บทที่ 5

สรุปและอภิปรายผลการทดลอง

ทิมากร แสงดำ (2547) ได้คัดแยกกลุ่มแบคทีเรีย STK มาจากปุ๋ยหมักใบมะขาม โดยใช้แผ่นพอลิเตตระฟลูออโรเอทธิลีน (PTFE) ที่เคลือบด้วยไพรีน ซึ่งเป็นแหล่งคาร์บอนและแหล่งพลังงานในการเจริญของกลุ่มแบคทีเรีย STK จึงเป็นกลุ่มแบคทีเรียที่มีไฮโดรโฟบิกซิตี้สูง พบว่า มีประสิทธิภาพสูงในการย่อยสลายไพรีนในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวในห้องปฏิบัติการ กลุ่มแบคทีเรียนี้ประกอบด้วย แบคทีเรีย 3 สายพันธุ์ คือ *Zoogloea* sp., *Stenotrophomonas* sp. และ *Mesorhizobium* sp. ซึ่งมีลักษณะโคโลนีที่เจริญบนอาหาร Luria Bertani (LB) Agar ต่างกัน สังเกตได้จาก ขนาดและสีของโคโลนี จากงานวิจัยที่ผ่านมา ได้ทำการศึกษาประสิทธิภาพการย่อยสลายไพรีนในดินของกลุ่มแบคทีเรีย STK ที่เลี้ยงในอาหารเหลว (ปิยะวรรณ เพชราภา, 2549) พบว่า กลุ่มแบคทีเรีย STK ไม่สามารถย่อยสลายไพรีนในดินสภาวะ solid ตลอดระยะเวลาที่บ่มเชื้อเป็นเวลา 1 เดือน พบว่าปริมาณไพรีนยังคงที่ ผู้วิจัยได้เสนอสมมติฐานว่า อาจเกิดจากแบคทีเรีย STK ที่เติมลงไปในดินมีคุณสมบัติไฮโดรโฟบิกสูงเป็นผลให้เชื้อไม่สามารถกระจายตัว เนื่องจากในระบบทดลองในดินเป็นสภาวะนิ่งไม่ได้มีการเขย่าตลอดเวลาดังเช่นการทดลองเลี้ยงเชื้อในอาหารเหลวที่มีการเขย่าตลอดระยะเวลาของการทดลอง นอกจากนี้การที่ไพรีนอยู่ในดินเป็นระยะเวลานานขึ้น เป็นผลให้มีการติดอยู่กับอนุภาคของดินมากขึ้น ทำให้แบคทีเรียนำไปใช้ได้ยากขึ้น (low bioavailability) (Johnsen และคณะ, 2005) ดังนั้นในการทดลองนี้จึงศึกษาการสร้างกล้าเชื้อแบคทีเรีย STK ในวัสดุพาหะก่อนที่จะเติมลงในดิน เพื่อให้กลุ่มแบคทีเรีย STK มีชีวิตรอดและสามารถย่อยสลายไพรีนที่ปนเปื้อนในดินได้

จากการทดลองได้คัดเลือกวัสดุพาหะ 4 ชนิด ประกอบด้วย เปลือกถั่ว เศษใบไม้ชนิดต่างๆ ใบมะขาม และสารเร่ง พด.1 ปลอดเชื้อ ที่มีไพรีนเข้มข้น 100 มก.ต่อ กก.ของวัสดุพาหะ ที่ให้การเจริญและการอยู่รอดของกลุ่มแบคทีเรีย STK ได้ดีที่สุด พบว่า ตั้งแต่วันที่ 0-56 ของการทดลอง กลุ่มแบคทีเรีย STK ที่เลี้ยงในเปลือกถั่วและเศษใบไม้ชนิดต่างๆ มีจำนวนเพิ่มขึ้นและมีจำนวนมากกว่ากลุ่มแบคทีเรีย STK ที่เลี้ยงในใบมะขามและสารเร่ง พด.1 ซึ่งสอดคล้องกับปริมาณไพรีนที่เหลืออยู่ พบว่า ตั้งแต่วันที่ 0-56 ของการทดลอง ปริมาณไพรีนที่เหลืออยู่ในเปลือกถั่วและเศษใบไม้ชนิดต่างๆ มีค่าเท่ากับ 14.33 และ 17.49 % เมื่อเปรียบเทียบกับปริมาณไพรีนที่เหลืออยู่ในใบมะขามและสารเร่ง พด.1 ซึ่งมีค่าเท่ากับ 62.84 และ 44.02 % แสดงให้เห็นว่า เปลือกถั่วและเศษใบไม้ชนิดต่างๆ ให้การเจริญและการย่อยสลายไพรีนของกลุ่มแบคทีเรีย STK ได้ดีกว่า

ใบมะขามและสารเร่ง พด.1 เนื่องจากองค์ประกอบทางเคมีของเปลือกถั่วและเศษใบไม้ชนิดต่างๆ ได้แก่ สารอินทรีย์คาร์บอน ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส โพแทสเซียม เป็นต้น มีค่ามากกว่าใบมะขาม ในทุกๆองค์ประกอบ จึงส่งผลให้กลุ่มแบคทีเรีย STK สามารถเจริญและอยู่รอดในเปลือกถั่วและเศษใบไม้ชนิดต่างๆ ได้ดีกว่าใบมะขาม ส่วนในสารเร่ง พด.1 มีมูลสัตว์และเศษพืชแห้งเป็นองค์ประกอบ ซึ่งมีลักษณะทางกายภาพคล้ายดิน ทำให้กลุ่มแบคทีเรีย STK สามารถกระจายตัวในสารเร่ง พด.1 ได้น้อย ซึ่งมีผลให้กลุ่มแบคทีเรีย STK เจริญในสารเร่ง พด.1 น้อยลงตามไปด้วย เพราะฉะนั้นจึงเลือกเปลือกถั่วและเศษใบไม้ชนิดต่างๆ ไปสร้างเป็นกล้าเชื้อแบคทีเรียต่อไป จากการทดลองข้างต้น พบว่า วันที่ 14 ของการทดลอง กลุ่มแบคทีเรีย STK ที่เลี้ยงในเปลือกถั่วและเศษใบไม้ชนิดต่างๆ มีจำนวนมากที่สุดและย่อยสลายไพรีนได้ ประมาณ 50 % ของปริมาณไพรีนเริ่มต้น จึงทำการเลี้ยงกลุ่มแบคทีเรีย STK ในเปลือกถั่วและเศษใบไม้ชนิดต่างๆ เป็นเวลา 14 วัน เพื่อสร้างเป็นกล้าเชื้อแบคทีเรียก่อนนำไปบำบัดดินที่ปนเปื้อนไพรีนในขั้นตอนต่อไป

จากการทดลองข้างต้น ทำการศึกษาต่อไป โดยนำกลุ่มแบคทีเรีย STK มาเลี้ยงในเปลือกถั่วและเศษใบไม้ชนิดต่างๆ เป็นเวลา 6 เดือน เพื่อติดตามหาระยะเวลาที่แบคทีเรีย STK สามารถมีชีวิตในเปลือกถั่วและเศษใบไม้ชนิดต่างๆได้นานที่สุด โดยศึกษาแบคทีเรียทั้ง 3 สายพันธุ์ในกลุ่มแบคทีเรีย STK ซึ่งประกอบด้วย *Zoogloea* sp., *Stenotrophomonas* sp. และ *Mesorhizobium* sp. โดยแบคทีเรียทั้ง 3 สายพันธุ์ จะมีลักษณะโคโลนีที่เจริญบนอาหาเลี้ยงเชื้อ LB Agar ต่างกัน สังเกตได้จากขนาดและสีของโคโลนี พบว่า วันที่ 30 ของการทดลอง จำนวนแบคทีเรียทั้ง 3 สายพันธุ์ ในเปลือกถั่วและเศษใบไม้ชนิดต่างๆมีค่ามากที่สุด จากนั้นจะลดจำนวนลง จนกระทั่งวันที่ 60 ของการทดลอง จำนวนแบคทีเรียทั้ง 3 สายพันธุ์ มีค่าใกล้เคียงกับจำนวนแบคทีเรียเริ่มต้นในวันที่ 0 ของการทดลอง จากนั้นจะลดลงอย่างรวดเร็ว จนกระทั่งวันที่ 180 ของการทดลอง จำนวนของแบคทีเรียทั้ง 3 สายพันธุ์ ในเปลือกถั่วและเศษใบไม้ชนิดต่างๆจะลดลงเหลืออยู่ในช่วง 60-65% และ 58-62% ของปริมาณไพรีนเริ่มต้น ตามลำดับ จะเห็นได้ว่า จำนวนกลุ่มแบคทีเรีย STK ลดลงไม่ถึงครึ่งหนึ่งของจำนวนที่เติมลงไป แสดงให้เห็นว่า กลุ่มแบคทีเรีย STK สามารถมีชีวิตรอดในเปลือกถั่วและเศษใบไม้ชนิดต่างๆได้ เป็นเวลามากกว่า 6 เดือน จากการทดลองข้างต้น จะสอดคล้องกับปริมาณไพรีนที่เหลืออยู่ พบว่า วันที่ 180 ของการทดลอง ปริมาณไพรีนที่เหลืออยู่ในเปลือกถั่วและเศษใบไม้ชนิดต่างๆ มีค่าเท่ากับ 4.23 และ 4.12 % จากนั้นทำการเปรียบเทียบการเจริญและการอยู่รอดในดินปนเปื้อนไพรีนของแบคทีเรียทั้ง 3 สายพันธุ์ พบว่า ตั้งแต่วันที่0-180 *Stenotrophomonas* sp. มีการเพิ่มจำนวนมากกว่า *Zoogloea* sp. และ *Mesorhizobium* sp อาจสรุปได้ว่า *Stenotrophomonas* sp. เป็นแบคทีเรียชนิดหนึ่งที่มีบทบาทในการย่อยสลายไพรีน แต่การย่อยสาร PAHs ในบางกรณี จำเป็นต้องอาศัยการทำงานร่วมกันของจุลินทรีย์หลายๆชนิด

ซึ่งจะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการย่อยสลาย PAHs ได้ดียิ่งขึ้น ทำให้อัตราเร็วในการย่อยสลายเพิ่มขึ้นและยังทำให้เกิดการย่อยสลาย PAHs ได้อย่างสมบูรณ์ (mineralization) ความสัมพันธ์หรือกลไกที่เกิดขึ้นระหว่างการทำงานร่วมกันของจุลินทรีย์ต่อการย่อยสลายสาร PAHs นั้น สิ่งสำคัญ คือ ระบบเอนไซม์ โดยจุลินทรีย์ชนิดที่ 1 สามารถสร้างเอนไซม์ย่อยสลายสารตั้งต้นได้ แต่เนื่องจากไม่มีระบบเอนไซม์ที่สามารถย่อยสลายสารให้สมบูรณ์ จึงเกิดการสะสมของสารมัธยันต์เพิ่มขึ้นและอาจเป็นพิษต่อจุลินทรีย์ชนิดที่ 1 เพราะฉะนั้นถ้ามีจุลินทรีย์ชนิดที่ 2 ซึ่งมีเอนไซม์ที่ย่อยสารมัธยันต์ได้ จะทำให้ความเป็นพิษในระบบลดลงโดยสามารถนำสารดังกล่าวไปใช้ในการเจริญได้ (Muellerและคณะ, 1989)

ในงานวิจัยนี้พบว่า การเลี้ยงกลุ่มแบคทีเรีย STK ในเปลือกถั่วและเศษใบไม้ชนิดต่างๆที่มีไพรีนเข้มข้น 100 มก.ต่อ กก. ของวัสดุพาหะ ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 เดือน เพื่อดูการเจริญและการอยู่รอดของแบคทีเรีย จึงถือว่าเป็นการเก็บรักษาเชื้อที่อุณหภูมิห้องอีกวิธีหนึ่ง ซึ่งพบว่า กลุ่มแบคทีเรีย STK สามารถเพิ่มจำนวนและมีจำนวนคงที่ซึ่งมีค่าเท่ากับจำนวนแบคทีเรียเริ่มต้น เป็นเวลา 60 วัน จากนั้นกลุ่มแบคทีเรียจะลดจำนวนลงอย่างรวดเร็ว จนกระทั่งวันที่ 180 ของการทดลอง เนื่องจากกลุ่มแบคทีเรีย STK มีการใช้ไพรีนที่เติมลงไปเป็นแหล่งคาร์บอนและสารอาหารที่ได้จากเปลือกถั่วและเศษใบไม้ชนิดต่างๆ ตลอดเวลา ซึ่งส่งผลต่อการเจริญและการอยู่รอดของกลุ่มแบคทีเรีย เพราะฉะนั้น การจะให้กลุ่มแบคทีเรียสามารถมีชีวิตอยู่รอดได้นานขึ้นกว่านี้ จึงต้องมีการควบคุมปัจจัยที่จำเป็นในการเจริญ เช่น การจำกัดอากาศ อุณหภูมิ สารอาหาร น้ำ เป็นต้น วิธีเก็บรักษาเชื้อที่นิยมใช้กัน คือ การต่อเชื้อหรือการเปลี่ยนอาหารใหม่(subculture) , การทำแห้ง(drying) , การทำให้แห้งแบบเยือกแข็ง(freeze drying หรือ lyophilization) และการเยือกแข็งหรือแช่แข็ง(freezing) ซึ่งในแต่ละวิธีสามารถเก็บรักษาเชื้อได้ยาวนานแตกต่างกัน (Trivived และคณะ, 2005) แต่เนื่องจากในงานวิจัยนี้ต้องการให้ได้ปริมาณกล้าเชื้อจำนวนมากและมีวัตถุประสงค์ที่จะนำไปใช้ในการบำบัดสาร PAHs ที่ปนเปื้อนในดิน ในขั้นต้นจึงมีความต้องการเพาะเลี้ยงให้ได้กล้าเชื้อจำนวนมากก่อน ในขั้นตอนต่อไปจะได้ทดลองนำปัจจัยดังกล่าวนี้มาใช้ เพื่อให้กล้าเชื้อมีอายุยาวนานขึ้น

จากการทดลองข้างต้น ทำการศึกษาประสิทธิภาพการเจริญและการอยู่รอดร่วมกับการย่อยสลายไพรีนในดินสภาวะ solid ของกล้าเชื้อแบคทีเรียในเปลือกถั่วและเศษใบไม้ชนิดต่างๆ โดยนำกลุ่มแบคทีเรีย STK มาเลี้ยงในเปลือกถั่วและเศษใบไม้ชนิดต่างๆเป็นเวลา 14 วัน เพื่อสร้างกล้าเชื้อแบคทีเรีย จากนั้นนำไปบำบัดดินที่ปนเปื้อนไพรีนที่มีความเข้มข้น 100 มก.ต่อ กก.ของดิน โดยดินที่ใช้ในการทดลองมีความอุดมสมบูรณ์โดยมีอัตราส่วนของคาร์บอนต่อไนโตรเจนรวมทั้ง

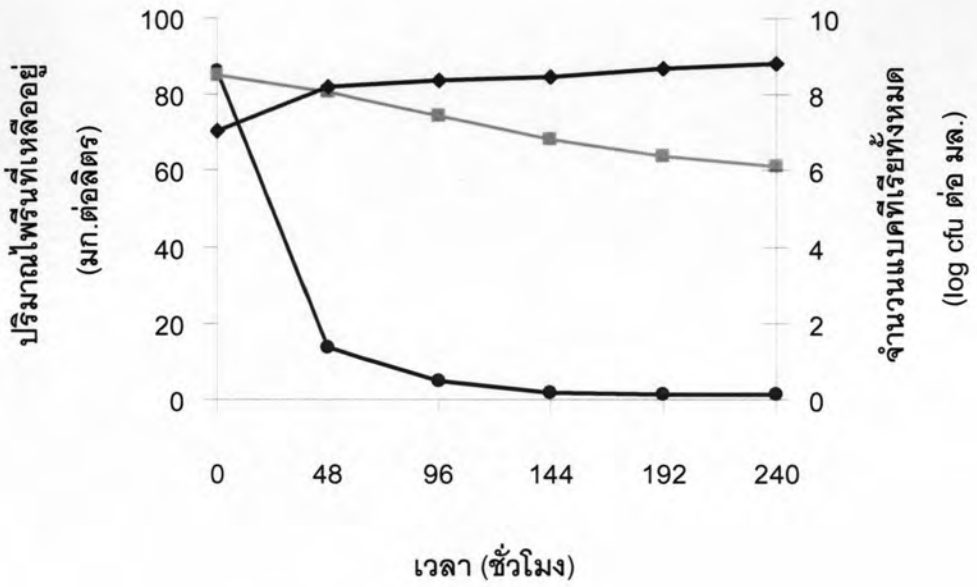
ฟอสฟอรัสและโพแทสเซียมที่เหมาะสมและไม่มีการปนเปื้อนของสาร PAHs มาก่อน พบว่า ตั้งแต่วันที่ 0-60 ของการทดลอง ประสิทธิภาพการเจริญและการอยู่รอดร่วมกับการย่อยสลายไพรีนในดินสภาวะ solid ของกล้าเชื้อแบคทีเรียในเปลือกถั่วและเศษใบไม้ชนิดต่างๆ มีค่าใกล้เคียงกัน โดยดูจากจำนวนกล้าเชื้อแบคทีเรียและปริมาณไพรีนที่เหลืออยู่ในดิน พบว่า วันที่ 30 ของการทดลอง กล้าเชื้อแบคทีเรียในเปลือกถั่วและเศษใบไม้ชนิดต่างๆ มีจำนวนมากที่สุด ซึ่งมีค่าเท่ากับ 10.51 และ 10.65 log CFU ต่อกรัม ซึ่งสอดคล้องกับ ปริมาณไพรีนที่เหลืออยู่ พบว่า ปริมาณไพรีนที่เหลืออยู่ในเปลือกถั่วและเศษใบไม้ชนิดต่างๆ มีค่าเท่ากับ 65.25 มก.ต่อ กก.(55.22%)และ 57.92 มก.ต่อ กก.(48.58%) และหลังจากวันที่ 30 เป็นต้นไป พบว่า กล้าเชื้อแบคทีเรียในเปลือกถั่วและเศษใบไม้ชนิดต่างๆ จะลดจำนวนลง จนกระทั่งวันที่ 60 ของการทดลอง จำนวนกล้าเชื้อแบคทีเรียในเปลือกถั่วและเศษใบไม้ชนิดต่างๆ มีค่าเท่ากับ 8.59 และ 8.44 log CFU ต่อกรัม และปริมาณไพรีนที่เหลืออยู่ในเปลือกถั่วและเศษใบไม้ชนิดต่างๆ มีค่าเท่ากับ 25.77 มก.ต่อ กก.(21.81%)และ 34.96 มก.ต่อ กก.(28.43%) และได้ศึกษาปัจจัยทางชีวภาพของดิน โดยเปรียบเทียบชุดการทดลองที่เติมกล้าเชื้อแบคทีเรียในเปลือกถั่วและเศษใบไม้ชนิดต่างๆลงดินไม่ปลอดเชื้อกับชุดควบคุมที่1 ซึ่งเป็นดินไม่ปลอดเชื้อเพียงอย่างเดียว พบว่า จำนวนแบคทีเรียในดินของชุดการทดลองและแบคทีเรียในดินของชุดควบคุมที่ 1 มีค่าไม่แตกต่างกัน แสดงให้เห็นว่า ไม่เกิดสภาวะแข่งขันกันระหว่างกล้าเชื้อแบคทีเรียกับเชื้อแบคทีเรียในดิน จากนั้นศึกษาปัจจัยทางกายภาพของดิน โดยเปรียบเทียบชุดควบคุมที่ 1 กับชุดควบคุมที่ 2 ซึ่งเป็นดินปลอดเชื้อ พบว่า แบคทีเรียในดินไม่สามารถย่อยสลายไพรีนได้ เนื่องจากปริมาณไพรีนที่เหลืออยู่ระหว่างชุดควบคุมที่ 1 และชุดควบคุมที่ 2 มีค่าไม่แตกต่างกัน แสดงให้เห็นว่า การลดลงของไพรีนในแหล่งดินเกิดจากปัจจัยทางกายภาพของดิน โดยที่สิ่งมีชีวิตในแหล่งดินที่นำมาใช้ในการทดลองไม่มีบทบาทสำคัญในการเปลี่ยนแปลงของไพรีน จากการศึกษาปัจจัยทางกายภาพของวัสดุพาหะ โดยเปรียบเทียบชุดการทดลองกับชุดควบคุมที่ 3 ที่เป็นดินไม่ปลอดเชื้อผสมกับเปลือกถั่วหรือเศษใบไม้ชนิดต่างๆปลอดเชื้อ พบว่า จำนวนแบคทีเรียในดินของชุดการทดลองและจำนวนแบคทีเรียในชุดควบคุมที่ 3 มีค่าไม่แตกต่างกัน รวมทั้งปริมาณไพรีนที่เหลืออยู่ก็มีค่าไม่แตกต่างกัน ซึ่งแสดงให้เห็นว่า เมื่อนำดินมาเติมสารอินทรีย์จากเปลือกถั่วและเศษใบไม้ชนิดต่างๆที่ปลอดเชื้อนั้นไม่ได้สนับสนุนให้สิ่งมีชีวิตและจุลชีพท้องถิ่นในดินเจริญและย่อยสลายไพรีนในดินได้ จากการศึกษางานวิจัยนี้ สามารถนำไปเปรียบเทียบกับการใช้กลุ่มแบคทีเรียที่เลี้ยงในอาหารเหลว CFMM(โดยไม่นำไปเลี้ยงในวัสดุพาหะ) แล้วนำไปบำบัดดินที่ปนเปื้อนไพรีนที่ความเข้มข้น 100 มก.ต่อ กก.ของดิน โดยตรง พบว่า กลุ่มแบคทีเรีย STK มีการเจริญลดลงและไม่สามารถย่อยสลายไพรีนในดินได้ ตลอดระยะเวลาที่บ่มเชื้อเป็นเวลา 30 วัน จึงสรุปได้ว่า การเลี้ยงกลุ่มแบคทีเรีย STK ในวัสดุพาหะก่อนนำไปบำบัดดินที่ปนเปื้อนไพรีน ช่วยเพิ่มการอยู่รอดและประสิทธิภาพในการย่อยสลายไพรีนในดินของกลุ่ม

แบคทีเรีย STK ได้ เนื่องจากคุณสมบัติของวัสดุพาหะ(Hupe และคณะ, 1996) ได้แก่ ช่วยเพิ่มการส่งผ่านออกซิเจนในดิน เป็นแหล่งอาหารที่สำคัญ ช่วยป้องกันแบคทีเรียจากการถูกจับกินโดยโปรโตซัว ป้องกันการแย่งอาหารกันระหว่างแบคทีเรียต่างถิ่นและแบคทีเรียท้องถิ่น เป็นต้น

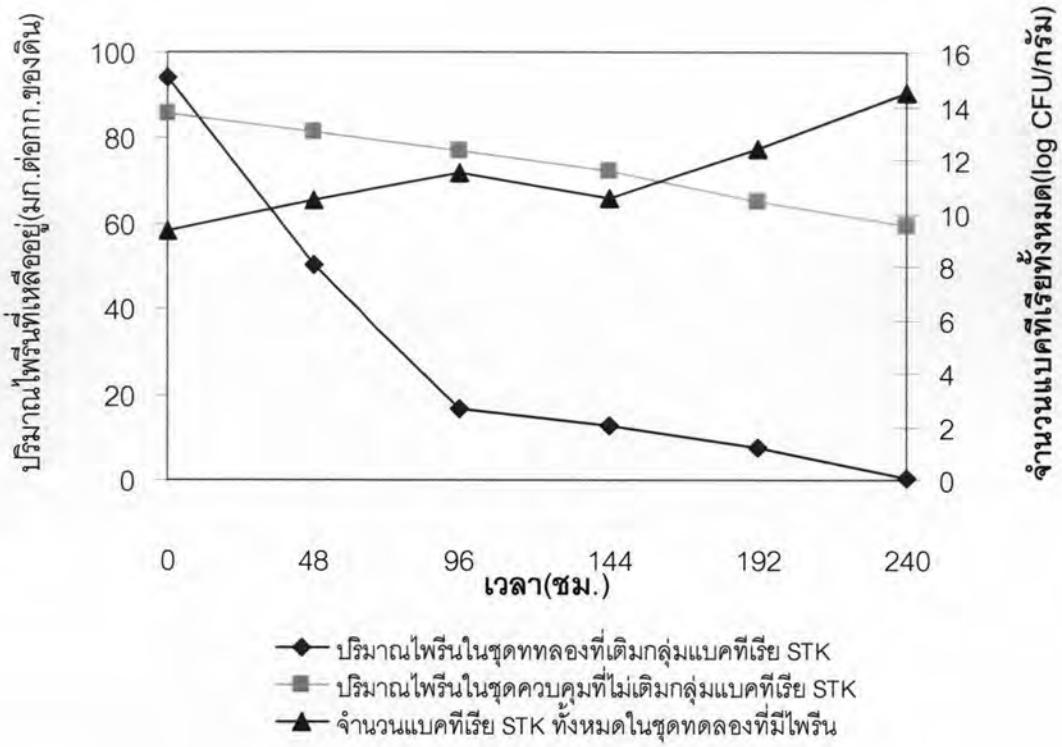
จากการทดลองข้างต้น พบว่า กล้าเชื้อแบคทีเรียที่เลี้ยงในเปลือกถั่วและเศษใบไม้ชนิดต่างๆสามารถเจริญและย่อยสลายไพรีนในดินที่มีความเข้มข้น 100 มก.ต่อ กก.ของดินได้ จึงทำการศึกษาต่อโดยเพิ่มความเข้มข้นของไพรีนเป็น 1000 มก.ต่อกก.ของดิน เพื่อดูว่ากล้าเชื้อแบคทีเรียจะสามารถย่อยสลายไพรีนในดินที่ปนเปื้อนในความเข้มข้นสูงๆได้ โดยดูจากการเจริญและการย่อยสลายไพรีนในดิน พบว่า จำนวนกลุ่มแบคทีเรีย STK มีค่าเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ ในทางตรงกันข้าม จำนวนแบคทีเรียในดินมีค่าลดลงเรื่อยๆ แสดงให้เห็นว่า กลุ่มแบคทีเรีย STK สามารถทนต่อปริมาณไพรีนสูงๆได้ แต่แบคทีเรียท้องถิ่นไม่สามารถทนต่อปริมาณไพรีนสูงที่ปนเปื้อนในดินได้ อาจเนื่องจากไม่มีเอมไซม์ในการย่อยสลาย PAHs ทำให้เกิดการสะสม PAHs และอาจเป็นพิษต่อแบคทีเรีย จากการทดลอง เมื่อวิเคราะห์ปริมาณไพรีนในชุดทดลองที่เติมกล้าเชื้อแบคทีเรียในเปลือกถั่วลงดิน พบว่า มีการย่อยสลายไพรีนอย่างช้าๆ จนกระทั่งวันที่ 60 ของการทดลอง ปริมาณไพรีนที่เหลืออยู่มีค่าเท่ากับ 607.05 มก.ต่อ กก.ของดิน(46.09%) และได้ศึกษาปัจจัยทางชีวภาพของดิน ปัจจัยกายภาพของดินและเปลือกถั่ว โดยเปรียบเทียบชุดการทดลองกับชุดควบคุมต่างๆ พบว่า ผลการทดลองที่ได้มีความสอดคล้องกับผลการทดลองที่นำกล้าเชื้อแบคทีเรียมาบำบัดดินปนเปื้อนไพรีนที่มีความเข้มข้น 100 มก.ต่อ มก.ของดิน

ทำการศึกษาประสิทธิภาพทำการศึกษาประสิทธิภาพการเจริญและการอยู่รอดร่วมกับการย่อยสลายไพรีนในดินสภาวะ slurry อัตราส่วนดิน 1 กรัมต่อน้ำ 8 มิลลิลิตร ของกล้าเชื้อแบคทีเรียในเปลือกถั่วและเศษใบไม้ชนิดต่างๆ โดยนำกลุ่มแบคทีเรีย STK มาเลี้ยงในเปลือกถั่วและเศษใบไม้ชนิดต่างๆเป็นเวลา 14 วัน เพื่อสร้างกล้าเชื้อแบคทีเรีย จากนั้นนำไปบำบัดในดินสภาวะ slurry ซึ่งประกอบด้วย ดิน 9 กรัมและมีส่วนน้ำ 72 มล.(อัตราส่วนดินต่อน้ำเท่ากับ1:8) ทำให้ปนเปื้อนไพรีนที่ความเข้มข้น 100 มก.ต่อ กก.ของดิน โดยมีการบ่มด้วยเครื่องเขย่าที่ 30 องศาเซลเซียส พบว่า มีการย่อยสลายไพรีนเกิดขึ้นอย่างรวดเร็วและมีการเพิ่มจำนวนของกล้าเชื้อแบคทีเรียอย่างรวดเร็ว เมื่อเปรียบเทียบการเจริญของแบคทีเรียในชุดการทดลองนี้กับชุดการทดลองที่เลี้ยงกลุ่มแบคทีเรีย STK ในระบบ slurry (ปิยะวรรณ เพชราภา, 2549) พบว่า การเติมเชื้อแบคทีเรีย STK ที่เลี้ยงเป็นกล้าเชื้อแบคทีเรียลงดิน จำนวนแบคทีเรียจะเพิ่มอย่างรวดเร็วจนกระทั่งวันที่ 10 ของการการทดลอง (จากรูปที่ 5.2) เนื่องจาก วัสดุพาหะจะเพิ่มการอยู่รอดของกลุ่มแบคทีเรีย STK เมื่อนำมาบำบัดในดิน ส่วนการเติมกลุ่มแบคทีเรีย STK ลงดินเลย จะเพิ่ม

จำนวนอย่างรวดเร็วในวันที่ 2 ของการทดลอง และจะเพิ่มจำนวนช้าๆจนกระทั่งวันที่ 10 ของการทดลอง แสดงให้เห็นว่า การเติมกล้าเชื้อแบคทีเรียลงดินจะให้การเจริญและอยู่รอดในดินได้ดีกว่าการเติมกลุ่มแบคทีเรีย STK ลงดินโดยตรง (จากรูปที่ 5.1) ส่วนจำนวนเชื้อแบคทีเรียในดินจะค่อยๆลดลงจนกระทั่งวันที่ 10 ของการทดลอง จากการทดลอง



รูปที่ 5.1 **ลักษณะการเจริญและการย่อยสลายไพรีนในดินระบบ** slurry **อัตราส่วนดินต่อน้ำ** 1:8 **(กรัมต่อมล.) ที่มีไพรีนความเข้มข้น** 100 **มก.ต่อลิตร ของกลุ่มแบคทีเรีย** STK **ที่เลี้ยงในอาหารเหลว** CFMM **(ปิยะวรรณ เพชราภา,** 2549)



รูปที่ 5.2 ลักษณะการเจริญและการย่อยสลายไพรีนในดินระบบ slurry อัตราส่วนดินต่อน้ำ 1:8 (กรัมต่อมล.) ที่มีไพรีนความเข้มข้น 100 มก.ต่อลิตร ของกลุ่มแบคทีเรีย STK ที่เลี้ยงในเปลือกถั่ว

จากการทดลองข้างต้น กล้าเชื้อแบคทีเรียที่เลี้ยงในเปลือกถั่วสามารถเจริญและย่อยสลายไพรีนในดินสภาวะ slurry ที่มีไพรีนความเข้มข้น 100 มก.ต่อ กก.ของดินได้ จึงทำการศึกษาต่อโดยเพิ่มความเข้มข้นของไพรีนเป็น 1000 มก.ต่อ กก.ของดิน เพื่อดูว่ากล้าเชื้อแบคทีเรียสามารถเจริญและอยู่รอด รวมถึงดูประสิทธิภาพการย่อยสลายไพรีนที่มีความเข้มข้นสูงๆในดินได้ เมื่อเปรียบเทียบกับชุดทดลองที่มีไพรีนเข้มข้น 100 มก.ต่อ กก.ของดิน พบว่า ที่ระยะเวลาเท่ากัน มีการย่อยสลายไพรีนและการเพิ่มจำนวนของกลุ่มแบคทีเรีย STK อย่างช้าๆ ส่วนแบคทีเรียในดินจะลดจำนวนลงอย่างรวดเร็ว แสดงให้เห็นว่า จุลินทรีย์ท้องถิ่นไม่สามารถทนต่อปริมาณไพรีนสูงๆในดินได้ แต่ในขณะที่กลุ่มแบคทีเรีย STK สามารถทนและเพิ่มจำนวนได้

จากการทดลองสรุปได้ว่า เมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพการย่อยสลายไพรีนในดินทั้ง 2 สภาวะ พบว่า กล้าเชื้อแบคทีเรียสามารถย่อยสลายไพรีนในดินที่อยู่ในรูปของแข็ง (solid state) ได้เกือบหมด ตลอดระยะเวลาที่บ่มเชื้อเป็นเวลา 2 เดือน แต่กล้าเชื้อแบคทีเรียสามารถย่อยสลายไพรีนในดินสภาวะ slurry อัตราส่วนดินต่อน้ำเท่ากับ 1:8 (กรัมต่อมล.) ได้ภายในระยะเวลา 10

วัน จะเห็นได้ว่า สภาวะ solid state จะใช้เวลาในการย่อยสลายมากกว่าสภาวะ slurry เนื่องจากแบคทีเรีย STK มีคุณสมบัติไฮโดรโฟบิกสูงเป็นผลให้เชื้อไม่สามารถกระจายตัว และในระบบทดลองในดินเป็นระบบนิ่งไม่ได้มีการเขย่าตลอดเวลาดังเช่นการทดลองเลี้ยงเชื้อในอาหารเหลวที่มีการเขย่าตลอดระยะเวลาของการทดลอง นอกจากนี้การที่ไพรีนอยู่ในดินเป็นระยะเวลานานขึ้นเป็นผลให้มีการดูดซับอยู่กับอนุภาคของดิน ทำให้แบคทีเรียนำไปใช้ได้ยากขึ้น (Johnsen และคณะ , 2005) แต่เมื่อทำให้แบคทีเรียในดินเปลี่ยนไปอยู่ในลักษณะ slurry โดยมีปริมาณน้ำมากขึ้นและมีการเขย่าให้เชื้อแบคทีเรียกระจายได้ทั่วไปในขวดทดลอง จึงจะทำให้การย่อยสลายไพรีนในดินเกิดขึ้นได้อย่างรวดเร็ว ในการย่อยสลายไพรีนในดินสภาวะ slurry อัตราส่วนดินต่อน้ำเท่ากับ 1 : 8 (กรัมต่อมล.) พบว่ากลุ่มแบคทีเรีย STK สามารถย่อยสลายไพรีนได้อย่างมีประสิทธิภาพ ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Alexander (1995) พบว่าเมื่อทดลองบำบัดดินปนเปื้อน PAHs สภาวะ slurry ด้วยอัตราส่วนดินต่อน้ำ 1:1 (กรัมต่อมล.) สามารถส่งเสริมการเจริญ และการย่อยสลายฟีแนนทรีนได้ดีขึ้นจาก 4.4% เป็น 36.9% เนื่องจากน้ำจะช่วยเพิ่มพื้นที่ผิวสัมผัสระหว่างจุลินทรีย์และฟีแนนทรีน การเพิ่มพื้นที่ผิวสัมผัสดังกล่าวเกิดจากดินแตกตัวทำให้ PAHs เคลื่อนไปยังวัฏภาคน้ำอย่างรวดเร็ว รวมทั้งยังเพิ่มการเคลื่อนที่ของจุลินทรีย์อีกด้วย (Doick และ Semple, 2003) เช่นเดียวกับรายงานของ Fu และ Alexander (1995) ที่ทำการบำบัด PAHs ในดินด้วยสภาวะ slurry อัตราส่วนดินต่อน้ำ 1:10 (กรัมต่อมล.) พบว่าสามารถเพิ่มการย่อยสลายฟีแนนทรีนได้ และมีรายงานของ Kerstinและคณะ (2006) ได้ทำการเปรียบเทียบการเลี้ยงกลุ่มแบคทีเรียที่ย่อยสลายไพรีนและเบนโซ(เอ)ไพรีนได้ในอาหารเหลว ดินสภาวะ slurry และ ดินสภาวะ solid พบว่า การเลี้ยงกลุ่มแบคทีเรีย ซึ่งประกอบด้วย *Aeromonas* , *Sphingomonas*, , *Agrobacterium* และ *Mycobacterium* ในดินสภาวะ slurry ด้วยอัตราส่วนดินต่อน้ำ 1:1 (กรัมต่อมล.) ได้ผลดีที่สุด ทั้งการย่อยสลาย PAHs ที่สมบูรณ์ (mineralization) และย่อยสลายได้ในเวลาอันรวดเร็ว ซึ่งจะย่อยสลายไพรีนและเบนโซ(เอ)ไพรีนได้เท่ากับ 54 % เป็นเวลา 21 วัน และ 34%เป็นเวลา 70 วัน ตามลำดับ ส่วนในอาหารเหลว การย่อยสลายไพรีนอย่างสมบูรณ์จะเกิดขึ้นช้ากว่า ก็คือสามารถย่อยสลายไพรีนได้เท่ากับ 54 % ในเวลา 150 วัน และในดินสภาวะ solid จะสามารถย่อยสลายไพรีนได้ 36 % ในเวลา 160 วัน

อย่างไรก็ตาม การเลี้ยงเชื้อโดยผ่านขั้นตอนการเลี้ยงในวัสดุพาหะนับว่ามีผลในการเสริมให้กลุ่มแบคทีเรีย STK ซึ่งมีคุณสมบัติไฮโดรโฟบิก สามารถทำให้เกิดการย่อยสลายสาร PAHs ในดินสภาวะ solid ได้ แต่กลุ่มแบคทีเรีย STK นี้ จะไม่สามารถย่อยสลายไพรีนได้ ถ้าใส่เชื้อที่เลี้ยงในอาหารเหลวลงดินโดยตรง (ปิยะวรรณ เพชราภา, 2549) ที่เป็นเช่นนี้ คาดว่า วัสดุพาหะก่อให้เกิดการกระจายตัวของแบคทีเรียชนิดนี้ในดินได้ดีกว่าการใช้แบคทีเรียที่เพาะเลี้ยงในอาหาร

เลี้ยงเชื้อแล้วนำมาใส่ลงในดินโดยตรง เป็นผลให้กลุ่มแบคทีเรียนี้สามารถมีชีวิตและทำงานย่อยสลายสาร PAHs ได้ดีทั้งในแง่ของการที่แบคทีเรียสามารถกระจายและสัมผัสสาร PAHs ในดินได้อย่างทั่วถึง ก่อให้เกิดการย่อยสลายสาร PAHs ได้กว้างขวางภายในระบบนิเวศน์ที่เลี้ยงเชื้อ