บทที่ 5

สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากผลการทดสอบการย่อยสลายไพรีน/ฟีแนนทรีนและ น้ำมันดีเซลทั้งในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว CFMM และในดิน โดยกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 และ PDE4 หรือแบคทีเรียผสม ที่เตรียมสดหรือผ่านการไลโอฟิไลเซชัน สามารถสรุปผลการทดลองได้เป็นดังตารางที่ 5.1

ตารางที่ 5.1 สรุปผลการย่อยสลายไพรีน/ฟีแนนทรีนและ น้ำมันดีเซล โดยกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 และ PDE4

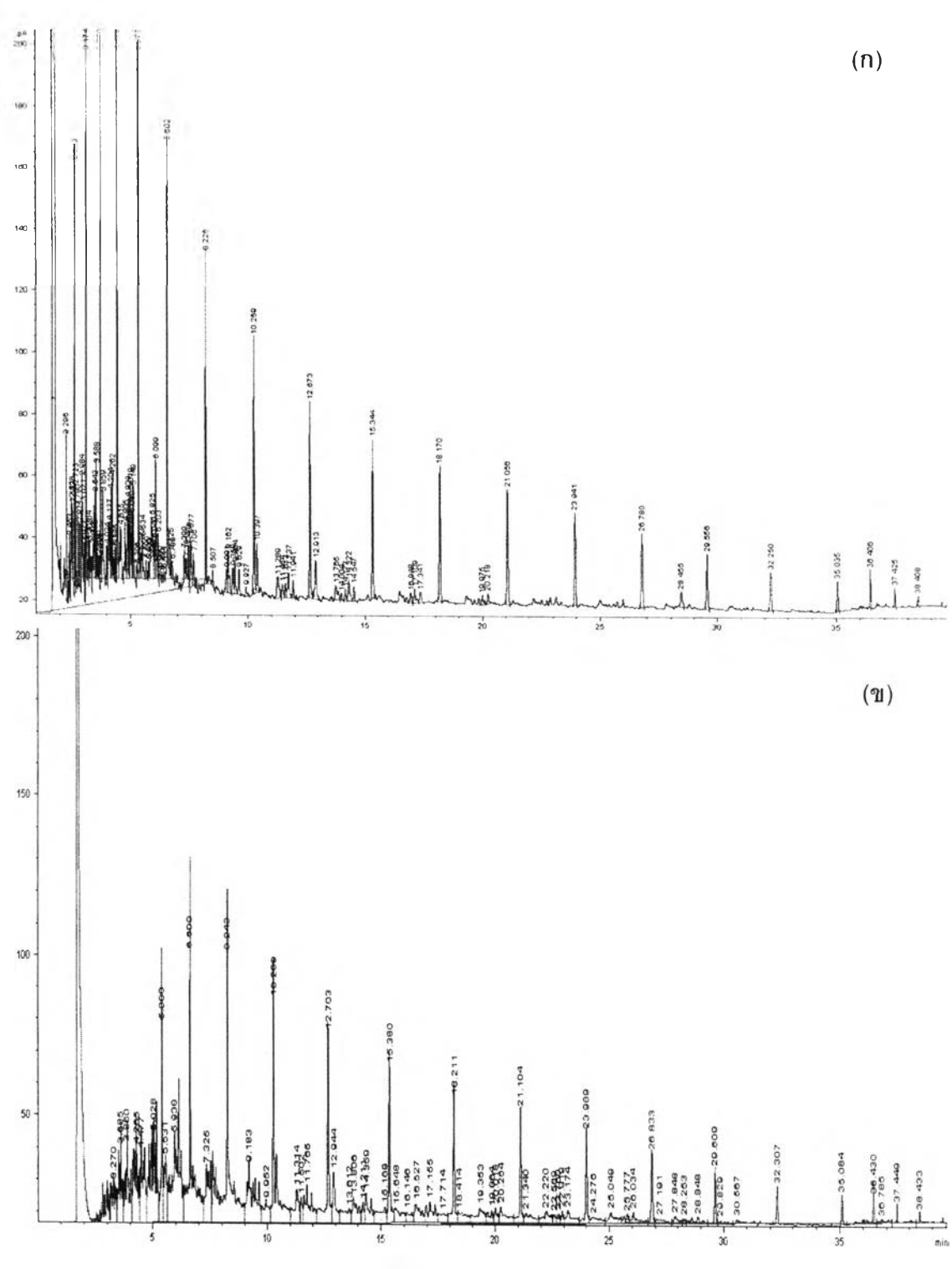
กลุ่มแบคทีเรีย	ชนิด	PAHs		น้ำมันดีเซล	หมายเหตุ
		ฟีแนนทรีน	ไพรีน		
RRM-V3	เตรียมสด	หมดวันที่ 1	หมดวันที่ 1	57.05±6.0% วันที่ 14	ทดลองในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว
	ไลโอฟิไลเซชัน	หมดวันที่ 3	หมดวันที่ 14	ND	
PDE4	เตรียมสด	79.78±17.7% วันที่ 14	76.52±17.3% วันที่ 14	9.59±9.6% วันที่ 14	
	ไลโอฟิไลเซชัน	ND	ND	66.69±32.6% วันที่ 14	
ชุดควบคุม		64.09±10.9% วันที่ 14	92.02±12.1% วันที่ 14	80.29±11.1% วันที่ 14	
RRM-V3/ PDE4	เตรียมสด	หมดวันที่ 7	วันที่ 7 44.54±25.6%	75.27±10.5% วันที่ 14	ทดลองในดิน*
	ไลโอฟิไลเซชัน	39.85±5.4% วันที่ 14	42.77±5.8% วันที่ 14	41.51±4.8% วันที่ 14	
ชุดควบคุม		62.5±33.0% วันที่ 14	66.7±14.6% วันที่ 14	73.16±22.6% วันที่ 14	

ND ไม่ได้ทำการทดสอบ, * ผสมไพรีน/ฟีแนนทรีนและ น้ำมันดีเซลในดิน

การทดสอบการย่อยสลายไพรีนและฟีแนนทรีน ในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว CFMM โดยกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่เตรียมสด พบว่ากลุ่มแบคทีเรียสามารถย่อยสลายทั้งไพรีนและฟีแนนทรีนหมดในวันที่ 1 ของการทดลอง เมื่อเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่เติมกลุ่มแบคทีเรียปริมาณไพรีนและฟีแนนทรีนมีการสลายตัวเหลือ 92.02±12.1% และ 64.09±10.9% ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับการเพิ่มจำนวนมากขึ้นของกลุ่มแบคทีเรีย (รูปที่ 4.2ก) และเมื่อเปรียบเทียบผลการทดลองนี้กับงานวิจัยของ จีรทีปฆ์ แสนรัก (2547) ซึ่งทดสอบกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ในการย่อยสลายไพรีนความเข้มข้น 0.1 กรัมต่อลิตร หมดในเวลา 14 วัน พบว่ากลุ่มแบคทีเรียในการทดลองนี้สามารถย่อยสลายไพรีนและฟีแนนทรีนได้เร็วกว่าจีรทีปฆ์ แสนรัก อาจเนื่องจากความเข้มข้นของไพรีนและฟีแนนทรีนในการทดลองนี้น้อยกว่างานวิจัยของ จีรทีปฆ์ แสนรัก จึงพบการย่อยสลายที่เร็วกว่า อย่างไรก็ตามกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่เตรียมสดยังคงความสามารถในการย่อยสลายไพรีนและฟีแนนทรีนได้ดี

การทดสอบการย่อยสลายน้ำมันดีเซลในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว CFMM โดยกลุ่มแบคทีเรีย PDE4 ที่เตรียมสด พบว่ากลุ่มแบคทีเรียสามารถย่อยสลายน้ำมันดีเซลเหลือ 9.59±9.6% เมื่อเทียบกับชุดควบคุมที่มีการสลายตัวของน้ำมันดีเซลเหลือ 80.29±11.1% ในวันที่ 14 ของการทดลอง รวมถึงพบการเจริญของกลุ่มแบคทีเรียเพิ่มมากขึ้น (รูปที่ 4.3) เมื่อเปรียบเทียบผลการทดลองนี้กับงานวิจัยของ ภัทราพร กวีสุทธิกุล (2550) ที่ทดสอบกลุ่มแบคทีเรีย PDE4 ในการย่อยสลาย 1% น้ำมันดีเซลในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว เหลือปริมาณน้ำมันดีเซล 10.47% ในวันที่ 14 พบว่ากลุ่มแบคทีเรียมีการย่อยสลายได้ดีเช่นเดียวกัน แสดงถึงกลุ่มแบคทีเรีย PDE4 ที่เตรียมสด ยังคงความสามารถในการย่อยสลายน้ำมันดีเซลได้ดี

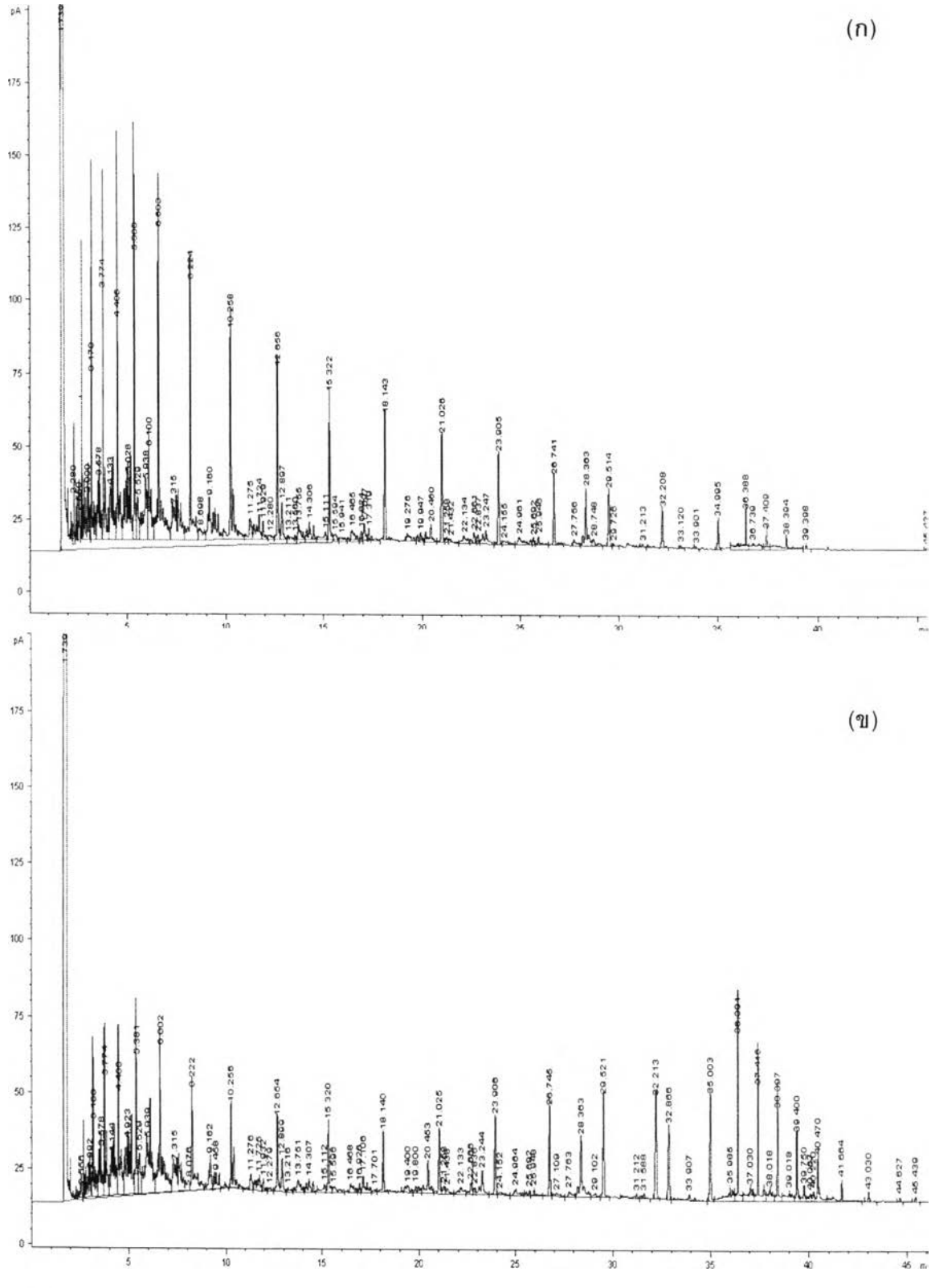
การทดสอบการย่อยสลายน้ำมันดีเซลในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว CFMM โดยกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่เตรียมสด ทำการทดลองเนื่องจากกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 สามารถย่อย PAHs ซึ่งเป็นองค์ประกอบหลักในน้ำมันดีเซล (IARC, 1989) จึงน่าจะย่อยน้ำมันดีเซลได้ ผลการทดลองพบว่าเหลือปริมาณน้ำมันดีเซล 57.05±6.0% เมื่อเทียบกับชุดควบคุมที่มีการสลายตัวของน้ำมันดีเซลเหลือ 80.29±11.1%ในวันที่ 14 และจำนวนกลุ่มแบคทีเรียมีการเพิ่มจำนวนมากขึ้น (รูปที่ 4.3) แสดงว่ากลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 สามารถย่อยสลายน้ำมันดีเซลได้บ้าง แต่มีการย่อยสลายได้น้อยกว่ากลุ่มแบคทีเรีย PDE4 ที่เตรียมสด (รูปที่ 4.3) อาจเนื่องจากกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 เลือกย่อยสลายสารประกอบไฮโดรคาร์บอนอิ่มตัวที่ย่อยสลายได้ง่ายกว่าสารประกอบไฮโดรคาร์บอนที่เป็นวง จาก GC โครมาโตแกรม (รูปที่ 5.1) ของปริมาณน้ำมันดีเซลที่ย่อยสลายโดยกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 จะพบว่าพีคในช่วงเวลา 0-10 นาทีแรกซึ่งคาดว่าจะเป็นสารประกอบไฮโดรคาร์บอนอิ่มตัว มีการลดลงมากกว่า



รูปที่ 5.1 GC โครมาโตแกรมของปริมาณน้ำมันดีเซลที่ย่อยสลายโดยกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่เตรียมสด (ก) ปริมาณน้ำมันดีเซลในวันที่ 0 (ข) ปริมาณน้ำมันดีเซลในวันที่ 7

พีคที่ช่วงเวลา 10 นาทีเป็นต้นไปซึ่งคาดว่าจะเป็นสารประกอบไฮโดรคาร์บอนที่เป็นวง

การทดสอบการย่อยสลายไพรีนและฟีแนนทรีนในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว CFMM โดยกลุ่มแบคทีเรีย PDE4 ที่เตรียมสด ทำการทดลองเนื่องจากกลุ่มแบคทีเรีย PDE4 สามารถย่อยสลายน้ำมันดีเซลซึ่งมี PAHs เป็นองค์ประกอบหลัก (IARC, 1989) จึงน่าจะย่อยสลายไพรีนและฟีแนนทรีนซึ่งเป็นองค์ประกอบในน้ำมันดีเซลได้ (Carman และ Means, 1998) แต่กลับพบว่ากลุ่มแบคทีเรีย PDE4 ที่เตรียมสดนี้ ไม่สามารถย่อยสลายไพรีนและฟีแนนทรีนได้ และเมื่อนับจำนวนกลุ่มแบคทีเรียพบว่าไม่มีการเพิ่มจำนวน (รูปที่ 4.2ข) อาจเนื่องจากกลุ่มแบคทีเรีย PDE4 เลือกย่อยสลายสารประกอบไฮโดรคาร์บอนอิ่มตัวที่ย่อยสลายได้ง่ายกว่าก่อนย่อยสลายสารประกอบไฮโดรคาร์บอนที่เป็นวง จาก GC โครมาโตแกรม (รูปที่ 5.2) ของปริมาณน้ำมันดีเซลที่ย่อยสลายโดยกลุ่มแบคทีเรีย PDE4 จะพบว่าพีคในช่วงเวลา 0-10 นาทีแรกซึ่งคาดว่าจะเป็นสารประกอบไฮโดรคาร์บอนอิ่มตัว มีการลดลงมากกว่าพีคที่ช่วงเวลา 10 นาทีเป็นต้นไปซึ่งคาดว่าจะเป็นสารประกอบไฮโดรคาร์บอนที่เป็นวง ในวันที่ 1 ของการทดลอง ผลวิจัยนี้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Weekers และคณะ (1998) ซึ่งพบว่าแบคทีเรียที่ทำการคัดแยกจากดินปนเปื้อนน้ำมันดีเซลนั้น ไม่สามารถเจริญได้โดยใช้ PAHs (แนพทาลีน ฟีแนนทรีน และแอนทราซีน ผสมกัน) แต่จะเกิดการย่อยสลายสารโมเลกุลที่ย่อยสลายได้ง่าย เช่น เอ็น-เอลเคน หรือสารประกอบที่เป็นวงที่มีโครงสร้างไม่ซับซ้อน เพื่อเป็นแหล่งคาร์บอนในการเจริญ อีกเหตุผลที่กลุ่มแบคทีเรีย PDE4 ไม่สามารถย่อยสลายไพรีนและฟีแนนทรีนได้ อาจเนื่องจากความจำเพาะต่อซับสเตรท คือสามารถย่อยสลายน้ำมันดีเซลได้ แต่ไม่ย่อยสลายสารที่ไม่ได้มีอยู่ในน้ำมันดีเซลตั้งแต่ต้น ซึ่งคือไพรีนและฟีแนนทรีนที่ใช้ทดลอง ซึ่งงานวิจัยของ Weekers และคณะ (1998) พบว่าแบคทีเรียที่คัดแยกจากดินที่ปนเปื้อนน้ำมันดีเซลสามารถเจริญได้โดยใช้น้ำมันดีเซลแต่ไม่สามารถเจริญได้โดยใช้ PAHs ผสมกัน (แนพทาลีน ฟีแนนทรีนและ แอนทราซีน)



รูปที่ 5.2 GC โครมาโตแกรมของปริมาณน้ำมันดีเซลที่ย่อยสลายโดยกลุ่มแบคทีเรีย PDE4 ที่เตรียมสด (ก) ปริมาณน้ำมันดีเซลในวันที่ 0 (ข) ปริมาณน้ำมันดีเซลในวันที่ 1

การเก็บรักษากลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 และ PDE4 โดยวิธีไลโอฟิไลเซชัน ที่ใช้ 12% ซูโครส เป็นสารป้องกันความเย็นนั้นให้การรอดชีวิตของกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 และ PDE4 ที่สูงถึง 99.7% และ 98.8% ตามลำดับ (ตารางที่ 4.1) ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับงานวิจัยของประภัสสร ปานมีทรัพย์ (2550) ที่เก็บรักษากลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 โดยใช้ 12% ซูโครส พบว่ามีการรอดชีวิตสูงเช่นเดียวกัน (99.54%) รวมถึงงานวิจัยของ Norman และคณะ (1970) ที่ได้ไลโอฟิไลเซชัน *Mycoplasma* strains Mac โดยใช้ 12% ซูโครสเป็นสารป้องกันความเย็น ทำให้มีการรอดชีวิต 90% การใช้ซูโครสเป็นสารป้องกันความเย็นในการเก็บรักษาจุลินทรีย์อื่นๆให้มีการรอดชีวิตที่สูง เช่นในงานวิจัยของ Ming และคณะ (2009) ที่ใช้ 20% ซูโครสในการทำแห้งเยือกแข็ง *Lactobacillus salivarius* I 24 พบว่าให้การรอดชีวิต 89.26% หรือในงานวิจัยของ Costa และคณะ (2000) ที่ใช้ 10% ซูโครสเป็นสารป้องกันความเย็นในการทำแห้งเยือกแข็ง *Pantoea agglomerans* CPA-2 ให้การรอดชีวิต 100%

การประเมินการรอดชีวิตของกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 และ PDE4 ที่ผ่านการไลโอฟิไลเซชันแล้วนั้นจะสามารถประเมินการรอดชีวิตของแบคทีเรียในกลุ่มได้โดยอาศัยการทดสอบความสามารถในการย่อยสลายไพรีน/ฟีแนนทรีนและ น้ำมันดีเซลของกลุ่มแบคทีเรีย ถ้ากลุ่มแบคทีเรียยังคงสามารถในการย่อยสลายได้ ถือได้ว่าแบคทีเรียในกลุ่มยังมีการรอดชีวิตอยู่ ซึ่งถ้าแบคทีเรียในกลุ่มไม่สามารถรอดชีวิตหลังการไลโอฟิไลเซชันได้จะส่งผลต่อการย่อยสลายไพรีน/ฟีแนนทรีนและ น้ำมันดีเซล ดังนั้นจึงต้องมีการทดสอบการย่อยสลายไพรีน/ฟีแนนทรีนและ น้ำมันดีเซลของกลุ่มแบคทีเรียหลังผ่านการไลโอฟิไลเซชัน

จากผลการรอดชีวิตของกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่ผ่านการไลโอฟิไลเซชัน จึงทำการทดสอบการย่อยสลายไพรีนและฟีแนนทรีนในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว CFMM โดยพบว่ากลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่ผ่านการไลโอฟิไลเซชันสามารถย่อยสลายไพรีนและฟีแนนทรีนหมดในวันที่ 14 และ 3 ตามลำดับและมีการเจริญของกลุ่มแบคทีเรียเพิ่มมากขึ้น (รูปที่ 4.4) แต่เมื่อเปรียบเทียบกับการย่อยสลายโดยกลุ่มแบคทีเรียที่เตรียมสด (รูปที่ 4.2ก) จะพบว่ามีการย่อยสลายได้ช้ากว่ากลุ่มแบคทีเรียนี้สามารถเจริญได้โดยใช้ซูโครสเป็นแหล่งคาร์บอน (ประภัสสร ปานมีทรัพย์, 2550)(ภาคผนวก ง รูปที่ ง.1) เป็นไปได้ว่าการย่อยสลายที่ช้าลงอาจเกิดจากการที่กลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่ผ่านการไลโอฟิไลเซชันใช้ซูโครสที่เป็นสารป้องกันความเย็นเป็นแหล่งคาร์บอนในการเจริญก่อนย่อยสลายไพรีนและฟีแนนทรีนต่อ จึงพบการเพิ่มจำนวนอย่างรวดเร็วในวันที่ 3 ของการทดลอง

การทดสอบการย่อยสลายน้ำมันดีเซลในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว CFMM โดยกลุ่มแบคทีเรีย PDE4 ที่ผ่านการไลโอฟิไลเซชัน พบว่าสามารถย่อยสลายน้ำมันดีเซลเหลือ 66.69±32.6% และมีการเจริญของกลุ่มแบคทีเรียเพิ่มขึ้นเล็กน้อย (รูปที่ 4.5) ซึ่งเมื่อเทียบกับกลุ่มแบคทีเรียที่เตรียมสด (รูปที่ 4.3) พบว่ามีการย่อยสลายได้น้อยกว่า อาจเกิดจากกลุ่มแบคทีเรีย PDE4 เลือกใช้ซูโครสที่เป็นสารป้องกันความเย็นเป็นแหล่งคาร์บอนในการเจริญ เช่นเดียวกับกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ที่ผ่านการ ไลโอฟิไลเซชัน แต่มีการเจริญที่ช้ากว่าอาจกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 ทั้งนี้อาจเป็นไปได้ว่าแบคทีเรียในกลุ่มแบคทีเรีย PDE4 บางชนิดอาจไม่สามารถใช้ซูโครสในการเจริญได้ (Mandelbaum และคณะ, 1995) จึงพบการเจริญที่เพิ่มขึ้นช้า และส่งผลให้การย่อยสลายน้ำมันดีเซลเกิดขึ้นช้าตามไปด้วย ถ้าติดตามการย่อยสลายให้นานกว่านี้น่าจะมีการย่อยสลายน้ำมันดีเซลได้ดีขึ้น

จากผลการทดสอบการย่อยสลายไพรีน/ฟีแนนทรีนและ น้ำมันดีเซลในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว โดยกลุ่มแบคทีเรีย RRM-V3 และ PDE4 พบว่า กลุ่มแบคทีเรียทั้งสองชนิดยังคงย่อยสลายไพรีน/ฟีแนนทรีนและ น้ำมันดีเซลได้ จึงทำการทดสอบการย่อยสลายในดิน โดยใช้กลุ่มแบคทีเรียผสม RRM-V3/PDE4 ทั้งที่เตรียมสด และผ่านการไลโอฟิไลเซชันต่อไป

การทดสอบย่อยสลายไพรีน/ฟีแนนทรีนและ น้ำมันดีเซลที่ผสมลงในดิน โดยกลุ่มแบคทีเรียผสม RRM-V3/PDE4 ที่เตรียมสด พบการย่อยสลายน้ำมันดีเซลน้อยมากเทียบกับชุดควบคุม ในขณะที่ฟีแนนทรีนถูกย่อยสลายจนหมดไปในวันที่ 7 ของการทดลอง ส่วน ไพรีนเหลือ 44.54±25.6% ในวันที่ 7 (รูปที่ 4.6ก) ซึ่งจากผลการทดลองนี้กลุ่มแบคทีเรียผสมที่เตรียมสดมีการย่อยสลายไพรีน/ฟีแนนทรีนและ น้ำมันดีเซล ได้ไม่ดีเท่ากับการย่อยสลายในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวของกลุ่มแบคทีเรียแต่ละกลุ่ม ส่วนการเจริญของแบคทีเรียทั้งหมดในชุดทดลองค่อนข้างคงที่ แสดงว่ากลุ่มแบคทีเรียผสมที่เติมลงไปในดินยังคงมีการเจริญโดยใช้ไพรีน/ฟีแนนทรีนและ น้ำมันดีเซลได้บ้างซึ่งเห็นได้จากการลดลงของไพรีน/ฟีแนนทรีนและ น้ำมันดีเซลในชุดทดลอง (รูปที่ 4.6ก) แบคทีเรียทั้งหมดในดินในชุดควบคุมที่ไม่เติมกลุ่มแบคทีเรียผสมแต่มีไพรีน/ฟีแนนทรีนและ น้ำมันดีเซล มีการเพิ่มจำนวนขึ้น ในขณะที่ปริมาณไพรีน/ฟีแนนทรีนและ น้ำมันดีเซล ไม่ได้ลดลง จึงเป็นไปได้ว่าการเจริญของแบคทีเรียในดินน่าจะเกิดจากการปรับสภาพดินในการทดสอบทำให้มีความเหมาะสมต่อการเจริญได้ มากกว่าที่จะย่อยสลายไพรีน/ฟีแนนทรีนและ น้ำมันดีเซล ในชุดควบคุมที่มีเฉพาะดินที่เติมกลุ่มแบคทีเรียผสมที่ไม่เติมไพรีน/ฟีแนนทรีนและ น้ำมันดีเซลพบว่าจำนวนแบคทีเรียลดลง แสดงว่ากลุ่มแบคทีเรียผสมที่เติมลงไปไม่สามารถเจริญได้เนื่องจากไม่มีซับสเตรทในการเจริญ (รูปที่ 4.6ข)

การทดสอบการย่อยสลายไพรีน/ฟีแนนทรีนและ น้ำมันดีเซลผสมในดิน โดยกลุ่มแบคทีเรียผสม RRM-V3/PDE4 ที่ผ่านการไลโอฟิไลเซชัน พบว่าสามารถย่อยสลายไพรีน/ฟีแนนทรีนและน้ำมันดีเซลได้ (รูปที่ 4.7ก) อย่างไรก็ตามการย่อยสลายไพรีนและฟีแนนทรีนในดิน เกิดขึ้นช้ากว่ากลุ่มแบคทีเรียที่เตรียมสด นอกจากนี้การย่อยสลายน้ำมันดีเซลโดยกลุ่มแบคทีเรียไลโอฟิไลซ์ในดินยังเกิดขึ้นช้ากว่าที่เตรียมสดเช่นกัน ทั้งนี้อาจมีสาเหตุจากกลุ่มแบคทีเรียที่ผ่านการไลโอฟิไลเซชันนั้นจะมีระยะพัก (lag phase) ของเซลล์แบคทีเรียนานขึ้น ดังงานวิจัยของ Weekers และคณะ (1998) ที่พบว่าหลังทำการไลโอฟิไลเซชันแบคทีเรียที่คัดแยกจากดินปนเปื้อนน้ำมันดีเซลจะพบระยะพักที่นานขึ้น แต่เมื่อระยะพักหมดลงการย่อยสลายน้ำมันดีเซลโดยแบคทีเรียดังกล่าวจึงเกิดขึ้น ทำให้พบอัตราการย่อยสลายโดยรวมนั้นช้าลง แต่การไลโอฟิไลเซชันไม่ได้ทำให้แบคทีเรียสูญเสียความสามารถในการย่อยสลายน้ำมันดีเซลไป อีกปัจจัยคือคุณภาพของกลุ่มแบคทีเรียเริ่มต้นก่อนไลโอฟิไลเซชัน ซึ่งมีผลต่อการย่อยสลายไพรีน/ฟีแนนทรีนและ น้ำมันดีเซลจำเป็นต้องมีการควบคุมให้คงที่เหมือนกันทุกครั้งที่ทำไลโอฟิไลเซชัน โดยทำการเพาะเลี้ยงในสภาวะเดียวกันและใช้ระยะเวลาที่เท่ากัน (Brown และ Gilbert, 1995) ซึ่งจะทำให้ได้คุณภาพของกลุ่มแบคทีเรียที่ใกล้เคียงกัน ก่อนทำการไลโอฟิไลเซชันกลุ่มแบคทีเรีย

เหตุผลหนึ่งที่ทำให้การย่อยสลายไพรีน/ฟีแนนทรีนและ น้ำมันดีเซลในดินนั้นย่อยสลายได้น้อยลง อาจเนื่องมาจากการแข่งขันกันของกลุ่มแบคทีเรียผสมที่เติมลงไปในดินกับแบคทีเรียที่อาศัยอยู่ในดินในการเจริญ เมื่อนับจำนวนแบคทีเรียในดินพบว่ามีประมาณ 7-8 log CFU/กรัมดิน ซึ่งแบคทีเรียที่พบในดินจะพบปริมาณ 6-8 log CFU/กรัมดิน (Janssen และคณะ, 2002) ทำให้กลุ่มแบคทีเรียผสมที่เติมลงไปอาจไม่สามารถเจริญได้ดีเท่ากับแบคทีเรียดั้งเดิมที่อาศัยอยู่ในดิน

การรอดชีวิตของกลุ่มแบคทีเรียผสมที่เติมลงในดินนั้นมีการรอดชีวิตลดลง สาเหตุอาจเนื่องมาจากปัจจัยทางชีวภาพและกายภาพของดิน เช่น ภาวะการล่า (predation) ที่เกิดระหว่างกลุ่มแบคทีเรียผสมกับโปรโตซัวในดิน ภาวะการแก่งแย่ง (competition) ที่เกิดขึ้นระหว่างกลุ่มแบคทีเรียผสมที่เติมลงไปกับแบคทีเรียในดิน สารบางชนิดที่ถูกปลดปล่อยจากรากพืชบริเวณนั้นมีผลรบกวนต่อการเจริญของกลุ่มแบคทีเรียผสมที่เติมลงไป รวมถึงสมบัติต่างๆ ของดิน เช่น แร่ธาตุในดิน (clay minerals) สารอินทรีย์คาร์บอน แรงตึงผิวของน้ำ (water tension) อุณหภูมิ ความเป็นกรดด่าง หรือปริมาณสารที่เป็นพิษในดิน ล้วนแต่เป็นปัจจัยที่ส่งผลต่อการรอดชีวิตของกลุ่มแบคทีเรียผสมที่เติมลงในดิน (Van Veen และคณะ, 1997)

ปริมาณแร่ธาตุที่จำเป็นต่อการเจริญของแบคทีเรียในดินนั้นมีความสำคัญต่อการเจริญของแบคทีเรียในดิน โดยทั่วไปอัตราส่วนระหว่าง C:N:P ในดินจะประมาณ 100:10:1 (Hyman

และ Dupont, 1930) เมื่อดูอัตราส่วนของดินที่ใช้ทดลองนี้จะพบว่า มีสารอินทรีย์คาร์บอนและไนโตรเจนที่น้อยแต่มีปริมาณฟอสฟอรัสที่สูงมาก อาจเป็นไปได้ว่ากลุ่มแบคทีเรียผสมที่เติมลงในดินมีภาวะที่มีคาร์บอนและไนโตรเจนต่ำ ทำให้การเจริญถูกจำกัด แต่กลุ่มแบคทีเรียผสมยังคงสามารถย่อยสลายไพรีน/ฟีแนนทรีนและ น้ำมันดีเซลเพื่อใช้เป็นแหล่งคาร์บอนในการเจริญได้ แม้จะช้ากว่าในการย่อยสลายในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว ซึ่งการปรับปริมาณแร่ธาตุที่จำเป็น (C/N/P) ในดินที่ทดสอบนี้อาจเป็นอีกแนวทางหนึ่งที่จะช่วยเพิ่มการย่อยสลายไพรีน/ฟีแนนทรีนและ น้ำมันดีเซลในดิน โดยกลุ่มแบคทีเรียผสม RRM-V3/PDE4 (Rojas-Avelizapa และคณะ, 2000)

ดังนั้นในงานวิจัยนี้ควรมีการเพิ่มประสิทธิภาพในการย่อยสลายไพรีน/ฟีแนนทรีนและน้ำมันดีเซลในดิน ให้กับกลุ่มแบคทีเรียที่ผ่านการไลโอฟิไลเซชัน เช่น การตรึงกลุ่มแบคทีเรียที่ผ่านการไลโอฟิไลเซชัน เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพของกลุ่มแบคทีเรีย ดังงานวิจัยของ Sar และคณะ (2004) ที่ได้ทำการ ไลโอฟิไลเซชัน *Pseudomonas* sp. จากนั้นตรึงด้วย เรดิเอชัน-พอลิเมอร์ไรซ์ พอลิอะคริลาไมด์ แมทริก (radiatio-polymerized polyacrylamide matrix) เพื่อใช้ในการดูดซับยูเรเนียม (VI) และทอเรียม (IV) ที่ปนเปื้อนมากับไอของเสียนิวเคลียร์ หรือใช้การเติมวัสดุทางการเกษตรบางชนิดเพื่อเป็นที่ยึดเกาะรวมถึงใช้สารอาหารเพื่อการเจริญได้ (Van Veen และคณะ, 1997) เพื่อเป็นการเพิ่มการรอดชีวิตของกลุ่มแบคทีเรียที่ผ่านการไลโอฟิไลเซชันที่เติมลงในดิน เช่น ใบจามจุรี (เสาวลักษณ์ อ้นเมฆ, 2550) ซึ่งน่าจะส่งผลให้การย่อยสลายไพรีน/ฟีแนนทรีนและน้ำมันดีเซลในดินได้ดีขึ้น