บทที่ 5

สรุปและอภิปรายผลการทดลอง

กลุ่มแบคทีเรีย STK เป็นกลุ่มแบคทีเรียที่คัดแยกได้จากใบมะขามโดยใช้ไพรีนเป็นแหล่งคาร์บอนและพลังงาน (ทิมากร แสงดำ, 2547) ประกอบด้วยแบคทีเรีย 3 สายพันธุ์ คือ *Zoogloea* sp., *Stenotrophomonas* sp. และ *Mesorhizobium* sp. แบคทีเรียกลุ่มนี้มีที่มีสมบัติไฮโดรโฟบิกสูงซึ่ง จากการสืบค้นจนถึงปัจจุบัน งานวิจัยส่วนใหญ่มักเกี่ยวข้องกับการศึกษาการย่อยสลายไพรีนและสารมัธยันตร์ที่เกิดขึ้น หรือเป็นงานวิจัยที่เกี่ยวกับการย่อยสลายไพรีนโดยกลุ่มแบคทีเรียที่คัดแยกได้จากดินหรือแหล่งน้ำที่ปนเปื้อนสาร PAHs ยังไม่มีรายงานใดกล่าวถึงการย่อยสลายไพรีนและสารมัธยันตร์ที่เกิดขึ้นโดยกลุ่มแบคทีเรียที่แยกได้จากใบมะขามมาก่อน ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงได้ทำการศึกษาสารมัธยันตร์ที่เกิดจากการย่อยสลายไพรีนโดยกลุ่มแบคทีเรีย STK รวมถึงศึกษาความเป็นพิษของสารมัธยันตร์ที่เกิดขึ้นด้วย

การย่อยสลายไพรีนของกลุ่มแบคทีเรีย STK จะใช้เวลาปรับตัว 3 วัน เพราะอาจจะเกิดจากความไม่คุ้นเคยของกลุ่มแบคทีเรียต่อไพรีน ดังนั้นต้องอาศัยเวลาในการสร้างความคุ้นเคยกับไพรีนก่อน ยีนที่เกี่ยวกับการย่อยสยายจึงจะถูกกระตุ้นให้ทำงานสร้างเอนไซน์ (Grosser และคณะ, 1991; Li และคณะ, 1996; Ho และคณะ, 2000) หรือความเข้มข้นของไพรีนที่ใช้ในงานวิจัยเท่ากับ 100 มก.ต่อลิตร ซึ่งสูงเมื่อเทียบกับการทดลองของ Ramirez และคณะ(2001) ที่ใช้ไพรีนเข้มข้นเพียง 120 ไมโครกรัมต่อลิตร ไม่พบระยะเวลาปรับตัวของกลุ่มแบคทีเรีย การมีระยะเวลาในการปรับตัวของแบคทีเรียอาจเกี่ยวข้องกับปริมาณหัวเชื้อที่เติมเข้าไป ดังรายงานของ Juhasz และคณะ (1996) ที่ใช้หัวเชื้อปริมาณมาก (มีปริมาณโปรตีนเข้มข้น 0.7-1.5 มก.ต่อมล.) พบว่าสามารถย่อยสลายสาร PAHs ที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูงได้ถึง 70 เปอร์เซ็นต์ โดยส่วนมากแล้วไม่ว่าจะใช้แบคทีเรียบริสุทธิ์หรือกลุ่มแบคทีเรียจะพบระยะเวลาในการปรับตัวเสมอ แต่จะมากหรือน้อยขึ้นอยู่กับการเตรียมหัวเชื้อ ปริมาณของหัวเชื้อ ศักยภาพเฉพาะของสายพันธุ์แบคทีเรียที่ใช้ ความเข้มข้นของไพรีน (Bouchez และคณะ, 1995 ; Bastiaens และคณะ, 2000) และลักษณะของไพรีนที่เติมว่าเป็นสารละลายในตัวทำละลายหรือเป็นผลึก (Tiehm และ Fritzsch, 1995) ซึ่งปัจจัยที่กล่าวมามีผลต่อผลการทดลองการย่อยสลายไพรีนโดยแบคทีเรีย แต่ท้ายที่สุดแล้วไพรีนจะถูกย่อยสลายต่อจากนั้น โดยอัตราการย่อยสลายไพรีนของแบคทีเรียแต่ละสายพันธุ์และแต่ละกลุ่มแตกต่างกัน

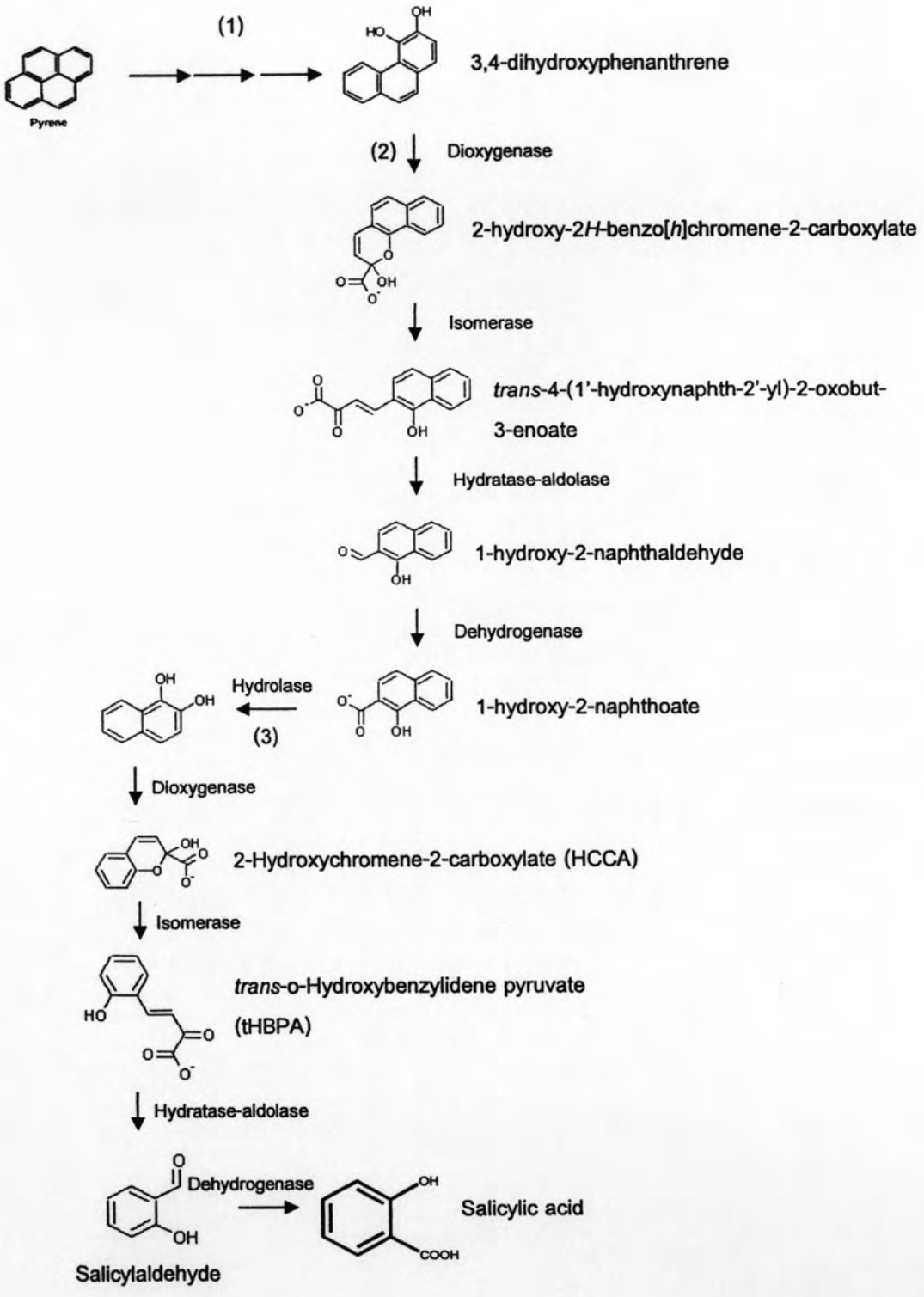
ในงานวิจัยนี้ได้ทำการทดลองขั้นต้นโดยเลี้ยงกลุ่มแบคทีเรีย STK ในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว CFMM ที่มีไพรีน 100 มก.ต่อลิตร พบว่าในระหว่างที่มีการย่อยสลายไพรีน มีการผลิตสารมัธยันตร์เกิดขึ้น ซึ่งปริมาณสารมัธยันตร์จะเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาการบ่มที่นานขึ้น โดยจะเริ่มเห็นการผลิตสารมัธยันตร์ในชั่วโมงที่ 48 ของการบ่ม (รูปที่ 4.3) และเมื่อพิจารณาการเจริญของกลุ่มแบคทีเรีย STK (รูปที่ 4.2) หลังจากชั่วโมงที่ 72 พบว่ามีการเจริญอย่างรวดเร็ว ซึ่งแสดงว่าสารมัธยันตร์ที่เกิดขึ้นไม่มีผลกระทบต่อการเจริญของกลุ่มแบคทีเรีย STK

ผลจากการวิเคราะห์สารมัธยันตร์ที่เกิดจากการย่อยสลายไพรีนโดยกลุ่มแบคทีเรีย STK ทั้งในอาหารเหลวระดับขวดเขย่าและถังหมักด้วยวิธี TLC (รูปที่ 4.3 และ 4.6) ไม่พบสารมัธยันตร์ลำดับต้นๆ ในวิถีการย่อยสลายไพรีนที่เคยมีรายงานมาก่อนหน้านี้ ทั้งนี้อาจเป็นเพราะระบบตัวทำละลายที่ใช้เป็นเฟสเคลื่อนที่ (mobile phase) ในงานวิจัยนี้ เลือกใช้เพียงระบบเดียวตลอดระยะเวลาการทดลอง เช่นเดียวกับผลการวิเคราะห์สารมัธยันตร์ด้วย HPLC (รูปที่ 4.4 และ 4.7) พบว่าสารมัธยันตร์ที่มี R_f เท่ากับ 3.1 มี sholder ซึ่งเป็นการชี้ให้เห็นว่าระบบตัวทำละลายที่ใช้เป็นเฟสเคลื่อนที่ยังไม่เหมาะสมต่อการแยกสาร ทำให้ไม่สามารถแยกสารมัธยันตร์ออกจากกันจนหมดได้ หากมีการแปรผันระบบเฟสเคลื่อนที่ อาจทำให้สามารถแยกสารมัธยันตร์ออกจากกันได้ดีขึ้น

ผลจากการทำสารมัธยันตร์ให้บริสุทธิ์บางส่วน และวิเคราะห์โครงสร้างทางเคมี พบว่ากลุ่มแบคทีเรีย STK ผลิตสารมัธยันตร์หลายชนิด และหนึ่งในสารมัธยันตร์ที่ได้เป็นกรดซาลิไซลิก ซึ่งเป็นสารที่ประกอบด้วยวงอะโรมาติกเพียง 1 วงเท่านั้น นับว่าเป็นสารที่ง่ายต่อการนำไปใช้โดยจุลินทรีย์ ชนิดอื่นๆ ต่อไป

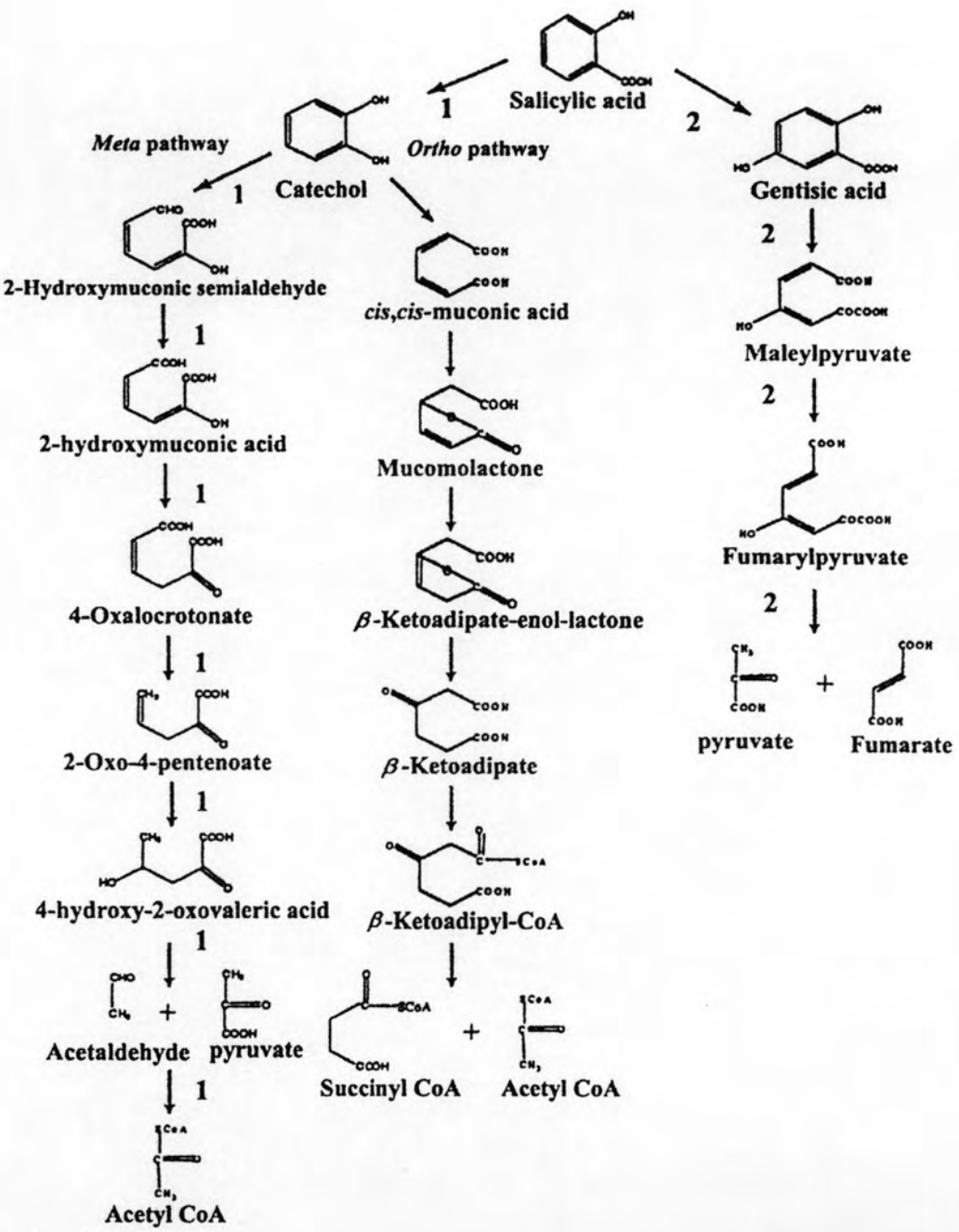
นอกจากวิถีการย่อยสลายไพรีนที่ได้กล่าวไว้แล้วข้างต้น อาจพบว่าวิถีการย่อยสลายไพรีนสามารถเกิดขึ้นโดยทางอื่น คือเริ่มจากไพรีนถูกย่อยสลายได้สารมัธยันตร์ตัวแรกเช่นเดิมคือ ซิส-4,5-ไดไฮโดร-4,5-ไดไฮดรอกซีไพรีน แล้วตามด้วยปฏิกริยาการเปิดวงอะโรมาติกโดยการเติมออกซิเจนลงไปที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 4 และ 5 ของวงอะโรมาติก ได้ผลิตภัณฑ์เป็นกรดฟีแนนทรีน-4,5-ฟีแนนทรีนไดโออิก และอาจต่อด้วยปฏิกริยาการดึงเอาคาร์บอนไดออกไซด์ออกได้ผลิตภัณฑ์เป็นกรด4-ฟีแนนโทรอิก จากนั้นมีการเติมออกซิเจนและตามด้วยปฏิกริยากการดึงไฮโดรเจนออกจนได้ผลิตภัณฑ์เป็น 3,4-ไดไฮดรอกซีฟีแนนทรีน และเข้าสู่วิถีการย่อยสลายฟีแนนทรีน โดยอาศัย

แบคทีเรียสายพันธุ์อื่นต่อไป (*Pseudomonas* sp. s47p1,s7k5) ซึ่งปฏิกริยาเริ่มจากมีการเติมออกซิเจนลงไปในตำแหน่งที่ 3 และ 4 ของ 3,4-ไดไฮดรอกซีฟีแนนทรีน โดยการทำงานของเอนไซม์ซิส-3,4-ไดไฮดรอกซีฟีแนนทรีน ไดออกซีจีเนส ได้ผลิตภัณฑ์เป็น 2-ไฮดรอกซี-2เอช-เบนโซ[เอช]โครมีน-2-คาร์บอกซิเลต (2-hydroxy-2*H*-benzo[*h*]chromene-2-carboxylate) ต่อมาเกิดการเปลี่ยนแปลงไอโซเมอร์ของสารโดยเอนไซม์ 2-ไฮดรอกซี-2เอช-เบนโซ[เอช]โครมีน-2-คาร์บอกซิเลต ไอโซเมอเรส (2-hydroxy-2*H* benzo[*h*]chromene-2-carboxylate isomerase ได้ผลิตภัณฑ์เป็น ทราน-4-(1'-ไฮ ดรอกซีแนพ-2'-วายแอล)-2-ออกโซบุท-3-อีโนเอท (*trans*-4-(1'-hydroxynaphth-2'-yl)-2-oxobut-3-enoate) หลังจากนั้นเกิดปฏิกริยาการเติมน้ำโดยการทำงานของเอนไซม์ ทราน-4-(1'-ไฮดรอกซีแนพ-2'-วายแอล)-2-ออกโซบุท-3-อีโนเอท ไฮโดรเทส-แอลโดรเลส (*trans*-4-(1'-hydroxynaphth-2'-yl)-2-oxobut-3-enoate hydrotase-aldolase) ได้ผลิตภัณฑ์เป็น 1-ไฮดรอกซี-2-แนพทาลดีไอด์ (1-hydroxy-2-naphthaldehyde) กับไพรูเวท ตามด้วยปฏิกริยาการดึงไฮโดรเจนออกโดยเอนไซม์ 1-ไฮดรอกซี-2-แนพทาลดีไอด์ ดีไฮโดรจีเนส (1-hydroxy-2-naphthaldehyde dehydrogenase) ได้ผลิตภัณฑ์เป็น1-ไฮดรอกซี-2-แนพโทเอท (1-hydroxy-2-naphthoate) และต่อมาเกิดการเปลี่ยนแปลงโดยการทำงานของเอนไซม์ 1-ไฮดรอกซี-2-แนพโทเอท ไฮโดรไซเลส (1-hydroxy-2-naphthoate hydroxylase) ได้ผลิตภัณฑ์เป็น 1,2-ไดไฮดรอกซีแนพทาลีน (1,2-dihydroxynaphthalene) ก่อนที่จะเข้าสู่วิถีการย่อยสลายแนพทาลีนต่อไปโดยแบคทีเรียอีกสายพันธุ์หนึ่ง (*Pseudomonas aeruginosa* PA01) จนได้กรดซาลิไซลิก (Davies และ Evans, 1964; Yen และ Gunsalus, 1982) ดังแสดงในรูปที่ 5.2



รูปที่ 5.1 (1) **วิถีการย่อยสลายไพรีนโดย** *Mycobacterium* spp. AP1, KR2 6PY1, PYR-1 **และ** RJGII-135 (Keith, 2006) (2) **วิถีการย่อยสลายฟีแนนทรีนโดย** *Pseudomonas* sp. s47p1 **และ** s7k5 (Ouyang, 2006) **และ** (3) **วิถีการย่อยสลายแนพทาลีนโดย** *Pseudomonas* sp. (Davies **และ** Evans, 1964; Yen **และ** Gunsalus, 1982)

กรดซาลิไซลิกจะถูกย่อยสลายต่อไปผ่านวิถีการย่อยสลายคะทีคอล (catechol) โดยการแตกวงเบนซีนแบบ ออโธ (*ortho*) หรือ เมตา (*meta*) จนได้ผลิตภัณฑ์เข้าสู่วัฏจักรกรดไตรคาร์บอกซิลิกต่อไป นอกจากนี้จุลินทรีย์บางชนิดยังมีการย่อยสลายกรดซาลิไซลิกที่ไม่ผ่านคะทีคอล แต่เปลี่ยนกรดซาลิไซลิกไปเป็นกรดเจนทิสิก (gentisic acid) ซึ่งจะถูกย่อยสลายต่อไปเป็นผลิตภัณฑ์สุดท้ายที่สามารถเข้าวัฏจักรกรดไตรคาร์บอกซิลิกได้แก่ ไพรูเวต และฟูมาเรต (Zhou และคณะ, 2001) ดังแสดงในรูปที่ 5.3



รูปที่ 5.2 **วิถีการย่อยสลายกรดซาลิไซลิกโดยจุลินทรีย์ต่างๆ** 1) *Pseudomonas* sp. (Davies **และ** Evans, 1964; Yen **และ** Gunsalus, 1982) 2) *Ralstonia* sp. **สายพันธุ์** U2 (Zhou **และ คณะ**, 2001)

จากงานวิจัยนี้พบว่าสารมัธยันตร์ที่ได้คือกรดซาลิไซลิกอาจเป็นไปได้ว่าเกิดการย่อยสลายไพรีนสองทางคือ ทางแรกเป็นการย่อยสลายไพรีนผ่านวิถีการย่อยสลายฟีแนนทรีนและเข้าสู่วิถีการย่อยสลายฟีแนนทรีนโดยอาศัยการทำงานของเอนไซม์ต่างๆ จนได้ผลิตภัณฑ์เป็นกรดพธาลิกและกรดโปรโตคาทิคูอิก ตามลำดับ (ดังแสดงในรูปที่ 2.2) หรืออาจเกิดจากการย่อยสลายไพรีนผ่านวิถีการย่อยสลายฟีแนนทรีนจนได้สารมัธยันตร์ที่สามารถเข้าสู่วิถีการย่อยสลายแนพทาลีนโดยต่อไปโดยอาศัยการทำงานของเอนไซม์ต่างๆ จนได้ผลิตภัณฑ์สุดท้ายเป็นกรดซาลิไซลิก (ดังแสดงในรูปที่ 5.1) เนื่องจากผลของการวิเคราะห์แมสสเปกโตรมีทรี (รูปที่ 4.13) พบสารมัธยันตร์มากกว่าหนึ่งชนิด คือ กรดพธาลิก เป็นสารมัธยันตร์ที่เกิดจากการย่อยสลายไพรีนผ่านวิถีการย่อยสลายฟีแนนทรีนจนได้กรดพธาลิก และ 2-ไฮดรอกซี-2 เอช-เบนโซ[เอช]โครมีน-2-คาร์บอกซิเลต เป็นสารมัธยันตร์ที่เกิดจากการย่อยสลายไพรีนผ่านวิถีการย่อยสลายฟีแนนทรีนและแนพทาลีนตามลำดับจนได้ผลิตภัณฑ์สุดท้ายเป็นกรดซาลิไซลิก ดังแสดงในรูปที่ 5.1 และจากรายงานของทิมากร แสงดำ (2547) พบว่ากลุ่มแบคทีเรีย STK สามารถย่อยสลายฟีแนนทรีนได้ นอกจากนี้ในงานวิจัยนี้ยังพบว่าแบคทีเรียกลุ่มนี้ยังสามารถย่อยสลายแนพทาลีนได้อีกด้วย (ข้อมูลยังมิได้ตีพิมพ์) จึงเป็นการยืนยันได้ว่าวิถีการย่อยสลายไพรีนในงานวิจัยนี้เป็นไปได้สองทางเพราะสามารถย่อยสลายได้ทั้งฟีแนนทรีนและแนพทาลีน

การที่ทำนายว่ากลุ่มแบคทีเรีย STK สามารถย่อยสลายไพรีนผ่านวิถีการย่อยสลายได้ทั้งสองทางอาจเนื่องมาจาก เชื้อที่ใช้ในงานวิจัยนี้เป็นกลุ่มเชื้อแบคทีเรีย ไม่ใช่เชื้อชนิดเดียวอย่างที่เคยมีผู้รายงานมาก่อนหน้านี้ ซึ่งมักจะให้วิถีการย่อยสลายไปในทางใดทางหนึ่งขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ของจุลินทรีย์ การที่ใช้แบคทีเรียเป็นกลุ่มจึงอาจเป็นไปได้ว่ามีการย่อยสลายต่อกันเป็นลำดับ ทำให้พบสารมัธยันตร์ในวิถีการย่อยสลายมากกว่าทางเดียว

ได้มีการทดสอบการเป็นสารก่อกลายพันธุ์ของสารมัธยันตร์โดยการทดสอบเอมส์ (Maron และ Ames, 1983) พบว่ากลุ่มสารมัธยันตร์ที่เกิดจากการย่อยสลายไพรีนโดยกลุ่มแบคทีเรีย STK ไม่เป็นสารก่อกลายพันธุ์ ซึ่งพบว่ากรดซาลิไซลิกไม่เป็นสารที่ก่อให้เกิดการกลายพันธุ์ ทั้งระบบที่ก่อการกลายพันธุ์โดยต้องผ่านกระบวนการเมทาบอลิซึมโดยอาศัยการกระตุ้นของเอนไซม์และโคแฟคเตอร์ และระบบที่ก่อการกลายพันธุ์ที่เกิดขึ้นเองโดยไม่ต้องผ่านกระบวนการเมทาบอลิซึม (EMEA/MRL/696/99-FINAL, 1999)

จากการทดลองยังพบสารมัธยันตร์อีกหนึ่งชนิด ซึ่งมีค่า R_f ของ TLC ใกล้เคียงกับกรดโปรโตคาทิคูอิก แต่ให้การเรืองแสงภายใต้รังสีอัลตราไวโอเลตแตกต่างกันนั้น ยังไม่สามารถวิเคราะห์ได้ว่าเป็นสารชนิดใด เนื่องจากงานวิจัยนี้ทำการแยกสารให้บริสุทธิ์ได้เพียงบางส่วนเท่านั้น ยังต้องอาศัยวิธีการแยกสารให้บริสุทธิ์วิธีอื่นต่อไป จึงจะสามารถวิเคราะห์ลักษณะสมบัติของสารนี้ได้

จากผลการทดลองในการศึกษาประสิทธิภาพการย่อยสลายไพรีนในดินพบว่า กลุ่มแบคทีเรีย STK ไม่สามารถย่อยสลายไพรีนในดินที่อยู่ในรูปของแข็ง (solid state) ได้ ตลอดระยะเวลาที่บ่มเชื้อเป็นเวลา 1 เดือน พบว่าปริมาณไพรีนยังคงที่ อาจเกิดจากแบคทีเรีย STK ที่เติมลงไปในดินมีคุณสมบัติไฮโดรโฟบิกสูงเป็นผลให้เชื้อไม่สามารถกระจายตัว เนื่องจากในระบบทดลองในดินเป็นระบบนิ่งไม่ได้มีการเขย่าตลอดเวลาดังเช่นการทดลองเลี้ยงเชื้อในอาหารเหลวที่มีการเขย่าตลอดระยะเวลาของการทดลอง นอกจากนี้การที่ไพรีนอยู่ในดินเป็นระยะเวลานานขึ้นเป็นผลให้มีการติดอยู่กับอนุภาคของดิน ทำให้แบคทีเรียนำไปใช้ได้ยากขึ้น (Johnsen และคณะ, 2005) แต่เมื่อทำให้แบคทีเรียในดินเปลี่ยนไปอยู่ในลักษณะ slurry โดยมีปริมารน้ำมากขึ้นและมีการเขย่าให้เชื้อแบคทีเรียกระจายได้ทั่วไปในขวดทดลอง จึงจะทำให้การย่อยสลายไพรีนในดินเกิดขึ้นได้ ในการย่อยสลายไพรีนในดินระบบ slurry อัตราส่วนดินต่อน้ำเท่ากับ 1 : 8 (กรัมต่อมล.) พบว่ากลุ่มแบคทีเรีย STK สามารถย่อยสลายไพรีนได้อย่างมีประสทธิภาพ ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Alexander (1995) พบว่าเมื่อทดลองบำบัดดินปนเปื้อน PAHs แบบ slurry ด้วยอัตราส่วนดินต่อน้ำ 1:1 (กรัมต่อมล.) สามารถส่งเสริมการเจริญ และการย่อยสลายฟีแนนทรีนได้ดีขึ้นจาก 4.4% เป็น 36.9% เนื่องจากน้ำจะช่วยเพิ่มพื้นที่ผิวสัมผัสระหว่างจุลินทรีย์ และฟีแนนทรีน การเพิ่มพื้นที่ผิวสัมผัสดังกล่าวเกิดจากดินแตกตัวทำให้ PAHs เคลื่อนไปยังวัฏภาคน้ำอย่างรวดเร็ว รวมทั้งยังเพิ่มการเคลื่อนที่ของจุลินทรีย์อีกด้วย (Doick และ Semple, 2003) เช่นเดียวกับรายงานของ Fu และ Alexander (1995) ที่ทำการบำบัด PAHs ในสเลอรีดินด้วยอัตราส่วน 1:10 พบว่าสามารถเพิ่มการย่อยสลายฟีแนนทรีนได้

การเลี้ยงเชื้อกลุ่มนี้ในระบบ slurry อัตราส่วนดินต่อน้ำเท่ากับ 1 : 8 (กรัมต่อมล.) มีการย่อยสลายไพรีนเกิดขึ้นอย่างรวดเร็วและมีการเพิ่มจำนวนของแบคทีเรีย STK มาก ถึงแม้ว่าจะไม่มีการเติมสารอาหารใดๆ ลงในระบบ ทั้งนี้เนื่องจากดินที่ใช้มีความอุดมสมบูรณ์โดยมีอัตราส่วนของคาร์บอนต่อไนโตรเจนรวมทั้งฟอสฟอรัสและโปแตสเซียมที่เหมาะสมต่อการเจริญของจุลินทรีย์ และจากการวิเคราะห์ปริมารไพรีนที่สกัดได้แยกส่วนวัฏภาคดินและวัฏภาคน้ำ พบว่ากลุ่ม

แบคทีเรีย STK สามารถย่อยสลายไพรีนในวัฏภาคดินได้มากกว่าวัฏภาคน้ำ ทั้งนี้อาจเป็นเพราะว่าแบคทีเรียกลุ่มนี้มีคุณสมบัติไม่ชอบน้ำ (hydrophobic) ทำให้สามารถยึดติดกับอนุภาคดินที่มี PAHs และทำให้แบคทีเรียนำสารเข้าสู่เซลล์ได้ดีกว่าแบคทีเรียที่อยู่ในรูปอิสระ (Bastiean และคณะ, 2000) ซึ่งสอดคล้องกับรายงายของ รุจา สารคุณ (2548) พบว่ามีการย่อยสลาย PAHs โดยจุลินทรีย์ในชุดทดลองที่เติมสารลดแรงตึงผิวร่วมกับแบคทีเรีย STK ในวัฏภาคดินมากกว่าวัฏภาคน้ำ ทั้งนี้นอกจากเหตุผลที่ว่ากลุ่มแบคทีเรีย STK มีสมบัติเป็นไฮโดรโฟบิกสูงแล้วนั้น การที่มีการย่อยสลาย PAHs ในวัฏภาคดินมากกว่าวัฏภาคน้ำอาจเป็นเพราะสารลดแรงตึงผิวช่วยให้แบคทีเรียยึดติดอนุภาคดินได้ดีขึ้นอีกด้วย พบว่ามีการสะสมสารมัธยันตร์เกิดขึ้น ซึ่งจากผลของ HPLC โครมาโทแกรม พบว่าสารมัธยันตร์ที่ได้จากการเลี้ยงเชื้อในระบบนี้ มี R_t เท่ากับ 3.1 (รูปที่ 4.16) เมื่อเปรียบเทียบกับสารมัธยันตร์ที่ได้จากการย่อยสลายไพรีนโดยกลุ่มแบคทีเรีย STK ในอาหารเหลวทั้งในแบบขวดรูปชมพู่และในถังหมัก (รูปที่ 4.4 และ 4.7 ตามลำดับ) พบว่าสารมัธยันตร์ที่สร้างขึ้นในทั้ง 3 สภาวะ น่าจะเป็นสารชนิดเดียวกัน และสามารถสรุปการสร้างสารมัธยันตร์ในทั้ง 3 สภาวะ มีระยะเวลาการสร้างและสะสมมากขึ้นจนถึงวันที่ไพรีนถูกย่อยสลายหมดไป รวมถึงการทดสอบความเป็นสารก่อกลายพันธุ์ของกลุ่มสารมัธยันตร์ที่เกิดขึ้นโดยการทดสอบเอมส์ (Maron และ Ames, 1983) ที่พบว่าไม่เป็นสารก่อกลายพันธุ์ด้วยแล้วนั้น อาจกล่าวได้ว่ากลุ่มแบคทีเรีย STK เป็นแบคทีเรียที่เหมาะสมต่อการนำไปบำบัดสิ่งแวดล้อม เนื่องจากไม่เกิดสารกลายพันธุ์ขึ้นภายหลังจากการบำบัดการปนเปื้อน PAHs ด้วยกลุ่มแบคทีเรียชนิดนี้

นอกจากนี้จากการศึกษาการย่อยสลายไพรีนโดยกลุ่มแบคทีเรีย STK ในระบบ slurry อัตราส่วนดินต่อน้ำเท่ากับ 1 : 8 (กรัมต่อมล.) ยังพบว่าสารมัธยันตร์ที่เกิดขึ้นนั้นละลายอยู่ในวัฏภาคของน้ำในขณะที่ไพรีนก่อนที่จะมีการย่อยสลายด้วย STK จะพบในวัฏภาคดิน (รูปที่ 4.13 ข) เป็นการยืนยันว่าสารมัธยันตร์กลุ่มนี้ไม่เกิดการดูดซับไว้โดยอนุภาคของดินจึงไม่ก่อให้เกิดสารตกค้าง (bound residues) ซึ่งสนับสนุนว่าแบคทีเรียกลุ่มนี้เหมาะสมต่อการนำมาใช้บำบัดสิ่งแวดล้อมที่ปนเปื้อนสาร PAHs ได้อย่างปลอดภัยทั้งจากผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นจากการย่อยสลายซึ่งอาจมีพิษหรือก่อการกลายพันธุ์ และปลอดภัยจากปัญหาที่เกิดจากผลิตภัณฑ์จากการย่อยสลายตกค้างในดิน ก่อให้เกิดปัญหาทางสิ่งแวดล้อมเพิ่มขึ้น