บทที่ 5

สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

กลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่ใช้ในงานวิจัยนี้คัดแยกจากใบจามจุรีและมีความสามารถในการย่อยสลายไพรีนความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรได้หมดภายใน 14 วัน (จิรทีปฆ์ แสนรัก, 2547) แต่เนื่องจากกลุ่มแบคทีเรียถูกเก็บรักษามาเป็นเวลานานและมีการถ่ายเชื้อต่อเนื่องในอาหารหลายๆ ครั้งจึงอาจส่งผลต่อประสิทธิภาพการย่อยสลาย ดังนั้นก่อนการใช้งานจึงทดสอบประสิทธิภาพการย่อยสลายไพรีนและ ฟีแนนทรีนเปรียบเทียบกับงานวิจัยของ จิรทีปฆ์ แสนรัก (2547) ผลการศึกษาพบว่ากลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 มีการเจริญเพิ่มขึ้นและมีความสามารถในการย่อยสลายไพรีนและฟีแนนทรีนได้ดี ซึ่งในงานวิจัยนี้ใช้ความเข้มข้นเริ่มต้นของไพรีนและฟีแนนทรีนน้อยกว่าเป็นจำนวนสองเท่าจึงพบว่าการย่อยสลายไพรีนและฟีแนนทรีนเกิดได้เร็วกว่า โดยไพรีนและฟีแนนทรีนถูกย่อยสลายจนไม่สามารถตรวจวัดในวันที่ 3 และ วันที่ 1 ของการทดลอง ตามลำดับ ในขณะที่ชุดควบคุมซึ่งไม่เติมเชื้อยังคงมีไพรีนและฟีแนนทรีนเหลืออยู่ปริมาณสูง แสดงให้เห็นว่ากลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 นั้นใช้ไพรีนและฟีแนนทรีนเป็นแหล่งคาร์บอนและพลังงานเพื่อการเจริญได้และยังคงมีประสิทธิภาพในการย่อยสลายสาร PAHs ทั้งสองได้ดี อย่างไรก็ตามจากการศึกษาเบื้องต้นพบว่าการเติมกลุ่มแบคทีเรียลงในแหล่งที่ปนเปื้อนโดยตรงทำให้กลุ่มแบคทีเรียตายหรือสูญเสียความสามารถในการย่อยสลาย ทำให้การบำบัดไม่มีประสิทธิภาพ (Johnsen และคณะ, 2006) วิธีหนึ่งที่จะเพิ่มการอยู่รอดของกลุ่มแบคทีเรียคือการใช้วัสดุพาหะ มีรายงานว่าการแบคทีเรียที่เตรียมในวัสดุการเกษตรบางชนิดจะมีอัตราการตายน้อยลงและคงประสิทธิภาพในการย่อยสลายสารพิษไว้ได้ Pattanasupong และคณะ (2004) รายงานว่าการใช้ใยบวบเป็นวัสดุพาหะทำให้กลุ่มแบคทีเรียเจริญและเพิ่มประสิทธิภาพในการย่อยสลายยาฆ่าแมลงที่ปนเปื้อนในนาข้าว Van Veen และคณะ (1997) รายงานว่าจุลินทรีย์สามารถใช้วัสดุทางการเกษตรบางชนิดเป็นแหล่งที่อยู่โดยจับติดและใช้สารอาหารจากวัสดุนั้นเพื่อการเจริญได้ Reda และ Bayoumi (2009) ใช้ฟางข้าวและขานอ้อยเป็นวัสดุให้กลุ่มแบคทีเรียจับเกาะทำให้การบำบัดดินที่ปนเปื้อนสาร PAHs มีประสิทธิภาพเพิ่มขึ้นกว่าการเติมกลุ่มแบคทีเรียเพียงอย่างเดียว จากงานวิจัยที่กล่าวมาข้างต้น ในงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาและพัฒนาวิธีการเติมแบคทีเรียลงในดินเพื่อย่อยสลายไพรีนและฟีแนนทรีนโดยตรึงกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 บนวัสดุทางการเกษตร 4 ชนิด ได้แก่ใบจามจุรี ฟางข้าว ใยบวบและนมผักกระเฉด เพื่อให้กลุ่มแบคทีเรียเจริญรอด

ชีวิตและคงความสามารถในการย่อยสลายไพรีนและฟีแนนทรีน สำหรับการบำบัดดินที่ปนเปื้อนไพรีนและฟีแนนทรีนต่อไป

ผลจากการตรึงกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 บนวัสดุทางการเกษตรทั้ง 4 ชนิด พบว่ากลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 สามารถเจริญและเพิ่มจำนวนในวัสดุทางการเกษตรแต่ละชนิดใกล้เคียงกัน ทั้งนี้มีการเจริญเพิ่มจำนวนสูงสุดในวันที่ 3 มีค่าประมาณ log 10 CFU ต่อกรัมวัสดุ ซึ่งใบจามจุรีเป็นวัสดุที่ให้ผลการเจริญของกลุ่มแบคทีเรียสูงที่สุด อาจเนื่องมาจากใบจามจุรีมีปริมาณธาตุอาหารหลัก คือ ไนโตรเจนมากกว่าวัสดุทางการเกษตรชนิดอื่นอย่างเห็นได้ชัด ดังรายงานของ Van Veen และคณะ (1997) ที่รายงานถึงปัจจัยที่มีผลต่อการอยู่รอดของจุลินทรีย์ที่เติมลงในดิน ซึ่งมีทั้งปัจจัยทางกายภาพและชีวภาพ ปัจจัยทางกายภาพ เช่น ความชื้น สารอินทรีย์คาร์บอน ความเป็นกรดด่าง อุณหภูมิ ปริมาณไนโตรเจนและฟอสฟอรัส รวมทั้งแร่ธาตุและสารเคมีที่อยู่ในดิน นอกจากนี้ใบจามจุรียังมีอัตราส่วนปริมาณคาร์บอนต่อปริมาณไนโตรเจนใกล้เคียง 10:1 ซึ่งเป็นค่าที่เหมาะสมในการนำสารอาหารไปใช้ประโยชน์ในการเจริญของจุลินทรีย์ (Hupe และคณะ, 2001) เมื่อศึกษาลักษณะการเจริญของกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่ตรึงบนวัสดุทางการเกษตรแต่ละชนิดวันที่ 0 และวันที่ 3 ด้วย Scanning Electron Microscope (SEM) ดังรูปที่ 4.3 จะเห็นว่าวันที่ 3 กลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ในทุกวัสดุมีจำนวนมากขึ้นจากวันแรกของการทดลอง ซึ่งจากลักษณะพื้นผิวของใบจามจุรีที่มีผิวขรุขระ มีรูพรุนและโครงสร้างซับซ้อน ทำให้กลุ่มแบคทีเรียสามารถเจริญได้ทั้งภายนอกและภายในโครงสร้างที่ซับซ้อนนั้น จึงเป็นอีกเหตุผลหนึ่งที่ทำให้การเจริญของกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ในใบจามจุรีมีค่าสูงที่สุด

นอกจากนี้การติดตามพลวัตรประชากรกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่ตรึงบนวัสดุทางการเกษตรโดยใช้เทคนิค Denaturing Gradient Gel Electrophoresis (DGGE) ดังรูปที่ 4.4 พบว่ามีแถบดีเอ็นเอของกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 คงอยู่ตลอดช่วงการทดลองในทุกวัสดุ ซึ่งแถบดีเอ็นเอในโปรไฟล์ DGGE ของกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่ตรึงบนใบจามจุรี ฟางข้าว ใยบวบและนมผักกระเฉด เป็นไปในทิศทางเดียวกัน กล่าวคือมีการเพิ่มขึ้นและลดลงของแถบดีเอ็นเอซึ่งแตกต่างกันตามวันที่ทำการทดลองและชนิดของวัสดุทางการเกษตร เนื่องจากวัสดุทางการเกษตรแต่ละชนิดมีองค์ประกอบกอบที่ไม่เหมือนกันจึงทำให้กลุ่มแบคทีเรียนำไปใช้ในการเจริญได้แตกต่างกัน ซึ่งการทำ DGGE นี้สามารถรายงานผลได้เป็น semi-quantitative คือไม่สามารถบอกปริมาณที่แน่นอนได้ บอกได้เพียงแนวโน้มว่ามีแถบดีเอ็นเอเกิดขึ้นมากน้อยเพียงใดในแต่ละวัน เป็นการศึกษาการเปลี่ยนแปลงประชากรแบคทีเรียโดยรวม ดังจะเห็นได้จากความเข้มของแถบดีเอ็นเอวันที่ 3 ที่ไม่ได้มีความเข้มมากที่สุดในขณะที่จำนวนแบคทีเรียเพิ่มสูงที่สุดในวันที่ 3 ของการทดลอง

จากการทดลองข้างต้นแสดงว่ากลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 สามารถใช้สารอาหารในวัสดุทางการเกษตรเพื่อการเจริญและเพิ่มจำนวนได้ ดังนั้นจึงนำเซลล์ตรึงบนวัสดุทางการเกษตรแต่ละชนิดที่เวลา 3 วัน ซึ่งพบการเจริญของเชื้อสูงสุดเป็นหัวเชื้อสำหรับการย่อยสลายไพรีนและฟีแนนทรีนในอาหารเหลว CFMM และบำบัดดินปนเปื้อนในการทดลองต่อไป ดังงานวิจัยของ Pattanasupong และคณะ (2004) ที่ใช้กลุ่มแบคทีเรียที่ตรึงบนใยบวบในการย่อยสลายยาฆ่าแมลงที่ปนเปื้อนในนาข้าว

การย่อยสลายไพรีนและฟีแนนทรีนความเข้มข้น 0.05 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ในอาหารเหลว CFMM โดยเซลล์ตรึงบนวัสดุทางการเกษตร พบว่ากลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่ตรึงในใบจามจุรี ฟางข้าว ใยบวบและนมผักกระเฉดปลอดเชื้อในอาหารเหลว CFMM ที่มีไพรีนและฟีแนนทรีน มีจำนวนเพิ่มขึ้นสูงสุดประมาณ 11 log CFU /มล. และมีการลดลงของไพรีนและฟีแนนทรีนอย่างรวดเร็วจนหมดภายใน 3 และ 1 วันตามลำดับ ซึ่งวัสดุทางการเกษตรทั้ง 4 ชนิด ให้ผลที่ใกล้เคียงกัน แสดงว่ากลุ่มแบคทีเรียที่เติมลงไปมีความสามารถในการย่อยสลายไพรีนและฟีแนนทรีนได้

การทดสอบการย่อยสลายไพรีนและฟีแนนทรีนความเข้มข้น 0.05 มิลลิกรัมต่อกรัมดิน ที่ปนเปื้อนในดินสวนโดยเซลล์ตรึงกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 บนวัสดุทางการเกษตร พบว่าชุดควบคุมที่ใช้ดินปลอดเชื้อผสมไพรีนและฟีแนนทรีนเพื่อตรวจสอบการลดลงของสาร PAHs โดยปัจจัยทางกายภาพ มีไพรีนและฟีแนนทรีนเหลืออยู่ 80.57% และ 78.42 % ตามลำดับซึ่งเป็นปริมาณค่อนข้างสูง แสดงว่าไพรีนและ ฟีแนนทรีนสลายไปจากดินได้เพียงเล็กน้อยซึ่งการสลายตัวนี้อาจเกิดจากปัจจัยต่างๆ เช่น การกลายเป็นไอ (volatilization) การสลายโดยแสง (photooxidation) หรือถูกดูดซับในอนุภาคดิน (adsorption) (Wiessenfels และคณะ, 1992) สาร PAHs มักเกิดการรวมตัวอยู่กับอนุภาคดิน สาร PAHs ที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูงจะดูดซับกับอนุภาคดินแน่นกว่าสาร PAHs ที่มีโมเลกุลต่ำและการดูดซับยิ่งแน่นมากเมื่อระยะเวลาที่สารอยู่ในดินนานขึ้น ดังจะเห็นได้ในการทดลองที่ปริมาณไพรีนซึ่งเป็นสาร PAHs น้ำหนักโมเลกุลสูงคงเหลืออยู่มากกว่าฟีแนนทรีนเล็กน้อย (Lundstedt และคณะ, 2003).

ในชุดควบคุมที่ใช้ดินสวนไม่ปลอดเชื้อเพื่อตรวจสอบการลดลงของสาร PAHs เมื่อมีปัจจัยทางชีวภาพจากดิน พบว่ามีไพรีนและฟีแนนทรีนเหลืออยู่ 76.57% และ 75.37% ตามลำดับ ใกล้เคียงกับชุดควบคุมที่ใช้ดินปลอดเชื้อ แสดงว่าจุลินทรีย์ในดินสวนส่วนใหญ่ไม่สามารถย่อยสลายไพรีนและฟีแนนทรีนได้ สอดคล้องกับจำนวนแบคทีเรียทั้งหมดในดินที่มีจำนวนลดลงจนกระทั่งสิ้นสุดการทดลอง ซึ่งการเจริญของแบคทีเรียที่ยังมีอยู่น่าจะเกิดจากการใช้คาร์บอนและสารอาหารในดิน เนื่องจากผลการวิเคราะห์ลักษณะทางกายภาพและองค์ประกอบของดินแสดงให้เห็นว่าดินมีสารอาหารที่จำเป็นต่อการเจริญของจุลินทรีย์ เช่น ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส ทั้งนี้ดินที่นำมาใช้ในการทดลองเป็นดินที่ไม่เคยมี

การปนเปื้อนสาร PAHs มาก่อน จึงทำให้จุลินทรีย์ในดินไม่มีความคุ้นเคยกับสาร PAHs จึงอาจมีการปรับตัวเพื่อย่อยสลายสาร PAHs ได้ช้า (Trejo-Hernandez และ Quintero, 2000)

การทดสอบการย่อยสลายไพรีนและฟีแนนทรีนในชุดควบคุมที่ใช้ดินสวนไม่ปลอดเชื้อผสมไพรีนและฟีแนนทรีนและเติมใบจามจุรีปลอดเชื้อลงไปด้วย พบว่ามีปริมาณไพรีนและฟีแนนทรีนเหลืออยู่ 72.9% และ 64.7% ตามลำดับในวันที่ 35 ของการทดลอง เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ใช้ดินไม่ปลอดเชื้อเพียงอย่างเดียวจะเห็นว่ามีปริมาณไพรีนเหลืออยู่ใกล้เคียงกันและปริมาณ ฟีแนนทรีนเหลืออยู่น้อยกว่าในดินไม่ปลอดเชื้อ ผลการตรวจนับจำนวนแบคทีเรียทั้งหมดในดินพบว่ามีแนวโน้มการเจริญของแบคทีเรียเพิ่มขึ้น จึงกล่าวได้ว่าใบจามจุรีปลอดเชื้อที่เติมลงในดินมีผลในการลดลงของสาร PAHs และการเจริญของจุลินทรีย์ในดิน (นารีรัตน์ เจริญช่าง, 2544) ซึ่งจุลินทรีย์ในดินสามารถเจริญและย่อยสลาย ฟีแนนทรีนได้เพียงอย่างเดียวเท่านั้น อาจเป็นเพราะฟีแนนทรีนเป็นสาร PAHs ที่มีน้ำหนักโมเลกุลน้อยกว่าไพรีนจึงเกิดการย่อยสลายโดยแบคทีเรียได้ง่ายกว่า (Sardar และคณะ, 2008) แต่การย่อยสลายเกิดขึ้นได้ไม่มากเนื่องจากจำนวนแบคทีเรียที่ย่อยสลายสาร PAHs ในดินมีเพียง 4 log CFU/กรัม เท่านั้น

ในชุดการทดลองการย่อยสลายไพรีนและฟีแนนทรีนในดินสวนโดยเซลล์ตรึงกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 บนใบจามจุรีปลอดเชื้อ เพื่อศึกษาความสามารถของกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่ตรึงบนใบจามจุรีในการย่อยสลายสาร PAHs ในดิน พบว่าปริมาณไพรีนและฟีแนนทรีนลดลงอย่างรวดเร็วจนหมดในวันที่ 3 ของการทดลอง เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ใช้ใบจามจุรีปลอดเชื้อเพียงอย่างเดียวซึ่งยังคงมีปริมาณไพรีนและฟีแนนทรีนอยู่สูงจะเห็นว่าเซลล์ตรึงบนใบจามจุรีมีประสิทธิภาพในการย่อยสลายไพรีนและฟีแนนทรีนได้ดีกว่าจุลินทรีย์ในดิน สอดคล้องกับจำนวนกลุ่มแบคทีเรียที่เติมลงไปและแบคทีเรียทั้งหมดในดินที่มีจำนวนเพิ่มขึ้นใน 3 วันแรกและลดลงเล็กน้อยจนสิ้นสุดการทดลองเช่นเดียวกับจำนวนกลุ่มแบคทีเรียที่สามารถย่อยสาร PAHs ได้ ซึ่งเป็นผลจากการที่กลุ่มแบคทีเรียย่อยสลายไพรีนและฟีแนนทรีนเพื่อใช้ในการเจริญ ดังรายงานของ Van Dyke และ Prosser (2000) ที่ตรึงเชื้อ *Pseudomonas fluorescens* ในดินปลอดเชื้อที่เวลาต่างๆก่อนนำไปบำบัดสาร PAHs ที่ปนเปื้อนในดินพบว่ามีการอยู่รอดและการย่อยสลายเพิ่มมากขึ้น นอกจากนี้ใบจามจุรียังมีอัตราส่วนปริมาณคาร์บอนต่อปริมาณไนโตรเจน 17.25:1 ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับอัตราส่วนที่เหมาะสมต่อการย่อยสาร PAHs คือ 10:1 ดังรายงานของ Vidali (2001) ที่ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการย่อยสลายสาร PAHs ในดิน พบว่าอัตราส่วนของคาร์บอนต่อไนโตรเจนต่อฟอสฟอรัส (C:N:P) ควรมีค่าเป็น 100:10:1

ในชุดการทดลองการย่อยสลายไพรีนและฟีแนนทรีนในดินสวนโดยเซลล์ตรึงกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 บนฟางข้าวปลอดเชื้อ พบว่าปริมาณไพรีนและฟีแนนทรีนลดลงอย่างรวดเร็วจนไม่สามารถ

ตรวจพบฟีแนนทรีนในวันที่ 7 และไพรีนในวันที่ 10 ของการทดลอง สอดคล้องกับจำนวนกลุ่มแบคทีเรียที่เติมลงไปและแบคทีเรียทั้งหมดในดินที่มีจำนวนเพิ่มขึ้นใน 3 วันแรกและลดลงเล็กน้อยจนสิ้นสุดการทดลองเช่นเดียวกับจำนวนกลุ่มแบคทีเรียที่สามารถย่อยสาร PAHs ที่มีจำนวนสูงสุดในวันที่ 3 แสดงให้เห็นว่าเซลล์ตรึงบนฟางข้าวมีประสิทธิภาพในการย่อยสลายไพรีนและฟีแนนทรีนได้ดี ดังงานวิจัยของ Krishna (2005) ที่ทำการบำบัดสาร PAHs ที่ปนเปื้อนในดิน โดยเลี้ยงเชื้อ *Pseudomonas* sp. บนวัสดุทางการเกษตร เช่น ฟางข้าว เปลือกข้าว พบว่า *Pseudomonas* sp. สามารถเจริญและอยู่รอดบนวัสดุทางการเกษตรและมีความสามารถย่อยสลาย PAHs ได้ดี เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่เติมเฉพาะฟางข้าวลงในดิน พบว่ามีปริมาณไพรีนและฟีแนนทรีนเหลืออยู่ 59.9% และ 68.85% ตามลำดับในวันที่ 35 ซึ่งมีปริมาณลดลงมากกว่าในชุดดินไม่ปลอดเชื้อ และแนวโน้มการเจริญของแบคทีเรียทั้งหมดในดินสูงขึ้น แสดงว่าฟางข้าวที่เติมลงไปนั้นมีผลต่อการลดลงของไพรีนและฟีแนนทรีน ทั้งนี้ที่ผิวของฟางข้าวประกอบด้วยส่วนที่เป็นไขซึ่งไม่ชอบน้ำเคลือบอยู่ที่ผิวชั้นนอกสุด (Wang และคณะ, 2005) ส่วนที่เป็นไขนี้จะสะสมและละลายสาร PAHs ทำให้ฟางข้าวดูดสาร PAHs เอาไว้ (Staci และคณะ, 1994) จุลินทรีย์จึงนำสาร PAHs ไปใช้ได้ง่ายขึ้น

ในชุดการทดลองการย่อยสลายไพรีนและฟีแนนทรีนในดินสวนโดยเซลล์ตรึงกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 บนใยบวบปลอดเชื้อ พบว่าปริมาณไพรีนและฟีแนนทรีนลดลงจนหมดในวันที่ 10 ของการทดลอง ซึ่งอัตราการย่อยสลายสาร PAHs ทั้งสองชนิดโดยใช้เซลล์ตรึงบนใยบวบเกิดขึ้นช้ากว่าการใช้เซลล์ตรึงบนวัสดุทางการเกษตรชนิดอื่น อาจเป็นผลจากใยบวบมีลักษณะโครงสร้างเป็นตาข่ายที่จับกันแน่น ทำให้จุลินทรีย์ยึดเกาะยาก เมื่อเติมใยบวบที่มีเซลล์ตรึงอยู่ลงในดิน กลุ่มแบคทีเรียอาจหลุดจากใยบวบและมีจำนวนลดลง ทำให้การย่อยสลายเกิดขึ้นช้าเนื่องจากกลุ่มแบคทีเรียจำเป็นต้องปรับตัวให้เข้ากับสิ่งแวดล้อม เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่เติมเฉพาะใยบวบปลอดเชื้อลงในดิน พบว่ามีปริมาณไพรีนและฟีแนนทรีนเหลืออยู่ 70.49% และ 80.85% ตามลำดับในวันที่ 35 ใกล้เคียงกับในชุดควบคุมที่ใช้ดินไม่ปลอดเชื้อเพียงอย่างเดียว แสดงว่าใยบวบที่เติมลงไปไม่มีผลทำให้จุลินทรีย์ในดินย่อยสลายสาร PAHs ทั้งสองชนิด ทั้งนี้น่าจะเป็นผลจากลักษณะโครงสร้างของใยบวบทำให้ไม่สามารถดูดซับสาร PAHs เอาไว้ได้ (Ogbonna และคณะ, 1994) สาร PAHs จึงถูกดูดซับกับอนุภาคดิน ทำให้ยากต่อการย่อยสลาย (Lundstedt และคณะ, 2003)

ในชุดการทดลองการย่อยสลายไพรีนและฟีแนนทรีนในดินสวนโดยเซลล์ตรึงกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 บนนมผักกระเฉดปลอดเชื้อ พบว่าปริมาณไพรีนและฟีแนนทรีนลดลงอย่างรวดเร็วจนไม่สามารถตรวจพบฟีแนนทรีนในวันที่ 3 และไพรีนในวันที่ 7 ของการทดลอง สอดคล้องกับการเพิ่มจำนวนแบคทีเรียที่สูงขึ้น แสดงให้เห็นว่าเซลล์ตรึงบนนมผักกระเฉดมีประสิทธิภาพในการย่อยสลาย

ไพรีนและฟีแนนทรีนได้ดี ซึ่งอัตราการย่อยสลายสาร PAHs ทั้งสองชนิดโดยใช้เซลล์ตรึงบนผักกระเฉดมีค่าใกล้เคียงกับเซลล์ตรึงบนใบจามจุรี อาจเป็นเพราะนมผักกระเฉดมีอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนใกล้เคียงกับใบจามจุรี คือมีค่าประมาณ 10:1 เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่เติมเฉพาะนมผักกระเฉดปลอดเชื้อลงในดิน พบว่ามีปริมาณไพรีนและฟีแนนทรีนเหลืออยู่ 75.08% และ 68.12% ตามลำดับในวันที่ 35 ซึ่งปริมาณไพรีนเหลืออยู่ใกล้เคียงและปริมาณฟีแนนทรีนเหลืออยู่น้อยกว่าในดินไม่ปลอดเชื้อเพียงอย่างเดียว แสดงว่านมผักกระเฉดที่เติมลงไปมีผลทำให้จุลินทรีย์ในดินมีการย่อยสลายฟีแนนทรีนได้เพียงอย่างเดียวเท่านั้น

การทดสอบการย่อยสลายไพรีนและฟีแนนทรีนในดินสวนโดยกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่เลี้ยงในอาหารเหลว CFMM พบว่าปริมาณไพรีนและฟีแนนทรีนลดลงจนหมดในวันที่ 21 และ 14 ของการทดลองตามลำดับ สอดคล้องกับจำนวนแบคทีเรียทั้งหมดที่เพิ่มจำนวนสูงขึ้นและลดลงจนกระทั่งสิ้นสุดการทดลอง เมื่อเปรียบเทียบกับชุดการทดลองที่ใช้เซลล์ตรึงในวัสดุทางการเกษตร พบว่าหัวเชื้อกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่ตรึงบนวัสดุทางการเกษตรมีประสิทธิภาพในการย่อยสลายสาร PAHs และมีการอยู่รอดได้สูงกว่าหัวเชื้อที่เตรียมในอาหารเหลว CFMM ทั้งนี้เนื่องจากการเติมจุลินทรีย์ลงในดินปนเปื้อนโดยตรง จุลินทรีย์ต้องใช้เวลาปรับตัวให้เข้ากับสภาวะแวดล้อมบริเวณที่มีการปนเปื้อนทำให้ย่อยสลายสาร PAHs เกิดได้ช้า (Wilson และ Jones, 1993)

จากผลการบำบัดไพรีนและฟีแนนทรีนความเข้มข้น 0.05 มิลลิกรัมต่อกรัม ที่ปนเปื้อนในดินของกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่ตรึงบนใบจามจุรี ฟางข้าว ใยบวบและนมผักกระเฉด จะเห็นว่ากลุ่มแบคทีเรียที่ตรึงบนวัสดุทางการเกษตรทั้ง 4 ชนิดมีประสิทธิภาพในการย่อยสลายไพรีนและฟีแนนทรีนได้ดีและหมดอย่างรวดเร็ว ซึ่งกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่ตรึงบนใบจามจุรีมีประสิทธิภาพในการย่อยสลายสาร PAHs ทั้งสองชนิดได้ดีที่สุด ดังนั้นจึงศึกษาประสิทธิภาพการย่อยสลายไพรีนและฟีแนนทรีนโดยเพิ่มความเข้มข้นของสาร PAHs ทั้งสองชนิดขึ้นเป็น 10 เท่า กล่าวคือไพรีนและฟีแนนทรีนความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อกรัม ผสมในดิน 2 แหล่งได้แก่ดินสวนและดินอู่ซ่อมรถโดยใช้กลุ่มแบคทีเรียที่ตรึงบนใบจามจุรีในงานทดลองต่อไป

การทดสอบการย่อยสลายไพรีนและฟีแนนทรีนความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อกรัม ในดินสวน พบว่าในชุดควบคุมที่ใช้ดินสวนปลอดเชื้อผสมไพรีนและฟีแนนทรีน เพื่อตรวจสอบการลดลงของสาร PAHs โดยปัจจัยทางกายภาพ ไพรีนและฟีแนนทรีนสามารถสลายตัวไปจากดินได้เล็กน้อยเพียง 26.34% และ 26.84% ตามลำดับ ซึ่งการสลายตัวนี้อาจเกิดจากปัจจัยทางกายภาพต่างๆ เช่นการกลายเป็นไอ การสลายโดยแสง หรือถูกดูดซับในอนุภาคดิน (Wiessenfels และคณะ, 1992) ในชุดควบคุมที่ใช้ดินไม่ปลอดเชื้อผสมไพรีนและฟีแนนทรีนพบว่ามีไพรีนและฟีแนนทรีนเหลืออยู่ 62.36 %

และ 69.13 % หลังจากสิ้นสุดการทดลอง ซึ่งมีระดับต่ำกว่าในชุดควบคุมดินปลอดเชื้อเล็กน้อย ในขณะที่แบคทีเรียทั้งหมดในดินมีจำนวนลดลงจนสิ้นสุดการทดลอง ปริมาณไพรีนและฟีแนนทรีนที่ลดลงจึงน่าจะเป็นผลจากการสลายตัวทางกายภาพมากกว่าทางชีวภาพ โดยเฉพาะอย่างยิ่งการถูกดูดซับกับดิน เนื่องจากความเข้มข้นของสาร PAHs ที่สูงขึ้น การดูดซับของสารไม่มีขั้วกับอนุภาคดินจึงเพิ่มขึ้น สารเกาะติดแน่นกับดินทำให้สกัด PAHs ออกมาได้ยาก (Maria, 1999) ส่วนการเจริญของแบคทีเรียที่ยังมีอยู่น่าจะเกิดจากการใช้คาร์บอนและสารอาหารในดิน เนื่องจากดินมีสารอาหารที่จำเป็นต่อการเจริญของจุลินทรีย์ เช่น ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส ทั้งนี้ดินที่นำมาใช้ในการทดลองเป็นดินที่ไม่เคยมีการปนเปื้อนสาร PAHs มาก่อน จึงทำให้จุลินทรีย์ในดินไม่มีความคุ้นเคยกับสาร PAHs จึงอาจมีการปรับตัวเพื่อย่อยสลายสาร PAHs ได้ช้า (Trejo-Hernandez และ Quintero, 2000)

เมื่อเติมใบจามจุรีปลอดเชื้อลงในดินเพื่อศึกษาผลของใบจามจุรีต่อการย่อยสลายสาร PAHs พบว่ามีปริมาณไพรีนเหลืออยู่ใกล้เคียงกับในชุดควบคุมดินไม่ปลอดเชื้อ และปริมาณฟีแนนทรีนเหลืออยู่น้อยกว่าเล็กน้อย คือ 65.26 % และ 61.12 %ตามลำดับหลังจากการทดลอง 35 วัน จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า ใบจามจุรีที่เติมลงในดินมีผลช่วยทำให้จุลินทรีย์ในดินเพิ่มความสามารถในการย่อยสลายฟีแนนทรีนได้เพียงเล็กน้อย สอดคล้องกับการนับจำนวนแบคทีเรียทั้งหมดในดิน ที่มีการเจริญของแบคทีเรียเพิ่มขึ้น (Hupe และคณะ, 1996)

เมื่อทดสอบการย่อยสลายไพรีนและฟีแนนทรีนในดินสวนโดยกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่เตรียมเป็นหัวเชื้อ 2 ชนิด พบว่า ชุดที่เติมกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่เตรียมในอาหารเหลว CFMM ปริมาณไพรีนและฟีแนนทรีนมีการสลายตัวอย่างต่อเนื่องเหลืออยู่ 41.06% และ 34.43% ตามลำดับ เมื่อเทียบกับชุดที่ใช้หัวเชื้อกลุ่มแบคทีเรียที่ตรึงบนใบจามจุรี พบว่าปริมาณไพรีนและฟีแนนทรีนที่คงเหลืออยู่ทั้งสองชุดการทดลองใกล้เคียงกันคือ 40.29% และ 29.96% ในวันที่ 35 ซึ่งน่าจะเป็นผลจากการที่ความเข้มข้นของสาร PAHs เพิ่มขึ้นทำให้สารถูกดูดซึมเข้าสู่ภายในอนุภาคดินสูง แบคทีเรียที่เกาะติดอยู่กับใบจามจุรีจึงมีข้อจำกัดเรื่องพื้นที่ผิวสัมผัสกับสาร PAHs (Verstraete และ Devliegher, 1996) ในขณะที่กลุ่มแบคทีเรียที่เตรียมสดสามารถสัมผัสและแทรกซึมเข้าไปในอนุภาคดินได้โดยตรง จึงทำให้ผลการย่อยสลายในชุดการทดลองทั้งสองมีค่าที่ใกล้เคียงกัน

การย่อยสลายไพรีนและฟีแนนทรีนความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อกรัม ในดินอู่ซ่อมรถที่มีการปนเปื้อนของน้ำมันอย่างต่อเนื่องเป็นระยะเวลานาน ในชุดควบคุมดินปลอดเชื้อผสมไพรีนและฟีแนนทรีน พบว่าตลอดระยะเวลาการทดลองมีไพรีนและฟีแนนทรีนสลายตัวไปเล็กน้อยคือ 23.12% และ 29.82% ในขณะที่ชุดควบคุมที่ใช้ดินไม่ปลอดเชื้อผสมไพรีนและฟีแนนทรีนมีปริมาณสาร PAHs ทั้งสองชนิดลดลงอย่างมากเหลือ 47.06% และ 15.72 % และจากการนับจำนวนแบคทีเรียทั้งหมด

และแบคทีเรียที่ย่อยสลายสาร PAHs ได้ในดิน พบว่าการเจริญของแบคทีเรียมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น แสดงว่าจุลินทรีย์ในดินอู่ซ่อมรถช่วยทำให้เกิดการย่อยสลายไพรีนและฟีแนนทรีนเพื่อใช้ในการเจริญ ทั้งนี้ดินอู่ซ่อมรถมีการปนเปื้อนของน้ำมันมาเป็นระยะเวลานาน จึงเป็นไปได้ว่าทำให้เชื้อประจำถิ่นคุ้นเคยและมีประสิทธิภาพในการย่อยสลายสาร PAHs ได้ดี (Vidali, 2002)

เมื่อศึกษาผลของใบจามจุรีต่อการย่อยสลายไพรีนและฟีแนนทรีนในดินอู่ซ่อมรถ พบว่าดินที่เติมใบจามจุรีปลอดเชื้อมีการลดลงของไพรีนและฟีแนนทรีนอย่างมาก โดยปริมาณฟีแนนทรีนลดลงจนไม่สามารถตรวจสอบได้ในวันที่ 21 ของการทดลองและปริมาณไพรีนเหลือเพียง 1.55% เมื่อสิ้นสุดการทดลอง 35 วัน และจากการนับจำนวนแบคทีเรียทั้งหมดและแบคทีเรียที่ย่อยสลายสาร PAHs ได้ในดิน พบว่าจุลินทรีย์มีการเพิ่มจำนวนมากขึ้น แสดงว่าใบจามจุรีที่เติมลงไปมีผลต่อจุลินทรีย์ในดินทำให้สามารถเจริญและย่อยสลายสาร PAHs ได้มากขึ้น เนื่องจากการเติมใบจามจุรีหรือสารอินทรีย์ชนิดอื่นๆ เป็นการเพิ่มสารอาหารและการถ่ายเทอากาศ เป็นการช่วยปรับสภาวะต่างๆให้เหมาะสมต่อการดำรงชีวิตของจุลินทรีย์ในดิน โดยเฉพาะอย่างยิ่งในแหล่งดินที่มีการปนเปื้อนของสาร PAHs มาก่อนเป็นระยะเวลานานและมีจุลินทรีย์ที่ปรับตัวคุ้นเคยกับสาร PAHs อยู่แล้ว จะช่วยกระตุ้นการเจริญของจุลินทรีย์ประจำถิ่นในดินให้สามารถย่อยสลายสาร PAHs ได้รวดเร็วขึ้น (Trejo-Hernandez และ Quintero, 2000) ในกรณีนี้เป็นการบำบัดแบบ Biostimulation นั่นเอง ดังงานวิจัยของ Reda และ Bayoumi (2009) ที่เติมฟางข้าวลงในดินที่ปนเปื้อนน้ำมันมาก่อน สามารถทำให้สาร PAHs ทุกชนิดในน้ำมันถูกย่อยสลายได้หมดภายในเวลา 21 วัน และการย่อยสลายมีประสิทธิภาพสูงขึ้นเมื่อเติมกลุ่มแบคทีเรียร่วมกับวัสดุทางการเกษตร

เมื่อทดสอบการย่อยสลายไพรีนและฟีแนนทรีนในดินอู่ซ่อมรถโดยเติมกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่เตรียมเป็นหัวเชื้อ 2 ชนิดในดิน พบว่า ชุดที่การทดลองที่เติมหัวเชื้อที่เตรียมในอาหาร CFMM ลงในดินมีการลดลงของไพรีนและฟีแนนทรีนจนไม่สามารถตรวจพบได้ในวันที่ 3 ของการทดลอง และมีแนวโน้มการเจริญของแบคทีเรียทั้งหมดและแบคทีเรียที่ย่อยสลายสาร PAHs ในดินเพิ่มขึ้น ในขณะที่ดินที่เติมกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่ตรึงบนใบจามจุรี มีการลดลงของไพรีนและฟีแนนทรีนจนหมดในวันที่ 21 ของการทดลอง การย่อยสลายของเซลล์ที่ตรึงบนใบจามจุรีที่เกิดขึ้นช้ากว่าเชื้อสดน่าจะมีสาเหตุจากเมื่อเติมกลุ่มแบคทีเรียที่ตรึงบนใบจามจุรีลงไป จุลินทรีย์ในดินน่าจะใช้สารอาหารที่มีในใบจามจุรีเพื่อการเจริญก่อนแล้วจึงใช้ไพรีนและฟีแนนทรีนเป็นแหล่งคาร์บอน การย่อยสลายสาร PAHs จึงเกิดได้ช้า นอกจากนี้ดินที่มีความเข้มข้นของสาร PAHsสูง สารดังกล่าวจะถูกดูดซับกับอนุภาคดินมากขึ้น Maria (1999) กลุ่มแบคทีเรียที่จับเกาะในใบจามจุรีจึงสัมผัสกับสาร

นั้นได้น้อยกว่าการเติมเชื้อสดที่มีเซลล์อิสระแทรกเข้าไปในอนุภาคของดินจึงทำให้การย่อยสลายเกิดขึ้นช้ากว่า

เมื่อทำการติดตามพลวัตประชากรกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ในช่วงเวลาของการบำบัดโดยใช้เทคนิค Denaturing Gradient Gel Electrophoresis (DGGE) ในชุดที่เติมกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่ตรึงบนใบจามจุรีปลอดเชื้อลงในดินสวนปนเปื้อนไพรีนและฟีแนนทรีนความเข้มข้น 0.05 มิลลิกรัมต่อกรัมดิน ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า โครงสร้างของประชากรแบคทีเรียมีความหลากหลายมากกว่าในชุดที่ใช้กลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 เป็นชุดควบคุมผลบวก ซึ่งวันที่ 21 ของการบำบัด มีจำนวนความหลากของประชากรแบคทีเรียมากที่สุด และยังคงมีแถบดีเอ็นเอที่ตรงกับของกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ในชุดควบคุมปรากฏอยู่ แถบดีเอ็นเอที่เกิดขึ้นในโปรไฟล์ DGGE นี้จะแตกต่างกันเมื่อเวลาผ่านไป เป็นเพราะกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 และจุลินทรีย์ในดินดิน ย่อยสลายไพรีนและฟีแนนทรีนและเกิดสารมัธยันตร์ขึ้นหลายชนิด ซึ่งแบคทีเรียแต่ละชนิดอาจใช้สารมัธยันตร์และสารอาหารที่แตกต่างกันในการเจริญ ทำให้มีการเจริญไม่เท่ากัน

เมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพการย่อยสลายไพรีนและฟีแนนทรีนในดินที่มีความเข้มข้นต่างกันโดยหัวเชื้อที่ตรึงบนวัสดุทางการเกษตรและหัวเชื้อที่เตรียมในอาหารเหลว CFMM พบว่ากลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่ตรึงบนวัสดุทางการเกษตรมีประสิทธิภาพในการย่อยสลายไพรีนและฟีแนนทรีนความเข้มข้น 0.05 มิลลิกรัมต่อกรัม ในดินได้ดีกว่าการใช้หัวเชื้อที่เตรียมสด ในขณะที่ดินปนเปื้อนสาร PAHs ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อกรัม ประสิทธิภาพการย่อยสลายของหัวเชื้อทั้งสองชนิดมีใกล้เคียงกัน ทั้งนี้เมื่อใช้ดินจากต่างแหล่งผลที่ได้กลับแตกต่างกัน โดยเชื้อที่เตรียมสดย่อยสลายสาร PAHs ได้เร็วกว่าเชื้อที่ตรึงบนวัสดุทางการเกษตร อย่างไรก็ตามดินที่ใช้ในการทดลองเป็นดินมาจากแหล่งที่ต่างกัน จึงมีปัจจัยทางกายภาพและชีวภาพของดินที่ต่างกัน เช่น ภาวะการล่า (predation) ระหว่างกลุ่มแบคทีเรียกับโปรโตซัวในดิน ภาวะการแก่งแย่ง (competition) ระหว่างกลุ่มแบคทีเรียที่เติมลงไปและแบคทีเรียในดิน รวมทั้งสมบัติต่างๆของดิน เช่น แร่ธาตุ สารอินทรีย์คาร์บอน อุณหภูมิ แรงตึงผิวของน้ำ หรือปริมาณสารที่เป็นพิษในดิน ซึ่งเป็นปัจจัยที่ส่งผลต่อการอยู่รอดของแบคทีเรียที่เติมลงในดิน (Van Veen และคณะ, 1997)

จากงานวิจัยนี้แสดงให้เห็นว่าสามารถนำวัสดุทางการเกษตรได้แก่ ใบจามจุรี ฟางข้าว ใยบวบ และนมผักกระเฉดมาใช้เป็นวัสดุพาหะในการตรึงกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 เพื่อทำให้เกิดสภาวะที่เหมาะสมต่อการเพิ่มความสามารถในการย่อยสลายสาร PAHs ก่อนที่จะเติมลงไปในดินปนเปื้อนได้อย่างมีประสิทธิภาพ นอกจากนี้ใบจามจุรียังมีส่วนช่วยส่งเสริมให้จุลินทรีย์ประจำถิ่นที่คุ้นเคยและสามารถย่อยสารได้เกิดการย่อยสลายสารปนเปื้อนในดินบริเวณนั้นได้อีกด้วย