บทที่ 2

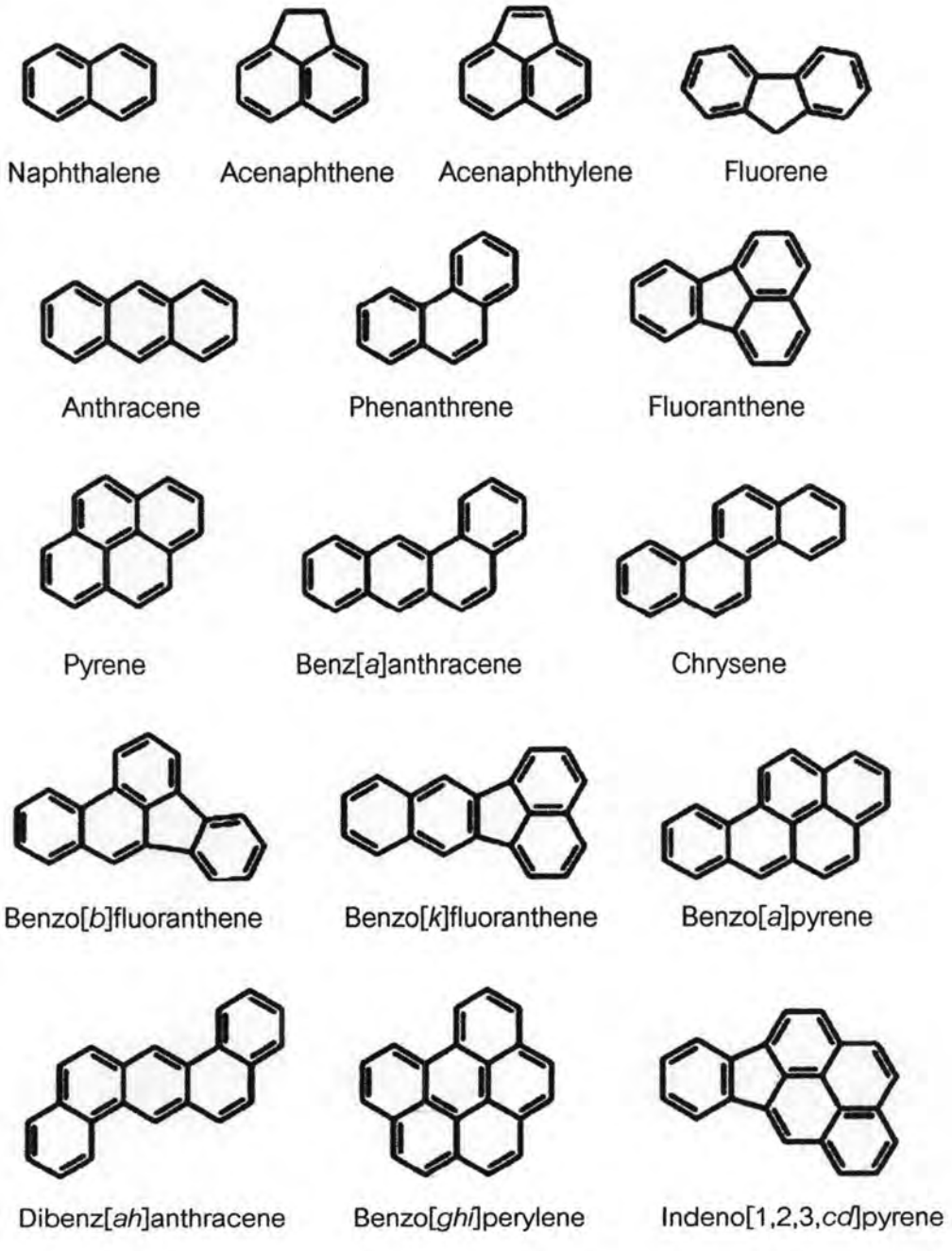
วารสารปริทัศน์

สารประกอบพอลิไซคลิกอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอน

สารประกอบพอลิไซคลิกอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอน (Polycyclic Aromatic Hydrocarbons, PAHs) เป็นสารประกอบที่อยู่ในกลุ่มของสารเคมีอินทรีย์อันตราย ถือได้ว่าเป็นสารที่ก่อให้เกิดมลพิษต่อสิ่งแวดล้อม สารประกอบ PAHs มีโครงสร้างโมเลกุลประกอบด้วยวงอะโรมาติกตั้งแต่ 2 วงขึ้นไปมาเชื่อมต่อกันเป็นเส้นตรง, มุมงอและเป็นกลุ่ม (Cerniglia, 1992) พบปนเปื้อนอยู่ทั่วไปในสิ่งแวดล้อม ไม่ว่าจะเป็นในดิน น้ำ อากาศและตะกอนดิน (Laflamme และ Hites, 1978; Cerniglia และ Heitkamp; 1989; Freeman และ Cattell, 1990; Wilson และ Jones, 1993) นอกจากนี้ยังพบในน้ำมัน น้ำมันดิน ครีโอโสท (Nishioka และคณะ, 1986) รวมถึงในอาหารด้วย (Lijinsky, 1991) แหล่งกำเนิดของสารประกอบ PAHs มี 2 แหล่งหลักๆคือ จากธรรมชาติ เช่น ในน้ำมันดิบ ถ่านหิน ควันจากภูเขาไฟระเบิด (กรมควบคุมมลพิษ, 2543) และจากการกระทำของมนุษย์ที่สำคัญคือ เกิดจากการเผาไหม้ที่ไม่สมบูรณ์ของสารอินทรีย์และน้ำมันเชื้อเพลิง (Cerniglia, 1992) มนุษย์สามารถรับสารประกอบ PAHs ได้โดยการรับประทานอาหารที่ปนเปื้อนสารนี้ การหายใจและการสัมผัสทางผิวหนัง สารประกอบ PAHs จะก่อความเป็นพิษแบบเฉียบพลันและแบบเรื้อรังต่อสิ่งมีชีวิต เป็นสารก่อมะเร็ง สารก่อการกลายพันธุ์ และทำให้ทารกในครรภ์มีรูปร่างผิดปกติ (Wilson และ Jones, 1993)

สารประกอบ PAHs สามารถแบ่งออกได้เป็น 2 กลุ่มใหญ่ ตามน้ำหนักโมเลกุล คือ สารประกอบ PAHs ที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ (low molecular weight PAHs, LMW PAHs) ซึ่งเป็นสารประกอบที่มีวงแหวนเบนซีน 2-3 วง เชื่อมต่อกัน (Mueller และคณะ, 1989) และสารประกอบ PAHs ที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูง (high molecular weight PAHs, HMW PAHs) ซึ่งเป็นสารประกอบที่มีวงแหวนเบนซีนตั้งแต่ 4 วงขึ้นไปเชื่อมต่อกัน (Kanaly และ Harayama, 2000) การเชื่อมต่อกันของวงแหวนเบนซีนภายในโมเลกุลของสารประกอบ PAHs มีผลต่อความทนทานในการย่อยสลาย นั่นคือ โมเลกุลที่เชื่อมต่อแบบเส้นตรงจะถูกย่อยสลายได้ง่ายกว่าที่เป็นมุมงอและเป็นกลุ่ม เมื่อน้ำหนักโมเลกุลของสารประกอบ PAHs เพิ่มขึ้น คุณสมบัติของความเป็นสารประเภทไฮโดรโฟบิกหรือไม่ชอบน้ำก็จะมีมากขึ้นและความสามารถในการละลายน้ำของสารกลุ่มนี้ก็จะลดลง ซึ่งเมื่อมีความสามารถในการละลายน้ำที่ต่ำจะทำให้สารประกอบ PAHs มีความคงทนอยู่ในสิ่งแวดล้อมได้มากขึ้น (Cerniglia, 1992)

สารประกอบ PAHs มีทั้งหมด 16 ชนิด รวมกันเป็นสารก่อมลพิษที่สำคัญซึ่งทางหน่วยงานคุ้มครองสิ่งแวดล้อมของสหรัฐอเมริกา (The United State Environment Protection Agency, USEPA) จัดให้อยู่ในกลุ่มของสารก่อมลพิษที่ต้องกำจัดออกจากสิ่งแวดล้อมอย่างเร่งด่วน (Cerniglia, 1992) มีโครงสร้างดังแสดงในรูปที่ 2.1



รูปที่ 2.1 โครงสร้างโมเลกุลของสารประกอบ PAHs ทั้ง 16 ชนิด (Wilson และ Jones, 1993)

แหล่งกำเนิดและการปนเปื้อนสู่สิ่งแวดล้อม

สารประกอบ PAHs เข้าสู่สิ่งแวดล้อมได้หลายทางทั้งจากธรรมชาติและจากการกระทำของมนุษย์ การปนเปื้อนธรรมชาติ เช่น การซึมของน้ำมันดิบจากแหล่งน้ำมันใต้ดิน ไฟไหม้ป่าและทุ่งหญ้า ภูเขาไฟระเบิด การรั่วไหลที่เกิดจากอุบัติเหตุจากเรือบรรทุกน้ำมันและเรือชนิดอื่นๆ ส่วนการปนเปื้อนที่เกิดจากการกระทำของมนุษย์ ได้แก่ การเผาไหม้ที่ไม่สมบูรณ์ เช่นการเผาไหม้กระดาษ ยางรถยนต์ กระบวนการกลั่นน้ำมันดิบ การผลิตถ่านโค้ก กระบวนการรักษาเนื้อไม้ การผลิตผลิตภัณฑ์ถนอมเนื้อไม้ที่ใช้ครีโอโสท (creosote) เป็นองค์ประกอบหลัก ควันจากถ่านหุงต้มและอาหารประเภทปิ้งและย่าง ควันจากบุหรี่และยาสูบ ควันจากไอเสียรถยนต์ การเผาหญ้า การเผาสิ่งปฏิกูล การแพร่กระจายของน้ำเสียจากแหล่งชุมชนและอุตสาหกรรมปิโตรเคมี เป็นต้น (Cerniglia, 1992 ; Wilson และ Jones, 1993)

ไพรีน (Pyrene)

ไพรีน (Pyrene) จัดเป็นสารประกอบอินทรีย์ในกลุ่มสารประกอบพอลิไซคลิกอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอน (Polycyclic aromatic hydrocarbon; PAHs) มีชื่อทางเคมีว่าเบนโซ(ดี,อี,เอฟ)ฟีแนนทรีน (benzo[*d,e,f*]phenanthrene) มีโครงสร้างโมเลกุลประกอบด้วยวงแหวนเบนซีน 4 วง เชื่อมต่อกันเป็นกลุ่ม (cluster) ดังแสดงในรูปที่ 2.2

Pyrene

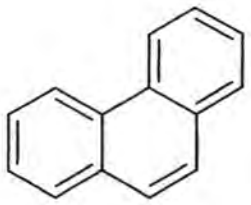
รูปที่ 2.2 โครงสร้างโมเลกุลของไพรีน (Boonchan, 1998)

สมบัติของไพรีนเมื่ออยู่ในสถานะของแข็งจะมีผลึกสีเหลืองอ่อน มีโครงสร้างโมเลกุลที่เสถียร ละลายน้ำได้น้อยมาก จึงทำให้ทนทานต่อการย่อยสลาย (Trzesicka-Mlynarz และ Ward, 1996; Verschueren, 1997) จึงพบว่าไพรีนมักจะเกาะติดกับอนุภาคของดินได้ดีดังนั้นจุลินทรีย์ในดินจึงนำไปใช้ประโยชน์ (bioavailability) ได้น้อย ทำให้ไพรีนสะสมและมีความเสถียรอยู่ในสิ่งแวดล้อมได้เป็นเวลานาน (Aronstein และคณะ, 1991) ไพรีนละลายในตัวทำละลายอินทรีย์เช่น เมทานอล เฮกเซน อะซีโตนได้ดีแตกต่างกัน (Patnaik, 1992) ไพรีนเป็นสารประกอบ

ไฮโดรคาร์บอนที่พบในน้ำมันดินของถ่านหิน เป็นผลิตภัณฑ์จากการเผาไหม้ที่ไม่สมบูรณ์ของน้ำมันเชื้อเพลิง สามารถปนเปื้อนในดิน ตะกอนดิน น้ำและอากาศ (IARC, 1983) มนุษย์สามารถได้รับไพรีนผ่านทางการหายใจเอาควันบุหรี่ ควันที่เกิดจากการเผาไหม้ อากาศเป็นพิษ โดยเฉพาะในพื้นที่ที่มีการจราจรแออัดหรือบริเวณใกล้กับแหล่งอุตสาหกรรมเข้าไป การรับประทานน้ำและอาหารที่ปนเปื้อน เช่น อาหารปิ้งย่าง และการสัมผัสทางผิวหนังโดยตรง ไพรีนทำให้ผิวหนังเกิดการระคายเคืองหากสัมผัสโดยตรง (skin irritant) นอกจากนี้ยังมีรายงานการตรวจพบ 1-ไฮดรอกซีไพรีน เบนโซ[เอ]ไพรีน 7-8-ไดออล และ 3--ไฮดรอกซีเบนโซ[เอ]ไพรีน ในปัสสาวะของคนงานที่ได้รับไพรีนและเบนโซ[เอ]ไพรีนจากการหายใจ (Likhachev และคณะ, 1993; Van Rooij และคณะ, 1993) และรายงานเกี่ยวกับผู้หญิงตั้งครรภ์ที่สูบบุหรี่หรืออยู่ในบริเวณที่มีควันบุหรี่เป็นเวลานาน จะมีผลต่อเด็กทารกโดยผ่านทางรก ทำให้เด็กที่เกิดมามีรูปร่างผิดปกติได้ (Sanyal และ Li, 2007) นอกจากนี้ Faust (1998) รายงานว่าไพรีนสามารถกระตุ้นเบนโซ(เอ)ไพรีนให้ก่อมะเร็งได้ (cocarcinogenic potential) และสามารถเหนี่ยวนำให้เกิดการกระตุ้นเซลล์สร้างเม็ดสีผิวได้ (Iwata และคณะ, 1981)

ฟีแนนทรีน (Phenanthrene)

ฟีแนนทรีน (Phenanthrene) หรือในอีกชื่อหนึ่งว่าฟีแนนทริน (Phenanthrin) จัดเป็นสารประกอบอินทรีย์ในกลุ่มสารประกอบพอลิไซคลิกอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอน (Polycyclic aromatic hydrocarbon; PAHs) มีโครงสร้างโมเลกุลประกอบด้วยวงเบนซีน 3 วงเชื่อมต่อกันเป็นมุมงอ ดังแสดงในรูปที่ 2.3



รูปที่ 2.3 โครงสร้างโมเลกุลของฟีแนนทรีน (Chang และคณะ, 2002)

สมบัติของฟีแนนทรีนเมื่ออยู่ในสถานะของแข็งจะมีผลึกสีขาว (U.S. EPA, 1987) ละลายน้ำได้น้อยมาก ละลายในแอลกอฮอล์ได้ปานกลาง ละลายได้ดีในตัวทำละลายอินทรีย์เช่น เบนซีน โทลูอีน ไดเอธิลอีเทอร์ คาร์บอนไดซัลไฟด์ คาร์บอนเตตระคลอไรด์ เฮกเซนและกรดอะซีติก

(Trzesicka-Mlynarz และ Ward, 1996) ฟีแนนทรีนเป็นสารประกอบไฮโดรคาร์บอนที่พบในน้ำมันเชื้อเพลิง เกิดจากการกลั่นลำดับส่วนของน้ำมันดินของถ่านหินและเป็นผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากการเผาไหม้ที่ไม่สมบูรณ์ สามารถแพร่กระจายได้ในดิน ตะกอนดิน น้ำและอากาศ (U.S. EPA, 1987) ฟีแนนทรีนใช้ในการผลิตสีย้อม วัตถุระเบิด อุตสาหกรรมยา เช่น ใช้ในการสังเคราะห์ phenanthrenequinone, diphenic acid รวมถึงใช้ในงานวิจัยด้านชีวเคมี (Sax และ Lewis, 1987) นอกจากนี้ cyclopentenophenanthrene ซึ่งเป็นสารอนุพันธ์ ยังใช้เป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์กรดน้ำดี (bile acids), คอเลสเตอรอล (cholesterol) และสารสเตียรอยด์อื่นๆ (IARC, 1983) มนุษย์สามารถได้รับฟีแนนทรีนผ่านทางการหายใจเอาควันจากยานพาหนะ การเผาไหม้น้ำมันและถ่านหิน การเผาไม้ โรงงานผลิตถ่านโค้ก อลูมินัม เหล็ก เป็นต้น ฟีแนนทรีนมีความเป็นพิษต่อมนุษย์ต่ำเมื่อให้กินโดยตรง ความเป็นพิษจะแสดงออกเมื่อฉีดเข้าทางเส้นเลือด (intravenous route) ทำให้ผิวหนังมนุษย์มีความไวแสงมากกว่าปกติ (human skin photosensitizer) เมื่อสัมผัสอาจทำให้เกิดการระคายเคืองต่อผิวหนังและระบบทางเดินหายใจ (Lewis, 1991) มีรายงานว่าฟีแนนทรีนน่าจะถูกดูดซึมเข้าไปในระบบทางเดินอาหาร ปอด และด้วยสมบัติที่ละลายในไขมันได้จึงสามารถผ่านเยื่อบุผนังเซลล์ต่างๆได้ (U.S. EPA, 1987)

การสลายตัวและการบำบัดสารประกอบ PAHs ในสิ่งแวดล้อม

เมื่อสารประกอบ PAHs อยู่ในสิ่งแวดล้อมจะเกิดการสลายตัวได้โดยกระบวนการต่างๆ ทั้งทางกายภาพ เคมีและชีวภาพ โดยจะเกิดขึ้นได้มากหรือน้อยเพียงใดขึ้นอยู่กับสมบัติทางกายภาพและทางเคมีของสารประกอบ PAHs นั้นๆ รวมทั้งขึ้นอยู่กับปัจจัยต่างๆในสิ่งแวดล้อม (Ashok และ Saxena, 1995) สามารถแยกได้ดังนี้

1. การสลายตัวทางกายภาพ

1.1 การระเหยกลายเป็นไอ (Volatization)

สารประกอบ PAHs ที่ปนเปื้อนในน้ำและอยู่ที่ผิวน้ำจะมีอัตราการระเหยสูงกว่าสารประกอบ PAHs ที่อยู่ที่ผิวดิน จากการศึกษาพบว่าสารประกอบ PAHs ที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ เช่น แนพธาลีน จะมีอัตราการระเหยได้สูงกว่าสารประกอบ PAHs ที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูง (Ashok และ Saxena, 1995)

1.2 การสลายตัวโดยแสง (Photooxidation)

กลไกการย่อยสลายจะขึ้นอยู่กับอุณหภูมิและปริมาณความเข้มข้นของแสง (Reyes และคณะ, 1998; Warner และคณะ, 2004) รวมถึงการใช้รังสีต่าง ๆ เช่น รังสีแกมมา (Melcher และคณะ, 2002)

1.3 การตกตะกอนและถูกดูดซับในอนุภาคของดิน (Adsorption)

สารประกอบ PAHs เป็นสารที่ไม่ชอบน้ำ (hydrophobic) มีความสามารถในการละลายน้ำได้ต่ำ จึงถูกดูดซับติดกับอนุภาคของดินหรือตะกอน (organic matter) ได้อย่างแน่นหนาในปริมาณมากซึ่งแสดงได้โดยค่าสัมประสิทธิ์การดูดซับโดยดิน (soil adsorption coefficient; K_{oc}) ถ้าค่า K_{oc} น้อยก็หมายความว่าสารประกอบ PAHs นั้นละลายน้ำได้ดี สารประกอบ PAHs ที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูงจะถูกเกาะติดแน่นเป็นเวลานานกว่าสารประกอบ PAHs ที่มีมวลโมเลกุลต่ำ (Chin และคณะ, 1997) หากมีการปนเปื้อนของสารประกอบ PAHs ในดินเป็นเวลานาน ดินจะสามารถดูดซับสารปนเปื้อนนั้นไว้ โดยการดูดซึมและแทรกอยู่ระหว่างชั้นน้ำตามช่องว่างภายในอนุภาคดิน ทำให้สารปนเปื้อนถูกชะละลายออกมาได้น้อยและหากสารปนเปื้อนจับกับอนุภาคดินโดยอาศัยพันธะทางเคมี จะทำให้สารถูกชะออกมาได้ยากยิ่งขึ้นทำให้สารอยู่ในรูป bound residue ซึ่ง bound residue ที่เกิดขึ้นนี้ทำให้จุลินทรีย์หรือสิ่งมีชีวิตในดินนำไปใช้ประโยชน์ได้น้อยกว่าในรูปแบบอื่นๆ (Verstraete และ Devliegher, 1996) นอกจากนี้ยังมีงานวิจัยศึกษาการใช้พืช 2 ชนิด คือ *Pinus sylvestris* และ *Ledum palustre* ในการดูดซับสารประกอบ PAHs ที่ปนเปื้อนในแหล่งน้ำพบว่าสามารถดูดได้ในปริมาณมาก (Malawska และคณะ, 2002) ซึ่งสามารถพัฒนาไปใช้บำบัดสารประกอบ PAHs ที่ปนเปื้อนในแหล่งน้ำต่าง ๆ

1.4 การสะสมในสิ่งมีชีวิต (Bioaccumulation)

เมื่อสารประกอบ PAHs ปนเปื้อน จะทำให้เกิดการสะสมเข้าไปในสิ่งมีชีวิตในวัฏภาคนั้นๆได้ สารประกอบ PAHs บางชนิดมีความเป็นพิษต่อสัตว์น้ำเช่น ไพรีนมีความเป็นพิษต่อหอยสองฝา ปลา แพลงตอน (Nour El-Din และคณะ, 2001) ฟีแนนทรีนมีความเป็นพิษต่อแพลงตอนไส้เดือนทะเลเป็นต้น (Spehar และคณะ, 1999) สำหรับสิ่งมีชีวิตบนบก ได้แก่พืช สัตว์ สามารถสะสมแอนทราซีนและเกิดความเป็นพิษได้เช่น ยับยั้งการงอกของเมล็ดแตงกวา (Mitchell และคณะ, 1988) อะซีแนพธีนมีความเป็นพิษต่อไส้เดือนดินมากในขณะที่ฟลูออแรนธีนและแนพธาลีนไม่ก่อให้เกิดพิษ (Neuhauser และคณะ, 1985) การที่สารประกอบ PAHs สามารถสะสมในพืชได้เพราะสารประกอบ PAHs เป็นสารประเภท lipophilic สารประกอบ PAHs ที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ

จะมีความเป็นไปได้สูงที่ระเหยจากดินเข้าสู่พืชได้ (Jones และคณะ, 1989; Jones, 1991; Wild และ Jones, 1992)

2. การบำบัดทางเคมี

2.1 การใช้ก๊าซโอโซน

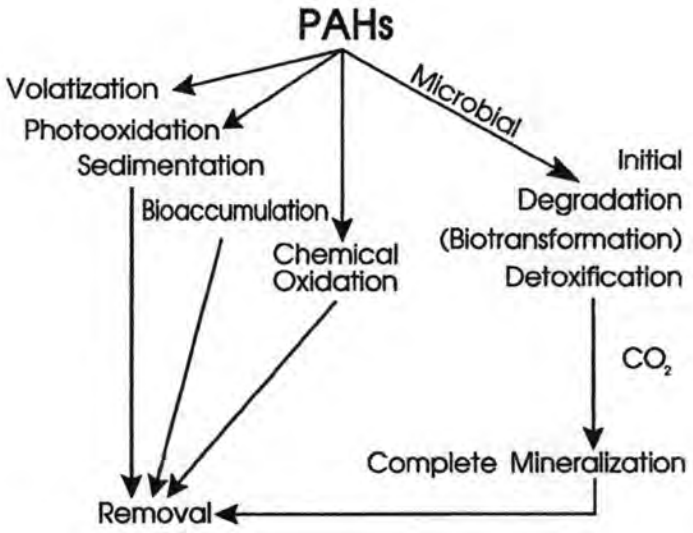
โอโซนเป็นตัวออกซิไดซ์ที่แรง จึงใช้มาแตกโมเลกุลสารประกอบอินทรีย์ได้ พบว่าประสิทธิภาพยังไม่ดีนัก ลดได้เฉพาะสารประกอบ PAHs ที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ แต่ให้ผลดีกว่าหากใช้ร่วมกับการใช้จุลินทรีย์ (Nam และ Kukor, 2000)

2.2 การใช้สารเคมี

อนุพันธุ์ของสารเคมีที่มีสมบัติเกิดไฮดรอกซิลเรดิเคิล (hydroxyl ($OH^{\cdot}$) radicles) จะสามารถแตกสลายสารประกอบ PAHs ได้เช่น ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) (Nadarajah และคณะ, 2002)

3. การบำบัดทางชีวภาพ

การบำบัดทางชีวภาพ (bioremediation) เป็นทางเลือกหนึ่งในการช่วยลดความเป็นพิษของสารประกอบ PAHs และกากของเสียอันตรายอื่นๆโดยการย่อยสลายสารพิษด้วยจุลินทรีย์ มีจุดประสงค์เพื่อต้องการให้จุลินทรีย์ย่อยสลายสารเคมีอันตรายหรือสารประกอบ PAHs ซึ่งสารประกอบ PAHs บางชนิดสามารถถูกย่อยได้อย่างสมบูรณ์จนได้คาร์บอนไดออกไซด์ น้ำและพลังงานในการเจริญของจุลินทรีย์เรียกว่า mineralization หรือสารประกอบ PAHs บางชนิดอาจเกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างบางส่วนเพื่อไปเป็นสารประกอบที่มีโครงสร้างโมเลกุลเล็กลงและมีความเป็นพิษลดลงเรียกว่า biotransformation สารชนิดนี้เรียกว่า สารมัธยันตร์ (intermediate) ซึ่งกระบวนการข้างต้นนี้อาจเกิดขึ้นโดยจุลินทรีย์ชนิดเดียวหรือโดยกลุ่มจุลินทรีย์ (Gibson และ Subramanian, 1984)



รูปที่ 2.4 กระบวนการสลายตัวต่างๆของสารประกอบ PAHs ที่เกิดขึ้นในสิ่งแวดล้อม (Cerniglia และ Heitkamp, 1989)

การบำบัดทางชีวภาพ (Bioremediation)

การบำบัดสารประกอบ PAHs ทางชีวภาพ เป็นวิธีที่อาศัยกิจกรรมของจุลินทรีย์หรือสิ่งมีชีวิตที่มีอยู่ในธรรมชาติหรือสิ่งมีชีวิตที่มีการตัดแต่งพันธุกรรมแล้ว เพื่อเปลี่ยนโครงสร้างสารอินทรีย์อันตรายที่ปนเปื้อนให้มีระดับความเป็นพิษน้อยลงหรือหมดไป โดยจุลินทรีย์หรือสิ่งมีชีวิตจะสามารถใช้สารปนเปื้อนเป็นแหล่งอาหาร แหล่งคาร์บอนและพลังงานสำหรับใช้ในการเจริญเติบโตและดำรงชีวิต (Maria, 1999; Dua และคณะ, 2002)

วิธีการบำบัดทางชีวภาพจำเป็นต้องทราบโครงสร้างโมเลกุลและสมบัติทางเคมีของสารที่ต้องการบำบัดเพื่อประเมินการเปลี่ยนแปลงของสารที่เกิดขึ้นและประเมินศักยภาพของการบำบัดโดยวิธีทางชีวภาพ เนื่องจากสารประกอบ PAHs แต่ละชนิดมีสมบัติทางเคมีและฟิสิกส์ที่จำเพาะแตกต่างกัน โดยจำนวนและการจัดเรียงตัวของวงแหวนเบนซีนมีผลต่อการคงทน การละลายและการระเหยของสารนี้ในสิ่งแวดล้อม รวมทั้งมีผลต่อการย่อยสลายของจุลินทรีย์ (Trejo และ Quintero, 2000) วิธีนี้เป็นวิธีที่สำคัญในการกำจัดหรือลดความเป็นพิษของสารประกอบ PAHs เพราะเป็นวิธีที่ประหยัด ช่วยสลายสารพิษนี้ได้รวดเร็วกว่าการสลายเองโดยธรรมชาติ) สามารถกำจัดสารประกอบ PAHs ได้ค่อนข้างสมบูรณ์ ปฏิบัติได้ในพื้นที่ที่เกิดการปนเปื้อนและทำให้พื้นที่ดังกล่าวเกิดความเสียหายน้อยที่สุดและไม่เกิดอันตรายต่อสิ่งแวดล้อม (Kästner และคณะ,1995; Korda และคณะ, 1997; Trejo และ Quintero, 2000) สารประกอบ PAHs ที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ

จะเกิดการย่อยสลายได้ง่ายกว่ากลุ่มที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูง ดังนั้นจุลินทรีย์อาจต้องทำงานร่วมกัน (synergism) และอาจจะต้องใช้กระบวนการที่เรียกว่า โคเมแทบอลิซึมเพื่อย่อยสลายสารประกอบ PAHs ที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูง (Bouchez และคณะ, 1995) ดังนั้นการศึกษากลไกและปัจจัยต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการย่อยสลายสารประกอบ PAHs โดยจุลินทรีย์จึงมีความสำคัญในการใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานสำหรับการนำเอาจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพมาใช้ในกระบวนการเร่งการย่อยสลายตามธรรมชาติเพื่อกำจัดสารประกอบ PAHs ออกจากสิ่งแวดล้อม (Wilson และ Jones, 1993)

เทคโนโลยีในการบำบัดทางชีวภาพมีหลายวิธีดังต่อไปนี้ (Trejo และ Quintero, 2000)

Bioaugmentation	เป็นวิธีที่มีการเติมจุลินทรีย์ที่ทดสอบแล้วว่ามีประสิทธิภาพในการย่อยสลายสารพิษลงไปในบริเวณที่มีการปนเปื้อน
Biostimulation	เป็นวิธีที่มีการเติมสารอาหารหรือปัจจัยต่างๆที่จำเป็นต่อการเจริญของจุลินทรีย์ลงไปในบริเวณที่มีการปนเปื้อนเพื่อกระตุ้นให้จุลินทรีย์ประจำถิ่นมีการเพิ่มจำนวนและมีกิจกรรมในการย่อยสลายสารพิษได้ดีขึ้น
Biofilters	เป็นวิธีที่มีการใช้คอลัมน์ยาวที่มีจุลินทรีย์อยู่ภายในเพื่อบำบัดสารปนเปื้อนที่กระจายออกสู่บรรยากาศ
Bioreactor	เป็นวิธีการย่อยสลายในถังหมัก
Bioventing	เป็นวิธีการบำบัดแหล่งที่ปนเปื้อนโดยมีการให้อากาศและให้สารอาหารเพื่อกระตุ้นการเจริญและกิจกรรมการย่อยสลายของจุลินทรีย์ประจำถิ่น
Composting	เป็นวิธีการบำบัดโดยใช้ออกซิเจนและอุณหภูมิสูงร่วมกับการเติมปุ๋ยหมักหรือวัสดุทางการเกษตรเพื่อเป็นวัสดุค้ำจุนการเจริญของจุลินทรีย์
Landfarming	เป็นวิธีการบำบัดแหล่งที่มีการปนเปื้อนโดยการขุดดินหรือปั๊มน้ำขึ้นมาแล้วปล่อยให้มีการย่อยสลายของจุลินทรีย์แบบใช้อากาศ (aerobic)

การบำบัดสารประกอบ PAHs โดยวิธีทางชีวภาพจะประสบความสำเร็จขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายอย่างได้แก่ การมีจุลินทรีย์ที่สามารถย่อยสลายสารประกอบ PAHs และนำไปใช้เป็นแหล่งคาร์บอนและพลังงานได้ การมี inducer เพื่อสังเคราะห์เอนไซม์ที่จำเพาะต่อสารประกอบ PAHs การมีตัวให้และตัวรับอิเล็กตรอนที่เหมาะสม ปฏิกิริยาของเอนไซม์ในการย่อยสลายของจุลินทรีย์ และสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการเจริญ เช่น สารอาหาร ความเข้มข้นของสารประกอบ PAHs ความชื้น ความเป็นกรด-ด่าง อุณหภูมิและออกซิเจน เป็นต้น (Trejo และ Quintero, 2000) สภาวะแวดล้อมที่เหมาะสมถือว่าเป็นปัจจัยสำคัญที่สุดในการบำบัดสารประกอบ PAHs ดังนั้นจึงได้มีการ

ปรับสภาพแวดล้อมให้เหมาะสมก่อนการบำบัดเช่นความเป็นกรด-ด่าง อัตราส่วนของคาร์บอนต่อไนโตรเจนต่อฟอสฟอรัส (C:N:P) สามารถปรับอัตราส่วนได้โดยเติมสารอาหารและปุ๋ยเคมี ความชื้นและการให้ออกซิเจน Vidali (2001) ได้สรุปภาวะของสิ่งแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการย่อยสลายสารประกอบ PAHs ที่ปนเปื้อนในดินให้มีประสิทธิภาพไว้ดังนี้

ความชื้น	: 70-80% ของค่าความจุสูงสุดของการอุ้มน้ำ
ความเป็นกรด-ด่าง	: 6.0-8.0
ปริมาณออกซิเจน	: 10 – 40% ของอากาศที่อยู่ในช่องว่างของอนุภาคดิน หรือเติมวัสดุที่มีรูพรุนขนาดเล็กเพื่อเพิ่มช่องว่างในดิน
ปริมาณสารอาหาร	: อัตราส่วนของคาร์บอนต่อไนโตรเจนต่อฟอสฟอรัส (C:N:P) เท่ากับ 100:10:1
อุณหภูมิ (°ซ)	: 30-40

วิธีการบำบัดทางชีวภาพ 2 วิธีหลักคือ biostimulation เป็นการเติมสารอาหาร เช่น ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส การให้ออกซิเจน รวมถึงการเติมสารลดแรงตึงผิว ซึ่งช่วยเพิ่มการละลายของสารประกอบไฮโดรคาร์บอนลงในบริเวณที่ปนเปื้อนสารพิษเพื่อช่วยกระตุ้นให้จุลินทรีย์ประจำถิ่นเจริญเติบโต และเพิ่มความสามารถและประสิทธิภาพในการย่อยสลายทำให้แบคทีเรียสามารถย่อยสลายสารพิษได้ง่ายขึ้น (Haigh, 1996) Swindoll (1988) รายงานว่าการใส่สารอาหารและสารอนินทรีย์หลายชนิดร่วมกันซึ่งประกอบด้วย ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส วิตามิน กรดอะมิโน เกลือแร่ ให้ผลการย่อยสลายสารประกอบ PAHs มากกว่าใส่ชนิดเดียว โดยช่วยลดระยะเวลาที่แบคทีเรียต้องใช้ในการปรับตัวเพื่อย่อยสลายสารประกอบ PAHs เพิ่มจำนวนประชากรแบคทีเรีย และเหนี่ยวนำให้สร้างเอนไซม์ในการย่อยสลายสารประกอบ PAHs เพิ่มขึ้น

มีผู้ศึกษาว่าปุ๋ยหมักสามารถใช้ในการเร่งบำบัดสารพิษได้เช่น Martens (1982) พบว่าเมื่อเติมปุ๋ยหมักลงในดินที่ปนเปื้อนด้วยแอนทราซีน เบนโซ(เอ)แอนทราซีน และเบนโซ(เอ)ไพรีน จะทำให้เกิดการย่อยสลายได้ดีขึ้น Kästner และ Mahro (1996) ได้เติมปุ๋ยหมักลงในดินที่ปนเปื้อนแนพธาลีน แอนทราซีน ฟลูออแรนธีน และไพรีน พบว่าดินที่เติมปุ๋ยหมักจะกระตุ้นการย่อยสลายสารประกอบ PAHs ได้มากกว่าดินที่ไม่เติมปุ๋ยหมัก เพราะปุ๋ยหมักมีสมบัติที่สำคัญคือช่วยเพิ่มการส่งผ่านออกซิเจนในดิน เป็นแหล่งของจุลินทรีย์ที่มีความหลากหลาย ช่วยปรับปรุงคุณภาพดินให้ดีขึ้น ช่วยควบคุมความเป็นกรด-ด่างของดิน ช่วยให้ดินอุ้มน้ำได้ดีขึ้น เป็นแหล่งของสารอาหารและแร่ธาตุที่สำคัญโดยเฉพาะไนโตรเจนและฟอสฟอรัสและทำให้สารปนเปื้อนรวมตัวกับฮิวมัสในดินได้ (Hupe และคณะ, 1996) และอาจมีการเติมวัสดุทางการเกษตรลงไปในดินที่ปนเปื้อนเพื่อเพิ่ม

ช่องว่างและเพิ่มออกซิเจนให้ผ่านทั่วถึงมากขึ้น วัสดุที่เติม เช่น ฟางข้าว เปลือกไม้ เปลือกถั่ว หญ้า ขี้เลื่อย ซังข้าวโพดเป็นต้น

นอกจากปุ๋ยหมักแล้ว ยังมีการใช้วัสดุทางการเกษตรในการช่วยเร่งการบำบัดสารพิษได้เช่นกัน ซึ่งมีหน้าที่เหมือนกับปุ๋ยหมักดังได้กล่าวแล้ว ดังรายงานของ Chekol และ Vough (2001) ได้ใช้หญ้าอัลฟัลฟ่ามาทำการบำบัดดินที่ปนเปื้อนสารประกอบ PAHs, PCB, DDT และ TNT พบว่าหญ้าสามารถเพิ่มประสิทธิภาพการย่อยสลายสารเหล่านี้ได้ประมาณ 66 - 77%

Haderlein และคณะ (2001) รายงานว่าใบเมเปิลและหญ้าอัลฟัลฟ่าสามารถช่วยให้เกิดการย่อยสลายไพรีนในดินที่ปนเปื้อนได้เร็วขึ้นมากกว่าก่อนการเติมสารอินทรีย์ทั้ง 2 ชนิดนี้ 8 เท่า

Li และคณะ (2002) ได้ใช้แกลบจากข้าวสาลีมาเพิ่มประสิทธิภาพในการบำบัดดินที่ปนเปื้อนน้ำมัน พบว่าจุลินทรีย์ประจำถิ่นจะมีอัตราการย่อยสลายสารประกอบปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนเพิ่มขึ้นระหว่าง 38 - 57% ภายใน 53 วัน

นอกจากนี้ นารีรัตน์ เจริญช่าง (2544) ได้ศึกษาความสามารถของวัสดุทางการเกษตร ได้แก่ ฟางข้าว เปลือกถั่วลิสงและใบจามจุรี ในการเร่งการบำบัดดินที่ปนเปื้อนฟีแนนทรีน ฟลูออแรนทรีน และไพรีน พบว่าการเติมเปลือกถั่วลิสงและใบจามจุรีทำให้เกิดการย่อยสลายฟีแนนทรีนอย่างสมบูรณ์ภายใน 28 วัน และย่อยสลายฟลูออแรนทรีนและไพรีนได้อย่างสมบูรณ์ภายใน 42 วัน แต่ฟางข้าวไม่ช่วยเร่งการย่อยสลายตลอดการทดลอง และพบว่าจุลินทรีย์จากเปลือกถั่วและใบจามจุรีเป็นปัจจัยหลักในการย่อยสลาย ได้มีงานวิจัยที่ตรวจสอบการปนเปื้อนสารประกอบ PAHs ในสิ่งแวดล้อมโดยใช้ใบไม้ พบว่าสารประกอบ PAHs จะละลายได้ดีในชั้นไขมัน (lipid layer) และแวกซ์ (waxes) ของใบไม้ (Simonich และ Hites, 1994) จึงอาจเนื่องมาจากจุลินทรีย์ที่เกาะติดอยู่บนผิวใบไม้ในธรรมชาติมีความคุ้นเคยกับสารประกอบ PAHs จึงเป็นผลให้มีการย่อยสลายสารประกอบ PAHs เกิดขึ้นได้อย่างรวดเร็ว

สุพินดา สิริวราศิลป์ (2545) ได้ใช้ใบไม้ของพืชตระกูลถั่วที่ร่วงหล่นได้แก่ ใบจามจุรี ใบมะขามและใบนนทรี เติมในดินที่ปนเปื้อนด้วยไพรีนและฟีแนนทรีน พบว่าในดินที่เติมใบมะขามจะตรวจไพรีนและฟีแนนทรีนไม่พบในวันที่ 56 ของการทดลอง แต่ในดินที่เติมใบจามจุรีและใบนนทรีพบไพรีนและฟีแนนทรีนเหลืออยู่เล็กน้อยในวันที่ 84 ซึ่งเป็นวันสุดท้ายของการทดลอง สรุปได้ว่าใบมะขามสามารถที่จะลดปริมาณไพรีนได้หมดภายใน 56 วัน ตามด้วยใบจามจุรีและใบนนทรีตามลำดับ

Kriipsalu และคณะ (2007) รายงานถึงการบำบัดดินโคลนที่ปนเปื้อนน้ำมันที่จะเกาะกลุ่มลอยตัวอยู่จากโรงงานบำบัดน้ำเสียของโรงกลั่นน้ำมัน โดยใช้ทราย ซากไม้เป็นชิ้นๆ และซากไก่ มาเพิ่มประสิทธิภาพในการบำบัด พบว่าปริมาณสารประกอบปิโตรเลียมลดลงไป 62%, 74%

และ 49% ตามลำดับและสารประกอบ PAHs ลดลงไป 97%, 92% และ 88% ตามลำดับ ในระยะเวลา 1ปี

Ying และคณะ (2007) ได้เลือกใช้ฟางข้าวมาเพิ่มประสิทธิภาพในการบำบัดดินโคลนตะกอนจากโรงงานบำบัดน้ำเสียที่ปนเปื้อนด้วยสารประกอบ PAHs พบว่าสารประกอบ PAHs ทั้ง 16 ชนิดลดลงถึง 94% ภายใน 56 วัน ในระบบที่มีการให้อากาศเป็นช่วงๆ

อัตราการย่อยสลายจะเป็นสัดส่วนโดยตรงกับความเข้มข้นของสารประกอบ PAHs หากความเข้มข้นของสารลดลง 10 หรือ 100 เท่าจากที่พบในธรรมชาติ อัตราการย่อยสลายจะลดลง 10 หรือ 100 เท่าเช่นกัน แต่เปอร์เซ็นต์ของสารที่จะเปลี่ยนไปเป็นคาร์บอนไดออกไซด์จะไม่ขึ้นกับความเข้มข้นของสาร (Boethling และ Alexander, 1979) แต่มักไม่ค่อยมีการทดสอบกับจุลินทรีย์ในดิน และการย่อยสลายอาจเกิดขึ้นน้อยหรืออาจไม่ย่อยสลายเลยเมื่อสารมีความเข้มข้นต่ำ โดยทั่วไปจะทดสอบกับสารที่มีความเข้มข้นสูง ซึ่งสาเหตุที่ไม่เกิดการย่อยสลายเพราะพลังงานที่ได้รับจากปฏิกิริยาออกซิเดชันจากสารความเข้มข้นของสับสเตรทต่ำจะช้ามาก ซึ่งไม่เพียงพอที่จะนำไปเริ่มสร้างกลุ่มจุลินทรีย์กลุ่มใหม่จากการใช้สารประกอบนั้น จุลินทรีย์จึงไม่เจริญเพิ่มจำนวนจนมีปริมาณเซลล์เพียงพอที่จะย่อยสลายสารเหล่านี้ให้หมดไป (Boethling และ Alexander, 1979) นอกจากนี้การย่อยสลายขึ้นอยู่กับปริมาณความชื้นหรือน้ำในดินที่มีอย่างเพียงพอ เป็นพารามิเตอร์ที่สำคัญต่อการย่อยสลายสารประกอบ PAHs ที่มีวงเบนซีน 2,3 และ 4 วง (Loehr, 1992) ทำให้มีการละลายของสารอาหารและผลิตภัณฑ์อื่นๆที่ได้จากกระบวนการเมแทบอลิซึมของจุลินทรีย์ที่จะส่งผ่านเข้าสู่เซลล์เมมเบรนเพื่อเข้าไปย่อยสลายด้านในเซลล์ และยังมีความสำคัญต่อปริมาณออกซิเจนในดินด้วย ความชื้นที่เพียงพอทำให้จุลินทรีย์มีอัตราการเจริญสูง แต่มีแบคทีเรียและราบางชนิดสามารถใช้ความชื้นจากบรรยากาศที่มีความชื้นสูงเพื่อให้การทำงานของเซลล์เกิดได้ปกติ (King และคณะ,1998) ความชื้นจึงเป็นสิ่งจำเป็นสำหรับการเจริญและเพิ่มจำนวนของจุลินทรีย์ ความเป็นกรด-ด่างและอุณหภูมิซึ่งมีความสัมพันธ์กับกิจกรรมของจุลินทรีย์ปฏิกิริยาการย่อยสลายและกระบวนการเมแทบอลิซึม โดยที่กิจกรรมของจุลินทรีย์จะเพิ่มขึ้น 2 เท่าเมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้น 10 องศาเซลเซียสจนถึงอุณหภูมิที่เหมาะสมของจุลินทรีย์แต่ละชนิด (Swift และคณะ, 1979) ความเป็นกรด-ด่างและอุณหภูมิมีบทบาทสำคัญในการควบคุมการทำงานของเอนไซม์ หากความเป็นกรด-ด่างและอุณหภูมิมีความเหมาะสมจะทำให้เอนไซม์ทำงานได้อย่างมีประสิทธิภาพสูงสุด ถ้าสูงหรือต่ำเกินไปจะมีผลให้การทำงานของเอนไซม์ลดลง และสำหรับออกซิเจนซึ่งสำคัญในการหายใจแบบใช้อากาศ ออกซิเจนจะเป็นตัวรับอิเล็กตรอนตัวสุดท้าย ซึ่งปฏิกิริยานี้จะได้คาร์บอนไดออกไซด์และน้ำ โดยทั่วไปการย่อยสลายแบบใช้อากาศจะมีอัตราการย่อยสลายที่รวดเร็วกว่าการย่อยสลายแบบไม่ใช้อากาศ (King และคณะ,1998)

ข้อเสียของวิธีการบำบัดทางชีวภาพวิธีนี้คือ บริเวณที่ต้องการบำบัดอาจไม่พบจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายสาร หรือจุลินทรีย์ประจำถิ่นเองอาจไม่มีความสามารถเพียงพอที่จะกำจัดสารพิษให้หมดไปจากสิ่งแวดล้อมได้ (Vidali, 2001) จึงจำเป็นต้องอาศัยกิจกรรมของจุลินทรีย์ต่างถิ่น (exogenous microorganisms) เพื่อกระตุ้นให้เกิดกระบวนการย่อยสลาย ดังนั้นจึงได้นำการบำบัดทางชีวภาพที่มีประสิทธิภาพอีกวิธีหนึ่งคือ bioaugmentation เข้ามาช่วยในการบำบัดสารพิษ เป็นการเติมจุลินทรีย์ที่ทดสอบแล้วว่ามีประสิทธิภาพในการย่อยสลายสารพิษลงไปในบริเวณที่มีการปนเปื้อน ซึ่งในบริเวณดังกล่าวอาจไม่พบจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพหรือจุลินทรีย์ที่ได้รับการปรับปรุงสายพันธุ์โดยใช้เทคโนโลยีทางพันธุวิศวกรรม (genetically engineered microorganism, GEM) ในการย่อยสลายสารพิษในพื้นที่บำบัด (Watanabe, 2001) วิธีนี้มักไม่ประสบความสำเร็จ เพราะต้องคำนึงถึงปัญหาที่สำคัญเกี่ยวกับการรอดชีวิตของจุลินทรีย์ต่างถิ่น การสูญเสียความสามารถในการย่อยสลายสารพิษ ต้องแข่งขันกับจุลินทรีย์ประจำถิ่นในบริเวณที่ปนเปื้อนเพื่อแย่งสารอาหารที่มีอยู่อย่างจำกัด รวมไปถึงปัจจัยทางสิ่งแวดล้อมอื่นๆที่ไม่เหมาะสมต่อการเจริญของจุลินทรีย์ที่เติมลงไปด้วย เช่น อุณหภูมิ ปริมาณน้ำ ความเป็นกรด-ด่าง สารอาหาร ตลอดจนปริมาณของสารพิษที่มีอยู่ ณ บริเวณที่ปนเปื้อน (Van Veen และคณะ, 1997) ซึ่งวิธีนี้สามารถปรับปรุงให้ดีขึ้นได้โดยจะนำเอาวิธี biostimulation เข้ามาใช้ร่วมด้วย ทำให้ความสามารถในการอยู่รอดของจุลินทรีย์ต่างถิ่นหรือจุลินทรีย์ที่เติมลงไปในสิ่งแวดล้อมที่ปนเปื้อนสารประกอบ PAHs เพิ่มขึ้น ดังรายงานของ Straube และคณะ (2003) รายงานถึงการบำบัดสารประกอบ PAHs ที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูงโดยการเติม *Pseudomonas aeruginosa* สายพันธุ์ 64 ที่สามารถผลิตสารลดแรงตึงผิวได้และเติมเปลือกข้าวบดลงไปด้วย พบว่าสารประกอบ PAHs ลดลงถึง 87% ซึ่งมากกว่าชุดที่เติมอย่างใดอย่างหนึ่ง (30-34%) และชุดควบคุมที่ไม่เติมเลยทั้งสองอย่าง (23%)

การเพิ่มประสิทธิภาพการบำบัดสารประกอบ PAHs อาจทำได้โดยการตรึงเซลล์จุลินทรีย์ไว้กับวัสดุสังเคราะห์ ได้แก่ เส้นใยพอลิโพรพิลีน (Diaz และคณะ , 2002) พอลิไวนิลแอลกอฮอล์หรือ PVA (Cunningham และคณะ, 2004) และแคลเซียมแอลจีเนต (Braud และคณะ, 2006) แต่ข้อเสียก็คือ มีราคาแพงถ้าใช้ในปริมาณมาก ดังนั้นจึงได้มีการหันมาใช้วัสดุทางการเกษตรเพื่อตรึงเซลล์ ซึ่งจะมีราคาถูก ไม่เป็นพิษต่อเซลล์และมีวิธีการตรึงเซลล์ที่ง่าย (Ogbonna และคณะ, 1994) Van Veen และคณะ (1997) รายงานว่าวัสดุทางการเกษตรบางชนิดสามารถเป็นแหล่งให้จุลินทรีย์ใช้เป็นที่จับเกาะติดอยู่กับวัสดุนั้นและสามารถใช้สารอาหารจากวัสดุทางการเกษตรเหล่านั้นเพื่อการเจริญได้ ช่วยเพิ่มการส่งผ่านออกซิเจน เป็นแหล่งของจุลินทรีย์อื่นๆจำนวนมากที่สามารถเสริมการย่อยสลายสารพิษได้ จึงทำให้การย่อยสลายเกิดได้เร็วขึ้น นอกจากนี้วัสดุทางการเกษตรเป็นสารอินทรีย์ซึ่งประกอบด้วยส่วนที่มีขั้วและไม่มีขั้วสามารถดูดติดกับสารประกอบ PAHs ได้โดย

สารประกอบ PAHs ที่ดูดติดอยู่ที่ผิวอินทรียวัตถุนี้จะสามารถถูกย่อยสลายได้โดยจุลินทรีย์ที่เกาะติดอยู่กับพื้นผิวของอินทรียวัตถุซึ่งสัมผัสกับสารประกอบ PAHs นั้น ซึ่งเป็นการเพิ่ม bioavailability (Staci และคณะ, 1994) อาจเรียกวิธีนี้ได้ว่าเป็น solid state bioconversion

Molla และคณะ (2004) รายงานถึงการบำบัดดินโคลนในน้ำเสียที่ปนเปื้อนสารประกอบไฮโดรคาร์บอนและสารประกอบ PAHs เป็นจำนวนมาก โดยนำราผสม *Trichoderma harzianum* และ *Phanerochaete chrysosporium* สายพันธุ์ 2094 มาตรึงกับขี้เลื่อยและฟางข้าว แล้วนำไปบำบัดน้ำเสียที่ปนเปื้อน พบว่าการเจริญของราผสมรวมถึงปริมาณสารประกอบไฮโดรคาร์บอนลดลงในฟางข้าวมากกว่าขี้เลื่อย และปริมาณสารอินทรีย์รวมถึงอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนลดลงอย่างมากเมื่อเทียบกับชุดที่ไม่ใส่วัสดุ

Akhtar และคณะ (2004) ได้ทำการตรึงสาหร่ายสีเขียวขนาดเล็ก *Chlorella sorokiniana* ด้วยใยบวบเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการดูดซับสารประกอบ PAHs และโลหะหนักเช่นตะกั่ว นิกเกิลและแคดเมียมที่ปนเปื้อนในน้ำ พบว่าประสิทธิภาพของการดูดซับสารเพิ่มขึ้นจากที่ไม่ได้ใช้ใยบวบ 25.3%

Krishna (2005) ทำการศึกษาการบำบัดสารประกอบ PAHs ที่ปนเปื้อนในดิน โดยได้เลี้ยง *Pseudomonas* sp. บนวัสดุทางการเกษตรหลายชนิดเช่น ฟางข้าว เปลือกข้าว พบว่า *Pseudomonas* sp. สามารถเจริญและอยู่รอดบนวัสดุทางการเกษตรได้ดีและเมื่อนำไปบำบัดสารประกอบ PAHs พบว่ามีความสามารถย่อยสลายสารประกอบ PAHs ได้ดีอีกเช่นกัน

วิธัญญา ชวเจริญพันธ์ (2549) ได้ทำการบำบัดดินที่ปนเปื้อนด้วยไพรีนโดยทำการตรึงกลุ่มแบคทีเรีย STK ซึ่งประกอบด้วยสกุล *Zoogloea* sp., *Stenotrophomonas* sp. และ *Mesorhizobium* sp. บนเปลือกถั่ว เศษใบไม้ชนิดต่างๆ ใบมะขามและสารเร่ง พด.1 พบว่า STK ที่เลี้ยงในเปลือกถั่วและเศษใบไม้ชนิดต่างๆสามารถเจริญได้อย่างรวดเร็วและเมื่อนำไปบำบัดไพรีน พบว่าในดินที่มีไพรีน 100 และ 1000 มก.ต่อลิตร แบคทีเรีย STK ที่เลี้ยงในเปลือกถั่ว มีจำนวนเพิ่มมากขึ้นและย่อยสลายไพรีนได้ 78 และ 54% ของปริมาณไพรีนเริ่มต้น ตามลำดับ ภายใน 60 วัน

Siddique และคณะ (2005) ได้ใช้ฟางข้าวผสมกับกลุ่มแบคทีเรียเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการลดปริมาณซีลิเนียมในน้ำทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรม พบว่าสามารถลดปริมาณซีลิเนียมได้หมดภายใน 5 - 6 วันหลังจากเติมฟางข้าว

การย่อยสลายสารประกอบ PAHs โดยจุลินทรีย์

จุลินทรีย์ในธรรมชาติใช้กระบวนการเมแทบอลิซึมหลายแบบในการย่อยสลายสารประกอบทางธรรมชาติและสารสังเคราะห์ที่มนุษย์สร้างขึ้น ในขณะที่ภาคอุตสาหกรรมมีการ

พัฒนาอย่างรวดเร็ว จุลินทรีย์ก็มีวิวัฒนาการให้มีความสามารถในการย่อยสลายสารสังเคราะห์ชนิดต่างๆรวมทั้งสารประกอบ PAHs ที่ปนเปื้อนเข้ามาในสิ่งแวดล้อม โดยจุลินทรีย์ต้องมีการปรับตัวเพื่อให้สามารถย่อยสลายสารดังกล่าวได้ โดยกลุ่มจุลินทรีย์ที่สามารถย่อยสลายสารนี้จะพบจากบริเวณที่มีการปนเปื้อน (Wilson และ Jones, 1993) แบคทีเรีย เชื้อรา สาหร่าย สามารถย่อยสลายสารประกอบ PAHs ได้ ซึ่งเกิดขึ้นโดยมีการชักนำให้สร้างเอนไซม์ที่จำเพาะต่อสารตั้งต้น ซึ่งส่วนใหญ่แล้วจะเป็นการย่อยสลายแบบใช้ออกซิเจน (aerobic biodegradation) วิถีการย่อยสลายสารประกอบ PAHs ในแบคทีเรียไม่ว่าจะเป็นไพรีน ฟีแนนทรีน หรือสารประกอบ PAHs ชนิดอื่นๆ จะมีกลไกของระบบเอนไซม์ที่เหมือนกันคือ เริ่มต้นจากการเกิดออกซิเดชันโดยใช้เอนไซม์ออกซิจีเนสได้แก่ โมโนออกซิจีเนส (monooxygenase) หรือไดออกซิจีเนส (dioxygenase) ซึ่งเร่งปฏิกิริยาการตรึงออกซิเจน นำออกซิเจนเข้ามายังวงอะโรมาติกได้เป็น *cis*-dihydrodiol แล้วจึงถูกย่อยสลายต่อได้เป็น catechol โดยเอนไซม์ dehydrogenase ปฏิกิริยาการเติมหมู่ไฮดรอกซิล (hydroxylation) ทั้งสองให้กับสารประกอบ PAHs ถือเป็นปฏิกิริยาขั้นต้นของการเปิดวงอะโรมาติก และการเปิดวงอะโรมาติกเกิดได้ 2 วิถีคือ meta และ ortho

จุลินทรีย์แต่ละกลุ่มจะมีกลไกการย่อยสลายสารประกอบ PAHs แตกต่างกันไป อย่างไรก็ตามพบว่าการย่อยสลายสารประกอบ PAHs โดยจุลินทรีย์เป็นกระบวนการสำคัญในการบำบัดสารปนเปื้อน ความสามารถในการย่อยสลายของจุลินทรีย์ในสิ่งแวดล้อมขึ้นอยู่กับคุณสมบัติของสารปนเปื้อนทางฟิสิกส์และเคมี ปริมาณและอัตราเร็วของการแพร่ในสิ่งแวดล้อม ความง่ายในการเข้าถึงและถูกใช้โดยจุลินทรีย์ ซึ่งสัมพันธ์กับชนิดของดิน น้ำและออกซิเจนที่สามารถใช้ได้ สารอาหาร ความสามารถของจุลินทรีย์ ความคุ้นเคยกับสารปนเปื้อน พิษของตะกอน ความเป็นกรด-ด่าง อุณหภูมิ และผลกระทบตามฤดูกาลอื่น ๆ (Sutherland และคณะ,1995) ระยะเวลาที่สารประกอบ PAHs อยู่ในแหล่งปนเปื้อนนั้น หากมีการปนเปื้อนเป็นระยะเวลานานทำให้สารประกอบ PAHs โดยเฉพาะไพรีนจะจับกับอนุภาคดินได้แน่นขึ้น ทำให้สกัดออกมาได้ยากและถูกย่อยโดยจุลินทรีย์ลดลง (Gothrie และ Pfaender, 1998)

การย่อยสลายไพรีนและฟีแนนทรีนโดยแบคทีเรีย

การย่อยสลายสารประกอบ PAHs โดยแบคทีเรียเกิดขึ้นได้ 2 แบบ คือ ใช้แบคทีเรียบริสุทธิ์และกลุ่มแบคทีเรีย หากมีการย่อยสลายอย่างสมบูรณ์จะได้เซลล์เพิ่มมากขึ้น น้ำและคาร์บอนไดออกไซด์ (Cerniglia, 1992; Wilson และ Jones, 1993) โดยปกติแบคทีเรียจะย่อยสลายสารที่ละลายน้ำได้ง่ายกว่าสารที่ไม่ละลายน้ำ ดังนั้นแบคทีเรียทั่วไปจะไม่สามารถย่อยสลายสารประกอบ PAHs ซึ่งเป็นสารที่มีความสามารถในการละลายน้ำต่ำได้ แต่มีแบคทีเรียบางชนิด

เท่านั้นที่สามารถสร้างเอนไซม์ต่างๆ ที่ใช้ในการย่อยสลายสารประกอบ PAHs เพื่อจะนำไปใช้เป็นแหล่งคาร์บอนและพลังงาน ส่วนใหญ่แบคทีเรียสายพันธุ์เดี่ยวจะสามารถย่อยสลายสารประกอบ PAHs น้ำหนักโมเลกุลต่ำ ที่ประกอบไปด้วยวงเบนซีน 2-3 วง ปัจจุบันมีรายงานแบคทีเรียบริสุทธิ์หลายชนิดที่สามารถย่อยสลายไพรีนได้ เช่น *Sphingomonas paucimobilis* สายพันธุ์ EPA 505 (Ye และคณะ, 1995), *Mycobacterium flavescens* (Dean-Ross และ Cerniglia, 1996), *Burkholderia cepacia* สายพันธุ์ VUN10,001 (Juhasz และคณะ, 1997), *Pseudomonas putida* (Doong และ Lei, 2003) และ *Pseudomonas aeruginosa* (Das และ Mukherjee, 2006) เป็นต้น และแบคทีเรียบริสุทธิ์ที่สามารถย่อยสลายฟีแนนทรีนได้ เช่น *Alcaligenes denitrificans* (Weissenfels และคณะ, 1992), *Pseudomonas fluoresens* สายพันธุ์ 5R (Menn และคณะ, 1993), *Comamonas* sp. (Meyer และคณะ, 1999), *Aeromonas* sp. สายพันธุ์ s45p1 (Ouyang , 2004) และ *Sphingomonas* sp. P2 (Supaka และคณะ, 2001) เป็นต้น

โดยปกติสารประกอบ PAHs ที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูงจะถูกย่อยสลายได้ยากโดยแบคทีเรียเพียงชนิดเดียว การย่อยสลายโดยกลุ่มแบคทีเรียจะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพ ทำให้อัตราเร็วในการย่อยสลายดียิ่งขึ้น ไม่ทำให้เกิดสารมัธยันตร์ที่มีความเป็นพิษ ซึ่งย่อยสลายได้ยากมากกว่าสารประกอบ PAHs ตั้งต้น ที่สำคัญยังทำให้เกิดการย่อยสลายสารประกอบ PAHs ได้อย่างสมบูรณ์ (mineralization) (Mahro, 2000) การทำงานร่วมกันของแบคทีเรียต่อการย่อยสลายสารประกอบ PAHs นั้น ต้องใช้ระบบเอนไซม์เป็นสิ่งที่สำคัญ โดยแบคทีเรียชนิดที่ 1 สามารถสร้างเอนไซม์ย่อยสลายสารตั้งต้นได้ แต่เนื่องจากไม่มีระบบเอนไซม์ที่สามารถย่อยสลายสารให้สมบูรณ์ เมื่อแบคทีเรียชนิดที่ 1 ไม่สามารถย่อยสลายสารมัธยันตร์ที่เกิดขึ้นภายในระบบได้ (dead-end metabolite) จึงทำให้เกิดการสะสมและอาจเป็นพิษต่อแบคทีเรียชนิดที่ 1 เอง ในขณะที่แบคทีเรียชนิดที่ 2 มีระบบเอนไซม์ที่สามารถย่อยสลายสารมัธยันตร์นั้นได้ อาจมีผลทำให้ความเป็นพิษของสารมัธยันตร์ลดลงหรือสามารถนำสารดังกล่าวมาใช้ในการเจริญได้ (Mueller และคณะ, 1989) ดังรายงานของ Komukai-Nakamura และคณะ (1996) ที่พบว่า *Acinetobacter* sp. สายพันธุ์ T4 จะย่อยอัลเคนและไฮโดรคาร์บอนชนิดอื่นๆในน้ำมันดิบแล้วเกิดสารมัธยันตร์ที่ถูกสะสมไว้ จากนั้น *Pseudomonas putida* สายพันธุ์ PB4 จะใช้สารมัธยันตร์ที่สะสมนั้นต่อไปและพร้อมกับย่อยสลายสารที่มีวงเบนซีนในน้ำมันดิบต่อไปจนหมดในเวลาต่อมา

Lafortune และ Villemur (2005) ได้คัดแยกกลุ่มแบคทีเรียจากดินที่ปนเปื้อนด้วยสารประกอบไฮโดรคาร์บอน พบว่าสามารถย่อยสลายสารประกอบ PAHs ที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูง เช่น ไพรีน ไครซีนและเบนโซ[เอ]ไพรีนได้ โดยสามารถย่อยไพรีนที่ความเข้มข้น 134 มก./มล. ได้ภายใน 3 วัน และย่อยไครซีนที่ความเข้มข้น 43 มก./มล. ได้ภายใน 14 วัน ไม่สามารถเพาะเลี้ยง

แบคทีเรียที่ประกอบอยู่ในกลุ่มแบคทีเรียนี้ได้ จึงได้วิเคราะห์ทางระดับโมเลกุลและพบว่ากลุ่มแบคทีเรียนี้มีแบคทีเรียอย่างน้อย 20 ชนิด

Ozaki และคณะ (2007) คัดแยกกลุ่มแบคทีเรียจากดินที่ปนเปื้อนน้ำมันปิโตรเลียม พบว่ากลุ่มแบคทีเรียนี้สามารถย่อยสลายสารประกอบไฮโดรคาร์บอนได้ในอัตราที่สูง ซึ่งพบว่ากลุ่มแบคทีเรียนี้ประกอบด้วย *Pandoraea* sp. Y1, *Hyphomicrobium facile* Y3, *Burkholderia multivorans* Y4 และ *Brachymonas* sp. สายพันธุ์ F

กลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 และการบำบัดดินปนเปื้อนไพรีน/ฟีแนนทรีน

จิรทีปม์ แสนรัก (2547) คัดแยกกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ได้จากใบจามจุรี ซึ่งเป็นใบไม้ของพืชในวงศ์ Leguminosae (พืชตระกูลถั่ว) และเป็นพืชที่ปลูกมากในประเทศไทย (วรัษยา สุนทรศารทูล, 2542) พบว่ากลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายไพรีนความเข้มข้น 100 มก.ต่อลิตร ได้หมดภายใน 14 วัน โดยย่อยสลายไพรีนเฉลี่ยสูงสุด 14.83 มก.ต่อลิตรต่อวัน นอกจากนี้กลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ยังสามารถย่อยสลายสารประกอบ PAHs ชนิดอื่นได้อีกหลายชนิด โดยสามารถลดปริมาณของอะซีแนพธีน ฟลูออรีน ฟีแนนทรีนและฟลูออแรนทีนได้เป็นจำนวน 100, 98, 99 และ 34 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ภายในเวลา 14 วัน แต่ อะซีแนพธิลีนทำให้กลุ่มแบคทีเรียนี้ตายหมด กลุ่มแบคทีเรียนี้สามารถแยกเชื้อบริสุทธิ์ได้อย่างน้อย 7 ชนิดซึ่งผลทางสัณฐานวิทยาและชีวเคมีสามารถจัดอยู่ใน 4 สกุล ได้แก่ *Comamonas*, *Rugamonas*, *Flavimonas*, *Pseudomonas* และส่วนที่เหลือไม่สามารถจำแนกได้จำนวน 1 ชนิด โดยเป็นแบคทีเรียแกรมลบทั้งหมด

เนื่องจากการเติมกลุ่มแบคทีเรียลงในดินเพื่อบำบัดสารประกอบ PAHs โดยตรง จะทำให้กลุ่มแบคทีเรียตายหรือสูญเสียความสามารถในการย่อยสลายสารประกอบดังกล่าว (Johnsen และคณะ, 2006) ดังนั้นในงานวิจัยจึงมุ่งศึกษาวิธีที่จะเลี้ยงกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 บนวัสดุทางการเกษตร เพื่อให้กลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 มีชีวิตและยังคงความสามารถในการย่อยสลายไพรีน/ฟีแนนทรีนได้ วัสดุทางการเกษตรที่จะใช้ 3 ชนิด ได้แก่ ฟางข้าว ใยบวบและนมผักกระเฉด ซึ่งเป็นวัสดุทางการเกษตรที่หาได้ง่ายในประเทศไทย เพื่อใช้ในการตรึงกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 เพื่อช่วยกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ในการย่อยสลายไพรีนและฟีแนนทรีน ฟางข้าวมีส่วนที่เป็นไข (wax) เคลือบอยู่ที่ผิวในปริมาณมาก ทำให้ละลายสารประกอบ PAHs เข้าไปในฟางข้าวได้และทำให้จุลินทรีย์ที่เกาะติดอยู่สามารถย่อยสลายได้ง่าย (Simonich และ Hites, 1994) ดังรายงานของ Hamdi และคณะ (2007) ทำการบำบัดดินที่ปนเปื้อนแอนทราซีน ไพรีนและเบนโซ[เอ]ไพรีน โดยเติมดินที่ปนเปื้อนสารประกอบ PAHs มาเป็นเวลานานซึ่งมีจุลินทรีย์ที่สามารถย่อยสลายสารได้อยู่

และเติมฟางข้าวลงไปด้วย พบว่าอัตราการย่อยสารประกอบ PAHs สูงขึ้นมากกว่าชุดที่ไม่ใส่ฟางข้าว

ใยบวบมีความหนาแน่นต่ำ น้ำหนักเบา ภายในเป็นร่างแหเชื่อมกันทำให้เกิดรูพรุนเป็นจำนวนมาก มีความเสถียรสูงเมื่ออยู่ในภาวะที่ pH เปลี่ยนแปลง เมื่อทำให้ใยบวบอยู่ในสภาพปลอดเชื้อโดยการนึ่งฆ่าเชื้อ พบว่าใยบวบยังคงรูปอยู่ได้โดยไม่มีการเปลี่ยนรูป โครงสร้าง หรือพื้นผิว โครงสร้างเอื้ออำนวยต่อการให้จุลินทรีย์จับเกาะได้ (Ogbonna และคณะ, 1994) ดังรายงานของ Pattanasupong และคณะ (2004b) ได้คัดแยกกลุ่มแบคทีเรียจากน้ำในนาข้าวและมีการใช้ใยบวบหรือ loofa *(Luffa cylindrica)* มาช่วยในการค้ำจุนการเจริญของกลุ่มแบคทีเรียที่คัดแยกได้ เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการย่อยสลายยาฆ่าแมลง carbendazim และ 2,4-dichlorophenoxyacetic acid ที่ปนเปื้อนในนาข้าว พบว่าสามารถถูกย่อยสลายได้อย่างสมบูรณ์ภายใน 5.5 และ 1.5 วันตามลำดับ

นมผักกระเฉดมีลักษณะเป็นเนื้อเยื่อสีขาวล้อมรอบลำต้นผักกระเฉด ทำให้พยุงตัวลอยน้ำได้ มีโครงสร้างที่เป็นเหมือนฟองน้ำ มีรูพรุน เบา อุ้มน้ำได้ดี (มูลนิธิโลกสีเขียว, 2543) กลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 สามารถจับเกาะได้ เนื่องจากมีรูพรุนมากทำให้มันสามารถดูดเอาไพรีนและฟีแนนทรีนเข้าไปในรูพรุนได้ด้วย ทำให้กลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่จับเกาะอยู่รวมถึงแบคทีเรียที่มีอยู่ในนมผักกระเฉดนั้นสามารถย่อยสลายไพรีนและฟีแนนทรีนได้ง่ายขึ้น จากงานวิจัยของปิยนุช บุญศิริชัย (2547) ได้ทำการบำบัดน้ำทิ้งจากบ่อเลี้ยงกุ้งกุลาดำโดยใช้ผักกระเฉด ซึ่งพบว่าปริมาณโลหะหนัก สารประกอบไฮโดรคาร์บอนต่างๆในน้ำทิ้ง ลดลงในปริมาณมาก ดังนั้นในงานวิจัยนี้จะศึกษาประสิทธิภาพของกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่เลี้ยงบนฟางข้าว ใยบวบและนมผักกระเฉด ในการย่อยสลายไพรีนและฟีแนนทรีน ซึ่งเป็นสารประกอบ PAHs ที่กลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 สามารถย่อยสลายได้ดี นอกจากนั้นไพรีนจัดเป็นตัวแทนของสารประกอบ PAHs ที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูง ซึ่งละลายน้ำได้น้อย ทำให้มีความทนทานต่อการย่อยสลาย (Trzesicka-Mlymarz และ Ward, 1996) และฟีแนนทรีนเพื่อเป็นตัวแทนสารประกอบ PAHs น้ำหนักโมเลกุลต่ำ พร้อมกันนี้จะติดตามพลวัตรประชากรจุลินทรีย์ในขณะที่ดำเนินการทดลองในขั้นต่างๆโดยวิธี Denaturing Gradient Gel Electrophoresis (DGGE) ซึ่งเป็นวิธีที่นิยมใช้ในการติดตามการเปลี่ยนแปลงของประชากรแบคทีเรียระหว่างกระบวนการบำบัดทางชีวภาพ (Nakatsu และคณะ, 2000; Cunliffe และ Kertesz, 2005; Piskonen และคณะ, 2005; Ozaki และคณะ, 2007)