย (Van Veen และคณะ, 1997)

จากความแตกต่างของดินแต่ละบริเวณดังที่ได้กล่าวไว้แล้วข้างต้น จุลินทรีย์ที่เติมลงไปในดินจึงต้องมีการปรับตัว (acclimatization) ให้เข้ากับสภาพแวดล้อมในดินบริเวณที่มีการปนเปื้อน เพื่อให้สามารถย่อยสลายสารประกอบ PAHs ได้ (Wilson และ Jones, 1993) มีการศึกษาที่แสดงให้เห็นว่าการทำให้จุลินทรีย์ได้อยู่และสัมผัสกับสารประกอบ PAHs หรือสาร hydrocarbons อื่นๆ ในดินเพื่อให้มีการปรับตัวก่อนจะนำไปใช้ในพื้นที่ปนเปื้อนจริงช่วยส่งเสริมอัตราการย่อยสลายสารพิษในบริเวณนั้นได้ (Bauer และ Capone, 1985; Heitkamp และ Cerniglia, 1987; Heitkamp และคณะ, 1987; Tomas และคณะ, 1989)

มีการศึกษาในหลายกรณีเพื่อที่จะลดช่วงเวลาการปรับตัวของจุลินทรีย์ให้สั้นลงและเพิ่มอัตราการย่อยสลายสารพิษให้เร็วขึ้น

Grosser และคณะ (1991) นำแบคทีเรียที่คัดแยกได้จากแหล่งดินปนเปื้อนมาเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ จากนั้นนำแบคทีเรียชนิดนี้กลับไปเติมลงในแหล่งปนเปื้อนเดิมอีกครั้งโดยใช้หัวเชื้อความเข้มข้น 10^6-10^8 เซลล์/กรัม(ดิน) พบว่าช่วยส่งเสริมให้เกิดการย่อยสลายไพรีนได้ในเวลา 2 วัน

Megharaj และคณะ (1997) ศึกษาความสามารถในการอยู่รอดและการย่อยสลาย dibenzo-ρ-dioxin (DD) และ dibenzofuran (DF) ในดิน โดยใช้ *Sphingomonas* sp. สายพันธุ์ RW1 ที่ทำให้เคยชิน (acclimatization) กับสภาพดินก่อน โดยเลี้ยง *Sphingomonas* sp. สายพันธุ์ RW1 ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่เตรียมจากน้ำสกัดจากดิน พบว่า *Sphingomonas* sp. สายพันธุ์ RW1 ที่ทำให้เคยชินกับสภาพดิน สามารถอยู่รอดได้นานและย่อยสลายอย่างมีประสิทธิภาพในดินที่ปนเปื้อน DD และ DF

Dangrueng (2005) รายงานว่า เมื่อเลี้ยง *Sphingomonas* sp. สายพันธุ์ P2 ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่เตรียมจากน้ำดิน แล้วนำไปเลี้ยงในดินปลอดเชื้อ พบว่า *Sphingomonas* sp. สายพันธุ์ P2 มีการอยู่รอดและย่อยสลาย PAHs ได้ และมีการศึกษาเพื่อทดสอบความสามารถในการอยู่รอดและการย่อยสลาย PAHs ของแบคทีเรียที่ถูกทำให้เคยชินกับดินแล้วในระบบนิเวศน์จำลองดินไม่ปลอดเชื้อ พบว่า หัวเชื้อแบคทีเรียมีความสามารถในการอยู่รอดและการย่อยสลายสารประกอบ PAHs ในดินไม่ปลอดเชื้อได้

อย่างไรก็ตามปัญหาที่เกิดขึ้นคือ การนำจุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการย่อยสลายสารประกอบ PAHs จากแหล่งหนึ่งไปใช้โดยการเติมลงไปในแหล่งปนเปื้อนอื่น อาจเป็นการยากต่อจุลินทรีย์ชนิดนั้นในการปรับตัวเพื่ออยู่รอดและคงความสามารถในการย่อยสลายสารพิษไว้ในสภาวะทางนิเวศน์วิทยาของดินปนเปื้อนที่มีความแตกต่างกันมากในแต่ละบริเวณ (Wilson และ Jones, 1993) ดังนั้นเพื่อให้การบำบัดด้วยวิธี bioaugmentation มีประสิทธิภาพ จึงต้องหาวิธีที่จะเพิ่มการอยู่รอดและความสามารถในการย่อยสลายสารพิษของหัวเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้เติมลงไปในพื้นที่บำบัด

จากรายงานของ Van Veen และคณะ (1997) ที่ว่าจุลินทรีย์สามารถใช้วัสดุทางการเกษตรบางชนิดเป็นแหล่งที่อยู่โดยเกาะติดอยู่กับวัสดุนั้นและสามารถใช้สารอาหารจากวัสดุทางการเกษตร

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ห้องสมุดงานวิจัย

เหล่านั้นเพื่อการเจริญได้ ดังนั้นวัสดุทางการเกษตรจึงจัดเป็นสิ่งที่ทำให้เกิดสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการเพิ่มการอยู่รอดและเพิ่มความสามารถในการย่อยสลายของจุลินทรีย์ที่เติมลงไปในดินปนเปื้อน นอกจากนี้วัสดุทางการเกษตรเป็นสารอินทรีย์ เช่น พอลิแซคคาไรด์ต่างๆ ซึ่งประกอบด้วยส่วนที่มีขั้วและไม่มีขั้วสามารถดูดติดกับสารประกอบ PAHs ได้ โดยสารประกอบ PAHs ที่ดูดติดอยู่ที่ผิวอินทรียวัตถุนี้สามารถย่อยสลายได้โดยจุลินทรีย์ที่เกาะติดอยู่กับพื้นผิวของอินทรียวัตถุซึ่งสัมผัสกับสารประกอบ PAHs นั้น ซึ่งเป็นการเพิ่ม bioavailability ได้ (Simonoich และ Hites, 1994) ได้มีการนำวัสดุทางการเกษตรบางชนิดมาใช้ เช่น ใบจามจุรี เปลือกถั่ว ใบมะขาม ใบเมเปิล หญ้าอัลฟาฟ่า ใยบวบ และปุ๋ยหมัก เป็นต้น ผลที่ได้จากการวิจัยมีรายงานไว้บางส่วน ดังนี้

Martens (1982) พบว่าเมื่อเติมปุ๋ยหมักลงในดินที่ปนเปื้อน แอนทราซีน เบนโซ(เอ)แอนทราซีน และเบนโซ(เอ)ไพรีน จะทำให้เกิดการย่อยสลายได้ดีขึ้น

Kastner และ Mahro (1996) ได้เติมปุ๋ยหมักลงในดินที่ปนเปื้อน แนพธาลีน แอนทราซีน ฟลูออแรนธีน และไพรีน พบว่าดินที่เติมปุ๋ยหมักจะกระตุ้นการย่อยสลาย PAHs ได้มากกว่าดินที่ไม่เติมปุ๋ยหมัก เพราะในปุ๋ยหมักมีสารอินทรีย์และจุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการย่อยสลายสารประกอบ PAHs อยู่ จึงทำให้เกิดการย่อยสลาย PAHs แบบโคเมตาบอลิซึมได้ ดังนั้นการเติมสารอินทรีย์ เช่น ปุ๋ยหมักหรือวัสดุการเกษตรจึงเป็นการปรับปรุงดินในสิ่งแวดล้อมที่มีการปนเปื้อนและช่วยกระตุ้นการทำงานของจุลินทรีย์ประจำถิ่นหรือจุลินทรีย์ที่เติมลงไปให้ดีขึ้น (Semple และคณะ, 2001)

Haderlein และคณะ (2001) รายงานว่าใบเมเปิลและหญ้าอัลฟาฟ่าสามารถช่วยให้เกิดการย่อยสลายไพรีนในดินที่ปนเปื้อนได้เร็วขึ้นมากกว่าก่อนการเติมสารอินทรีย์ทั้ง 2 ชนิดนี้ 8 เท่า

Siriwarasin และคณะ (2002) รายงานว่าการเติมใบมะขามในดินที่ปนเปื้อนสารประกอบ PAHs สามารถย่อยสลายไพรีนความเข้มข้น 1.0 มก./กรัมดินจนไม่สามารถตรวจพบได้ภายใน 56 วัน ในขณะที่ชุดทดลองที่ไม่ได้เติมใบมะขามนั้น ตลอด 84 วันของการทดลองตรวจพบว่ายังคงมีปริมาณไพรีนและฟีแนนทรีนเหลืออยู่เล็กน้อยในชุดทดลอง

Charoenchang และคณะ (2003) รายงานว่าการเติมสารอินทรีย์ที่ได้จากการเกษตร เช่น ฟางข้าว เปลือกถั่วลิสงและใบจามจุรีลงในดินที่ปนเปื้อนสารประกอบ PAHs พบว่า เปลือกถั่วลิสงและ

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ
ห้องสมุดงานวิจัย
วันที่ 17 ก.ค. 2555
เลขทะเบียน 247787
เลขเรียกหนังสือ

ใบจามจุรี สามารถช่วยให้เกิดการย่อยสลายสารฟีแนนทรีนภายใน 28 วัน และย่อยสลายไพรีนและฟลูออแรนทรีนได้ภายใน 42 วัน ซึ่งพบว่าจุลินทรีย์จากเปลือกถั่วและใบจามจุรีเป็นปัจจัยหลักในการย่อยสลาย ส่วนฟางข้าวที่เติมลงไปในดินปนเปื้อนนั้นไม่ช่วยเร่งการย่อยสลายตลอดการทดลอง

Šašek และคณะ (2003) เตรียมปุ๋ยหมักจากเศษเห็ด (white button mushroom, *Agaricus bisporus*) ผสมกับ ฟางข้าว มูลไก่และยิปซัม จากนั้นเติมในดินที่เก็บมาจากบริเวณที่เคยเป็นที่ตั้งโรงงานผลิตแก๊สมาก่อน ซึ่งมีประวัติการปนเปื้อนสาร PAHs ถึง 12 ชนิด พบว่าสามารถลดสาร PAHs แต่ละชนิดได้ 37-80% ภายในเวลา 100 วัน โดยลดไพรีนได้ 51% ขณะที่ดินที่ไม่มีการเติมปุ๋ยหมักพบว่าสาร PAHs แต่ละชนิดลดลงในช่วง 20-60% ภายในเวลา 100 วัน

Pattanasupong และคณะ (2004) รายงานว่าการใช้ใยบวบให้กลุ่มแบคทีเรียจับเกาะช่วยเพิ่มความสามารถในการย่อยสลายสาร carbendazim และ 2,4-dichlorophenoxyacetic ได้ดีกว่าการเติมกลุ่มแบคทีเรียเพียงอย่างเดียว

วิธัญญา ชวเจริญพันธ์ (2549) รายงานว่ากลุ่มแบคทีเรีย STK ที่เลี้ยงในเปลือกถั่วและเศษใบไม้ชนิดต่างๆ สามารถเจริญได้อย่างรวดเร็วและย่อยสลายไพรีนได้ 50% ของปริมาณไพรีนเริ่มต้น และจากการนำหัวเชื้อกลุ่มแบคทีเรีย STK ที่เลี้ยงในเปลือกถั่วไปใช้ในการบำบัดการปนเปื้อนของไพรีนที่มีความเข้มข้น 100 และ1000 ppm ในดินในสภาวะ solid และ slurry พบว่าแบคทีเรีย STK ที่เลี้ยงในเปลือกถั่วมีจำนวนเพิ่มมากขึ้นและย่อยสลายไพรีนได้ 78 และ 54% ภายใน 60 วัน ของปริมาณไพรีนเริ่มต้น 100 และ 1000 ppm ตามลำดับในดินสภาวะ solid ส่วนในดินสภาวะ slurry สามารถย่อยสลายไพรีนได้หมดจนไม่สามารถตรวจพบได้ภายใน 10 วันและ 72% ของปริมาณไพรีนเริ่มต้น100 และ 1000 ppm ตามลำดับ

Trejo-Hernandez และคณะ (2007) รายงานว่าการใช้ชานอ้อยและปุ๋ยหมักจากเศษใบและกิ่งไม้ผสมกับหัวเชื้อกลุ่มแบคทีเรีย IMP เติมลงไปในดินที่ปนเปื้อน ช่วยกระตุ้นให้กลุ่มแบคทีเรีย IMP ที่มีความสามารถย่อยสลายน้ำมันปิโตรเลียมเกิดย่อยสลายมีน้ำมันดิบความเข้มข้น 10,000 มก./กก. ได้ถึง 40 %ภายในเวลา 15 วัน นอกจากนี้ยังเพิ่มจำนวนแบคทีเรียให้สูงขึ้นในช่วงเวลาบำบัดด้วย

การที่วัสดุทางการเกษตรต่างๆ ช่วยให้ PAHs ลดลงได้นั้นเนื่องมาจากการทำงานของจุลินทรีย์ที่อาศัยอยู่บนวัสดุทางการเกษตร (Kastner และ Mahro, 1996; Charoenchang และคณะ, 2003) นอกจากนี้สารอินทรีย์จากใบไม้สามารถดูดซับ PAHs จากเนื้อดินออกมาได้บางส่วน (Simonoich และ Hites, 1994; Verstrate และ Devliegher, 1996)

แบคทีเรียที่มีความสามารถในการย่อยสลายสารประกอบ PAHs

สารประกอบ PAHs มีสมบัติการละลายน้ำได้ต่ำมาก และการเปลี่ยนแปลงสถานะของมวลสารจากของแข็งไปอยู่ในรูปของสารที่จุลินทรีย์สามารถนำไปใช้ได้เป็นไปได้ช้ามาก โดยจุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการย่อยสลายสารประกอบ PAHs หรือสารพวกที่เป็น hydrophobic อื่นๆ นั้น เชื่อว่าขีดจำกัดความสามารถของจุลินทรีย์อยู่ที่สมบัติในการละลายน้ำของสารเหล่านั้น (Ogram และคณะ, 1985; Rijnaarts และคณะ, 1990; Volkering และคณะ, 1992; Volkering และคณะ, 1993; Bosma และคณะ, 1997; Harms และ Bosma, 1997) สารพวก sorbed, crystalline และ non-aqueous phase liquid (NAPL) – dissolved PAHs นั้น จุลินทรีย์เหล่านี้ไม่สามารถนำมาใช้ประโยชน์ได้เลย ด้วยเหตุนี้จึงเป็นข้อจำกัดอย่างหนึ่งต่อการนำไปใช้ประโยชน์ของจุลินทรีย์ และเป็นตัวเหนี่ยวรั้งให้กระบวนการทำงานของจุลินทรีย์ไม่มีประสิทธิภาพ อย่างไรก็ตามพบว่ายังมีแบคทีเรียบางชนิดที่สามารถย่อยสลายสารประกอบ PAHs ได้ที่อัตราแตกต่างกัน ซึ่งเป็นตัวชี้ให้เห็นถึงความจำเพาะของสารเหล่านั้นต่อการนำไปใช้ประโยชน์ของจุลินทรีย์แต่ละชนิด (Grosser และคณะ, 2000)

สำหรับกระบวนการย่อยสลายสารประกอบ PAHs นั้น เกิดได้ทั้งในภาวะที่มีอากาศ (aerobic) และไร้อากาศ (anaerobic) แต่เนื่องจากกระบวนการย่อยสลายในสภาวะไร้อากาศนั้นเกิดขึ้นได้ช้า (Harayama, 1997) และยังไม่มีการอธิบายอย่างชัดแจ้งถึงกลไกทางชีวเคมีของสารประกอบ PAHs ที่เกิดขึ้น (Coates และคณะ, 1996a; Coates และคณะ, 1996b) ในทางตรงกันข้ามรายงานส่วนใหญ่มุ่งศึกษาแต่เพียงกระบวนการย่อยสลายในภาวะที่มีอากาศ (Cerniglia, 1992) โดยเฉพาะสารประกอบ PAHs พวกที่มีมวลโมเลกุลต่ำ เช่น แนพทาลีนและฟีแนนทรีน ส่วนสารประกอบ PAHs พวกที่มีมวลโมเลกุลสูงยังไม่มีการศึกษามากนัก (Harayama, 1997) แต่ก็มีรายงานเกี่ยวกับ mycobacteria ถึงความสามารถในการย่อยสลายสารประกอบ PAHs ที่มีวงเบนซีนตั้งแต่ 4 วงขึ้นไป

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ห้องสมุดงานวิจัย

เนื่องจากเชื้อชนิดนี้มีผนังเซลล์เป็น hydrophobic จึงสามารถจับกับส่วนที่ไม่ละลายน้ำได้ดี ซึ่งทำให้ง่ายต่อการส่งต่อสารเข้าไปยังเซลล์ของแบคทีเรีย โดยพบว่า *Mycobacterium* สายพันธุ์ PYR-I สามารถย่อยสลายไพรีนและฟลูออแรนทรีนได้อย่างสมบูรณ์ (mineralization) และเกิดขึ้นรวดเร็วกว่าการย่อยสลายในแนพธาลีนและฟีแนนทรีน นอกจากนั้นเชื้อสายพันธุ์นี้ยังสามารถเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของเบนโซ [เอ] ไพรีนได้ แต่ไม่สามารถย่อยสลายได้อย่างสมบูรณ์ (Heitkamp และ Cerniglia, 1988)

การย่อยสลายโดยแบคทีเรียบริสุทธิ์จะได้เซลล์เพิ่มมากขึ้นและได้น้ำกับคาร์บอนไดออกไซด์หากมีการย่อยสลายอย่างสมบูรณ์ (Cerniglia, 1992; Wilson และ Jones, 1993) โดยปกติแบคทีเรียจะย่อยสลายสารที่ละลายน้ำได้ง่ายกว่าสารที่ไม่ละลายน้ำ ดังนั้นการย่อยสลายสารประกอบ PAHs ซึ่งเป็นสารที่มีความสามารถในการละลายน้ำต่ำ แบคทีเรียทั่วไปจะไม่สามารถย่อยสลายสารนี้ได้ แต่มีแบคทีเรียบางชนิดเท่านั้นที่สามารถสร้างเอนไซม์ต่างๆ ที่ใช้ในการย่อยสลายสารประกอบ PAHs เพื่อจะนำไปใช้เป็นแหล่งคาร์บอนและพลังงาน ส่วนใหญ่แบคทีเรียสายพันธุ์เดี่ยวจะสามารถย่อยสลายสารประกอบ PAHs น้ำหนักโมเลกุลต่ำ ที่ประกอบไปด้วยวงเบนซีน 2-3 วง ปัจจุบันมีรายงานแบคทีเรียสายพันธุ์บริสุทธิ์หลายชนิดที่สามารถย่อยสารประกอบ PAHs ได้ (Juhasz และ Naidu, 2000)

โดยปกติสารประกอบ PAHs ที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูงจะถูกย่อยสลายได้ยากโดยแบคทีเรียเพียงชนิดเดียว ในบางครั้งการย่อยสลายที่ไม่สมบูรณ์นั้นอาจทำให้เกิดสารมัธยันตร์ที่มีความเป็นพิษและย่อยสลายได้ยากมากกว่าสารประกอบ PAHs ตั้งต้น (Mahro, 2000) ดังนั้นในบางกรณีการย่อยสลายสารประกอบ PAHs จึงจำเป็นต้องอาศัยการทำงานร่วมกันของแบคทีเรียหลายๆ ชนิด แบคทีเรียเหล่านั้นจะอยู่ร่วมกันแบบ synergism โดยกลุ่มแบคทีเรีย (bacterial consortium) จะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการย่อยสลาย PAHs ให้ดียิ่งขึ้น ทำให้อัตราเร็วในการย่อยสลายเพิ่มขึ้น ที่สำคัญยังทำให้เกิดการย่อยสลายสารประกอบ PAHs ได้อย่างสมบูรณ์ (mineralization) ความสัมพันธ์หรือกลไกที่เกิดขึ้นระหว่างการทำงานร่วมกันของกลุ่มแบคทีเรียต่อการย่อยสลายสารประกอบ PAHs นั้น สิ่งที่สำคัญคือระบบเอนไซม์ แบคทีเรียชนิดที่ 1 สามารถสร้างเอนไซม์ย่อยสลายสารตั้งต้นได้ แต่เนื่องจากไม่มีระบบเอนไซม์ที่สามารถย่อยสลายสารให้สมบูรณ์ เมื่อแบคทีเรียไม่สามารถย่อยสลายสารมัธยันตร์ที่เกิดขึ้นภายในระบบได้ (dead-end metabolite) จึงทำให้เกิดการสะสมของสารมัธยันตร์ดังกล่าวและอาจเป็นพิษต่อแบคทีเรียชนิดที่ 1 จึงต้องอาศัยแบคทีเรียชนิดที่ 2 มีระบบเอนไซม์ที่

สามารถย่อยสลายสารมัธยันตร์นั้นได้ อาจมีผลทำให้ความเป็นพิษของสารมัธยันตร์ลดลงหรือสามารถนำสารดังกล่าวมาใช้ในการเจริญได้ ผลจากการเจริญของแบคทีเรียตัวที่ 2 อาจสร้างวิตามิน กรดอะมิโน หรือสารที่ช่วยให้มีการย่อยสลายสารตั้งต้นดีขึ้น เช่น สารลดแรงตึงผิวชีวภาพ (biosurfactant) ซึ่งเป็นปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญและการย่อยสลาย PAHs ของแบคทีเรียชนิดอื่นต่อไป (Mueller และคณะ, 1989; Wilson และ Jones, 1993)

ปัจจุบันมีรายงานกลุ่มแบคทีเรียนานาชนิดที่สามารถย่อยสารประกอบ PAHs ได้ เช่น

Luan และคณะ (2006) ได้ศึกษาวิถีการย่อยสลายไพรีนและฟีแนนทรีนของกลุ่มแบคทีเรียที่คัดแยกได้จากดินตะกอนในป่าชายเลนพบว่าสามารถย่อยสลายสารประกอบ PAHs ได้อย่างมีประสิทธิภาพ

Jacques และคณะ (2007) นำกลุ่มแบคทีเรียที่คัดแยกได้จากดินในบริเวณพื้นที่เกษตรกรรมที่มีการปนเปื้อน PAHs ซึ่งประกอบด้วย *Mycobacterium fortuitum*, *Bacillus cereus*, *Microbacterium* sp., *Gordonia polyisoprenivorans*, *Microbacteriaceae* bacterium, Naphthalene-utilizing bacterium และ *Fusarium oxysporum* มาย่อยสลายแอนทราซีน ฟีแนนทรีนและไพรีนที่ปนเปื้อนในดินที่ความเข้มข้นต่างๆ พบว่ากลุ่มแบคทีเรียสามารถย่อยสลายแอนทราซีน ฟีแนนทรีนและไพรีน ได้เฉลี่ยถึง 99%, 99% และ 96% ตามลำดับที่ความเข้มข้นต่างๆ ในเวลา 70 วัน และสารประกอบ PAHs ทั้ง 3 ชนิดจะเกิดการย่อยสลายได้อย่างสมบูรณ์โดยเฉลี่ยประมาณ 78 %

การบำบัดดินปนเปื้อน PAHs โดยใช้วัสดุทางการเกษตรและกลุ่มแบคทีเรียในประเทศไทย

Charoenchang และคณะ (2003) พบว่าการเติมวัสดุทางการเกษตรได้แก่ เปลือกถั่วลิสงและใบจามจุรี สามารถช่วยเร่งการย่อยสลายสาร PAHs ในดินได้อย่างมีประสิทธิภาพ โดยลดไพรีนจนตรวจไม่พบภายในเวลา 42 วันของการทดลอง ซึ่งคาดว่าเกิดจากการทำงานของแบคทีเรียที่อยู่บนวัสดุทางการเกษตร และสุพินดา ศิริวราศิลป์ (2545) ใช้ใบไม้ของพืชตระกูลถั่วที่ร่วงหล่น คือ ใบจามจุรี ใบมะขามและใบนนทรี เติมในดินที่ถูกปนเปื้อนด้วยไพรีน พบว่าใบมะขามสามารถลดไพรีนได้หมด

ภายใน 56 วัน รองลงมาคือ ใบจามจุรีและใบนนทรี และเมื่อปรับพารามิเตอร์ให้เหมาะสมด้วยแล้ว พบว่าการย่อยสลายไพรีนเพิ่มขึ้นเป็น 93 %จาก 75 %

การลดลงของสารประกอบ PAHs ที่ปนเปื้อนในดินน่าจะเกิดจากการทำงานของจุลินทรีย์ที่อยู่บนเศษวัสดุทางการเกษตร ดังนั้น

จิรทีปฆ์ แสนรัก (2547) จึงได้คัดแยกกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ได้จากใบจามจุรี ซึ่งเป็นใบไม้ของพืชในวงศ์ Leguminosae (พืชตระกูลถั่ว) และเป็นพืชที่ปลูกมากในประเทศไทย (วรัษยา สุนทรศารทูล, 2542) พบว่ากลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายไพรีนได้หมดภายใน 14 วัน จากนั้นย่อยสลายไพรีนเฉลี่ยสูงสุด 14.83 มก./ลิตร/วัน กลุ่ม RRM-V3 ยังสามารถย่อยสลายสาร PAHs ชนิดอื่นได้อีกหลายชนิด โดยสามารถลดปริมาณของ อะซีแนพธีน ฟลูออรีน ฟีแนนทรีน และฟลูออแรนทีนได้เป็นจำนวน 100% 98% 99 % และ 34% ตามลำดับ ภายในเวลา 14 วัน สามารถแยกเชื้อบริสุทธิ์จากกลุ่มแบคทีเรียได้อย่างน้อย 7 ชนิด ซึ่งผลทางสัณฐานวิทยาและชีวเคมีสามารถจัดอยู่ใน 4 สกุล ได้แก่ *Comamonas, Rugamonas, Flavimonas, Pseudomonas* และส่วนที่เหลือไม่สามารถจำแนกได้จำนวน 1 ชนิด โดยเป็นแกรมลบทั้งหมด

การศึกษาเบื้องต้นเพื่อบำบัดดินปนเปื้อน PAHs โดยการเติมกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ลงในดินโดยตรง พบว่า กลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ไม่สามารถมีชีวิตรอดได้ และสูญเสียความสามารถในการย่อยสลายสารไพรีนและฟีแนนทรีนไป ดังนั้นในงานวิจัยครั้งนี้ จึงมุ่งพัฒนาวิธี Bioaugmentation โดยใช้กลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 โดยจะพัฒนาเตรียมกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 บนวัสดุทางการเกษตรก่อน ซึ่งในที่นี้เลือกใช้ใบจามจุรี เนื่องจากกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 คัดแยกได้จากใบจามจุรี ใบจามจุรีจึงน่าจะมีปัจจัยต่างๆ ที่มีเหมาะสมต่อการอยู่รอด และคงความสามารถในการย่อยสลายให้แก่กลุ่มเชื้อนี้ และใบจามจุรีเป็นวัสดุทางการเกษตรที่มีอยู่ในท้องถิ่นและหาได้ง่ายอีกด้วย

ในการวิจัยเลือกศึกษาสารประกอบ PAHs 2 ชนิด คือ ไพรีนและฟีแนนทรีน ซึ่งเป็นสารประกอบ PAHs ที่กลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 สามารถย่อยสลายได้ดี นอกจากนั้นไพรีนยังเป็นตัวแทนสารประกอบ PAH ที่มีมวลโมเลกุลสูงซึ่งละลายน้ำได้น้อยทำให้มีความทนทานต่อการย่อยสลาย (Trzesicka-Mlymarz และ Ward, 1996) ในขณะที่ฟีแนนทรีนเป็นตัวแทนของสารประกอบ PAHs ที่มีมวลโมเลกุลต่ำ

นอกจากนี้ในระหว่างการทดลอง จะติดตามพลวัตรประชากรของกลุ่มแบคทเรีย RRM-V3 โดยวิธี Denaturing Gradient Gel Electrophoresis (DGGE) ซึ่งเป็นวิธีที่นิยมใช้เพื่อติดตามการเปลี่ยนแปลงของประชากรแบคทีเรียระหว่างการบำบัดทางชีวภาพ ตัวอย่างงานวิจัยที่เกิดขึ้นมีอยู่มากมาย ซึ่งจะได้ยกตัวอย่างงานวิจัยบางส่วนพอสังเขป ดังต่อไปนี้

Nakatsu และคณะ (2000) ใช้เทคนิค DGGE เพื่อศึกษาจุลินทรีย์กลุ่ม Eubacteria และ Archaea ในดินตัวอย่างที่มีการปนเปื้อนด้วยสารประกอบ PAHs พบว่าในดินที่มีการปนเปื้อนด้วยสารประกอบ PAHs ความหลากหลายของ Eubacteria จะลดลง ทำให้สามารถศึกษาความแตกต่างของประชากร 2 กลุ่มที่อยู่ในแหล่งเดียวกันคือกลุ่ม Eubacteria และ Archaea ได้ นอกจากนั้นยังสามารถเปรียบเทียบกับตัวอย่างที่มาจากแหล่งต่างกันเพื่อดูความหลากหลายของจุลินทรีย์ที่เกิดขึ้นในธรรมชาติได้อีกด้วย

Andreoni และคณะ (2004) ได้ทำการศึกษาตัวอย่างดินที่นำมาจาก 3 แหล่งด้วยกัน เพื่อดูความสามารถของแบคทีเรียในการย่อยสลายสาร phenanthrene และการวิเคราะห์ความหลากหลายทางชีวภาพของ enrichment culture ผลจากการวิเคราะห์ความหลากหลายทางชีวภาพในตัวอย่างดินโดยวิธี PCR-DGGE ส่วนของ 16S rDNA พบว่าแถบดีเอ็นเอที่ได้มีลักษณะเหมือนกันจึงคาดว่าน่าจะเป็นเชื้อจุลินทรีย์ชนิดเดียวกันและเป็นกลุ่มจุลินทรีย์ที่มีความสำคัญในการเป็นผู้ย่อยสลายสาร phenanthrene และจากการทำ enrichment ของ phenanthrene-degrading mixed cultures พบว่าเชื้อจุลินทรีย์มีความสามารถในการย่อยสลายสาร phenanthrene ได้จริง โดย enrichment culture ที่มาจากดินของเบลเยี่ยมมีความสามารถในการย่อยสลายสารได้ดีที่สุด

Sei และคณะ (2004) ได้ใช้วิธีทาง PCR-DGGE เพื่อสำรวจระบบนิเวศน์ของกลุ่มประชากรจุลินทรีย์ทั้งหมดในบริเวณที่มีการปนเปื้อนด้วยสารประกอบอะโรมาติก พวก phenol, benzoate และ salicylate พบว่า ตั้งแต่แรกนั้นกลุ่มจุลินทรีย์เหล่านี้มีพวกที่มีความสามารถย่อยสลาย phenol ได้อยู่แล้ว มีเพียงส่วนน้อยเท่านั้นของประชากรเดิมที่เพิ่มขึ้นมาแล้วส่งเสริมให้เกิดการย่อยสลาย benzoate และจากการติดตามดูการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นนี้ทำให้เกิดความรู้ที่กระจ่างชัดขึ้นในเรื่องพฤติกรรมของจุลินทรีย์ในการทำหน้าที่เป็นผู้ย่อยสลายสารอะโรมาติก ซึ่งจะนำไปสู่การพัฒนาการบำบัดทางชีวภาพโดยใช้จุลินทรีย์ต่อไป