การฟื้นฟูสภาพแวดล้อมที่ปนเปื้อนปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนด้วยพืช
Phytoremediation of Petroleum Hydrocarbons

ขนิษฐา สมตระกูล[1]*

[1]อาจารย์ ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม จังหวัดมหาสารคาม 44150

บทคัดย่อ

การปนเปื้อนของปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนในสิ่งแวดล้อมเป็นปัญหาที่สำคัญซึ่งก่อให้เกิดอันตรายต่อสิ่งมีชีวิตในระบบนิเวศ การฟื้นฟูสภาพแวดล้อมที่ปนเปื้อนด้วยปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนทำได้หลายวิธี การใช้พืชในการบำบัดถือเป็นทางเลือกหนึ่งที่ลดปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนที่ปนเปื้อนในดินได้อย่างมีประสิทธิภาพ และเป็นวิธีที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม กลไกหลักที่พืชใช้ในการบำบัดปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนมี 3 กลไก ได้แก่ การย่อยสลายโดยเอนไซม์จากพืชโดยตรง (Phytodegradation) การสะสมองค์ประกอบของปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนไว้ภายในชีวมวลของรากหรือยอด (Phytoaccumulation) และกลไกที่พืชสนับสนุนการย่อยสลายโดยการหลั่งสารจากรากพืชมากระตุ้นกิจกรรมของจุลินทรีย์ที่อาศัยบริเวณรอบรากพืช (Rhizodegradation)

Abstract

Petroleum hydrocarbon contamination in the environment is a public health concern as some compositions in petroleum hydrocarbons exert adverse effects on living organisms. Several methods have been used to reduce petroleum hydrocarbons from contaminated sites. Among these methods, phytoremediation is an effective and environmental friendly method to decontaminate petroleum hydrocarbons in soils. Plants use three mechanisms to remove petroleum hydrocarbons from the environment, including phytodegradation, phytoaccumulation, and rhizodegradation.

คำสำคัญ : การฟื้นฟูสภาพแวดล้อมทางชีวภาพ การฟื้นฟูสภาพสิ่งแวดล้อมด้วยพืช ปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอน
Keywords : Bioremediation, Phytoremediation, Petroleum Hydrocarbons

* *ผู้นิพนธ์ประสานงานไปรษณีย์อิเล็กทรอนิกส์ neung186@hotmail.com โทร. 083-060-5316*

สำนักวิทยบริการฯ มหาวิทยาลัยราชภัฏพระนคร

1. บทนำ

การฟื้นฟูสภาพแวดล้อมด้วยพืช หมายถึง การใช้ระบบทางสรีรวิทยาของพืชและการทำงานร่วมกันระหว่างพืชและจุลินทรีย์ที่อยู่ในบริเวณรากพืชเพื่อเคลื่อนย้าย เปลี่ยนรูป ย่อยสลาย หรือสะสมสารมลพิษที่ปนเปื้อนอยู่ในสิ่งแวดล้อม การใช้พืชบำบัดสารมลพิษเป็นวิธีที่ใช้ฟื้นฟูบริเวณที่ปนเปื้อนได้หลากหลาย ทั้งผิวหน้าดิน ดินตะกอน น้ำผิวดิน หรือแม้แต่สารมลพิษในบรรยากาศ (Susarla et al., 2002) ข้อดีของการใช้พืชฟื้นฟูสภาพแวดล้อมมีหลายประการ เช่น เป็นเทคโนโลยีที่มีต้นทุนต่ำ ไม่รบกวนระบบนิเวศของบริเวณที่ปนเปื้อน มีประสิทธิภาพในการฟื้นฟูแหล่งปนเปื้อนที่มีความเข้มข้นของสารมลพิษในระดับต่ำ และได้รับการยอมรับจากประชาชนทั่วไป เป็นต้น (Morikawa and Erkin, 2003) อย่างไรก็ตาม การใช้พืชมีข้อจำกัดหลายประการด้วยกัน คือ พืชไม่ทนทานสารพิษที่มีความเข้มข้นสูง หากสารมลพิษถูกย่อยสลายไม่สมบูรณ์อาจสะสมในพืชและถ่ายทอดผ่านห่วงโซ่อาหารได้ และใช้เวลานานเพราะขึ้นกับการเจริญเติบโตของพืช (Macek et al., 2000)

สารมลพิษที่พืชสามารถบำบัดได้มีทั้งโลหะหนัก เช่น สารหนู ตะกั่ว แคดเมียม โครเมียม เป็นต้น และสารมลพิษอินทรีย์ เช่น พอลิคลอริเนตไบเฟนิล (พีซีบี) พอลิไซคลิกอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอน (พีเอเอช) สารเคมีที่ใช้ทำวัตถุระเบิด เช่น ไตรไนโตรโทลูอีน หรือตัวทำละลายอินทรีย์ เช่น ไตรคลอโรเอทิลีน เป็นต้น เป้าหมายในการใช้พืชบำบัดสารมลพิษต่างชนิดกันจะแตกต่างกัน คือ การบำบัดสารมลพิษอินทรีย์ด้วยพืชมีเป้าหมายให้สารตั้งต้นถูกย่อยสลายหรือเปลี่ยนรูปไปเป็นสารที่มีความเป็นพิษน้อยลง ส่วนการใช้พืชบำบัดโลหะหนักมีเป้าหมายให้พืชสะสมโลหะไว้ในส่วนของลำต้นเหนือพื้นดินและนำพืชที่สะสมโลหะไว้ไปผ่านกระบวนการบำบัดต่อไป (Meagher, 2000)

บทความฉบับนี้จะเน้นการรวบรวมข้อมูลเกี่ยวกับการใช้พืชฟื้นฟูบริเวณที่ปนเปื้อนสารปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอน เนื่องจากสารในกลุ่มดังกล่าวมีการใช้งานอย่างแพร่หลายและมีโอกาสปนเปื้อนออกสู่สิ่งแวดล้อมอย่างสม่ำเสมอ ในประเทศไทยพบรายงานการปนเปื้อนของสารกลุ่มปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนเช่นกัน ดังที่มีรายงานพบสารกลุ่มนี้ในดินตะกอนบริเวณอ่าวไทยและแม่น้ำเจ้าพระยา (Boonyatumanond et al., 2006) แหล่งกำเนิดที่สำคัญของสารปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนมาจากการรั่วไหลจากแหล่งอุตสาหกรรม การรั่วไหลของน้ำมันเชื้อเพลิงในขณะขนส่ง และการเผาไหม้ที่ไม่สมบูรณ์ของสารอินทรีย์ การปนเปื้อนของปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนในสิ่งแวดล้อมก่อให้เกิดพิษต่อสิ่งมีชีวิตทั้งแบบเฉียบพลันและเรื้อรัง องค์ประกอบบางชนิดในปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนสามารถสะสมในร่างกายของสิ่งมีชีวิตและถ่ายทอดผ่านห่วงโซ่อาหารได้ การปนเปื้อนสารกลุ่มนี้จึงเป็นปัญหาสำคัญและควรรีบกำจัดออกจากสิ่งแวดล้อมโดยเร็ว (Perelo, 2010) การใช้พืชถือเป็นเทคโนโลยีหนึ่งที่มีประสิทธิภาพในการกำจัดปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนออกจากสิ่งแวดล้อม เพื่อให้เป็นประโยชน์แก่ผู้ที่สนใจศึกษาและวิจัยในหัวข้อดังกล่าวนี้ต่อไป

ภาควิชาวิทยาการโลกและสิ่งแวดล้อม มทร.พระนคร

2. ผลการศึกษา

2.1 สมบัติทั่วไปของปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนและความเป็นพิษ

ปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนเป็นแหล่งพลังงานหลักที่ใช้งานทั้งในภาคอุตสาหกรรมและการดำรงชีวิตในชีวิตประจำวัน การปนเปื้อนของปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนในสิ่งแวดล้อมเกิดจากการรั่วไหลจากขั้นตอนการสำรวจ การขุดเจาะ การขนส่ง กระบวนการผลิต รวมทั้งอุบัติเหตุที่เกิดจากการรั่วไหลของน้ำมันดิบ (Peng et al., 2009) ปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนประกอบด้วยองค์ประกอบหลายชนิด ได้แก่ ไฮโดรคาร์บอนอิ่มตัว ซึ่งมีทั้งที่เป็นประเภทโซ่ตรงและเป็นวง เช่น อัลเคนและไซโคลอัลเคน หรือพวกไม่อิ่มตัว เช่น อัลคีนและอัลไคน์ นอกจากนี้ ยังประกอบด้วยพวกที่มีวงอะโรมาติกอีกด้วย เช่น เบนซีน หรือพอลิไซคลิกอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอน และพวกที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูง เช่น แอสพัลส์ และเรซิน เป็นต้น (Merkl, 2006 และ Walker et al., 2001)

ความเป็นพิษของปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนต่อพืชเกิดขึ้นได้ 2 ลักษณะ ได้แก่ ความเป็นพิษทางอ้อมที่เกิดจากผลทางกายภาพของปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอน และความเป็นพิษทางตรงซึ่งเกิดจากพิษทางเคมีของสารที่เป็นองค์ประกอบในปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอน ความเป็นพิษทางอ้อมของปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนเกิดได้หลายลักษณะ เช่น คราบน้ำมันดิบที่ปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อมจะปกคลุมพื้นผิวดิน ลำต้น ราก และใบของพืช ทำให้อัตราการคายน้ำและการแลกเปลี่ยนแก๊สบริเวณปากใบและช่องว่างระหว่างเซลล์ของพืชลดลง และลดอัตราการสังเคราะห์ด้วยแสงของพืช โดยคราบน้ำมันจะจำกัดการแพร่ของคาร์บอนไดออกไซด์เข้าสู่ใบและลดปริมาณความเข้มของแสงที่ส่องถึงใบ คราบน้ำมันที่ปกคลุมอยู่ยังลดอัตราการแพร่ของออกซิเจนจากบริเวณเนื้อเยื่อที่มีรูพรุน ไปสู่ราก ซึ่งระดับความรุนแรงขึ้นกับปริมาณคราบน้ำมันที่ปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อม (Meudec et al., 2007)

องค์ประกอบทางเคมีในปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนที่เป็นพิษต่อพืชโดยตรงมักเกิดจากสารที่ระเหยได้ รวมถึงสารกลุ่มอะโรมาติกและพอลิไซคลิกอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอน (พีเอเอช) สารเหล่านี้ส่งผลต่อระบบสรีรวิทยาของพืช โดยรบกวนระบบเมแทบอลิซึมตามปกติและรบกวนพัฒนาการของพืช พีเอเอช เช่น เบนโซเอไพรีน รบกวนการสังเคราะห์ด้วยแสงของพืชโดยขัดขวางกระบวนการขนส่งอิเล็กตรอนจากระบบการสังเคราะห์ด้วยแสงที่ 2 (Photosystem II) ไปสู่ระบบการสังเคราะห์ด้วยแสงที่ 1 (Photosystem I) ทำให้ระบบการสังเคราะห์ด้วยแสงที่ 2 อิ่มตัวด้วยอิเล็กตรอนมากเกินไป และเกิดกระบวนการโฟโตเคมีคอลออกซิเดชัน (photochemical oxidation) ทำให้คลอโรฟิลล์บีถูกทำลาย กระบวนการหายใจและกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสงของพืชเกิดความผิดปกติ (Huang et al., 2004a) พีเอเอช เช่น ฟีแนนทรีน ยังส่งผลรบกวนกระบวนการขนส่งสารเข้าและออกเซลล์ของพืช โดยไปรบกวนการจัดเรียงตัวของเยื่อหุ้มเซลล์พืช โดยโมเลกุลของพีเอเอชเข้าไปแทนที่โมเลกุลของไขมันที่เยื่อหุ้มเซลล์ได้อีกด้วย (Meudec et al., 2007)

นอกจากนี้ องค์ประกอบที่สำคัญในปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนที่มีความสามารถในการละลายน้ำต่ำยังสามารถสะสมในพืชและสิ่งมีชีวิตอื่น ๆ และ

การสงวนลิขสิทธิ์ของ มหาวิทยาลัย

สามารถถ่ายทอดผ่านห่วงโซ่อาหารและส่งผลตามมาโดยเป็นอันตรายต่อสิ่งมีชีวิตชนิดอื่น ๆ เช่น ก่อให้เกิดมะเร็งและก่อการกลายพันธุ์ในสัตว์ได้ (Fan et al., 2008)

2.2 การฟื้นฟูสภาพแวดล้อมที่ปนเปื้อนปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอน

การฟื้นฟูบริเวณที่ปนเปื้อนด้วยปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนทำได้หลายวิธี ทั้งวิธีทางกายภาพ เคมี และชีวภาพ การฟื้นฟูสภาพแวดล้อมที่ปนเปื้อนด้วยวิธีทางเคมีและกายภาพถึงแม้จะเป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพในการบำบัด ทำได้รวดเร็ว คาดเดาผลสำเร็จของการบำบัดได้แน่นอน แต่ข้อจำกัด คือ ใช้ค่าใช้จ่ายสูง และรบกวนสิ่งแวดล้อมบริเวณที่ต้องการฟื้นฟูด้วย และหากดำเนินการไม่รอบคอบอาจทำให้เกิดการปนเปื้อนซ้ำจากสารเคมีที่ใช้ในการบำบัดได้อีก ในบางครั้งพบว่าการใช้วิธีทางกายภาพ เช่น การฝังกลบหรือการเผาไม่สามารถกำจัดปัญหาการปนเปื้อนของสารได้อย่างถาวร (Campbell et al., 2002; และ Perelo, 2010)

ปัจจุบันกระบวนการฟื้นฟูสภาพแวดล้อมด้วยวิธีทางชีวภาพจึงเป็นที่สนใจอย่างกว้างขวาง เนื่องจากมีประสิทธิภาพในการฟื้นฟูสภาพแวดล้อม และมีค่าใช้จ่ายต่ำกว่าวิธีทางกายภาพหรือเคมี (Macek et al., 2000) การฟื้นฟูสภาพแวดล้อมด้วยวิธีทางชีวภาพจะใช้กิจกรรมของสิ่งมีชีวิต เช่น จุลินทรีย์ในการเปลี่ยนแปลงสารมลพิษให้เป็นพิษน้อยลง หรือหมดไป (Andreoni and Gianfreda, 2007) แต่การใช้กิจกรรมจากจุลินทรีย์เพียงอย่างเดียวมีข้อจำกัด คือ จุลินทรีย์มีชีวมวลน้อย ต้องใช้เวลานานในการเพิ่มชีวมวลให้มากพอที่จะกำจัดสารมลพิษที่มีความเข้มข้นสูงออกจากสิ่งแวดล้อมได้ การใช้จุลินทรีย์เพียงอย่างเดียวจึงทำให้กระบวนการฟื้นฟูเกิดขึ้นช้า (Glick, 2003; และ Huang et al., 2004b)

การใช้พืชหรือการทำงานร่วมกันระหว่างพืชและจุลินทรีย์ เพื่อฟื้นฟูสภาพแวดล้อมที่ปนเปื้อนด้วยปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนในปัจจุบันจึงเป็นที่นิยมเพิ่มขึ้น การใช้พืชร่วมด้วยส่งผลดีต่อกระบวนการฟื้นฟูสภาพแวดล้อมหลายประการ เช่น พืชมีชีวมวลมากทำให้กระบวนการบำบัดเสร็จสิ้นเร็วขึ้น พืชทนทานต่อสารพิษในระดับความเข้มข้นที่สูงกว่าจุลินทรีย์ การใช้พืชบำบัดบริเวณที่ปนเปื้อนยังช่วยปรับปรุงโครงสร้างทางกายภาพและเคมีของดิน และช่วยลดการชะล้างพังทลายของหน้าดินได้เป็นอย่างดี (Abhilash et al., 2009; และ Meagher, 2000) แต่เนื่องจากปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนและสารมลพิษอีกหลายชนิดเป็นพิษต่อพืช ดังนั้น การใช้พืชในการฟื้นฟูดินที่ปนเปื้อนด้วยสารปิโตรเลียมจึงต้องพิจารณาเลือกพืชที่ทนทานต่อสารมลพิษที่ต้องการบำบัด เจริญเร็ว ทนต่อสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมหรือขาดแคลนสารอาหารได้ดี ไม่ต้องดูแลเอาใจใส่มากเพื่อลดค่าใช้จ่าย ต้องมีระบบรากที่ดี สามารถชอนไชดินและหยั่งรากลึกเพื่อประโยชน์ในการกำจัดสารมลพิษที่ปนเปื้อนในดินที่อยู่ลึก และยังเป็นการเพิ่มพื้นที่ผิวให้จุลินทรีย์ที่มีการย่อยสลายสารมลพิษมาอยู่อาศัย และเพิ่มปริมาณสารที่เป็นประโยชน์ที่หลั่งออกจากรากอีกด้วย พืชประจำถิ่นควรเป็นตัวเลือกอันดับแรก เพราะจะปรับตัวต่อสภาวะแวดล้อมของท้องถิ่นนั้น ๆ ได้ดี (Gerhardt et al., 2009) พืชที่มีคุณสมบัติดังที่กล่าวไว้ข้างต้นและนิยมใช้ในการฟื้นฟูสภาพแวดล้อมที่ปนเปื้อนด้วยปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนมักเป็นพืชในตระกูลหญ้าและตระกูลถั่ว เช่น หญ้าแฝก ข้าวโพด

วารสารวิชาการและวิจัย มทร.พระนคร

ข้าวไรน์ เป็นต้น (Brandt et al., 2006; Fan et al., 2008; และ Xu et al., 2006)

2.3 กลไกที่พืชใช้ในการฟื้นฟูบริเวณที่ปนเปื้อนด้วยสารมลพิษ

กลไกที่พืชใช้ลดปริมาณปิโตรเลียมที่ปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อมแต่ละกลไกมีลักษณะการทำงานแตกต่างกัน กลไกเหล่านี้อาจอาศัยกิจกรรมจากพืชโดยตรงหรือการส่งเสริมการทำงานของจุลินทรีย์ด้วยพืช เช่น พืชช่วยเพิ่มปริมาณจุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการย่อยสลายมลพิษในดิน ช่วยปรับปรุงโครงสร้างทางกายภาพและเคมีของดิน และอาจช่วยยึดเกาะของสารมลพิษกับบริเวณไรโซสเฟียร์ หรือพืชอาจมีเอนไซม์ที่ย่อยสลายสารมลพิษได้โดยตรง พืชบางชนิดสามารถสะสมสารมลพิษได้ด้วย (Lee et al., 2008; และ Macek et al., 2000) รายละเอียดของกลไกที่เป็นไปได้ที่พืชใช้ในการฟื้นฟูสภาพแวดล้อมที่ปนเปื้อนด้วยปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนมีดังต่อไปนี้

2.3.1 พืชสะสมสารมลพิษไว้ภายในรากและลำต้น (Plant Uptake และ Phyto-accumulation)

สารที่ปนเปื้อนในดินมักถูกดูดซึมและสะสมไว้ที่ราก สารที่สะสมอยู่ที่รากนี้มีการเคลื่อนย้ายไปสะสมไว้ในลำต้นได้น้อยมาก การสะสมในลำต้นมักเกิดจากองค์ประกอบที่ระเหยได้ของปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนถูกดูดซึมเข้าที่ไขของผิวใบหรือเข้าทางปากใบ แล้วจึงสะสมไว้ในใบหรือลำต้น (Gau and Zhu, 2004; และ Sheng-wang, et al., 2008) สารที่พืชสะสมไว้ส่วนใหญ่ไม่ถูกเปลี่ยนรูป นอกจากในบางครั้งพืชจะลดความเป็นพิษของสารโดยเปลี่ยนรูปสารนั้นบางส่วนแล้วเก็บสะสมไว้ที่ส่วนที่เป็นลิกนินของผนังเซลล์หรือแวคิวโอลของพืช (Meagher, 2000; และ Morikawa and Erkin, 2003) ปัจจัยที่ส่งผลต่อการสะสมของสารในชีวมวลของพืช คือ ปริมาณไขมันในราก และลำต้น พบว่า พืชน้ำมัน (oil crops) เช่น ถั่วอัลฟัลฟา (*Medicago sativa*) และเรปสีด (*Brassica campastris*) มีแนวโน้มสะสมสารมลพิษที่ละลายในไขมันหากเจริญในดินที่ปนเปื้อนด้วยพอลิไซคลิก อะโรมาติกไฮโดรคาร์บอน (Sheng-wang et al., 2008) สารที่มี log K_{ow} สูงจะมีแนวโน้มสะสมในส่วนที่เป็นไขมันของพืชได้มากกว่า ทั้งนี้ค่าลอการิทึมของค่าคงที่ระหว่างการละลายของสารในออกทานอลและน้ำ (log K_{ow}) เป็นค่าที่ทำนายความสามารถในการละลายน้ำของสาร โดยเมื่อ log K_{ow} มีค่าสูงแสดงว่าสารนั้นมีแนวโน้มละลายได้ดี ในไขมัน (Cheema et al., 2010) กลไกการสะสมไม่นิยมใช้ในการใช้ฟื้นฟูสภาพแวดล้อมที่ปนเปื้อนด้วยปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนมากนัก เพราะเป็นแค่การเปลี่ยนแหล่งที่อยู่ของสารมลพิษจากดินบริเวณรอบรากพืชไปสู่ลำต้น ราก หรือใบของพืชเท่านั้น หากสารเหล่านี้ไม่ถูกย่อยสลายต่อภายในเซลล์พืช สารมลพิษเหล่านี้อาจกลับคืนสู่สิ่งแวดล้อมอีกครั้งหลังจากที่พืชตายลง หรือต้องเลือกพืชที่มีความสามารถในการสะสมสารมลพิษในส่วนของลำต้นที่อยู่เหนือดิน เช่น ใบหรือลำต้น เพื่อนำไปกำจัดด้วยวิธีการทางกายภาพอีกครั้งหนึ่งได้สะดวก (Susarla et al., 2002) มีรายงานการศึกษาเกี่ยวกับการสะสมกลุ่มปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนในพืช เช่น Gao และ Zhu (2004) รายงานการสะสมฟีแนนทรีนและไพรีนในส่วนของยอด พบว่า ผักโขมสวน (*Amaranthus tricolor*) สามารถสะสมไพรีนและฟีแนนทรีนในยอดมากที่สุด ส่วนถั่วเหลือง

ภาควิชาการโปรแกรมวิชาการ มหาวิทยาลัย

(*Glycin max*) สะสมไพรีนและฟีแนนทรีนในรากมากที่สุด โดยการสะสมเกิดจากการเคลื่อนย้ายพีเอเอชมาจากราก นอกจากนี้ สารที่มีความสามารถในการละลายน้ำต่ำมาก เช่น ฟีแนนทรีนและไพรีนสามารถสะสมในพืชได้โดยอาศัยแรงดันจากการคายน้ำ (Harvey et al., 2002)

2.3.2 การย่อยสลายสารโดยอาศัยเอนไซม์จากพืช (Phytodegradation)

เอนไซม์จากพืชที่ใช้ในการย่อยสลายมีทั้งที่เป็นเอนไซม์ที่สร้างภายในเซลล์และเอนไซม์ ที่สร้างแล้วหลั่งออกมานอกเซลล์ หากการย่อยสลายเกิดภายในเซลล์พืช ต้องขนส่งสารเข้าสู่เซลล์พืชก่อนจึงจะถูกย่อยสลายได้ สารที่ขนส่งเข้าสู่เซลล์พืชได้ต้องมีค่า log K_{ow} อยู่ระหว่าง 1 และ 3.5 (Morikawa and Erkin, 2003) เอนไซม์ที่มีบทบาทในกระบวนการฟื้นฟูสภาพแวดล้อมด้วยพืชมีหลายชนิด ได้แก่ ดีฮาโลจีเนส (dehalogenase) ช่วยย่อยสลายสารที่มีคลอรีนเป็นองค์ประกอบ เพอร์ออกซิเดส (peroxidase) ช่วยเปลี่ยนแปลงสารประเภท ฟีนอล ไนโตรรีดักเตส (nitroreductase) ช่วยเปลี่ยนแปลงสารที่มีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบ ไนไตรเลส (nitrilase) ช่วยเปลี่ยนแปลงสารประเภทไซยาเนตอะโรมาติก และฟอสฟาเตส (phosphatase) ช่วยเปลี่ยนแปลงสารประเภทออร์กาโนฟอสเฟต เป็นต้น (Susarla et al., 2002) โดยทั่วไป เอนไซม์ที่มีบทบาทในการย่อยสลายสารมลพิษที่สำคัญมี 2 ชนิด คือ เพอร์ออกซิเดสและดีฮาโลจีเนส (Sheng-wang et al., 2008) เอนไซม์ที่ใช้ในการย่อยสลายสารกลุ่มอะโรมาติกซึ่งเป็นองค์ประกอบของปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนมักเป็นเอนไซม์ในกลุ่มเดียวกับเอนไซม์ที่ใช้ย่อยสลายสารประเภทฟีนอล การย่อยสลายสารโดยเอนไซม์จากพืชมีบทบาทในการฟื้นฟูสภาพแวดล้อมน้อยมาก เนื่องจากการย่อยสลายสารมลพิษโดยเอนไซม์จากพืชเกิดขึ้นได้ไม่สมบูรณ์เหมือนกับการย่อยสลายสารที่เกิดโดยจุลินทรีย์ การย่อยสลายสารมลพิษจากพืชมักทำให้เกิดสารตัวกลางที่เป็นพิษมากกว่าเดิมและอาจสะสมอยู่ในเนื้อเยื่อพืชและถ่ายทอดผ่านห่วงโซ่อาหารได้ (Perelo, 2010)

2.3.3 การย่อยสลายบริเวณรากพืช (Rhizodegradation)

การย่อยสลายสารมลพิษบริเวณรากพืชโดยกิจกรรมของจุลินทรีย์ถูกกระตุ้นจากพืชได้ 2 ลักษณะ คือ การที่รากพืชช่วยปรับปรุงโครงสร้างทางกายภาพของดิน เช่น การชอนไชและหยั่งลึกของรากพืช ช่วยเพิ่มออกซิเจนให้แก่ดิน ทำให้สารอาหารและน้ำแพร่ลงไปสู่ดินชั้นล่างได้มากขึ้น ถือเป็นการปรับสภาวะให้เหมาะสมต่อการทำงานของจุลินทรีย์ที่ย่อยสลายสารพิษได้ (Cheema et. al., 2010; Lee et al., 2008; Merkl et al., 2005; และ Xu, et al., 2006) สารที่หลั่งจากรากพืชยังช่วยกระตุ้นการย่อยสลายสารมลพิษได้ โดยสารที่หลั่งจากรากพืชเป็นได้ทั้งสารลดแรงตึงผิว เอนไซม์ สารอาหาร หรือสารอาหารร่วมเพื่อกระตุ้นให้จุลินทรีย์ใช้สารอาหารนี้ในการย่อยสลายสารพิษได้ด้วย (Cheema et al., 2009) ตัวอย่างสารเคมีที่หลั่งจากรากพืช เช่น กรดอะมิโน น้ำตาล และฟีนอล เป็นต้น สามารถใช้ปริมาณฟีนอลที่พืชหลั่งออกมาเป็นตัวคัดเลือกพืชที่นำมาใช้ในการฟื้นฟูสภาพแวดล้อมได้ เนื่องจากฟีนอลเป็นสารที่มีโครงสร้างคล้ายกับสารตัวกลางในวิถีของการย่อยสลายพีเอเอช ดังนั้น พืชที่หลั่งฟีนอลสามารถกระตุ้นให้แบคทีเรียที่อาศัยอยู่โดย

สำนักวิทยบริการและเทคโนโลยีสารสนเทศ มทร.พระนคร

รอบสามารถผลิตเอนไซม์ที่ไม่มีความจำเพาะเจาะจงกับฟีนอลเพียงอย่างเดียวมาย่อยสลายสารกลุ่มพีเอเอชที่มีโครงสร้างคล้ายคลึงกันได้ (Cheema et al., 2010; Lee et al., 2008) โดยบริเวณรอบรากพืช เป็นบริเวณที่มีการย่อยสลายปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนสูงมาก (Newman, 2004) บริเวณรอบรากพืชดังกล่าว มีปริมาณจุลินทรีย์มากกว่าดินที่ไม่ปลูกพืชประมาณ 10-100 เท่า (Gerhardt et al., 2009) Sheng-You และคณะ (2005) พบว่า การปลูก *Trifolium repens* ซึ่งเป็นพืชตระกูลถั่ว ร่วมกับการทำงานของจุลินทรีย์บริเวณรอบรากพืชช่วยกำจัดไพรีนที่ปนเปื้อนในดินได้ถึง 77% การลดลงของไพรีนที่เกิดจากกิจกรรมการย่อยสลายของจุลินทรีย์บริเวณรอบรากพืช การทำงานร่วมกันระหว่างพืชและจุลินทรีย์ทำให้ประสิทธิภาพในการกำจัดไพรีนสูงกว่าดินที่ไม่เติมจุลินทรีย์ และดินที่เติมเฉพาะจุลินทรีย์แต่ไม่ปลูกพืชถึง 57% และ 31% ตามลำดับ

ข้อจำกัดในการใช้พืชฟื้นฟูสภาพแวดล้อมที่ปนเปื้อนด้วยสารมลพิษปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอน หากสารมลพิษมีความเข้มข้นสูงเกินไปจะทำให้พืชเกิดความเครียดและรบกวนการเจริญตามปกติของพืช ส่งผลให้ประสิทธิภาพในการฟื้นฟูลดลงด้วย (Gerhardt et al., 2009) ดังนั้น พืชที่ใช้ในการฟื้นฟูสภาพแวดล้อมที่ปนเปื้อนด้วยปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนหรือสารมลพิษชนิดอื่น ๆ ต้องมีระบบรากที่ดีเพื่อเพิ่มพื้นที่ผิวในการหลั่งสารจากรากพืช และเพิ่มพื้นที่ผิวในการชอนไชดิน การใช้พืชหลายชนิดร่วมกันจะทำให้ประสิทธิภาพในการฟื้นฟูสภาพแวดล้อมได้สูงขึ้น ซึ่งเป็นการสะท้อนให้เห็นถึงสภาพธรรมชาติที่แท้จริง ปฏิสัมพันธ์ของรากพืชสองชนิดจะช่วยเปลี่ยนแปลงสรีรวิทยาของรากพืช เช่น เปลี่ยนแปลงกิจกรรมของเอนไซม์ เพิ่มความยาวราก และกระตุ้นการย่อยสลายได้มากขึ้น ปฏิสัมพันธ์ของรากพืชยังส่งผลต่อสมบัติพื้นที่ผิวของรากพืชและเปลี่ยนแปลงสภาพบริเวณรอบรากพืช ทำให้สารเข้าสู่รากพืชได้มากขึ้น และยังช่วยเปลี่ยนแปลงโครงสร้างกายภาพของดินทำให้น้ำและสารอาหารแพร่ถึงบริเวณลึกของดินได้มากขึ้น (Cheema et al., 2009) รายงานการวิจัยที่ใช้พืชฟื้นฟูสภาพแวดล้อมที่ปนเปื้อนด้วยปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนแสดงในตารางที่ 1

สำนักวิทยบริการฯ มหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี

ตารางที่ 1 รายงานการใช้พืชฟื้นฟูสภาพแวดล้อมที่ปนเปื้อนปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอน

พืช	คำอธิบาย	คณะวิจัย
Mirabilis jalapa	*Mirabilis jalapa* กระตุ้นการย่อยสลายปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนโดยจุลินทรีย์ในดินได้ดีกว่าดินที่ไม่ปลูกพืช โดยประสิทธิภาพในการกำจัดปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนเท่ากับ 41.61-63.20% เมื่อเทียบกับดินธรรมดาที่ไม่ปลูกพืชเท่ากับ 19.75-37.92% โดย *Mirabilis jalapa* กระตุ้นการย่อยสลายปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนได้ที่ระดับความเข้มข้นไม่เกิน 10,000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม	Peng et al., 2009
ข้าวฟ่าง	ข้าวฟ่าง เพิ่มประสิทธิภาพการย่อยสลายปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนของจุลินทรีย์บริเวณรากพืชได้ โดยระบบรากของพืชจะหลั่งสารอาหารและเปลี่ยนแปลงโครงสร้างทางกายภาพของดินทำให้น้ำและอากาศแพร่ผ่านมากขึ้น การปลูกพืชจะทำให้มีปริมาณจุลินทรีย์ที่ย่อยสลายปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนได้สูงขึ้นด้วย	Banks et al., 2003
หญ้าแฝก	หญ้าแฝกทนทานต่อน้ำมันดิบในดินได้ถึง 5% หญ้าแฝกไม่ช่วยลดปริมาณของปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนที่ปนเปื้อนในดิน แต่รากของหญ้าแฝกช่วยในการฟื้นฟูดินและปรับสภาพให้เหมาะสมต่อการเจริญของพืชชนิดอื่นที่มีประสิทธิภาพในการฟื้นฟูมากกว่า นอกจากนี้ หญ้าแฝกเป็นพืชที่โตช้าอาจต้องเพิ่มระยะเวลาในการทดลองออกไปอีก	Brant et al., 2006
Carex stricta, Panicum virgatum, Tripsacum dactyloides, Salix exigua, Populus spp.	*Carex stricta, Panicum virgatum* และ *Tripsacum dactyloides* ลดปริมาณปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนทั้งหมดได้ถึง 70% ภายในเวลา 1 ปี ในขณะที่ *Salix exigua, Populus* spp. และการไม่ปลูกพืชลดปริมาณปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนได้เพียง 20% การลดปริมาณปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนเกิดจากพืชเพิ่มจำนวนและกระตุ้นกิจกรรมของจุลินทรีย์ที่ย่อยสลายปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนได้	Euliss et al., 2008

วารสารวิชาการและวิจัย มทร.พระนคร

ตารางที่ 1 รายงานการใช้พืชฟื้นฟูสภาพแวดล้อมที่ปนเปื้อนปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอน (ต่อ)

พืช	คำอธิบาย	คณะวิจัย
Festuca arundinacea	การทำงานร่วมกันระหว่างการให้อากาศและแสงแก่ดิน (land farming) การเติมจุลินทรีย์ที่ย่อยสลายปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนได้ การเติมจุลินทรีย์ที่สนับสนุนการเจริญของพืช และปลูกพืชที่ทนทานต่อปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนลงในดินที่ปนเปื้อนด้วย oily refinery sludge 5% ทำให้ประสิทธิภาพในการกำจัดปิโตรเลียมดีขึ้นโดยกำจัดปิโตรเลียมได้มากกว่า 90% ในขณะที่การใช้วิธีเดียวกำจัดปิโตรเลียมได้ไม่เกิน 50% จุลินทรีย์ที่สนับสนุนการเจริญของพืชช่วยให้พืชทนทานสารพิษได้มากขึ้น	Huang et al., 2005
Juncus roemerianus	*Juncus roemerianus* ช่วยกระตุ้นการย่อยสลายน้ำมันความเข้มข้น 40 mg/g soil โดยปริมาณน้ำมันลดลงภายในเวลา 1 ปี เมื่อเทียบกับดินที่ไม่ได้ปลูกพืช การปลูกพืชลดปริมาณปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนทั้งหมด โดยลดปริมาณ n-alkane ได้ถึง 89.7% และลดปริมาณพีเอเอชได้ถึง 99.8% ที่บริเวณผิวดิน ดินไม่ปลูกพืช พบว่า ปริมาณ n-alkane ลดลงเพียง 66.8% และลดพีเอเอชได้เพียง 49%	Lin and Mendelssohn, 2009
Pinus sylvestris, Populus deltoids x Wettsteinii, การปลูกหญ้าผสม *(Festuca. rubra, Poa pratensis* และหญ้าไรน์) และ การปลูกถั่วผสม *(Trifolium repens* กับถั่วลันเตา)	พืชตระกูลถั่วกำจัดน้ำมันดีเซลออกจากดินได้ดีที่สุด รองลงมาคือ พืชกลุ่ม poplar และ pine พืชตระกูลหญ้ากำจัดน้ำมันดีเซลได้ไม่ต่างจากการไม่ปลูกพืช กลไกการกำจัดส่วนใหญ่มาจากการย่อยสลาย พืชตระกูลหญ้าสะสมองค์ประกอบของน้ำมันดีเซลที่รากได้ประมาณ 10 mg/kg น้ำหนักแห้งของเนื้อเยื่อพืช แต่มิใช่กลไกสำคัญในการกำจัดน้ำมันดีเซล	Palmroth et al., 2002
Salix sp., *Populus* sp. และ *Alnus* sp.	ปริมาณปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนโดยรวมลดลงแต่ไม่ได้มาจากกิจกรรมของพืชทั้งสามชนิด วัชพืชลดปริมาณพีเอเอชสูงกว่าพืชทั้งสาม ตลอดระยะเวลา 8 เดือนของการทดลอง	King et al., 2006

ภาควิชาการจัดการสิ่งแวดล้อม คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏพระนคร

3. สรุป

จากที่กล่าวมาทั้งหมดนี้ จะเห็นได้ว่า พืชมีประสิทธิภาพในการฟื้นฟูดินที่ปนเปื้อนปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนได้หลายวิธี ทั้งการย่อยสลายโดยเอนไซม์จากพืชโดยตรง การสะสมองค์ประกอบของปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนไว้ภายในชีวมวลของรากหรือยอด และการสนับสนุนการย่อยสลายโดยการหลั่งสารจากรากพืชมากระตุ้นกิจกรรมของจุลินทรีย์ที่อาศัยบริเวณรอบรากพืช แต่เนื่องจากการปนเปื้อนของสารประกอบปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนในสิ่งแวดล้อมจริง มักปนเปื้อนร่วมกับสารมลพิษอื่นอีกหลายชนิด ดังนั้น การบำบัดสารมลพิษจึงทำให้สมบูรณ์ในขั้นตอนเดียวได้ยาก และไม่อาจระบุให้แน่ชัดลงไปได้ว่าวิธีการบำบัดใดมีความเหมาะสมมากกว่ากัน การบำบัดสารมลพิษในหลายกรณีจำเป็นต้องใช้หลายวิธีร่วมกัน การนำพืชมาใช้ในการฟื้นฟูสภาพแวดล้อมที่ปนเปื้อนด้วยสารปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนต้องศึกษาผลสัมฤทธิ์และปัจจัยที่ส่งผลต่อการบำบัดอย่างรอบคอบก่อน เพราะการเจริญของพืชขึ้นอยู่กับสภาพภูมิอากาศ และสภาพแวดล้อมจริง ที่ควบคุมได้ยาก เช่น โครงสร้างของดิน องค์ประกอบของดิน สารอาหารพืชในดิน ความเป็นกรด-ด่างของดิน ปริมาณความชื้น สภาพดินฟ้าอากาศ ชนิดของจุลินทรีย์ประจำถิ่น และสัตว์รบกวน ซึ่งจะส่งผลให้ประสิทธิภาพในการใช้พืชฟื้นฟูบริเวณที่ปนเปื้อนเกิดการผันแปรไปได้

4. เอกสารอ้างอิง

Abhilash, P.C., Jamil, S., and Singh, N. 2009. **Transgenic plants for enhanced biodegradation and hytoremediation of organic xenobiotics.** Biotechnology Advances, 27, 474-488.

Andreoni, V. and Gianfreda, L. 2007. **Bioremediation and monitoring of aromatic-polluted habitats.** Applied Microbiology and Biotechnology, 76, 287-308.

Banks, M.K., Kulakow, P., Schwab, A.P., Chen, Z., and Rathbone, K. 2003. **Degradation of crude oil in the rhizosphere of *Sorghum bicola*.** International Journal of Phytoremediation, 5(3), 225-234.

Boonyatumanond, R., Wattayakorn, G., Togo, A., and Takada, H. 2006. **Distribution and origins of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in riverine, estuarine, and marine sediments in Thailand.** Marine Pollution Bulletin, 52, 942-956.

Brandt, R., Merkl, N., Schultze-Kraft, R., Infante, C., and Broll, G. (2006). **Potential of *Vetiverria zizanioides* (L.) Nash for phytoremediation of petroleum hydrocarbon-contaminated**

วารสารวิชาการและวิจัย มทร.พระนคร

soil in Venezuela. International Journal of Phytoremediation, 8, 273-284.

Campbell, S., Paquin, D., Awaya, J.D., and Li, Q.X. 2002. **Remediation of benzo(a)pyrene and chrysene contaminated soil with industrial hemp (*Cannabis sativa*).** International Journal of Phytoremediation, 4(2), 157-168.

Cheema, S.A., Khan, M.I., Tang, X., Zhang, C., Shen, C., Malik, Z., Ali, S., Yang, J., Shen, K., Chen, X., and Chen, Y. 2009. **Enhancement of phenanthrene and pyrene degradation in rhizosphere of tall fescue (*Festuca arundinacea*).** Journal of Hazardous Materials, 166, 1226-1231.

Cheema, S.A., Khan, M.I., Shen, C., Tang, X., Farooq, M., Chen, L., Zhang, C., and Chen, Y. 2010. **Degradation of phenanthrene and pyrene in spiked soils by single and combined plants cultivation.** Journal of Hazardous Materials, 177, 384-389.

Euliss, K., Ho, C., Schwab, A.P., Rock, S., and Bansk, M.K. 2008. **Greenhouse and field assessment of phytoremediation for petroleum contaminants in a riparian zone.** Bioresource Technology, 99, 1961-1971.

Fan, S., Li, P., Gong, Z., Ren, W., and He, N. 2008. **Promotion of pyrene degradation in rhizosphere of alfalfa (*Medicago sativa* L.).** Chemosphere, 71, 1593-1598.

Gerhardt, K.E., Huang, Xia-Dong, Glick, B.R., and Greenberg, B.M. 2009. **Phytoremediation and rhizoremediation of organic soil contaminants: potential and challenge.** Plant Science, 176, 20-30.

Gao, Y. and Zhu, L. 2004. **Plant uptake, accumulation and translocation of phenanthrene and pyrene in soils.** Chempsphere, 55, 1169-1178.

Glick, B.R. 2003. **Phytoremediation: synergistic use of plants and bacteria to clean up the environment.** Biotechnology Advances, 21, 383-393.

Harvey, P.J., Campanella, B.F., Castro, P.M.L., Harms, H., Lichtfouse, E., Schffner, A.R., Smrcek, S., and Werk-Reichhart, D. 2002. **Phytoremediation of polyaromatic hydrocarbons, anilines and phenols.** Environmental Science and Pollution Research, 9 (1), 29-47.

Huang, Xiao-Dong, El-Alawi, Y., Penrose, D.M., Glick, B.R., and Greenberg, B.M. 2004a. **Responses of three species to creosote during phytoremediation.** Environmental

Pollution, 130, 453-463.

Huang, Xiao-Dong, El-Alawi, Y., Penrose, D.M., Glick, B.R., and Greenberg, B.M. 2004b. **A multi-process phytoremediation system for removal of polycyclic aromatic hydrocarbons from contaminated soils.** Environmental Pollution, 130, 465-476.

Huang, Xiao-Dong, El-Alawi, Y., Gurska, J., Glick, B.R., and Greenberg, B.M. 2005. **A multi-process phytoremediation system for decontamination of persistent total petroleum hydrocarbons (TPH) from soils.** Microchemical Journal, 81, 139-147.

King, R.F., Royle, A., Putwain, P.D., and Dickinson, N.M. 2006. **Changing contaminant mobility in a dredge canal sediment during a three-year phytoremediation trial.** Environmental Pollution, 143, 318-326.

Lee, S., Lee, W., Lee, C., and Kim, J. 2008. **Degradation of phenanthrene and pyrene in rhizosphere of grasses and legumes.** Journal of Hazardous Materials, 153, 892-898.

Lin, Q. and Mendelssohn, I.A. 2009. **Potential of restoration and phytoremediation with *Juncus roemerianus* for diesel-contaminated coastal wetlands.** Ecological Engineering, 35, 85-91.

Macek, T., Mackov, M, and Ks. 2000. **Exploitation of plants for the removal of organics in environmental remediation.** Biotechnology Advances, 18, 23-34.

Meagher, R.B. 2000. **Phytoremediation of toxic elemental and organic pollutants.** Current Opinion in Plant Biology, 3, 153-162.

Merkl, N., Schultze-Kraft, R., and Arias, M. 2005. **Influence of fertilizer levels on phytoremediation of crude oil-contaminated soil with the tropical pasture grass *Brachiaria brizantha* (Hochst. EX A. Rich) Stapf.** International Journal of Phytoremediation, 7, 217-230.

Merkl, N., Schultze-Kraft, R., and Arias, M. 2006. **Effect of the tropical grass *Brachiaria brizantha* (Hochst. ex A. Rich.) Stapf on microbial population and activity in petroleum-contaminated soil.** Microbiological Research, 161, 80-91.

Meudec, A., Poupart, N., Dussauze, J., and Deslandes, E. 2007. **Relationship between heavy fuel oil phytotoxicity and polyaromatic hydrocarbon contamination in *Salicornia fragilis*.** Science of the Total Environment, 381, 146-156.

วารสารวิชาการและวิจัย มทร.พระนคร

Morikawa, H. and Erkin, Ö.C. 2003. **Basic processes in phytoremediation and some applications to air pollution control.** Chemosphere, 52, 1553-1558.

Newman, L.A. and Reynolds, C.M. 2004. **Phytodegradation of organic compounds.** Current Opinion in Biotechnology, 15, 225-230.

Palmroth, M.R.T., Pichtel, J., Puhakka, J.A. 2002. **Phytoremediation of subarctic soil contaminated with diesel fuel.** Bioresource Technology, 84, 221-228.

Peng, S., Zhou, Q., Cai, Z., and Zhang, Z. 2009. **Phytoremediation ofpetroleum contaminated soils by *Mirabilis jalapa* L. in a green house plot experiment.** Journal of Hazardous Materials, 168, 1490-1495.

Perelo, L.W. 2010. **Review: In situ and bioremediation of organic pollutants in aquatic sediments.** Journal of hazardous material, 177, 81-89.

Sheng-Yu, X. Ying-Xu, C., Kuang-Fei, L., Xin-Cai, C., Qi, L., Feng, L., and Zhao-Wei, W. 2005. **Removal of pyrene from contaminated soils by white clover.** Pedosphere, 19(2), 265-272.

Sheng-wang, P., Shi-qiang, W., Xin, Y., and Sheng-xian, C. 2008. **The removal and remediation of phenanthrene and pyrene in soil by mixed cropping of alfalfa and rape.** Agricultural Sciences in China, 7(11), 1355-1364.

Susarla, S., Medina, V.F., and McCutcheon, S.C. 2002. **Phytoremediation: an ecological solution to organic chemical contamination.** Ecological Engineering, 18, 647-658.

Walker, C.H., Hopkin, S.P., Sibly, R.M., and Peakall D.B. 2001. **Principles of Ecotoxicology.** 2nd ed. New York. Taylor and Francis Inc.

Xu, S.Y., Chen, Y.X., Wu, W.X., Wang, K.X., Lin, Q., Liang, X.Q. 2006. **Enhanced dissipation of phenanthrene and pyrene in spiked soil by combined plants cultivation.** Science of the Total Environment, 363, 206-215.