บทที่ 5

สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

จิรทีปฆ์ แสนรัก (2547) ได้ทำการคัดแยกกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่สามารถย่อยสลายไพรีนจากใบจามจุรี พบว่ากลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 สามารถย่อยสลายไพรีนที่มีความเข้มข้น 0.1 มก.ต่อมล.ได้หมดภายใน 14 วัน นอกจากนี้ยังสามารถลดปริมาณของอะซีแนพธีน ฟีแนนทรีน ฟลูออรีนและฟลูออแรนทีน ได้เป็นจำนวน 100 99 98 และ 34 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ภายในเวลา 14 วัน แบคทีเรียกลุ่มนี้สามารถแยกเชื้อบริสุทธิ์ได้อย่างน้อย 7 ชนิด โดยจัดอยู่ใน 4 สกุล ได้แก่ *Comamonas, Rugamonas, Flavimonas, Pseudomonas* และส่วนที่เหลือไม่สามารถจำแนกได้ และจากผลการวิจัยยังได้สนับสนุนว่าการย่อยสลายไพรีนจากการเติมใบพืชตระกูลถั่วเกิดจากการทำงานของกลุ่มแบคทีเรียที่อาศัยอยู่บนใบไม้ซึ่งเคยถูกกระตุ้นการย่อยสลายจากสารประกอบ PAHs ในอากาศที่ถูกสะสมในใบไม้พืชและหรือสารประกอบที่คล้ายกันกับที่สร้างโดยพืช

มีผู้รายงานว่าการเติมกลุ่มแบคทีเรียลงในดินที่ปนเปื้อนสารประกอบ PAHs โดยตรง จะทำให้กลุ่มแบคทีเรียตายหรือสูญเสียความสามารถในการย่อยสลายสารประกอบ PAHs ดังกล่าว (Johnsen และคณะ, 2006) Pattanasupong และคณะ (2004b) ได้คัดแยกกลุ่มแบคทีเรียจากน้ำในนาข้าวและมีการใช้ใยบวบหรือ loofa *(Luffa cylindrica)* มาช่วยในการค้ำจุนการเจริญของกลุ่มแบคทีเรียที่คัดแยกได้ และเพิ่มประสิทธิภาพในการย่อยสลายยาฆ่าแมลงที่ปนเปื้อนในนาข้าว ดังนั้นในงานวิจัยนี้ได้เลือกใช้วัสดุทางการเกษตร 3 ชนิด ประกอบด้วย ฟางข้าว ใยบวบและนมผักกระเฉดเพื่อให้การเจริญและการอยู่รอดกับกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ได้ดีที่สุด

ผลจากการวิจัยแสดงให้เห็นว่า กลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่เลี้ยงในวัสดุทางการเกษตรปลอดเชื้อทั้ง 3 ชนิด (ชุดการทดลองที่ 1-3) สามารถเพิ่มจำนวนได้ใกล้เคียงกัน โดยมีการเจริญสูงสุดอยู่ที่ประมาณ 10 log CFU ต่อกรัมวัสดุ โดยนมผักกระเฉดจะเป็นวัสดุทางการเกษตรที่ให้การเจริญและการอยู่รอดกับกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ได้ดีที่สุด เมื่อใช้วัสดุทางการเกษตรไม่ปลอดเชื้อแล้วเติมกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ลงไป (ชุดการทดลองที่ 4-6) พบว่าวัสดุทางการเกษตรทั้ง 3 ชนิดสามารถทำให้แบคทีเรียในวัสดุทางการเกษตรและกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่เติมลงไปเจริญได้ใกล้เคียงกันกับชุดที่ใช้วัสดุปลอดเชื้อ แสดงว่ามีแบคทีเรียในวัสดุทางการเกษตรไม่ปลอดเชื้ออยู่ไม่มาก ในวัสดุทางการเกษตรไม่ปลอดเชื้อ พบว่าแบคทีเรียในนมผักกระเฉดมีการเจริญและการอยู่รอดได้ดีที่สุดอยู่ที่ประมาณ 10 log CFU ต่อกรัมวัสดุ หลังจากการทดลอง 7 วัน ดังนั้นจะเห็นได้ว่านมผักกระเฉดเป็นวัสดุทางการเกษตรที่ให้การเจริญและการอยู่รอดกับกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 และรวมถึงแบคทีเรียในวัสดุทางการเกษตรนั้นด้วย อาจจะเนื่องมาจากนมผักกระเฉดมี

ปริมาณธาตุอาหารหลักนั่นคือไนโตรเจน ฟอสฟอรัสและโปแทสเซียม มากกว่าวัสดุทางการเกษตรอีก 2 ชนิดอย่างเห็นเด่นชัด ดังรายงานของ Van Veen (1997) รายงานถึงปัจจัยที่มีผลต่อการรอดชีวิตของจุลินทรีย์ที่เติมลงไปในดินปนเปื้อน ซึ่งมีทั้งปัจจัยทางกายภาพและชีวภาพ ปัจจัยทางกายภาพ ได้แก่ ปริมาณน้ำ แร่ธาตุในดิน สารอินทรีย์คาร์บอน ความเป็นกรด-ด่าง อุณหภูมิ สารเคมีที่อยู่ในดิน รวมถึงปริมาณไนโตรเจนและฟอสฟอรัส นอกจากนี้ Swindoll (1988) รายงานว่าการใส่สารอาหารและสารอนินทรีย์หลายชนิดได้แก่ ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส วิตามิน กรดอะมิโน เกลือแร่ มีผลให้จำนวนประชากรแบคทีเรียเพิ่มขึ้น และเหนี่ยวนำให้สร้างเอนไซม์ในการย่อยสลายสารประกอบ PAHs เพิ่มขึ้น นอกจากนี้ในนมผักกระเฉดมีสัดส่วนของปริมาณคาร์บอนต่อปริมาณไนโตรเจนประมาณ 10 : 1 ซึ่งเป็นสัดส่วนที่เหมาะสมต่อการย่อยสลายสารประกอบ PAHs ดังรายงานของ Vidali (2001) ทำการศึกษาภาวะที่เหมาะสมในการย่อยสลายสารประกอบ PAHs ที่ปนเปื้อนในดินให้มีประสิทธิภาพ พบว่าอัตราส่วนของคาร์บอนต่อไนโตรเจนต่อฟอสฟอรัส (C:N:P) ควรมีค่าประมาณ 100:10:1

เมื่อทดสอบความสามารถของกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่เตรียมในวัสดุทางการเกษตรปลอดเชื้อต่างๆในการย่อยสลายไพรีนและฟีแนนทรีนความเข้มข้นสุดท้ายชนิดละ 0.05 มก./มล. ตามข้อ 4.5.1 รูปที่ 4.11-4.13 พบว่ากลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่เลี้ยงในวัสดุทางการเกษตรปลอดเชื้อทั้ง 3 ชนิด ได้แก่ ฟางข้าว ใยบวบและนมผักกระเฉด ในอาหารเหลว CFMM ที่มีไพรีนและฟีแนนทรีน มีจำนวนเพิ่มขึ้นสูงสุด โดยมีจำนวนแบคทีเรียประมาณ 11 log CFU ต่อกรัมวัสดุ ปริมาณไพรีนและฟีแนนทรีนลดลงอย่างรวดเร็วภายใน 3 วันและหมดภายใน 14 วัน วัสดุทางการเกษตรที่ใช้ทั้ง 3 ชนิดจะให้ผลใกล้เคียงกัน

ชุดการทดลองที่ใช้วัสดุทางการเกษตรไม่ปลอดเชื้อเพื่อเตรียมกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ตามข้อ 4.5.2 รูปที่ 4.14-4.16 พบว่าแบคทีเรียทั้งหมดในวัสดุทางการเกษตรและกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่เติมลงไปมีจำนวนเพิ่มขึ้นสูงสุดอยู่ที่ประมาณ 10-11 log CFUต่อกรัมวัสดุ ปริมาณไพรีนและฟีแนนทรีนลดลงอย่างรวดเร็วใน 3 วันแรกและหมดภายใน 7 วัน ซึ่งผลการทดลองกับวัสดุทางการเกษตรทั้ง 3 ชนิดให้ผลที่ไม่แตกต่างกัน จากผลการทดลองดังกล่าวจะเห็นว่าปริมาณไพรีนและฟีแนนทรีนจะลดลงสอดคล้องกับจำนวนแบคทีเรียที่เพิ่มขึ้น ซึ่งแสดงให้เห็นว่าแบคทีเรียในวัสดุทางการเกษตรและหรือกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่เติมลงไปน่าจะย่อยสลายไพรีนและฟีแนนทรีนเพื่อเป็นแหล่งคาร์บอนและพลังงานได้และสามารถอยู่รอดและเพิ่มจำนวนได้ในวัสดุทางการเกษตรทั้ง 3 ชนิดที่ทดสอบ

เมื่อทดสอบการย่อยสลายหรือการดูดซับของไพรีนและฟีแนนทรีนโดยฟางข้าวไม่ปลอดเชื้อ ตามรูปที่ 4.14 พบว่าปริมาณไพรีนลดลงเล็กน้อย กล่าวคือ เหลือมากกว่า 90 เปอร์เซ็นต์ เมื่อวันที่ 35 ของการทดลอง ซึ่งแสดงให้เห็นว่าแบคทีเรียในฟางข้าว ไม่สามารถใช้ไพรีนเพื่อเป็นแหล่ง

คาร์บอนในการเจริญได้ ในขณะที่ฟีแนนทรีนมีปริมาณลดลงจนเหลือเพียง 1.70 เปอร์เซ็นต์ ในวันที่ 35 ของการทดลอง และจำนวนแบคทีเรียในฟางข้าวมีจำนวนเพิ่มขึ้นและคงที่ตลอดการทดลอง จึงเป็นไปได้ว่าแบคทีเรียในฟางข้าวน่าจะสามารถย่อยสลายฟีแนนทรีนได้แต่ไม่ย่อยสลายไพรีน เมื่อพิจารณาร่วมกับปริมาณไพรีนและฟีแนนทรีนที่ถูกดูดซับโดยฟางข้าวปลอดเชื้อจนเหลือประมาณ 85 และ 50 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ตามรูปที่ 4.11 จึงอาจยืนยันได้ว่าแบคทีเรียในฟางข้าวน่าจะย่อยสลายฟีแนนทรีนได้ ในขณะที่ไม่สามารถย่อยสลายไพรีน ซึ่งตรงกับรายงานของ Simonich และ Hites (1994) ได้รายงานว่าฟางข้าวสามารถดูดซับสารประกอบ PAHs เอาไว้ได้ เนื่องจากที่บริเวณรากและใบของพืชทุกชนิดจะปกคลุมด้วยสารคิวติน ซึ่งมีลักษณะเป็นไข (wax) ที่ไม่ชอบน้ำอยู่ที่ชั้นคิวทิเคิล (cuticle) ที่เนื้อเยื่อชั้นนอกสุด ซึ่งชั้นไขนี้จะสะสมสารอินทรีย์มลพิษจากอากาศ ดินและน้ำ แต่การจับสารพิษเอาไว้ในพืชขึ้นอยู่กับสมบัติของสาร สภาวะในสิ่งแวดล้อมและลักษณะของพืช เช่น พื้นที่ผิว ปริมาณไขมัน เป็นต้น

เมื่อทดสอบการย่อยสลายหรือการดูดซับของไพรีนและฟีแนนทรีนโดยใยบวบและนมผักกระเฉดไม่ปลอดเชื้อ ตามรูปที่ 4.15 และ 4.16 พบว่าปริมาณไพรีนลดลงเล็กน้อย กล่าวคือ เหลือประมาณ 80 และ 90 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ เมื่อวันที่ 35 ของการทดลอง ซึ่งแสดงให้เห็นว่าแบคทีเรียในใยบวบและนมผักกระเฉดไม่สามารถใช้ไพรีนเพื่อเป็นแหล่งคาร์บอนในการเจริญได้ ในขณะที่ฟีแนนทรีนในใยบวบและนมผักกระเฉดมีปริมาณลดลงจนเหลือประมาณ 50 และ 70 เปอร์เซ็นต์ ในวันที่ 35 ของการทดลอง ซึ่งลดลงน้อยกว่าในฟางข้าว และจำนวนแบคทีเรียในใยบวบและนมผักกระเฉดมีจำนวนเพิ่มขึ้นและคงที่ตลอดการทดลอง จึงเป็นไปได้ว่าแบคทีเรียในใยบวบและนมผักกระเฉดน่าจะสามารถย่อยสลายฟีแนนทรีนได้เล็กน้อยแต่ไม่ย่อยสลายไพรีน แต่เมื่อพิจารณาร่วมกับปริมาณไพรีนและฟีแนนทรีนที่ถูกดูดซับโดยใยบวบและนมผักกระเฉดปลอดเชื้อ จนเหลือประมาณ 87 และ 50 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับในใยบวบ และเหลือประมาณ 95 และ 80 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับในนมผักกระเฉด ตามรูปที่ 4.12 และ 4.13 จึงยืนยันได้ว่าแบคทีเรียในใยบวบและนมผักกระเฉดไม่น่าจะย่อยสลายทั้งไพรีนและฟีแนนทรีนได้ จากรายงานของ Ogbonna และคณะ (1994) รายงานว่าใยบวบมีลักษณะเป็นร่างแหเชื่อมกันทำให้เกิดรูขนาดใหญ่เป็นจำนวนมาก ดังนั้นจึงไม่สามารถดูดซับสารประกอบ PAHs ไว้ได้ นมผักกระเฉดมีโครงสร้างที่เป็นเหมือนฟองน้ำ มีรูพรุน อุ้มน้ำได้ดี (มูลนิธิโลกสีเขียว, 2543) จึงสามารถดูดซับสารประกอบ PAHs ไว้ได้ดี

เมื่อพิจารณาการย่อยสลายไพรีนและฟีแนนทรีนในอาหารเหลว CFMM โดยกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 เพียงอย่างเดียว ตามวิธีข้อ 4.3 รูปที่ 4.4 เทียบกับกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่เลี้ยงในวัสดุทางการเกษตร พบว่า กลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่เลี้ยงในอาหารเหลว CFMM สามารถย่อยสลายไพรีนและฟีแนนทรีนใน 3 วันแรก ได้อย่างรวดเร็วเช่นเดียวกับกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่

เลี้ยงในวัสดุทางการเกษตร ที่เป็นเช่นนี้เพราะความเข้มข้นของไพรีนและฟีแนนทรีนที่ใช้ เข้มข้นเพียงชนิดละ 0.05 มก./มล. ซึ่งเป็นความเข้มข้นที่น้อย จึงทำให้ผลที่ใช้และไม่ใช้วัสดุทางการเกษตรไม่แตกต่างกัน

เนื่องจากกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่เลี้ยงในวัสดุทางการเกษตรทั้ง 3 ชนิด สามารถย่อยสลายไพรีนและฟีแนนทรีนที่ความเข้มข้นสุดท้ายชนิดละ 0.05 มก./มล. ได้หมดอย่างรวดเร็วภายใน 3 วัน จึงได้ศึกษาโดยเพิ่มความเข้มข้นขึ้นเป็น 10 เท่า กล่าวคือ ไพรีนและฟีแนนทรีนความเข้มข้นสุดท้ายชนิดละ 0.5 มก./มล.หรือมีความเข้มข้นรวม 1.0 มก./มล. ซึ่งมีรายงานว่าแบคทีเรียที่คัดแยกยังสามารถย่อยสลายได้ ดังรายงานของ Wong และคณะ (2004) ได้ทำการคัดแยก *Burkholderia cocovenenans* สายพันธุ์ BU-3 จากดินที่ปนเปื้อนน้ำมันปิโตรเลียม พบว่ามีประสิทธิภาพในการย่อยสลายฟีแนนทรีนความเข้มข้น 1.0 มก./มล. ได้ถึง 65 เปอร์เซ็นต์ ภายใน 10 วัน และรายงานของ Mesdaghinia และคณะ (2005) ได้คัดแยกกลุ่มแบคทีเรียจากดินเหนียวที่ปนเปื้อนน้ำมันปิโตรเลียม กลุ่มแบคทีเรียนี้ประกอบด้วย *Pseudomonas fluorescence*, *Serratia liquefaciens*, *Bacillus* sp. และ *Micrococcus* sp. พบว่าสามารถย่อยสลายฟีแนนทรีนความเข้มข้น 1.0 มก./มล. ได้หมดภายใน 93 วัน

จากชุดการทดลองที่ 1 ตามข้อ 4.6.1 พบว่ากลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่เลี้ยงในฟางข้าวและใยบวบปลอดเชื้อในอาหารเหลว CFMM ที่มีไพรีนและฟีแนนทรีนความเข้มข้นสุดท้ายชนิดละ 0.5 มก./มล. มีจำนวนเพิ่มขึ้นสูงที่สุดถึงประมาณ 10-11 log CFU ต่อกรัมวัสดุ ปริมาณไพรีนและฟีแนนทรีนลดลงอย่างรวดเร็ว จนไพรีนหมดในวันที่ 21 และฟีแนนทรีนหมดในวันที่ 14 ของการทดลอง โดยในช่วง 3 วันแรก ปริมาณไพรีนและฟีแนนทรีนลดลงอย่างมากในฟางข้าวและนมผักกระเฉด ซึ่งต่างจากใยบวบที่ลดลงช้ากว่า ส่วนในนมผักกระเฉด ปริมาณไพรีนและฟีแนนทรีนลดลงอย่างรวดเร็วและหมดในวันที่ 7 และจำนวนกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 เพิ่มขึ้นมากกว่า 11 log CFU ต่อกรัมวัสดุ ที่เป็นเช่นนี้เพราะนมผักกระเฉดสามารถดูดซับไพรีนและฟีแนนทรีนไว้ได้ดีที่สุดตามรูปที่ 4.3 กลุ่มแบคทีเรียจึงสามารถนำไปใช้ในการย่อยสลายได้ดี จึงอาจสรุปได้ว่ากลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่เลี้ยงในวัสดุทางการเกษตรที่ปลอดเชื้อทั้ง 3 ชนิด สามารถย่อยสลายไพรีนและฟีแนนทรีนที่ความเข้มข้นสุดท้ายชนิดละ 0.5 มก./มล. ได้หมดอย่างมีประสิทธิภาพเมื่อเทียบกับกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่ย่อยสลายสารประกอบ PAHs ได้เพียง 0.1 มก./มล. ภายใน 14 วัน (จิรทีปม์ แสนรัก, 2547)

จากชุดการทดลองที่ 2 ตามข้อ 4.6.2 พบว่ากลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่เตรียมในฟางข้าวและใยบวบไม่ปลอดเชื้อ สามารถย่อยสลายไพรีนและฟีแนนทรีนได้หมดภายใน 14 วัน แบคทีเรียทั้งหมดในวัสดุทางการเกษตรและกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่เติมลงไปมีจำนวนเพิ่มขึ้นสูงสุดอยู่ที่ประมาณ 10-11 log CFU ต่อกรัมวัสดุ ส่วนกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่เตรียมในนมผักกระเฉดไม่

ปลอดเชื้อ สามารถย่อยสลายไพรีนและฟีแนนทรีนได้เกือบหมดภายใน 7 วัน โดยในช่วง 3 วันแรก ปริมาณไพรีนและฟีแนนทรีนจะลดลงอย่างมาก ซึ่งแตกต่างจากฟางข้าวและใยบวบ เมื่อเทียบกับกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่เตรียมในวัสดุปลอดเชื้อ พบว่าปริมาณไพรีนและฟีแนนทรีนหมดในช่วงเวลาเดียวกัน แต่ปริมาณไพรีนและฟีแนนทรีนในช่วง 7 วันแรกจะลดลงช้ากว่าการใช้กลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่เตรียมในวัสดุปลอดเชื้อ ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 อาจใช้แหล่งคาร์บอนที่ได้จากการย่อยสลายวัสดุทางการเกษตรโดยแบคทีเรียในวัสดุทางการเกษตรนั้น จึงทำให้กลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 เพิ่มจำนวนในช่วงแรก แต่ไม่มีการย่อยสลายไพรีนและฟีแนนทรีนเกิดขึ้น เมื่อเวลาผ่านไปจำนวนกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 มีมากขึ้น จะมีการย่อยสลายไพรีนและฟีแนนทรีนอย่างรวดเร็วและหมดไปได้ดังที่เห็นในรูปที่ 4.20-4.22

เมื่อทดสอบการย่อยสลายหรือการดูดซับของไพรีนและฟีแนนทรีนที่ความเข้มข้นสุดท้ายชนิดละ 0.5 มก./มล. โดยวัสดุทางการเกษตรที่ไม่ปลอดเชื้อ ตามรูปที่ 4.20-4.22 พบว่าปริมาณไพรีนและฟีแนนทรีนไม่ลดลงเลยในวัสดุทางการเกษตรทั้ง 3 ชนิด กล่าวคือ เหลือประมาณ 80 - 100 เปอร์เซ็นต์ เมื่อวันที่ 35 ของการทดลอง ซึ่งแสดงให้เห็นว่าแบคทีเรียในวัสดุทางการเกษตรไม่ปลอดเชื้อทั้ง 3 ชนิด ไม่สามารถใช้ไพรีนและฟีแนนทรีนที่ความเข้มข้นสูงมากเพื่อเป็นแหล่งคาร์บอนในการเจริญได้ แต่จำนวนแบคทีเรียในวัสดุทางการเกษตรไม่ปลอดเชื้อทั้ง 3 ชนิดมีจำนวนเพิ่มขึ้นและคงที่ตลอดการทดลอง และเมื่อพิจารณาร่วมกับปริมาณไพรีนและฟีแนนทรีนที่ถูกดูดซับโดยวัสดุทางการเกษตรปลอดเชื้อทั้ง 3 ชนิด พบว่าเหลือประมาณ 80-100 เปอร์เซ็นต์ ตามรูปที่ 4.17-4.19 จึงยืนยันได้ว่าแบคทีเรียในวัสดุทางการเกษตรที่ไม่ปลอดเชื้อทั้ง 3 ชนิด ไม่น่าจะย่อยสลายทั้งไพรีนและฟีแนนทรีนได้ แต่สามารถใช้แหล่งคาร์บอนที่ได้จากการย่อยสลายวัสดุทางการเกษตรเพื่อเพิ่มจำนวนได้

เมื่อพิจารณาการย่อยสลายไพรีนและฟีแนนทรีนในอาหารเหลว CFMM ที่ความเข้มข้นสุดท้ายชนิดละ 0.5 มก./มล. โดยกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 เพียงอย่างเดียว ตามข้อ 4.6.3 รูปที่ 4.23 พบว่า ปริมาณไพรีนและฟีแนนทรีนลดลงอย่างรวดเร็วภายใน 7 วัน และหมดในวันที่ 28 ของการทดลอง เมื่อเทียบกับกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่เลี้ยงในวัสดุทางการเกษตร พบว่ากลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 สามารถย่อยสลายไพรีนและฟีแนนทรีนใน 7 วันแรกได้อย่างรวดเร็วพอกันในทั้ง 2 ชุด แต่จะสามารถย่อยสลายไพรีนและฟีแนนทรีนได้หมดช้ากว่าเมื่อเตรียมกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ในวัสดุทางการเกษตร ชี้ให้เห็นว่าวัสดุทางการเกษตรมีส่วนช่วยให้แบคทีเรียมีจำนวนเพิ่มขึ้นและสามารถย่อยสลายไพรีนและฟีแนนทรีนได้มีประสิทธิภาพมากขึ้น

การศึกษาพลวัตรประชากรแบคทีเรียโดยวิธี DGGE จะเลือกทำเฉพาะชุดที่มีทั้งประชากรแบคทีเรียในวัสดุทางการเกษตรแต่ละชนิดและประชากรกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 นั่นคือ ชุดวัสดุทางการเกษตรไม่ปลอดเชื้อที่ผสมกับกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 และชุดควบคุมที่มีแต่วัสดุไม่

ปลอดเชื้อ และเลือกทำเฉพาะชุดที่มีไพรีนและฟีแนนทรีนความเข้มข้นสุดท้ายชนิดละ 0.5 มก. ต่อมล. เพราะผลของความสามารถในการย่อยสลายไพรีนและฟีแนนทรีนที่ความเข้มข้นนี้ให้ผลที่แตกต่างกันในวัสดุทางการเกษตรทั้ง 3 ชนิด

ผลการทำ DGGE พบว่าจากชุดที่ใช้วัสดุทางการเกษตรไม่ปลอดเชื้อผสมกับกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ในอาหารเหลว CFMM ตามข้อ 4.7.1 พบว่ากลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 จะคงอยู่ตลอด 35 วันของการทดลองในวัสดุทางการเกษตรไม่ปลอดเชื้อทั้ง 3 ชนิด โดยในวันที่ 14 ซึ่งเป็นวันที่ประชากรกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 มีการเจริญสูงสุด ก็จะพบแถบดีเอ็นเอที่มีความเข้มที่สุด ซึ่งแสดงให้เห็นว่าความเข้มของแถบดีเอ็นเอสอดคล้องกับจำนวนและความสามารถในการย่อยสลายไพรีนและฟีแนนทรีน

ในชุดควบคุม ซึ่งใช้วัสดุทางการเกษตรไม่ปลอดเชื้อเพียงอย่างเดียวในอาหารเหลว CFMM พบว่าหลังจากวันที่ 14 จะเริ่มพบแถบดีเอ็นเอที่เห็นชัดเจน ซึ่งตรงกับแถบดีเอ็นเอของแบคทีเรียในวัสดุทางการเกษตรไม่ปลอดเชื้อทั้ง 3 ชนิด ทั้งนี้อาจเป็นเพราะเป็นช่วงเวลาที่ไพรีนและฟีแนนทรีนหมด เป็นเหตุให้แบคทีเรียในวัสดุทางการเกษตรย่อยสลายวัสดุทางการเกษตรหรือสามารถใช้สารมัธยันตร์ที่เกิดจากการย่อยสลายไพรีนและฟีแนนทรีนของกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 เพื่อเพิ่มจำนวนได้ สารมัธยันตร์เป็นสารโมเลกุลเล็กที่แบคทีเรียทั่วไปสามารถใช้ได้ เช่น พะทาเลท (phthalate), ไพรูเวท (pyruvate), ซัคซีเนท (succinate), โปรโตแคททีคูเอท (proto-catechuate) (Kim และคณะ, 2007) และเบนโซเอท (Schennen และคณะ, 1985) เป็นต้น

จากงานวิจัยของ Cunliffe และ Kertesz (2005) ใช้เทคนิค DGGE ในการศึกษาการเปลี่ยนแปลงของประชากรจุลินทรีย์ในดินที่ปนเปื้อนสารประกอบ PAHs และ *Sphingobium yanoikuyae* สายพันธุ์ B1 ที่เติมลงไป ซึ่งสามารถย่อยสลายสารประกอบ PAHs ได้หลายชนิด พบว่ามีแถบดีเอ็นเอของ *Sphingobium yanoikuyae* สายพันธุ์ B1 ชัดเจนในช่วงเวลาของการบำบัดและจะไม่กระทบกับโครงสร้างประชากรจุลินทรีย์ในดิน ส่วนประชากรจุลินทรีย์ในดินจะมีการเปลี่ยนแปลงเล็กน้อย

แถบดีเอ็นเอของกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่ใช้เป็นชุดควบคุมที่ให้ผลบวก (positive control) ซึ่งผ่านการเลี้ยงเชื้อจนเห็นการเปลี่ยนแปลงสีของอาหารเหลว CFMM มาเป็นระยะเวลาเพียง 3 วัน พบว่ามีแถบดีเอ็นเอที่เห็นชัดเกิดขึ้น 3 แถบ แต่จากงานวิจัยที่ผ่านมาของจิรทีปม์ แสนรัก (2547) พบว่ากลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ประกอบด้วยเชื้อบริสุทธิ์อย่างน้อย 7 ชนิด ถ้าพิจารณาจากผลของจิรทีปม์แล้ว น่าจะเห็นแถบดีเอ็นเอทั้ง 7 แถบ แต่เนื่องจากตั้งแต่ทำการคัดแยกกลุ่มแบคทีเรียนี้จนถึงปัจจุบัน เป็นระยะเวลานาน ดังนั้นเมื่อกลุ่มแบคทีเรียชนิดนี้ได้ผ่านการกระตุ้นให้มีความสามารถในการย่อยสลายไพรีนและฟีแนนทรีนบ่อยครั้งขึ้น ทำให้แบคทีเรียที่เหลือ 3 ชนิดนี้อาจเป็นชนิดที่มีความสามารถในการย่อยสลายมากที่สุด เราจึงเห็นเพียงแค่ 3 แถบ ซึ่งใน

ความเป็นจริง ถ้าระยะเวลาในการเลี้ยงกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ในอาหารเหลว CFMM ใช้เวลามากกว่า 3 วัน เราอาจจะเห็นแถบดีเอ็นเอเพิ่มขึ้นมาในวันหลังๆได้ เนื่องจากเป็นแบคทีเรียชนิดที่เจริญด้วยสารมัธยันตร์ที่เกิดจากไพรีน/ฟีแนนทรีนถูกย่อยสลาย

การทำ DGGE นี้สามารถบอกผลได้เป็น semi-quantitative กล่าวคือบอกปริมาณที่แน่นอนไม่ได้ บอกได้แต่เพียงแนวโน้มว่าในแต่ละวันของการทดลองมีแถบดีเอ็นเอใดบ้างที่เทียบแล้วตรงกับแบคทีเรียที่ทราบตำแหน่ง และมีแถบดีเอ็นเอใดเกิดขึ้นอีก มีความเข้มและความหลากหลายในแต่ละวันเป็นอย่างไร และศึกษาโดยรวมว่าประชากรแบคทีเรียมีการเปลี่ยนแปลงอย่างไร แต่ถ้าอยากทราบชนิดของแบคทีเรีย สามารถทำได้โดยตัดแถบดีเอ็นเอในเจลนั้นไปทำให้บริสุทธิ์และนำไปหาลำดับนิวคลีโอไทด์ต่อไป

การใช้วัสดุทางการเกษตรผสมกับจุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการย่อยสลายสารพิษ วัสดุทางการเกษตรจะช่วยเป็นที่จับเกาะของจุลินทรีย์ ทำให้จุลินทรีย์สามารถใช้สารอินทรีย์และธาตุอาหารในวัสดุทางการเกษตรเป็นแหล่งคาร์บอนและพลังงานในการเจริญและเพิ่มจำนวน (Van Veen และคณะ, 1997) และจุลินทรีย์ยังคงมีความสามารถในการย่อยสลายสารพิษอยู่ นอกจากนี้วัสดุทางการเกษตรยังเป็นแหล่งของจุลินทรีย์อื่นๆจำนวนมากที่สามารถเสริมการย่อยสลายสารพิษได้จึงทำให้การย่อยสลายเกิดได้เร็วขึ้น (Van Veen และคณะ, 1997)

จากงานวิจัยนี้ จะเห็นได้ว่ากลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่เติมลงในนมผักกระเฉดปลอดเชื้อและไม่ปลอดเชื้อจะมีการเจริญและความสามารถในการย่อยสลายได้สูงสุดเป็นเพราะว่านมผักกระเฉดมีลักษณะเป็นเนื้อเยื่อสีขาวล้อมรอบลำต้นผักกระเฉด ทำให้พยุงตัวลอยน้ำได้ มีโครงสร้างที่เป็นเหมือนฟองน้ำ มีรูพรุน เบา อุ้มน้ำได้ดี (มูลนิธิโลกสีเขียว, 2543) ทำให้สามารถดูดซับสารประกอบ PAHs เอาไว้ในรูพรุนได้มาก แต่เมื่อนมผักกระเฉดดูดซับสารถึงปริมาณหนึ่งซึ่งมากเพียงพอ ก็จะปล่อยสารที่ดูดซับไว้ออกมาอยู่ในส่วนของอาหารเหลว CFMM นอกจากนี้ยังเป็นที่จับเกาะของกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ทำให้สามารถย่อยสลายไพรีนและฟีแนนทรีนได้ง่ายขึ้น

งานวิจัยนี้ยังแสดงให้เห็นชัดเจนว่าการเลี้ยงเชื้อโดยผ่านขั้นตอนการเลี้ยงในวัสดุทางการเกษตรมีผลในการเสริมให้กลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ให้มีการเจริญได้ดีขึ้นและเมื่อนำไปบำบัดสารประกอบ PAHs ที่ปนเปื้อนในน้ำ (อาหารเหลว CFMM) จะทำให้กลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ปรับตัวได้อย่างรวดเร็ว มีการเจริญที่คงที่ไม่ตายภายใน 35 วันของการทดลอง และยังมีความสามารถในการย่อยสลายสารประกอบ PAHs ได้ดีอีกด้วย