

บทที่ 2

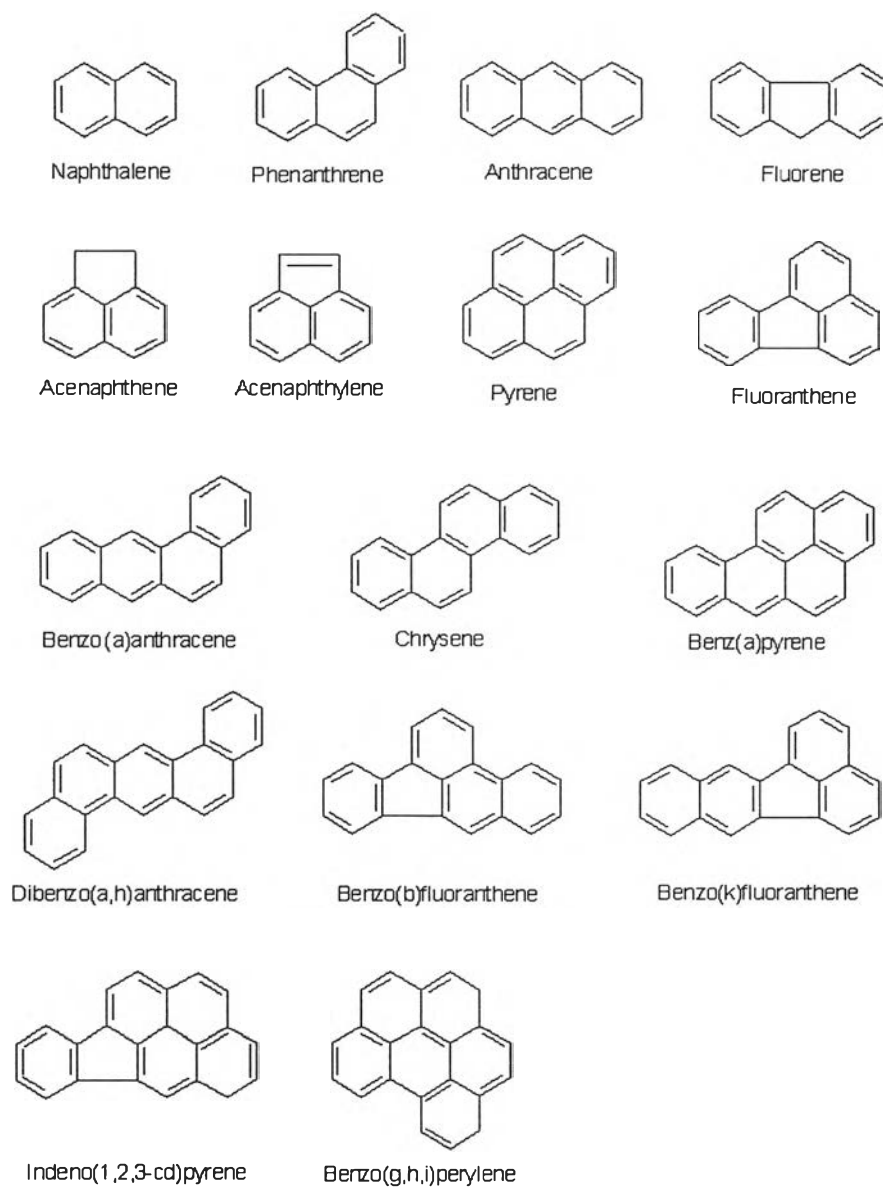
ปรีทัศน์วรรณกรรม

2.1 สารประกอบพอลิไซคลิกอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอน

สารประกอบพอลิไซคลิกอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอน (Polycyclic Aromatic Hydrocarbons, PAHs) เป็นสารประกอบอินทรีย์ชนิดหนึ่งปนเปื้อนอยู่ในสิ่งแวดล้อมทั้งในดิน น้ำ ตะกอนดิน และอากาศ (Juhasz และ Naidu, 2000)

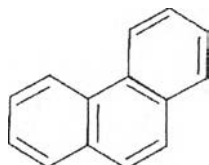
สำนักงานคุ้มครองสิ่งแวดล้อมประเทศสหรัฐอเมริกา (The U.S. Environmental Protection Agency, EPA) ได้กำหนดให้สารประกอบ PAHs เป็นสารก่อมลพิษที่สำคัญที่ต้องกำจัดออกจากสิ่งแวดล้อมเนื่องจากเป็นพิษสูง สารประกอบ PAHs มีโครงสร้างโมเลกุลประกอบด้วยคาร์บอนและไฮโดรเจนรวมกันเป็นวงเบนซินตั้งแต่ 2 วงขึ้นไปมาเชื่อมต่อกันเป็นเส้นตรง มุมงอ หรือต่อกันเป็นกลุ่ม (Valentin และคณะ 2007) สารประกอบ PAHs เป็นสารไม่มีขั้ว ความสามารถในการละลายน้ำน้อย (hydrophobic) แต่ละลายได้ดีในตัวทำละลายอินทรีย์ เช่น แอลกอฮอล์ เบนซิน อีเทอร์ โทลูอีน เป็นต้น (Trzesicka-Mlymarz และ Ward, 1996) และความสามารถในการละลายน้ำลดลงเมื่อมีน้ำหนักโมเลกุลมากขึ้น มีความทนทานต่อการย่อยสลาย ทำให้คงทนอยู่ในสิ่งแวดล้อมได้มาก

สารประกอบ PAHs สามารถแบ่งออกได้เป็น 2 กลุ่มคือ สารประกอบ PAHs ที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ (low molecular weight PAHs, LMW PAHs) โครงสร้างประกอบด้วยวงเบนซินน้อยกว่า 4 วงเชื่อมต่อกัน เป็นสารพวกที่ระเหย ละลายและย่อยสลายได้ง่าย เช่น แนพทาซีน ฟิแนนทรีน และอะซีแนพทีน อีกพวกคือสารประกอบ PAHs ที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูง (high molecular weight PAHs, HMW PAHs) โครงสร้างประกอบด้วยวงเบนซินตั้งแต่ 4 วงขึ้นไปเชื่อมต่อกัน (Hati และคณะ, 2009) ละลายน้ำและย่อยสลายได้ยากกว่าสารประกอบ PAHs ที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ ทำให้ถูกดูดซับในอนุภาคดินและตะกอนต่างๆได้ดี ทนต่อการย่อยสลาย จึงพบสารประเภทนี้ปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อมได้มาก เช่น ไพรีน เบนโซ [เอ] ไพรีน และ ไดเบนโซพีวแรน (Labana และคณะ, 2007) เป็นต้น



รูปที่ 2.1 โครงสร้างโมเลกุลของสารประกอบ PAHs ทั้ง 16 ชนิด (Labana และคณะ, 2007)

2.2 ฟีนแอนทรีน (Phenanthrene)



รูปที่ 2.2 โครงสร้างโมเลกุลของฟีนแอนทรีน (Chang และคณะ, 2002)

ฟีนแอนทรีนเป็นสารประกอบอินทรีย์ในกลุ่มสารประกอบพอลิไซคลิกอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอน (Polycyclic aromatic hydrocarbon; PAHs) มีโครงสร้างโมเลกุลประกอบด้วยวงเบนซีน 3 วงเชื่อมต่อกันเป็นมุมงอ (angular arrangement) ดังแสดงในรูปที่ 2.2 และมีสมบัติทางเคมีและฟิสิกส์ดังแสดงในตารางที่ 2.1

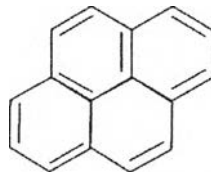
ตารางที่ 2.1 สมบัติทางเคมีและฟิสิกส์ของฟีนแอนทรีน (Juhasz และ Naidu, 2000)

สูตรโมเลกุล	$C_{14}H_{10}$
น้ำหนักโมเลกุล	178.23 กรัม/โมล
ความถ่วงจำเพาะ	1.025
ความดันไอ	1 มิลลิเมตรปรอท (ที่ 118.3°C)
อุณหภูมิหลอมเหลว	100°C
อุณหภูมิกลายเป็นไอ	339°C
สภาพละลายได้ในน้ำ	น้อยกว่า 1 มก./ลิตร ที่ 26°C

ฟีนแอนทรีนจัดเป็นสารประกอบ PAHs ที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ ระเหยและย่อยสลายได้ง่ายกว่าสารประกอบ PAHs ที่มีโมเลกุลสูง เมื่ออยู่ในสถานะของแข็งจะมีผลึกสีขาว (U.S. EPA, 1987) ละลายน้ำได้น้อยมากแต่สามารถละลายได้ดีในตัวทำละลายอินทรีย์เช่น เบนซีน คลอโรฟอร์ม โทลูอีน ไดเอทิลอีเทอร์ คาร์บอนไดซัลไฟด์ คาร์บอนเตตระคลอไรด์ เฮกเซนและกรดอะซิติก (Trzesicka-

Mlynarz และ Ward, 1996) พีแนนทรินสามารถพบได้ทั่วไปในสิ่งแวดล้อม เกิดจากการเผาไหม้ที่ไม่สมบูรณ์ของเชื้อเพลิงและถ่านหิน สามารถนำพีแนนทรินไปใช้ในการผลิตสีย้อม การสังเคราะห์วัตถุระเบิด อุตสาหกรรมยา และใช้ในอุตสาหกรรมปิโตรเคมีหลายชนิด มนุษย์สามารถรับพีแนนทรินเข้าสู่ร่างกายได้โดยการสัมผัสทางผิวหนัง การหายใจเอาควันจากบุหรี่หรือการเผาไหม้ของยานพาหนะ และการรับประทานอาหารที่มีการปนเปื้อนพีแนนทริน (U.S. EPA, 1987)

2.3 ไพรีน (Pyrene)



รูปที่ 2.3 โครงสร้างโมเลกุลของไพรีน (Habe และ Omori, 2003)

ไพรีน (Pyrene) เป็นสารประกอบอินทรีย์ในกลุ่มสารประกอบพอลิไซคลิกอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอน (Polycyclic aromatic hydrocarbon; PAHs) มีชื่อทางเคมีว่าเบนโซ (ดี,อี,เอฟ) พีแนนทริน (benzo[*d,e,f*]phenanthrene) โครงสร้างโมเลกุลประกอบด้วยวงเบนซีน 4 วงเชื่อมต่อกันเป็นกลุ่ม (cluster) ดังแสดงในรูปที่ 2.3 และมีสมบัติทางเคมีและฟิสิกส์ดังแสดงในตารางที่ 2.2

ตารางที่ 2.2 สมบัติทางเคมีและฟิสิกส์ของไพรีน (Verschueren, 1997)

สูตรโมเลกุล	$C_{16}H_{10}$
น้ำหนักโมเลกุล	202.24 กรัม/โมล
ความถ่วงจำเพาะ	1.271 ที่อุณหภูมิ 23°C
ความดันไอ	6.85×10^{-7} มม.ปรอท
อุณหภูมิหลอมเหลว	156°C
อุณหภูมิกลายเป็นไอ	404°C
สภาพละลายได้ในน้ำ	0.13 มก./ลิตร ที่ 25°C

ไพรีนจัดเป็นสารประกอบ PAHs ที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูง เมื่ออยู่ในสถานะของแข็งจะมีผลลึกลับเหมือนก้อน (U.S. EPA, 1987) มีโครงสร้างโมเลกุลที่เสถียร ละลายน้ำได้น้อยมากแต่สามารถละลายได้ดีในตัวทำละลายอินทรีย์เช่น เมทานอล เฮกเซน อะซีโตน (Patnaik, 1992) ไพรีนถูกดูดซับกับอนุภาคของดินได้ดีทำให้ทนทานต่อการย่อยสลายเนื่องจากจุลินทรีย์ในดินนำไปใช้ประโยชน์ (bioavailability) ได้น้อยทำให้ไพรีนสะสมและมีความเสถียรอยู่ในสิ่งแวดล้อมได้เป็นเวลานาน ไพรีนจึงเป็นตัวอย่างสาร PAHs ที่มีโมเลกุลสูงที่นิยมใช้ในการศึกษาการบำบัด PAHs ในสิ่งแวดล้อม มนุษย์สามารถรับไพรีนเข้าสู่ร่างกายได้โดยการสัมผัสทางผิวหนัง การหายใจเอาควันจากบุหรี่หรือควันที่เกิดจากการเผาไหม้และการรับประทานอาหารหรือน้ำที่มีการปนเปื้อนไพรีน (Zanieri และคณะ, 2007)

2.4 แหล่งกำเนิดและการปนเปื้อนของ PAHs ในดิน

สารประกอบ PAHs เป็นสารพิษที่จัดอยู่ในกลุ่มสารก่อมะเร็ง (carcinogen) และเป็นสารที่ก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรม (mutagen) (Dean-Ross และ Cerniglia 2002) สามารถเข้าสู่ร่างกายมนุษย์และสัตว์ได้หลายวิธีได้แก่ การหายใจ สูดดมไอระเหย ฝุ่นควันจากบุหรี่ ก๊าซ เขม่า ควันที่ปนเปื้อน เข้าไปในระบบทางเดินหายใจ การบริโภคอาหารและน้ำเข้าไปในระบบทางเดินอาหาร และการสัมผัสทางผิวหนัง (Zanieri และคณะ, 2007) นอกจากนี้สารประกอบ PAHs บางชนิดเช่น เบนโซ [เอ] ไพรีน และ ไดเบนโซ [เอ, เอช] แอนทราซีน ซึ่งเป็นส่วนประกอบหลักในน้ำมันเชื้อเพลิง น้ำมันดิบ และน้ำยารักษาเนื้อไม้ จัดเป็นสารประกอบ PAHs ที่ก่อมะเร็งรุนแรง (Wilson และ Jones, 1993) โครงสร้างมีความเสถียรมาก เกิดการย่อยสลายได้ยากทำให้ตกค้างอยู่ในสิ่งแวดล้อมได้เป็นระยะเวลานาน ก่อให้เกิดความเป็นพิษในระยะยาว (Juhasz และ Naidu, 2000)

เมื่อสารประกอบ PAHs เข้าสู่ร่างกาย จะเกิดการเปลี่ยนรูปเป็นอนุพันธ์อีพอกไซด์ซึ่งจะเข้าไปจับกับดีเอ็นเอและโปรตีน โดยการเปลี่ยนรูปนั้นเกิดจากเอนไซม์ในกลุ่มไซโตโครม พี-450 ได้สารเมแทบอลิต์ชนิดต่างๆตามชนิดของสารประกอบ PAHs ที่รับเข้าไป ซึ่งสารเมแทบอลิต์บางชนิดที่เกิดขึ้นเป็นพิษและก่อมะเร็งได้ เช่น 3,4 ไดออกซ์-1,2 อีพอกไซด์ (Mahadevan และคณะ, 2005)

การปนเปื้อนของสารประกอบ PAHs ในสิ่งแวดล้อมทั้งในดิน น้ำ และอากาศ เกิดจากการเผาไหม้ที่ไม่สมบูรณ์ของสารอินทรีย์ (Cerniglia, 1992) ซึ่งสามารถเกิดขึ้นจากการกระทำของมนุษย์และเกิดขึ้นตามธรรมชาติ แหล่งที่มาของสารประกอบ PAHs จากธรรมชาติ เช่น การเกิดไฟฟ้า ภูเขาไฟระเบิด การไหลซึมของน้ำมันดิบในธรรมชาติ ส่วนแหล่งที่เกิดจากการกระทำของมนุษย์ เช่น การเผาไหม้เชื้อเพลิง ยานพาหนะต่างๆ การผลิตแก๊ส ควันบุหรี่หรือยาสูบ การรั่วไหลของถังเก็บหรือท่อส่ง

น้ำมัน การแพร่กระจายของของเสียในชุมชนและอุตสาหกรรมเป็นต้น (Wilson และ Jones, 1993; Gundel และคณะ, 1996; Seo และคณะ, 2009)

สารอินทรีย์ที่ปนเปื้อนในดินมีรูปแบบการอยู่ร่วมกันภายในอนุภาคดินหรือฮิวมัสที่แตกต่างกันออกไป เช่น เกิดจากสารประกอบ PAHs ส่วนที่เป็นของแข็งปนอยู่ในอนุภาคดิน การที่อนุภาคดินถูกเคลือบด้วยสารประกอบ PAHs ที่เป็นของเหลวหรือการดูดซับกับอนุภาคดิน สารปนเปื้อนจะสามารถถูกชะออกจากอนุภาคดินได้ง่ายโดยอาศัยตัวทำละลายอินทรีย์ แต่หากมีการปนเปื้อนของสารประกอบ PAHs ในดินเป็นเวลานาน ดินจะสามารถดูดซับสารปนเปื้อนนั่นไว้ได้แน่นขึ้นโดยการดูดติดและแทรกอยู่ระหว่างชั้นน้ำตามช่องว่างภายในอนุภาคดินทำให้สารประกอบ PAHs ถูกชะออกมาได้น้อย และหากสารปนเปื้อนจับกับอนุภาคดินโดยอาศัยพันธะทางเคมีจะทำให้สารถูกชะออกมาได้ยากยิ่งขึ้น เนื่องจากอาจเกิดการเปลี่ยนแปลงลักษณะโครงสร้างและสมบัติทางเคมีของสาร ทำให้สารประกอบ PAHs อยู่ในรูป bound residue ทำให้จุลินทรีย์หรือสิ่งมีชีวิตในดินนำไปใช้ประโยชน์ได้น้อยกว่าในรูปแบบอื่นๆ (Verstraete และ Devliegher, 1996)

สารประกอบ PAHs ส่วนใหญ่สามารถดูดซับกับอินทรีย์วัตถุที่อยู่ในดินทำให้สารประกอบ PAHs ไม่ถูกย่อยสลายโดยกระบวนการทางชีวภาพ การดูดซับระหว่างสารประกอบ PAHs และอินทรีย์วัตถุจะเพิ่มขึ้นเมื่อวงเบนซีนของสารประกอบ PAHs มีจำนวนมาก ทำให้โมเลกุลดังกล่าวมีสมบัติไลโปฟิลิกเพิ่มขึ้น นอกจากนี้ความสามารถในการถูกย่อยสลายและสกัดสารประกอบ PAHs ออกจากอินทรีย์วัตถุในดินทำได้ยากขึ้น สารประกอบ PAHs จึงยึดติดกับอนุภาคดินได้นานและสารประกอบ PAHs จะแพร่เข้าสู่อินทรีย์วัตถุอย่างช้าๆและทำให้ถูกดูดซับกับอนุภาคดินได้แน่นยิ่งขึ้น อาจเกิด bound residue และเกิดการตรึงสารประกอบ PAHs ภายในรูพรุนขนาดเล็กของอนุภาคดินหรืออินทรีย์วัตถุได้ ซึ่งเป็นเหตุผลที่ทำให้สารประกอบ PAHs เกิดการสะสมได้เป็นเวลานานเมื่อสารประกอบ PAHs เข้าสู่สิ่งแวดล้อม (Wiessenfel และคณะ 1992; Lundstedt และคณะ, 2003)

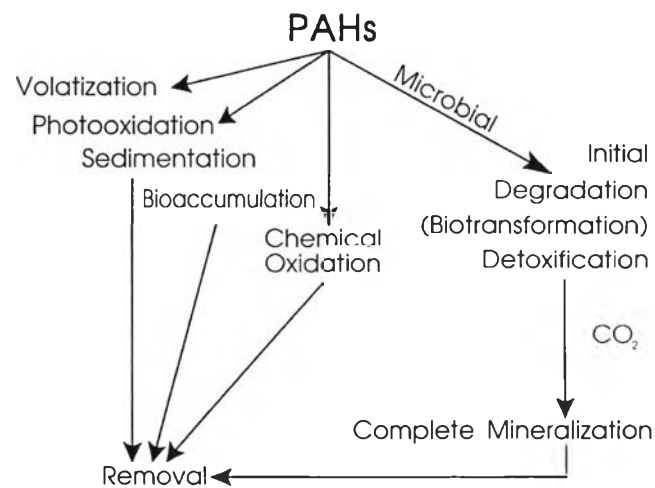
Nieman และคณะ (1998) รายงานว่าไพรีนและผลิตภัณฑ์จากการเปลี่ยนรูปของไพรีนจะเกิดการรวมตัวกับสารอินทรีย์ในดินเกิดเป็นสารฮิวมิก ทำให้ไพรีนถูกดูดซับไว้ในดิน แบคทีเรียจึงไม่สามารถไปใช้ได้ นอกจากนี้เมื่อไพรีนอยู่ในดินเป็นระยะเวลาสั้นๆจะเกิดการจับกับอินทรีย์วัตถุในดินด้วยพันธะโคเวเลนต์ได้แน่นมากขึ้นทำให้ถูกย่อยสลายโดยจุลินทรีย์ได้น้อยลง (Gothrie และ Pfeaender, 1998)

2.5 การบำบัด PAHs ในสิ่งแวดล้อม

สารประกอบ PAHs เมื่อปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อม มักจะสะสมอยู่ในดิน ตะกอนดิน น้ำ และ อากาศ การกำจัดสารปนเปื้อนออกจากสิ่งแวดล้อมสามารถทำได้หลายวิธีได้แก่ การสลายตัวทางธรรมชาติ เช่น การระเหยกลายเป็นไอ (volatilization) และการสลายตัวโดยแสง (photo-oxidation) การใช้กระบวนการทางเคมี เช่น การเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันทางเคมี (chemical oxidation) การใช้กระบวนการทางกายภาพ เช่น การดูดซับกับอนุภาคของดิน (adsorption) หรือการใช้กระบวนการทางชีวภาพ โดยการย่อยสลายของจุลินทรีย์ (microbial degradation) เป็นต้น (Cerniglia, 1992)

การบำบัดสารประกอบ PAHs ด้วยวิธีทางเคมี ทำโดยอาศัยสารที่มีสมบัติในการออกซิไดซ์ เช่น การใช้ก๊าซโอโซนเป็นตัวออกซิไดซ์โมเลกุลของสารประกอบ PAHs หรือการใช้สารเคมีบางชนิดที่มีสมบัติทำให้เกิดอนุมูลไฮดรอกซิลเรดิคัล เช่น ออกซิเจน หรือ ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) ซึ่งจะสามารถแตกสลายสารประกอบ PAHs ได้ (Nam และ Kukor, 2000) วิธีการใช้สารเคมีในการบำบัดสารปนเปื้อนมีข้อดีคือใช้ได้อย่างเร่งด่วนในกรณีที่มีการแพร่กระจายของสารปนเปื้อนอย่างรวดเร็ว แต่อาจก่อให้เกิดสารพิษชนิดใหม่จากการทำปฏิกิริยาของสารเคมีและสารปนเปื้อน และ ค่าใช้จ่ายในการบำบัดยังมีราคาสูงอีกด้วย (Lee, 1995)

การบำบัดทางชีวภาพ (bioremediation) เป็นทางเลือกหนึ่งในการช่วยลดความเป็นพิษของสารประกอบ PAHs โดยอาศัยกิจกรรมของจุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการย่อยสลายสาร PAHs เพื่อเปลี่ยนแปลงโครงสร้างสารอินทรีย์อันตรายที่ปนเปื้อนให้มีระดับความเป็นพิษน้อยลงหรือหมดไป โดยจุลินทรีย์จะสามารถใช้สารปนเปื้อนเป็นแหล่งอาหาร แหล่งคาร์บอนและพลังงาน เพื่อใช้ในการเจริญเติบโตและดำรงชีวิต (Maria, 1999; Dua และคณะ 2002) ซึ่งมีจุลินทรีย์หลายชนิดมีความสามารถที่จะทำให้เกิดการย่อยสลายสารประกอบ PAHs อย่างสมบูรณ์เพื่อใช้ในการเจริญเติบโต (mineralization) หรือสามารถทำให้สารเหล่านี้เปลี่ยนรูปเป็นสารที่มีพิษน้อยลงได้ (biotransformation) (Cerniglia, 1992)



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

2.6 การบำบัดด้วยกระบวนการทางชีวภาพ

การบำบัดด้วยวิธีทางชีวภาพในปัจจุบันมีหลายวิธีดังนี้ (Trejo-Hernandez และ Quintero, 2000)

Bioaugmentation การเติมจุลินทรีย์ที่ทดสอบแล้วว่ามีประสิทธิภาพในการย่อยสลายสารพิษลงไปในบริเวณที่มีการปนเปื้อน

Biostimulation การเติมสารอาหารหรือปัจจัยต่างๆที่จำเป็นต่อการเจริญของจุลินทรีย์ลงไปในบริเวณที่มีการปนเปื้อน เพื่อกระตุ้นให้จุลินทรีย์ประจำถิ่นมีการเพิ่มจำนวนและมีกิจกรรมในการย่อยสลายสารพิษได้ดีขึ้น

Biofilters การใช้คอลัมน์ยาวที่มีจุลินทรีย์อยู่ภายในเพื่อบำบัดสารปนเปื้อนที่กระจายออกสู่อากาศ

Bioreactor การย่อยสลายในถังหมัก

Bioventing การบำบัดโดยมีการให้อากาศและให้สารอาหารเพื่อกระตุ้นการเจริญและการย่อยสลายของจุลินทรีย์ประจำถิ่น

Composting การบำบัดโดยใช้ออกซิเจนและอุณหภูมิสูงร่วมกับการเติมปุ๋ยหมักหรือวัสดุทางการเกษตรเพื่อเป็นวัสดุค้ำจุนการเจริญของจุลินทรีย์

Landfarming การบำบัดแหล่งที่มีการปนเปื้อนโดยการขุดดินหรือสูบน้ำขึ้นมาแล้วปล่อยให้มีการย่อยสลายของจุลินทรีย์แบบใช้อากาศ (aerobic)

ถึงแม้ว่าวิธีการบำบัดทางชีวภาพจะมีหลายวิธี แต่วิธีการบำบัดทางชีวภาพที่นิยมนำมาใช้ในการบำบัดสารประกอบ PAHs มี 2 วิธีการหลักคือ Biostimulation และ Bioaugmentation

Biostimulation เป็นการบำบัดโดยการเติมสารอาหารต่างๆ เช่น ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส โปรแตสเซียม หรือการให้ออกซิเจนลงในบริเวณที่ปนเปื้อน เพื่อช่วยกระตุ้นให้จุลินทรีย์ประจำถิ่นมีการเจริญเติบโต รวมทั้งการเติมสารลดแรงตึงผิวซึ่งช่วยเพิ่มความสามารถในการละลายของสารไฮโดรคาร์บอน ทำให้แบคทีเรียสามารถย่อยสลายสารพิษได้ง่ายขึ้น (Haigh, 1996) มีรายงานว่า การเติมวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรและมูลสัตว์เป็นการเพิ่มปริมาณสารอาหารและปริมาณออกซิเจน ทำให้เกิดการถ่ายเทอากาศและมีภาวะที่เหมาะสมต่อสิ่งมีชีวิตบริเวณนั้น นอกจากนี้ยังช่วยลดความสามารถของสารประกอบ PAHs ในการเข้าจับกับอนุภาคดิน ทำให้เคลื่อนที่แทรกเข้าสู่อนุภาคดินได้ช้าลง จุลินทรีย์จึงนำไปใช้ประโยชน์ได้อย่างรวดเร็ว (Kästner และ Mahro, 1996)

Charoenchang และคณะ (2003) รายงานว่าการเติมวัสดุทางการเกษตร เช่น ฟางข้าว เปลือกถั่วลิสงและไบโຈจรัลลงในดินที่ปนเปื้อนสารประกอบ PAHs ช่วยทำให้เกิดการย่อยสลายพีแนทรีนได้หมดภายใน 28 วัน และไพรีนหมดภายใน 42 วัน

Sašek และคณะ (2003) ผสมปุ๋ยหมักจากเศษเห็ด (white button mushroom, *Agaricus bisporus*) กับฟางข้าว มูลไก่และยิปซัม ก่อนเติมลงในดินที่ปนเปื้อนสารประกอบ PAHs พบว่าสามารถลด PAHs ได้ 37-80% ภายในเวลา 100 วัน

Kriipsalu และคณะ (2007) บำบัดดินโคลนที่ปนเปื้อนน้ำมันโดยใช้ทรายและเศษไม้ เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการบำบัด พบว่าปริมาณสารบีโตรเลียมลดลง 62%, 74% และ 49% ตามลำดับและสารประกอบ PAHs ลดลง 97%, 92% และ 88% ตามลำดับ ในระยะเวลา 1 ปี

Ying และคณะ (2007) ใช้ฟางข้าวเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการบำบัดดินโคลนตะกอนจากโรงงานบำบัดน้ำเสียที่ปนเปื้อนสารประกอบ PAHs พบว่า PAHs ทั้ง 16 ชนิดลดลงถึง 94% ภายใน 56 วัน

การบำบัดทางชีวภาพด้วยวิธีนี้มีข้อเสียคือ ในบริเวณที่ต้องการบำบัดอาจไม่มีจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายสารประกอบ PAHs หรือจุลินทรีย์ประจำถิ่นอาจไม่มีความสามารถเพียงพอที่จะกำจัดสารพิษให้หมดไปจากสิ่งแวดล้อมได้ (Vidali, 2001) ดังนั้นจึงได้นำการบำบัดทางชีวภาพอีกวิธีหนึ่งมาช่วยเสริมและเพิ่มประสิทธิภาพในการย่อยสลายสารพิษจากสิ่งแวดล้อม คือ วิธี Bioaugmentation โดยการเติมจุลินทรีย์ต่างถิ่นที่มีความสามารถในการย่อยสลายสารพิษลงในบริเวณที่มีการปนเปื้อนเพื่อส่งเสริมให้เกิดการย่อยสลายสารพิษบริเวณนั้น อย่างไรก็ตามวิธีการนี้มีปัจจัยซึ่งเป็นข้อจำกัดที่ควรคำนึงถึงเกี่ยวกับการรอดชีวิตของจุลินทรีย์ต่างถิ่น การสูญเสียความสามารถในการย่อยสลายสารพิษ ภาวะการแข่งขันระหว่างจุลินทรีย์ต่างถิ่นที่เติมลงไปกับจุลินทรีย์ประจำถิ่น และการปรับตัวให้คุ้นเคยของจุลินทรีย์ที่เติมลงไปในภาวะแวดล้อมบริเวณดินที่ปนเปื้อน (Wilson และ Jones, 1993) ซึ่งจุลินทรีย์ต่างถิ่นจะต้องสามารถเพิ่มจำนวนและอยู่รอดได้ในภาวะแวดล้อมนั้นๆ วิธีการบำบัดทางชีวภาพนี้เป็นกระบวนการทางธรรมชาติที่ไม่ก่อให้เกิดอันตรายต่อสิ่งแวดล้อม ทำให้พื้นที่ดังกล่าวเกิดความเสียหายน้อย สามารถกำจัดสารพิษได้อย่างถาวร และมีค่าใช้จ่ายต่ำกว่าการบำบัดด้วยวิธีอื่นๆ แต่การบำบัดด้วยวิธีนี้จำเป็นต้องคำนึงถึงปัจจัยที่อาจส่งผลกระทบต่อประสิทธิภาพในการย่อยสลายของสิ่งมีชีวิตโดยเฉพาะปัจจัยทางสิ่งแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการเจริญของจุลินทรีย์ที่เติมลงไปด้วย เช่น ชนิด สมบัติและความเข้มข้นของสารปนเปื้อน ความชื้น อุณหภูมิ ความเป็นกรดต่าง สารอาหาร และปริมาณออกซิเจนที่สามารถนำไปใช้ได้ เป็นต้น (Van Veen และ คณะ, 1997)

Van Veen และคณะ (1997) ได้สรุปปัจจัยทางกายภาพและชีวภาพของดินที่มีผลต่อการอยู่รอดของจุลินทรีย์ที่เติมลงในดินดังนี้

ปัจจัยทางกายภาพของดิน

ลักษณะของเนื้อดิน แร่ธาตุในดินเหนียวจะช่วยป้องกันจุลินทรีย์จากการถูกจับกินของโปรโตซัว

ความตึงผิวของน้ำ (water tension) ความตึงผิวน้ำสูง ทำให้เกิดการขาดน้ำและมีแรงดันออสโมติกสูง

สารอินทรีย์คาร์บอน (organic carbon) การขาดสารอินทรีย์คาร์บอนที่จุลินทรีย์ต้องการจะทำให้การเจริญของจุลินทรีย์หยุดชะงักและมีกิจกรรมลดลง

สารอาหารอนินทรีย์ (inorganic nutrients) การขาดไนโตรเจน ฟอสฟอรัส ทำให้การเจริญของ จุลินทรีย์หยุดชะงัก

ความเป็นกรดต่าง (pH) ระดับความเป็นกรดต่างสามารถคัดแยกกลุ่มจุลินทรีย์ได้ รวมทั้งอาจ มีผลต่อการปลดปล่อยสารอาหารบางชนิดในดิน เช่น ฟอสฟอรัส หรือปลดปล่อยอะลูมิเนียมซึ่ง เป็นสารพิษในดิน

อุณหภูมิ มีผลต่อกระบวนการเมแทบอลิซึมและกิจกรรมของจุลินทรีย์

สารเคมีที่เป็นพิษ (toxic waste) สามารถยับยั้งจุลินทรีย์ที่มีความไวต่อสารและคัดเลือก จุลินทรีย์ที่มีความต้านทานและย่อยสลายสารเคมีชนิดนั้นๆได้

ปัจจัยทางชีวภาพของดิน

สภาวะการล่า (predation) จำนวนจุลินทรีย์ลดลงเนื่องจากถูกจับกินโดยสัตว์รุกรานชาติ

การแข่งขัน (competition) เกิดการแข่งขันและแย่งอาหารกันระหว่างจุลินทรีย์ประจำถิ่นกับ จุลินทรีย์ต่างถิ่น

การเจริญของรากพืช (root growth) มีการปลดปล่อยสารอินทรีย์บางชนิดจากรากพืช

อย่างไรก็ตามปัญหาที่เกิดขึ้นคือ การนำจุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการย่อยสลายสาร ประกอบ PAHs จากแหล่งหนึ่งไปใช้โดยการเติมลงไปในพื้นที่อื่น อาจเป็นการยากต่อ จุลินทรีย์ชนิดนั้นในการปรับตัวเพื่ออยู่รอดและคงความสามารถในการย่อยสลายสารพิษในดินบน เป็อนที่มีสภาวะแตกต่างกันมากในแต่ละบริเวณ (Wilson และ Jones, 1993) ดังนั้นเพื่อให้การบำบัด ด้วยวิธี bioaugmentation มีประสิทธิภาพ จึงต้องหาวิธีที่จะเพิ่มการอยู่รอดและความสามารถในการ ย่อยสลายสารพิษของจุลินทรีย์ที่ใช้เติมลงไปในพื้นที่บำบัด

Van Veen และคณะ(1997) รายงานว่าสามารถใช้วัสดุทางการเกษตรเป็นแหล่งให้จุลินทรีย์ ยึดเกาะ โดยจุลินทรีย์สามารถใช้วัสดุทางการเกษตรเป็นแหล่งที่อยู่โดยเกาะติดกับวัสดุนั้นและ สามารถใช้สารอินทรีย์ในวัสดุทางการเกษตรเพื่อการเจริญได้ ทำให้จุลินทรีย์อยู่รอดและยังคงมีความ สามารถในการย่อยสลายสารพิษอยู่ นอกจากนี้วัสดุทางการเกษตรเป็นสารอินทรีย์ซึ่งประกอบด้วย ส่วนที่มีชีวและไม่มีชีว ส่วนที่ไม่มีชีวนี้สามารถดูดติดกับสารประกอบ PAHs ได้ (Staci และคณะ, 1994) วัสดุทางการเกษตรที่นำมาใช้เพื่อเพิ่มการเจริญและการอยู่รอดรวมทั้งเพิ่มความสามารถในการ ย่อยสลายสารปนเปื้อน เช่น เศษใบไม้ ไร่ข้าว ฟางข้าว เปลือกถั่ว ใบจามจรี ไบโอบีบ ชี้อ้อย ชานอ้อย และปุ๋ยหมัก เป็นต้น

งานวิจัยที่ใช้วัสดุทางการเกษตรในการย่อยสลายสารปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อม ยกตัวอย่างเช่น Siritwarasin และคณะ (2002) พบว่าการเติมไบโม่ฆามลงในดินที่ปนเปื้อนสารประกอบ PAHs สามารถย่อยสลายไฟรินความเข้มข้น 1.0 มก./กรัมดินได้หมดภายใน 56 วัน เมื่อเปรียบเทียบกับชุดทดลองที่ไม่ได้เติมไบโม่ฆามซึ่งยังคงมีปริมาณไฟรินและพีแนทรีนเหลืออยู่เล็กน้อยหลังจากวันที่ 84 ของการทดลอง

Charoenchang และคณะ (2003) เติมวัสดุเหลือใช้จากการเกษตร เช่น ฟางข้าว เปลือกถั่วลิสงและไบโม่ฆามจรีลงในดินที่ปนเปื้อนสารประกอบ PAHs พบว่า เปลือกถั่วลิสงและไบโม่ฆามจรี ช่วยทำให้เกิดการย่อยสลายสารพีแนทรีนได้หมดภายใน 28 วัน และย่อยสลายไฟรินและฟลูออแรนทรีนหมดภายใน 42 วัน ซึ่งจุลินทรีย์จากเปลือกถั่วและไบโม่ฆามจรีเป็นปัจจัยหลักในการย่อยสลาย ส่วนฟางข้าวที่เติมลงไปนั้นไม่ช่วยเร่งการย่อยสลายตลอดการทดลอง

Pattanasupong และคณะ (2004) รายงานว่าการใช้ไยบวบให้กลุ่มแบคทีเรียจับเกาะช่วยเพิ่มความสามารถในการย่อยสลายยาฆ่าแมลง carbendazim และ 2,4-dichlorophenoxyacetic ได้ดีกว่าการเติมกลุ่มแบคทีเรียเพียงอย่างเดียว

Krishna (2005) ทำการศึกษาการบำบัดสารประกอบ PAHs ที่ปนเปื้อนในดิน โดยเลี้ยง *Pseudomonas* sp. บนวัสดุทางการเกษตร เช่น ฟางข้าว เปลือกข้าว พบว่า *Pseudomonas* sp. สามารถเจริญและอยู่รอดบนวัสดุทางการเกษตรและมีความสามารถย่อยสลายประกอบ PAHs ได้ดี

Siddique และคณะ (2005) ได้ใช้ฟางข้าวผสมกับกลุ่มแบคทีเรียเพื่อลดปริมาณซีลีเนียมในน้ำทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรม พบว่าประสิทธิภาพในการลดซีลีเนียมมีสูงขึ้นหลังจากเติมฟางข้าว โดยปริมาณซีลีเนียมหมดภายใน 5 - 6 วัน

วิญญูญา ขวเจริญพันธ์ (2549) เลี้ยงกลุ่มแบคทีเรีย STK ในเปลือกถั่วและเศษใบไม้ชนิดต่างๆ เพื่อใช้ในการบำบัดดินที่ปนเปื้อนสารประกอบ PAHs พบว่าไฟริน ความเข้มข้น 100 และ 1000 ppm ถูกย่อยสลาย 78% และ 54% ภายในเวลา 60 วัน

Trejo-Hernandez และคณะ (2007) ผสมซานอ้อยและปุ๋ยหมักจากเศษกิ่งและใบไม้ ร่วมกับการใช้หัวเชื้อกลุ่มแบคทีเรีย IMP เพื่อบำบัดดินที่ปนเปื้อนน้ำมันดิบ พบว่าทำให้เกิดการย่อยสลายน้ำมันดิบความเข้มข้น 10,000 มก./กก. ได้ถึง 40 % ภายในเวลา 15 วัน

Reda และ Bayoumi (2009) รายงานว่าการบำบัด PAHs ในดินที่ปนเปื้อนน้ำมันปิโตรเลียม โดยใช้กลุ่มแบคทีเรียที่ประกอบไปด้วยเชื้อ 6 ชนิด ร่วมกับการเติมซานอ้อย และฟางข้าว สามารถย่อยสลายสาร PAHs ทุกชนิดที่มีอยู่ในดินได้หมดภายใน 21 วัน ในขณะที่การใช้เชื้อเดี่ยวและการบำบัดโดยไม่ใส่วัสดุทางการเกษตรยังคงมีปริมาณสาร PAHs เหลืออยู่

2.7 การย่อยสลายสารประกอบ PAHs โดยแบคทีเรีย

การย่อยสลายสารประกอบ PAHs เกิดขึ้นได้ทั้งจากการย่อยสลายของแบคทีเรียบริสุทธิ์และกลุ่มแบคทีเรีย ซึ่งหากมีการย่อยสลายอย่างสมบูรณ์จะได้เซลล์เพิ่มมากขึ้น และได้น้ำกับคาร์บอนไดออกไซด์ (Wilson และ Jones, 1993) โดยทั่วไปแบคทีเรียจะย่อยสลายสารที่ละลายน้ำได้ง่ายกว่าสารที่ไม่ละลายน้ำ สารประกอบ PAHs เป็นสารที่มีการละลายน้ำต่ำแบคทีเรียทั่วไปจึงไม่สามารถย่อยสลายสารนี้ได้ มีแบคทีเรียบางชนิดเท่านั้นที่สามารถสร้างเอนไซม์ต่างๆที่ใช้ในการย่อยสลายสารประกอบ PAHs เพื่อนำไปใช้เป็นแหล่งคาร์บอนและพลังงานในการเจริญได้ ปัจจุบันมีรายงานแบคทีเรียบริสุทธิ์หลายชนิดที่มีความสามารถในการย่อยสลายสารประกอบ PAHs ได้ เช่น *Microbacterium sp.*, *Pseudomonas sp.*, *Sphingomonas sp.* เป็นต้น (Jain และคณะ, 2005) นอกจากนี้ยังมีรายงานว่ากลุ่มแบคทีเรียมีความสามารถในการย่อยสลาย PAHs ได้ดีกว่าแบคทีเรียบริสุทธิ์เนื่องจากมีความสามารถสูงในการปรับตัวเข้ากับภาวะแวดล้อมและสามารถทำงานร่วมกันเพื่อย่อยสลายสารพิษและสารมลพิษที่เกิดขึ้น เช่น Bouchez และคณะ (1995) รายงานว่า *Pseudomonas stutzeri* สายพันธุ์ SNaPKa1 และ *Pseudomonas sp.* สายพันธุ์ SPheNa1 ที่สามารถใช้แนพทาลีนและพีแนนทรีนได้ตามลำดับสามารถย่อยสลายแนพทาลีนได้สมบูรณ์และลดพีแนนทรีนได้ 83% ถึงแม้ว่าแนพทาลีนจะเป็นพิษต่อสายพันธุ์ SPheNa1

Albert และคณะ (2000) เดิมกลุ่มแบคทีเรียที่คัดแยกจากดินบริเวณโรงงานอุตสาหกรรมกลุ่มแบคทีเรียนี้ประกอบด้วย *Photobacterium phosphoreum* *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA98 และ TA100 ซึ่งสามารถย่อยสลาย แนพทาลีน อะซีแนพทีน ฟลูออรีนและพีแนนทรีน ในดินได้มากกว่า 86% ในเวลา 91 วัน

Lafortune และคณะ (2009) คัดแยกกลุ่มแบคทีเรียที่มีแบคทีเรียอย่างน้อย 20 ชนิดจากดินที่ปนเปื้อนด้วยสารประกอบไฮโดรคาร์บอน พบว่าสามารถย่อยสลาย PAHs ที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูงเช่น ไพรีน ไครซินและเบนโซ[เอ]ไพรีน

Yu และคณะ (2005) คัดแยกกลุ่มแบคทีเรียจากดินตะกอนป่าชายเลน กลุ่มแบคทีเรียนี้ประกอบด้วยแบคทีเรีย 3 ชนิด คือ *Rhodococcus sp.* *Acinetobacter sp.* และ *Pseudomonas sp.* ซึ่งสามารถย่อยสลาย ไพรีน พีแนนทรีนและ ฟลูออรีน ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร ได้หมดในเวลา 1 เดือน

Ozaki และคณะ (2007) คัดแยกกลุ่มแบคทีเรียจากดินที่ปนเปื้อนน้ำมันปิโตรเลียม กลุ่มแบคทีเรียนี้ประกอบด้วยแบคทีเรีย 3 ชนิด คือ *Pandoraea* sp. Y1, *Hyphomicrobium facile* Y3 และ *Burkholderia multivorans* Y4 กลุ่มแบคทีเรียนี้สามารถย่อยสลายสารประกอบไฮโดรคาร์บอนได้ในอัตราที่สูง โดยย่อยสลายสารประกอบอะโรมาติก 66% ในเวลา 14 วัน

He-Ping และคณะ (2009) ได้คัดแยกแบคทีเรีย *Pseudomonas stutzeri* ZP2 จากดินที่ปนเปื้อน PAHs บริเวณโรงกลั่นน้ำมัน ซึ่งสามารถย่อยสลายพีแนทรีนความเข้มข้น 250 ppm ในอาหารเลี้ยงเชื้อ ได้สูงถึง 96 % ในเวลา 6 วัน

Ezikpe และคณะ (2010) ใช้กลุ่มแบคทีเรีย *Sphingomonas* sp. *Pseudomonas* sp. และ *Pseudomonas putida* ย่อยสลาย พีแนทรีน ไครซิน ฟลูออแรนทรีน และไพรีน ความเข้มข้น 0.1 กรัม/ลิตร หลังจาก 8 วัน พบว่าการย่อยสลายสารทุกชนิดมีมากกว่า 90 % และไม่ตรวจพบพีแนทรีนเหลืออยู่

2.8 กลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3

กลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่ใช้ในงานวิจัยนี้เป็นกลุ่มแบคทีเรียที่คัดแยกได้จากไบโจามจรี ซึ่งมีประสิทธิภาพในการย่อยสลายไพรีนความเข้มข้น 0.1 กรัม/ลิตร ได้หมดภายใน 14 วัน นอกจากนี้กลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ยังสามารถย่อยสลายสารประกอบ PAHs ชนิดอื่นได้อีกหลายชนิด เช่น อะซีแนพทีน ฟลูออรีน พีแนทรีนและฟลูออแรนทีนได้ กลุ่มแบคทีเรียนี้ประกอบด้วยจุลินทรีย์อย่างน้อย 7 ชนิด จัดอยู่ใน 4 สกุล ได้แก่ *Comamonas*, *Rugamonas*, *Flavimonas*, *Pseudomonas* และส่วนที่เหลือไม่สามารถจำแนกได้จำนวน 1 ชนิด โดยเป็นแบคทีเรียแกรมลบทั้งหมด (จิริทีปส์ แชนร์ก, 2547)

เนื่องจากการบำบัดดินที่ปนเปื้อนสารประกอบ PAHs โดยการเติมกลุ่มแบคทีเรียลงในดินปนเปื้อนโดยตรงทำให้กลุ่มแบคทีเรียตายและสูญเสียความสามารถในการย่อยสลายสารดังกล่าว (Johnsen และคณะ, 2006) ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงมุ่งศึกษาและพัฒนาวิธีการเติมแบคทีเรียลงในดินเพื่อย่อยสลายปนเปื้อนโดยการตรึงกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 บนวัสดุทางการเกษตร เพื่อให้กลุ่มแบคทีเรียรอดชีวิตและคงความสามารถในการย่อยสลายไพรีนและพีแนทรีนได้ วัสดุทางการเกษตรที่จะใช้ในการตรึงกลุ่มแบคทีเรีย ได้แก่ ไบโจามจรี ฟางข้าว ไยบวบและนมผักกระเฉด ซึ่งกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่ใช้ในการทดลองนี้คัดแยกได้จากไบโจามจรี ไบโจามจรีจึงน่าจะมีปัจจัยที่เหมาะสมต่อการเจริญ การอยู่รอดและคงความสามารถในการย่อยสลายสารประกอบ PAHs ของกลุ่มแบคทีเรียนี้ ดังรายงานของเสาวลักษณ์ อ้นเมฆ (2550) ที่เลี้ยงกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ในไบโจามจรีก่อนนำไปบำบัด

ดินที่ปนเปื้อนสารประกอบ PAHs พบว่ากลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 สามารถย่อยสลายไพรีนและฟิแนนทรีนได้อย่างรวดเร็วมากกว่าการเลี้ยงกลุ่มแบคทีเรียในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว ซึ่งไพรีนและฟิแนนทรีนเหลืออยู่เพียง 11.25% และ 7.59% ภายใน 3 วัน ตามลำดับ

ฟางข้าวประกอบด้วยส่วนที่เป็นไข (wax) เคลือบอยู่ที่ผิวชั้นนอกสุด (Wang และคณะ, 2005) ทำให้สะสมและละลายสารประกอบ PAHs เข้าไปในฟางข้าวได้จุลินทรีย์จึงสามารถย่อยสลายได้ง่าย (Staci และคณะ 1994) ดังรายงานของ Hamdi และคณะ (2007) ที่ทำการบำบัดดินที่ปนเปื้อนแอนทราซีน ไพรีนและเบนโซ[เอ]ไพรีน โดยเติมดินที่ปนเปื้อนสารประกอบ PAHs มาเป็นเวลานานซึ่งมีจุลินทรีย์ที่สามารถย่อยสลายสารได้อยู่ร่วมกับการเติมฟางข้าว พบว่ามีอัตราการย่อยสลายสารประกอบ PAHs มากกว่าชุดที่ไม่ใส่ฟางข้าว

ไยบวมมีน้ำหนักเบา ความหนาแน่นต่ำ โครงสร้างเป็นร่างแหเชื่อมต่อกัน มีรูพรุนจำนวนมาก และมีความคงตัวสูงทนต่อสภาวะความเป็นกรดต่าง และอุณหภูมิที่เปลี่ยนแปลง จึงเอื้อต่อการยึดเกาะของจุลินทรีย์ (Ogbonna และคณะ, 1994) ดังรายงานของ Akhtar และคณะ (2004) ที่ใช้ไยบวมให้แบคทีเรีย *Chlorella sorokiniana* จับเกาะเพื่อย่อยสลายนิกเกิลที่ปนเปื้อนในแหล่งน้ำ พบว่าปริมาณนิกเกิลในแหล่งน้ำลดลงสูงกว่าการใช้แบคทีเรียที่ไม่ได้ยึดเกาะกับไยบวม

นมผักกระเฉดเป็นเชื้อสีขาวที่พันอยู่รอบลำต้น ลอยน้ำได้ มีลักษณะคล้ายฟองน้ำ มีรูพรุน อุ่มน้ำได้ดี ทำให้สามารถดูดไพรีนและฟิแนนทรีนไว้และกลุ่มแบคทีเรียที่ยึดเกาะอยู่จึงสามารถย่อยสลายได้ง่ายยิ่งขึ้น จากงานวิจัยของสุธาวัลย์ ดีสวัสดิ์ (2550) ได้ใช้ฟางข้าว ไยบวม และนมผักกระเฉดเลี้ยงกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 เพื่อบำบัดไพรีนและฟิแนนทรีนในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว พบว่ากลุ่มแบคทีเรียมีการเจริญและย่อยสลายสารประกอบ PAHs ทั้งสองชนิดที่ความเข้มข้น 0.5 กรัม/ลิตรได้หมดภายใน 21 และ 14 วัน ดังนั้นในงานวิจัยนี้จะเตรียมกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 โดยการตรึงในวัสดุทางการเกษตร ได้แก่ ใบจามจุรี ฟางข้าว ไยบวมและนมผักกระเฉด เพื่อเพิ่มจำนวนและคงประสิทธิภาพของกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 รวมทั้งเปรียบเทียบการใช้วัสดุทางการเกษตรแต่ละชนิดในการบำบัดดินสวนและดินอุ้มน้ำที่ปนเปื้อนไพรีนและฟิแนนทรีน