หอสมุดกลาง ศูนย์วิทยทรัพยากร จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 2

วารสารปริทัศน์

ไพรีน (pyrene)

ไพรีนจัดเป็นสารประกอบอินทรีย์ชนิดหนึ่งในกลุ่มพอลิไซคลิกอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอน ที่มีโครงสร้างโมเลกุลประกอบด้วยวงแหวนเบนซีน 4 วง เชื่อมต่อกันมีหมายเลขสากลทางเคมี(Cas number) 129-00-0 (Verschueren, 1999)

สูตรโมเลกุล $C_{16}H_{10}$(Verschueren, 1997)

น้ำหนักโมเลกุลเท่ากับ 202.26 ดาลตัน (Verschueren, 1997)

การละลายในน้ำ 0.13 มก.ต่อลิตร ที่อุณหภูมิ 25 ° ซ และ 140 นาโนกรัมต่อมล. ที่ 30 ° ซ (Jimenez และ Bartha, 1996)

ความถ่วงจำเพาะ 1.271 ที่ 23 ° ซ (Verschueren, 1997)

อุณหภูมิหลอมเหลว 151-156 ° ซ (Verschueren, 1997)

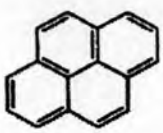
อุณหภูมิกลายเป็นไอ 360-404 ° ซ (Verschueren, 1997)

ความดันไอ 6.85×10^{-7} มม.ปรอท ที่อุณหภูมิ 20 ° ซ (Verschueren, 1997)

เป็นผลึกสีขาวหรือสีเหลือง (Patnaik, 1992)

มีค่าครึ่งชีวิตในดินและตะกอนดิน 19.4-630 วัน (Daugulis และ McCracken, 2003)

ไพรีนมีโครงสร้างโมเลกุลที่เสถียร ละลายน้ำได้น้อยมาก (Verschueren, 1997) ทำให้ทนต่อการย่อยสลาย (Trzesicka-Mlynarz และ Ward, 1996) ไพรีนละลายในตัวทำละลายอินทรีย์ (เมธานอล เฮกเซน อะซิโตน เป็นต้น) ได้ดีแตกต่างกัน(Patnaik, 1992) เนื่องจากจุลินทรีย์ในดินนำไปใช้ประโยชน์ (bioavailability) ได้น้อย ทำให้ไพรีนสะสมและมีความเสถียรอยู่ในสิ่งแวดล้อมได้เป็นเวลานาน เมื่อไพรีนเข้าสู่ร่างกายและสะสมเป็นเวลานานจะส่งผลให้เป็นสารก่อมะเร็ง (carcinogen) และสารก่อกลายพันธุ์ (mutagen) สูตรโครงสร้างทางเคมีของไพรีนแสดงดังรูปที่ 2.1



รูปที่ 2.1 แสดงโครงสร้างทางเคมีของไพรีน (Schirmer และคณะ ,1998)

หอสมุดกลาง ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ประโยชน์ของไพรีน

เนื่องจากโมเลกุลของไพรีนรับและเปล่งคลื่นแสงได้ดีจึงถูกนำมาใช้เป็นตัวติดตามโดยเป็นตัวขยายสัญญาณทางพันธุศาสตร์ (Yamana และคณะ, 1999) โดย Kostenko และคณะ (2001) ใช้ไพรีน 2 โมเลกุลเชื่อมกับโอลิโกนิวคลีโอไทด์ตรงด้าน 5'-phosphate แล้วสามารถใช้เป็นตัวติดตาม (Probe) เพื่อติดตามศึกษาลำดับเบสและโครงสร้างของอาร์เอ็นเอ

ความเป็นพิษของไพรีน

หน่วยงานคุ้มครองสิ่งแวดล้อมของสหรัฐอเมริกาไม่จัดไพรีนเป็นสารก่อมะเร็งในมนุษย์แต่ทำให้ผิวหนังเกิดการระคายเคืองหากสัมผัสโดยตรง มีรายงานถึงคนงานที่เตาอบถ่านโค้กมีอุบัติการเป็นมะเร็งปอดและระบบไตเพิ่มขึ้น คนงานที่สัมผัสครีโอโสตพบว่าเกิดมะเร็งผิวหนัง ส่วนในสัตว์ทดลองยังมีข้อมูลไม่พอที่จะสรุปว่าเป็นสารก่อมะเร็ง พบเพียงว่าหนู mice ที่กินไพรีนจะมีปัญหาของเลือดเล็กน้อย น้ำหนักไตลด น้ำหนักตับเพิ่ม และท่อกรวยไตเสื่อมสภาพ แต่มีบางรายงานที่สามารถพบมะเร็งผิวหนังในหนู mice ได้ (Randerath และคณะ, 1997) มีค่า oral LD_{50} เท่ากับ 800 มก.ต่อกก. (Patnaik, 1992) ซึ่งการได้รับไพรีนนั้นส่วนใหญ่เกิดจากการหายใจเอาควันที่เกิดจากการเผาไหม้เข้าไป การสัมผัสทางผิวหนัง การหายใจเอาอากาศทั่วไปโดยเฉพาะในพื้นที่ที่มีการจราจรแออัดหรือบริเวณใกล้กับแหล่งอุตสาหกรรม และอาจได้จากการปนเปื้อนในอาหารและน้ำดื่ม นอกจากนี้ Faust และคณะ (1998) รายงานว่า ไพรีนสามารถกระตุ้นเบนโซ(เอ)ไพรีนให้ก่อมะเร็งได้

การกระจายของ PAHs ในสิ่งแวดล้อม

สาร PAHs เข้าสู่สิ่งแวดล้อมได้หลายทางทั้งจากธรรมชาติ เช่น การรั่วซึมของน้ำมันดิบจากแหล่งน้ำมันใต้ดินทำให้สาร PAHs ปนเปื้อนในแหล่งน้ำธรรมชาติและดิน ไฟไหม้ป่า ภูเขาไฟระเบิด และจากการกระทำของมนุษย์ที่สำคัญคือ การเผาไหม้ที่เกิดไม่สมบูรณ์ นับเป็นกิจกรรมสำคัญที่เป็นสาเหตุการแพร่กระจายของสาร PAHs สู่สิ่งแวดล้อม โดยเฉพาะการใช้น้ำมันดิบ เชื้อเพลิงฟอสซิล การกลั่นน้ำมันปิโตรเลียม และผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ ที่ได้จากน้ำมันดิบ ซึ่งใช้เป็นเชื้อเพลิงหลักในปัจจุบัน (Jones และคณะ, 1989) เขม่าควันจากท่อไอเสียรถยนต์นอกจากนี้พบว่าในควันบุหรี่ประกอบด้วยสาร PAHs ที่สำคัญหลายชนิด รวมทั้งสาร PAHs ที่เป็นสารก่อ

มะเร็ง ซึ่งเกิดจากการเผาไหม้ของกรดอะมิโนเฟนิลอะลานีนที่เป็นองค์ประกอบหลักในบุหรี่และชาที่ใช้ดื่ม (Neurath, 1972, Grimmer และคณะ, 1977, Fiedler และคณะ, 2002, Wang และคณะ, 2004)

โดยทั่วไป ไพรีนกระจายตัวอยู่ในวัฏภาคแก๊ส (gas phase) ในขณะที่เบนโซ(เอ)ไพรีน (benzo(a)pyrene) มีเพียง 25% เท่านั้นที่อยู่ในวัฏภาคดังกล่าว (Garivait และคณะ, 2002a.) สารประกอบ PAHs ที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำส่วนใหญ่มักจะอยู่ในวัฏภาคแก๊ส ในขณะที่สารประกอบ PAHs ที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูงจะอยู่ในรูปฝุ่นละอองเกือบทั้งหมด โดยพบว่า 30-60% โดยน้ำหนักสาร PAHs อยู่ในรูปฝุ่นละอองที่มีขนาดเล็กกว่า 0.43 ไมครอนและมากกว่า 70% เป็นฝุ่นละอองที่มีขนาดเล็กกว่า 2.1 ไมครอน (Garivait และคณะ, 2002b.)

อินทรีย์วัตถุในดินมีความสำคัญต่อการยึดเกาะระหว่าง PAHs กับอนุภาคดิน (Wilcke และคณะ, 1999) การดูดซับสาร PAHs มีความสัมพันธ์กับโมเลกุลที่ดูดซับอยู่กับอนุภาคดิน การดูดซับจะดีหรือไม่นั้นขึ้นอยู่กับสมบัติไฮโดรโฟบิกของสารและความเข้มข้นที่ละลายอยู่ในน้ำ PAHs จะถูกดูดซับเนื่องจากแร่ธาตุและอินทรีย์วัตถุที่ประกอบด้วยบริเวณที่ชอบน้ำและไม่ชอบน้ำ จึงสามารถจับกับสารประกอบที่มีขั้วหรือมีประจุและสารไม่มีขั้วได้

การปนเปื้อนสาร PAHs ในอนุภาคดิน

ดินเป็นแหล่งที่อยู่ของสิ่งมีชีวิตที่มีความซับซ้อนและมีความหลากหลายทางด้านปัจจัยทางเคมีและกายภาพ ซึ่งมีผลต่อการนำสารประกอบอินทรีย์ที่มีสมบัติไฮโดรโฟบิกไปใช้ประโยชน์โดยจุลินทรีย์ที่อาศัยอยู่ในดิน (Straube และคณะ, 1999) โดยการปนเปื้อนสาร PAHs หรือสารประกอบอินทรีย์ในดินมีรูปแบบการอยู่ร่วมกันภายในอนุภาคดินหรือฮิวมัสที่แตกต่างกันออกไป การปนเปื้อนในอนุภาคดินอาจเกิดจากสมบัติทางกายภาพ เช่น ส่วนที่เป็นของแข็งปะปนในอนุภาคดินหรือการที่อนุภาคดินถูกเคลือบด้วยของเหลว หรือดูดซับอยู่กับอนุภาคดิน ซึ่งสารปนเปื้อนจะสามารถถูกชะออกจากอนุภาคดินได้ง่ายโดยอาศัยตัวทำละลายอินทรีย์ หากมีการปนเปื้อนของสาร PAHsในดินเป็นเวลานาน ดินจะสามารถดูดซับสารปนเปื้อนนั้นไว้ โดยการดูดซึมและแทรกอยู่ระหว่างชั้นน้ำตามช่องว่างภายในอนุภาคดิน ทำให้สารปนเปื้อนถูกชะละลายออกมาได้น้อยและหากสารปนเปื้อนจับกับอนุภาคดินโดยอาศัยพันธะทางเคมี จะทำให้สารถูกชะออกมาได้ยากยิ่งขึ้น เนื่องจากอาจเกิดการเปลี่ยนแปลงลักษณะโครงสร้าง สมบัติทางเคมีของโมเลกุลสาร

ทำให้สารอยู่ในรูป bound residue หรืออาจเกิดจากสารประกอบหรือสารที่ได้จากกระบวนการย่อยสลายรวมตัวกับสารที่เกิดจากกระบวนการภายในดินทางเคมีกายภาพ ซึ่ง bound residue ที่เกิดขึ้นนี้ทำให้จุลินทรีย์หรือสิ่งมีชีวิตในดินนำไปใช้ประโยชน์ได้น้อยกว่าในรูปแบบอื่นๆ (Verstraete และ Devliegher, 1996) แสดงให้เห็นว่ารูปแบบการปนเปื้อนของสาร PAHs มีผลต่อการบำบัดสาร PAHs โดยวิธีทางชีวภาพ

Kästner และคณะ (1999) สรุปสาเหตุการเกิด bound residues ไว้ดังนี้

1. สารเมตาบอไลท์ที่เกิดจากการย่อยสลายจะถูกออกซิไดส์และเข้ารวมตัวกับสารประกอบฟีนอลิก เกิดเป็นสารที่มีโมเลกุลขนาดใหญ่คล้ายกับกรดฮิวมิกในดิน
2. คาร์บอนไดออกไซด์ที่เกิดจากการย่อยสลายสาร PAHs อย่างสมบูรณ์เนื่องจากกิจกรรมของจุลินทรีย์ในดินอาจถูกตรึงอยู่ในอนุภาคดิน
3. สาร PAHs ที่ปนเปื้อนตั้งแต่เริ่มต้นจะถูกเกาะติดอยู่ในอนุภาคดิน

สาร PAHs ส่วนใหญ่สามารถดูดซับกับอินทรียวัตถุที่อยู่ในดิน ทำให้สาร PAHs ไม่ถูกย่อยสลายโดยกระบวนการทางชีวภาพ การดูดซับระหว่างสาร PAHs และอินทรียวัตถุจะเพิ่มขึ้น เมื่อวงอะโรมาติกของโมเลกุลสาร PAHs มีจำนวนมากขึ้น ทำให้โมเลกุลดังกล่าวมีสมบัติไลโปฟิลิกเพิ่มขึ้น นอกจากนี้ความสามารถในการถูกย่อยสลายและสกัดสาร PAHs ออกจากอินทรียวัตถุในดินเกิดยากขึ้น สาร PAHs จึงมีโอกาสสัมผัสกับอนุภาคดินได้นานขึ้น โดยสาร PAHs จะแพร่เข้าสู่อินทรียวัตถุอย่างช้าๆ และทำให้ถูกดูดซับกับอนุภาคดินได้แน่นขึ้น อาจเกิด bound residues และการตรึงสาร PAHs ภายในรูพรุนขนาดเล็กของอนุภาคดินหรืออินทรียวัตถุได้ ซึ่งเป็นเหตุผลที่ทำให้สาร PAHs ถูกสะสมอยู่ในสิ่งแวดล้อมได้เป็นเวลานาน (Wiessenfels และคณะ, 1992; Lundstedt, 2003) เมื่อไพรีนและสาร PAHs เข้าสู่สิ่งแวดล้อม อาจเกิดการเปลี่ยนแปลงโดยกระบวนการต่างๆ ทั้งทางด้านเคมีและกายภาพ ได้แก่ การระเหยกลายเป็นไอ (volatilization) การเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของแสง (photo-oxidation) การเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันทางเคมี (chemical oxidation) การสะสมสารอยู่ภายในสิ่งมีชีวิต (bioaccumulation) หรือการดูดซับโดยอนุภาคของดิน (adsorption) เป็นต้น (Cerniglia, 1992) ซึ่งสมบัติของดินที่แตกต่างกันเป็นปัจจัยสำคัญในการบำบัดสาร PAHs ที่ปนเปื้อนในดินด้วยวิธีทางชีวภาพ สมบัติดังกล่าวได้แก่ องค์ประกอบของอินทรียวัตถุในดิน โครงสร้างและอนุภาคของดิน ซึ่งมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงสาร PAHs ในสิ่งแวดล้อมและอัตราการย่อยสลายโดยจุลินทรีย์ (Wilson และ Jones, 1993)

Nieman และคณะ (1998) รายงานว่าไพรีนและผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการเปลี่ยนรูปของไพรีน จะรวมตัวกับอนุภาคของสารอินทรีย์เกิดกระบวนการสร้างสารฮิวมิกในดิน ทำให้ไพรีนถูกดูดซับอยู่ในดินและจุลินทรีย์ย่อยสลายได้ยากขึ้น นอกจากจะคำนึงถึงชนิดและความสามารถของจุลินทรีย์ที่นำมาใช้ในการบำบัดแล้ว ยังต้องคำนึงถึงระยะเวลาที่ไพรีนอยู่ในแหล่งปนเปื้อนนั้นด้วย เพราะหากปล่อยไว้นานก็จะทำให้การบำบัดยากขึ้น เนื่องจากไพรีนจะจับกับอนุภาคอินทรียวัตถุในดิน ด้วยพันธะโควาเลนซ์ได้แน่นยิ่งขึ้นตามเวลา (270 วัน) ทำให้สกัดออกมายากขึ้นและถูกย่อยสลายโดยจุลินทรีย์ได้น้อยลง เพราะโอกาสสัมผัสกันระหว่างจุลินทรีย์และไพรีนก็ลดลงตามเวลา รวมถึงสารมัธยันต์ที่เกิดจากการย่อยสลายไพรีนด้วยเช่นกัน (Gothrie และ Pfaender, 1998)

การย่อยสลายไพรีนในสิ่งแวดล้อม

การบำบัดสิ่งแวดล้อมที่มีการปนเปื้อนด้วยไพรีนและ PAHs ชนิดอื่นๆ สามารถกระทำได้หลายวิธี เช่น การใช้ผงถ่านกัมมันต์ในการดูดซับ (Manahan, 1993) การแตกสลายจากแสง (photochemical degradation) การบำบัดด้วยวิธีทางเคมี (John และ Cookson, 1995) การเผาที่อุณหภูมิสูงมาก (incineration) การฝังกลบ (landfill) และแนวทางหนึ่งที่มีประสิทธิภาพเป็นที่ยอมรับและใช้กันอย่างแพร่หลายคือ กระบวนการย่อยสลายทางชีวภาพ(bioremediation) ซึ่งเป็นวิธีการลดความเป็นพิษของ PAHs โดยอาศัยบทบาทของสิ่งมีชีวิตต่างๆ ซึ่งสิ่งมีชีวิตที่นิยมใช้ในการศึกษาการย่อยสลาย PAHs กันมากก็คือ การย่อยสลาย PAHs โดยจุลินทรีย์ ส่วนใหญ่แล้วจุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องกับการย่อยสลาย PAHs คือ แอโรบิกแบคทีเรียและราบางชนิดที่รู้จักกันดี ได้แก่ white rot fungi ซึ่งจุลินทรีย์ทั้ง 2 ชนิดนี้สามารถย่อยสลายสารพวก PAHs ได้ด้วยกลไกที่ต่างกัน โดยส่วนใหญ่พบว่าแบคทีเรียจะใช้ปฏิกิริยาเริ่มต้นในการย่อยสลายเกี่ยวข้องกับการเติมออกซิเจนเข้าไปในโครงสร้างที่เป็นวง ส่วนพวก white rot fungi พบว่าส่วนใหญ่จะย่อยสลายสาร PAHs ด้วยกระบวนการ oxidation ซึ่งจะออกซิไดส์ PAHs แบบ cometabolism โดยไม่สามารถใช้ในการเจริญได้เหมือนแบคทีเรีย (Bossert และ Bartha, 1984)

การที่จะนำจุลินทรีย์มาใช้ในการย่อยสลายสาร PAHs ควรที่จะศึกษาถึงกระบวนการต่างๆ ของจุลินทรีย์ โดยสร้างความคุ้นเคย (acclimation) และการปรับตัว (adaptation) ซึ่งได้มีการศึกษาพบว่า การสร้างความคุ้นเคยของจุลินทรีย์ที่อยู่ผิวดิน และใต้ผิวดินหรือตะกอน ต่อสาร PAHs สามารถเพิ่มอัตราการย่อยสลายสารเหล่านี้ได้ (Cerniglia,1987 ; Juhasz และคณะ ,1997)

การย่อยสลายไพรีนโดยกระบวนการทางชีวภาพ

การย่อยสลายสาร PAHs ซึ่งเป็นสารที่ละลายน้ำได้น้อย แบคทีเรียทั่วไปจะสามารถย่อยสลายสารนี้ได้ยาก แบคทีเรียบางกลุ่มสามารถผลิตเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องในการย่อยสลายสาร PAHs เพื่อจะนำไปใช้เป็นแหล่งคาร์บอนและพลังงาน ส่วนใหญ่พบว่าแบคทีเรียสายพันธุ์บริสุทธิ์สามารถย่อยสลายสาร PAHs ที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำๆ กลไกนำสาร PAHs ไปใช้ เกิดขึ้นโดยการเข้าไปทำปฏิกิริยากับสารโดยการสัมผัสโดยตรงกับผลึกสาร PAHs แบคทีเรียบางชนิดสามารถสร้างสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ (biosurfactant) ซึ่งมีผลต่อการเพิ่มการละลายน้ำของสาร PAHs จึงทำให้แบคทีเรียเข้าสัมผัสกับสาร PAHs ได้ง่าย จากนั้นสาร PAHs จะเข้าสู่เซลล์ผ่านทางผนังเซลล์โดยอาศัยการแพร่ (passive diffusion) โดยไม่ใช้พลังงานจากเซลล์ (Bugg และคณะ, 2000) แบคทีเรียสามารถย่อยสลายสาร PAHs ได้หลายชนิด เนื่องจากออกซิจีเนส เป็นเอนไซม์ที่จำเพาะต่อสับสเตรตได้หลายชนิด (broad specificity enzyme) ซึ่งถือว่าเป็นลักษณะที่ดี เพราะในสิ่งแวดล้อมมีการปนเปื้อนสาร PAHs หลายชนิด (Baver และ Capone, 1988; Stringfellow และ Aitken, 1995) ผลที่ได้จากการย่อยสลายไพรีนที่สมบรูณ์โดยแบคทีเรียบริสุทธิ์ได้แก่มวลชีวภาพ น้ำและคาร์บอนไดออกไซด์ (Cerniglia, 1992; Wilson และ Jones, 1993)

มีรายงานการศึกษาการย่อยสลายไพรีนโดยสิ่งมีชีวิตหลายชนิด แบคทีเรีย รา และสิ่งมีชีวิตอื่นๆ โดยส่วนใหญ่พบเป็นการย่อยสลายแบบเปลี่ยนแปลงโครงสร้างโมเลกุลให้เป็นสารมัธยันตร์ชนิดต่างๆ (transformation) มีแบคทีเรียบางชนิดเท่านั้นที่สามารถย่อยสลายไพรีนเพื่อใช้เป็นแหล่งพลังงานและคาร์บอน

การย่อยสลายไพรีนโดยแบคทีเรีย

1. แบคทีเรียบริสุทธิ์และวิถีการย่อยสลายไพรีนที่เกิดขึ้น

จากรายงานวิจัยที่ผ่านมา มีการคัดแยกเชื้อบริสุทธิ์ที่ย่อยสลายสาร PAHs จากตัวอย่างดิน น้ำหรือตะกอนดินในแหล่งน้ำที่มีการปนเปื้อนสารประกอบในกลุ่มนี้ โดยพบว่าแบคทีเรียที่คัดแยกได้ส่วนใหญ่มีทั้งกลุ่มที่เป็นแกรมบวกเช่น *Mycobacterium* sp. *Norcardia* sp.และกลุ่มที่เป็นแกรมลบ เช่น *Burkholderia cepacia*, *Pseudomonas* sp. และ *Sphingomonas* sp.เป็นต้น

ตัวอย่างแบคทีเรียบริสุทธิ์ที่สามารถย่อยสลายไพรีนเพื่อใช้เป็นแหล่งคาร์บอนและพลังงาน (mineralization) สรุปไว้ในตารางที่ 2.1

ตารางที่ 2.1 แบคทีเรียที่สามารถย่อยสลายไพรีนเพื่อใช้เป็นแหล่งคาร์บอนและพลังงาน

สายพันธุ์แบคทีเรีย	เอกสารอ้างอิง
Rhodococcus sp. สายพันธุ์ UW1	Walter และคณะ (1991)
Mycobacterium sp. สายพันธุ์ BB1	Fritzsche (1994)
Mycobacterium sp. สายพันธุ์ VF1	Kästner และคณะ (1994)
Mycobacterium sp. flavescens	Dean-Ross และ Cerniglia (1996)
Mycobacterium sp. สายพันธุ์ KR2	Rehmann และคณะ (1998)
Mycobacterium sp. สายพันธุ์ CH1	Churchill และคณะ (1999)

ตัวอย่างงานวิจัยการย่อยสลายไพรีนโดยแบคทีเรียบริสุทธิ์

Heitkamp และคณะ (1988) ศึกษาการย่อยสลายไพรีนโดย *Mycobacterium* sp. พบว่า 60 เปอร์เซ็นต์ของ ^{14}C ของไพรีนถูกเปลี่ยนไปเป็น คาร์บอนไดออกไซด์ หลังจากทำการเลี้ยงเชื้อนาน 96 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 24 °ซ และเมื่อทำการวิเคราะห์ด้วย HPLC พบสารมัธยันตร์หลัก 1 ชนิด และสารมัธยันตร์ย่อยๆ อีก 6 ชนิด และเมื่อทำการวิเคราะห์สมบัติของสารมัธยันตร์ด้วย UV, infrared, NMR และ GC พบ ซิส-4,5-ไพรีนไดไฮโดรไดออล (*cis*-4,5-pyrene dihydrodiol) ทราน-4,5-ไพรีนไดไฮโดรไดออล (*trans*-4,5-pyrene dihydrodiol) และ ไพรีนอล ซึ่งเป็นสารมัธยันตร์ที่เกิดจากการออกซิไดส์เริ่มต้นของวงเบนซีนของไพรีน และยังพบกรด 4,5-ฟีแนนทรีนไดโออิก(4,5-Phenanthrenedioic acid) 4-ไฮดรอกซีเพอรีแนพทีโนน (4-hydroxyperinaphthenone) กรดซินนามิค (cinnamic acid) และกรดพธาลิก (phthalic acid) ซึ่งเกิดจากการแตกวงอะโรมาติก และ จากการศึกษาโดยใช้ $^{18}O_2$ พบว่า ซิส-4,5-ไพรีนไดไฮโดรไดออล และ ทราน-4,5-ไพรีนไดไฮโดรไดออล เกิดจากการทำงานของเอนไซม์ไดออกซิจีเนส และโมโนออกซิจีเนส ตามลำดับ ซึ่งงานวิจัยนี้เป็นครั้งแรกที่ค้นพบวิถีการย่อยสลายไพรีนในจุลินทรีย์

Dean-Ross และ Cerniglia (1996) พบว่าแบคทีเรียบริสุทธิ์สายพันธุ์ *Mycobacterium flavescens* ที่แยกได้จากตะกอนที่ปนเปื้อน สามารถใช้ไพรีนเป็นแหล่งคาร์บอนและแหล่งพลังงานได้ เมื่อทำการเลี้ยงเชื้อใน 50 µg /ml ไพรีน เป็นเวลา 9.6 ชั่วโมง พบว่าไพรีนถูกใช้ไป 0.56 µg/ml/วัน นอกจากการย่อยสลายไพรีนแล้วเชื้อสายพันธุ์นี้ยังสามารถย่อยสลายฟีแนนทรีน (17.7%) และฟลูออแรนทีน (17.9%) ได้อย่างสมบูรณ์ แต่ไม่สามารถย่อยสลายแนพทาลีน ครีสซีน แอนทราซีน ฟลูออรีน อะซีแนพทาลีน และเบนโซ(เอ)ไพรีน ได้อย่างสมบูรณ์ โดยวิเคราะห์จาก radiolabeled CO_2 ที่เกิดขึ้น หลังจากบ่มเป็นเวลา 2 สัปดาห์ ภายใต้สภาวะที่เหมาะสมกับการเจริญ วิเคราะห์สารมัธยันตร์ที่เกิดขึ้นระหว่างการเจริญของเชื้อด้วย HPLC และ GC-MS พบวิถีการย่อยสลายไพรีนเริ่มจากการทำงานของเอนไซม์ไพรีนไดออกซิจีเนส (pyrene dioxygenase) โดยทำการเติมออกซิเจน 2 โมเลกุลลงไปที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 4 และ 5 ของโมเลกุลไพรีนได้ผลิตภัณฑ์เป็น ซิส-4,5-ไพรีนไดไฮโดรไดออล แล้วเกิดปฏิกิริยาการดึงไฮโดรเจนออกโดยอาศัยกิจกรรมของเอนไซม์ซิส-4,5-ไดไฮดอกซี-4,5-ไดไฮโดรไพรีนดีไฮโดรจีเนส (*cis*-4,5-dihydroxy-4,5-dihydropyrene dehydrogenase) แล้วตามด้วยปฏิกิริยาการเปิดวงอะโรมาติกโดยการเติมออกซิเจนที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 4 ละ 5 ของวงอะโรมาติก ได้ผลิตภัณฑ์เป็นกรด 4,5-ฟีแนนทรีนไดโออิก ตามด้วยปฏิกิริยาการดึงเอาคาร์บอนไดออกไซด์ออก (decarboxylation) โดยอาศัยการทำงานของเอนไซม์ฟีแนนทรีน-4,5-ไดคาร์บอกซิเลท ดีคาร์บอกซิเลส (phenanthrene-4,5-dicarboxylate decarboxylase) ได้ผลิตภัณฑ์เป็นกรด 4-ฟีแนนโทรอิก (4-phenanthroic acid) จากนั้นมีการเติมออกซิเจนโดยอาศัยเอนไซม์ฟีแนนทรีน-4-ไดคาร์บอกซิเลทไดออกซิจีเนส (phenanthrene-4,5-dicarboxylate dioxygenase) และอาศัยเอนไซม์ซิส-3,4-ฟีแนนทรีน-ไดไฮโดรไดออล-4-คาร์บอกซีเลท ดีไฮโดรจีเนส (*cis*-3,4-phenanthrene-dihydrodiol-4-carboxylate dehydrogenase) ในการดึงไฮโดรเจนออกจนได้ผลิตภัณฑ์เป็น 3,4-ไดไฮดรอกซีฟีแนนทรีน (3,4-dihydroxyphenanthrene) เพื่อเข้าสู่วิถีการย่อยสลายฟีแนนทรีนต่อไปจนได้ผลิตภัณฑ์สุดท้ายเป็นกรดพธาลิก

Li และคณะ (1996) ศึกษาการย่อยสลายไพรีนโดยจุลินทรีย์จากตะกอนน้ำทะเลที่เก็บได้จากบริเวณ Kitimat Ann ,BC ประเทศแคนาดา ซึ่งเป็นสภาพแวดล้อมที่มีการปนเปื้อน PAHs สูง เนื่องมาจากอยู่ใกล้บริเวณโรงงานหลอมอะลูมินา ความสามารถของจุลินทรีย์กลุ่มนี้ในการใช้ไพรีนเป็นแหล่งคาร์บอน แสดงได้โดยวัดจากปริมาณไพรีนที่ลดลงและการพบสารมัธยันตร์ที่เกิดขึ้น ซึ่งพบว่าไพรีน (10 ไมโครกรัม) ถูกย่อยสลายจนหมดจนไม่สามารถวัดได้ภายหลังจากบ่มด้วย

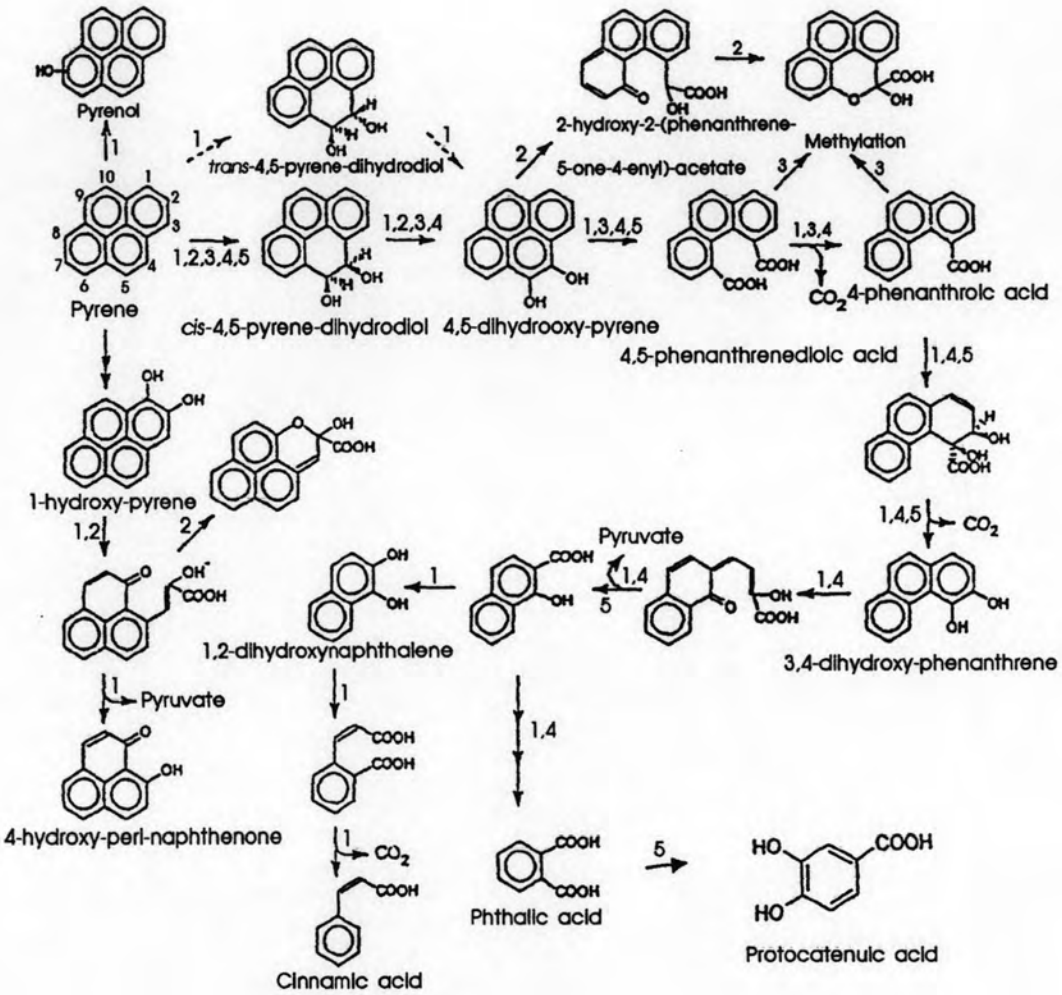
0.5 มิลลิลิตร ของ enriched culture และ 10 มิลลิลิตร ของ mineral medium เป็นเวลา 120 ชั่วโมง ส่วนการย่อยสลายโดยสมบูรณ์จนได้คาร์บอนไดออกไซด์ วัดได้จาก radioactivity ของ $^{14}CO_2$ โดยพบว่ามี $^{14}CO_2$ เกิดขึ้นถึง 65 เปอร์เซ็นต์ของไพรีนที่ถูกย่อยสลายหลังจากบ่มเป็นเวลา 12 วัน และพบสารมัธยันตร์ที่สามารถสกัดออกมาได้คือ ซิส-ไพรีน ไดไฮโดรไดออล

Rehmann และคณะ (1998) ศึกษาพบว่าแบคทีเรียบริสุทธิ์สายพันธุ์ *Mycobacterium* sp. strain KR2 ที่แยกได้จากดินปนเปื้อนของโรงงานผลิตแก๊ส สามารถใช้ไพรีนเป็นแหล่งคาร์บอนและแหล่งพลังงานได้ และแยกสารมัธยันตร์ได้ถึง 60 เปอร์เซ็นต์ของปริมาณไพรีนทั้งหมดที่ใช้ในการทดลอง (0.5 มก.ต่อมล.) เมื่อทำการเลี้ยงเชื้อเป็นเวลา 8 วัน ที่อุณหภูมิ 20 °ซ สารมัธยันตร์ที่พบคือ ซิส-4,5- ไพรีนไดไฮโดรไดออล, กรด 4,5- ฟีแนนทรีน ไดคาร์บอกซิลิก, กรด 1-ไฮดรอกซี-2-แนพโทอิก 2-คาร์บอกซีเบนซาลดีไฮด์, กรดพธาลิก และ กรดโปรโตคาทาคูอิก ซึ่งการย่อยสลายไพรีนเริ่มจากการทำงานของเอนไซม์ไพรีนไดออกซิจีเนส โดยทำการเติมออกซิเจน 2 โมเลกุลลงไปที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 4 และ 5 ของโมเลกุลไพรีนได้ผลิตภัณฑ์เป็น ซิส-4,5-ไพรีนไดไฮโดรไดออล แล้วเกิดปฏิกริยาการดึงไฮโดรเจนออกโดยอาศัยกิจกรรมของเอนไซม์ซิส-4,5-ไดไฮดอกซี-4,5-ไดไฮโดรไพรีนดีไฮโดรจีเนส แล้วตามด้วยปฏิกริยาการเปิดวงอะโรมาติกโดยการเติมออกซิเจนที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 4 และ 5 ของวงอะโรมาติก ได้ผลิตภัณฑ์เป็นกรดฟีแนนทรีน-4,5-ฟีแนนทรีนไดโออิก ตามด้วยปฏิกริยาการดึงเอาคาร์บอนไดออกไซด์ออก โดยอาศัยการทำงานของเอนไซม์ฟีแนนทรีน-4,5-ไดคาร์บอกซิเลท ดีคาร์บอกซิเลส ได้ผลิตภัณฑ์เป็นกรด 4-ฟีแนนโทรอิก จากนั้นมีการเติมออกซิเจนโดยอาศัยเอนไซม์ฟีแนนทรีน-4-ไดคาร์บอกซิเลทไดออกซิจีเนส และอาศัยเอนไซม์ซิส-3,4-ฟีแนนทรีน-ไดไฮโดรไดออล-4-คาร์บอกซีเลท ดีไฮโดรจีเนส ในการดึงไฮโดรเจนออกจนได้ผลิตภัณฑ์เป็น 3,4-ไดไฮดรอกซีฟีแนนทรีน เพื่อเข้าสู่วิถีการย่อยสลายฟีแนนทรีนต่อไปจนได้กรดพธาลิกจากนั้นเข้าสู่วิถีการย่อยสลายพธาเลตต่อไปจนผลิตภัณฑ์สุดท้ายเป็นกรดโปรโตคาทาคูอิก

Kazunga และคณะ (2000) ศึกษาการย่อยสลายไพรีนซึ่งเป็น PAHs ที่ประกอบด้วยวงแหวนเบนซีน 4 วง โดยแบคทีเรีย *Pseudomonas stutzeri* สายพันธุ์ P16 และ *Bacillus cereus* สายพันธุ์ P21 พบว่าแบคทีเรียทั้ง 2 สายพันธุ์สามารถเปลี่ยนแปลงโครงสร้างไพรีนไปเป็น ซิส-4,5-ไดไฮโคร-4,5-ไดไฮดรอกซีไพรีน (*cis*-4,5-dihydro-4,5-dihydroxypyrene) หรือที่นิยมเรียกกันว่า ซิส-4,5-ไพรีนไดไฮโครไดออล ซึ่งพบว่าเป็นสารมัธยันตร์ตัวแรกที่รู้จักกันในวิถีการย่อยสลายไพรีนอย่างสมบูรณ์ (mineralization) โดยแอโรบิกแบคทีเรีย แต่พบว่าแบคทีเรีย 2 สายพันธุ์

ดังกล่าวไม่สามารถใช้สารมัธยันตร์ที่เกิดขึ้นเป็นแหล่งคาร์บอนได้ต้องอาศัยแบคทีเรียสายพันธุ์อื่นในการย่อยสลาย แต่พบว่า *Mycobacterium* สายพันธุ์ PYR-1 สามารถเปลี่ยนแปลงโครงสร้างไพรีนไปเป็น ซิส-4,5-ไพรีนไดไฮโดรไดออล และไพรีน-4,5-ไดออน (pyrene-4,5-dione) ได้ทั้งหมด โดยสามารถใช้ทั้ง ซิส-4,5-ไพรีนไดไฮโดรไดออล และไพรีน-4,5-ไดออน เป็นแหล่งคาร์บอนได้ด้วย

Vila และคณะ (2001) พบว่า *Mycobacterium* sp. สายพันธุ์ AP1 สามารถใช้ไพรีนเพียงอย่างเดียวเป็นแหล่งคาร์บอนและแหล่งพลังงานได้ โดยพบว่าเชื้อเปลี่ยนโครงสร้างของไพรีนเป็นสารโครงสร้างอื่นในระหว่างการเจริญ โดยผ่านปฏิกิริยา monooxygenation หรือ dioxygenation ที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 4 และ 5 ได้ผลิตภัณฑ์เป็นทรานซ์- และ ซิส-4,5-ไดไฮดรอกซี-4,5-ไดไฮโดรไพรีน ตามลำดับ ต่อมาเกิดปฏิกิริยา dehydrogenation เกิดการแตกพันธะของ*ออโธ* (*ortho*) ได้ผลิตภัณฑ์เป็นกรดฟีแนนทรีน-4,5-ไดคาร์บอกซิลิก และตามด้วยปฏิกิริยาสุดท้ายคือ decarboxylation ได้ผลิตภัณฑ์เป็นกรด 4-ฟีแนนโทรอิก ซึ่งจะถูกย่อยต่อไปจนได้กรดพธาลิกเป็นผลิตภัณฑ์สุดท้าย



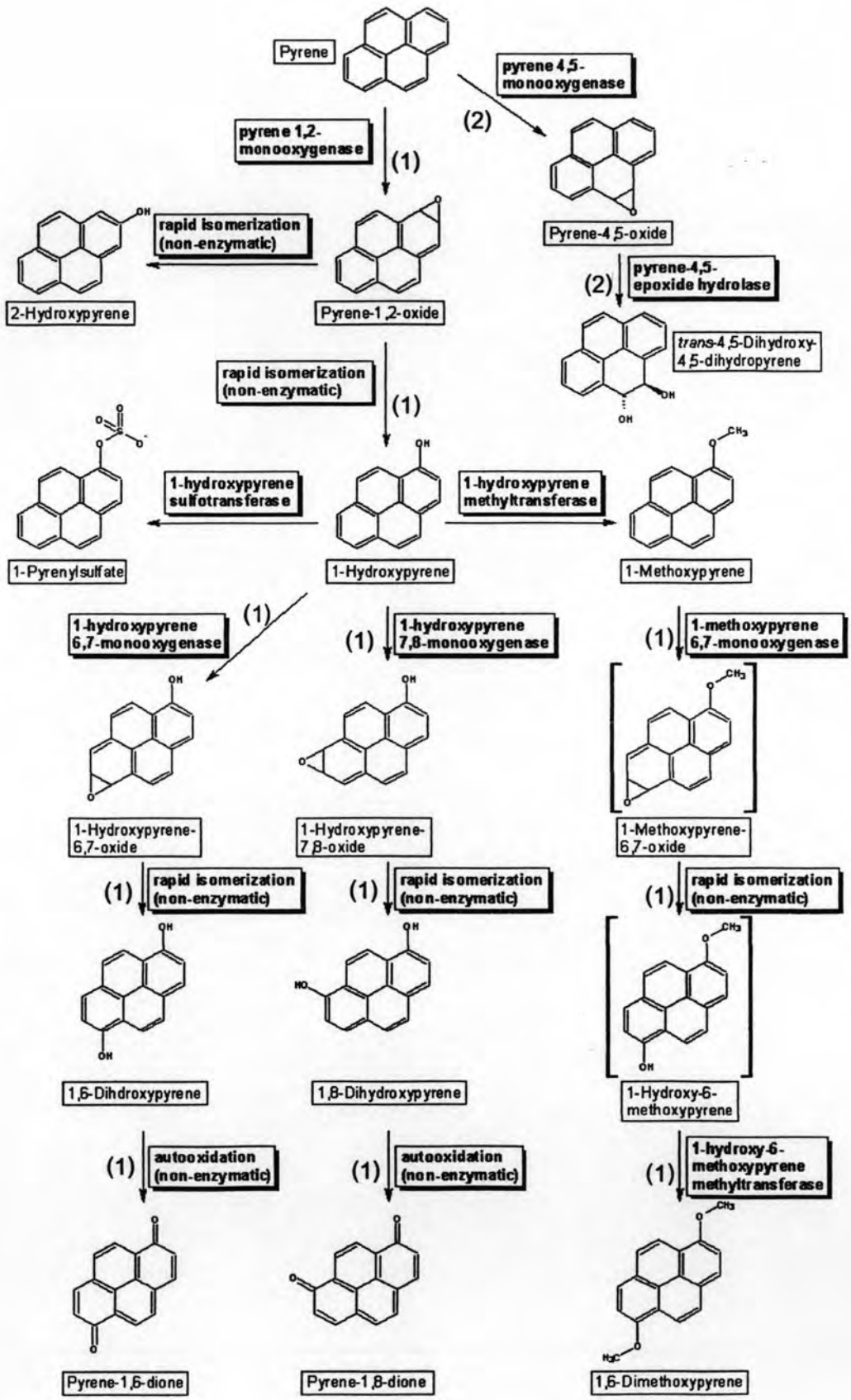
1. *Mycobacterium* sp. PYR-1 (Heitkamp และคณะ, 1988b)
2. *Rhodococcus* sp. UW1 (Walter และคณะ, 1991)
3. *Mycobacterium* sp. RJGII-135 (Grosser และคณะ, 1991 ; Schneider และคณะ, 1996)
4. *Mycobacterium flavescens* ATCC700033 (Dean-Ross และ Cerniglia, 1996)
5. *Mycobacterium* sp KP1 (Rehmann และคณะ, 1999)

รูปที่ 2.2 แสดงวิถีการย่อยสลายไพรีนโดยแบคทีเรีย (Pinyakong, 1999)

นอกจากวิถีการย่อยสลายไพรีนข้างต้นแล้ว ยังมีรายงานพบวิถีการย่อยสลายไพรีนแบบอื่นๆ อีก

Keith (2006) ได้รวบรวมวิถีการย่อยสลายไพรีนโดย *Aspergillus niger* SK 9317 และ *Penicillium glabrum* TW 9424 เริ่มจากการทำงานของเอนไซม์ไพรีน-1,2-โมโนออกซิจีเนส (pyrene-1,2-monooxygenase) เป็นปฏิกิริยาการเติมออกซิเจน 1 โมเลกุลที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 1 และ 2 ให้กับโมเลกุลไพรีน ได้ผลิตภัณฑ์เป็นไพรีน-1,2-ออกไซด์(Pyrene-1,2-oxide) จากนั้นสารดังกล่าวเกิดปฏิกิริยาไอโซเมอไรเซชันอย่างรวดเร็ว (rapid isomerization) โดยไม่ต้องใช้เอนไซม์ ซึ่งอาจได้ผลิตภัณฑ์เป็น 2-ไฮดรอกซีไพรีน (2-Hydroxypyrene) หรือ 1-ไฮดรอกซีไพรีน (1-Hydroxypyrene) ต่อมามีการเติมออกซิเจนที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 6 และ 7 ของโมเลกุลของ 1-ไฮดรอกซีไพรีน โดยเอนไซม์ 1-ไฮดรอกซีไพรีน-6,7-โมโนออกซีจีเนส(1-hydroxypyrene-6,7-monooxygenase) หรือการปฏิกิริยาการเติมออกซิเจนที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 7 และ 8 ของโมเลกุล 1-ไฮดรอกซีไพรีน ได้ผลิตภัณฑ์เป็น 1-ไฮดรอกซีไพรีน-6,7-ออกไซด์ (1-Hydroxypyrene-6,7-oxide) และ 1-ไฮดรอกซีไพรีน-7,8-ออกไซด์ (1-Hydroxypyrene-7,8-oxide) ตามลำดับ หรืออาจเกิดการเติมหมู่เมธิลที่โมเลกุลของ 1-ไฮดรอกซีไพรีน โดยการทำงานของเอนไซม์1-ไฮดรอกซีไพรีนเมธิลทรานสเฟอเรส (1-hydroxypyrene methyltransferase) ได้ผลิตภัณฑ์เป็น 1-เมธอกซีไพรีน (1-Methoxypyrene) และตามด้วยปฏิกิริยาการเติมออกซิเจนที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 6 และ 7 ของ 1-เมธอกซีไพรีน โดยเอนไซม์ 1-เมทอกซีไพรีน-6,7-โมโนออกซีจีเนส (1-methoxypyrene-6,7-monooxygenase) ได้ผลิตภัณฑ์เป็น 1-เมทอกซีไพรีน-6,7-ออกไซด์ (1-methoxypyrene-6,7-oxide) จากนั้นเกิดปฏิกิริยาไอโซเมอไรเซชันอย่างรวดเร็วที่โมเลกุลของ 1-ไฮดรอกซีไพรีน-6,7-ออกไซด์, 1-ไฮดรอกซีไพรีน-7,8-ออกไซด์ และ 1-เมทอกซีไพรีน-6,7-ออกไซด์ ได้ผลิตภัณฑ์เป็น 1,6-ไดไฮดรอกซีไพรีน (1,6-Dihydroxypyrene) 1,8-ไดไฮดรอกซีไพรีน(1,8-Dihydroxypyrene) และ 1-ไฮดรอกซี-6-เมธอกซีไพรีน (1-Hydroxy-6-methoxypyrene) ตามลำดับ ต่อมาสาร 2 ชนิดแรกเกิดปฏิกิริยาออโตออกซิเดชัน (autooxidation) ได้ผลิตภัณฑ์เป็น ไพรีน-1,6-ไดออน(Pyrene-1,6-dione) ไพรีน-1,8-ไดออน(Pyrene-1,8-dione) หรือมีการเติมหมู่เมธิลที่โมเลกุลของ 1-ไฮดรอกซี-6-เมธอกซีไพรีน ได้ผลิตภัณฑ์สุดท้ายเป็น 1,6-ไดเมธอกซีไพรีน(1,6-dimethoxypyrene) หรือการย่อยสลายไพรีนโดย *Mycobacterium* sp. AP1, PYR-1 และ *Pleurotus ostreatus* อาจเริ่มจากปฏิกิริยาการเติมออกซิเจนที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 4 และ 5 ของโมเลกุลไพรีน ได้ผลิตภัณฑ์เป็นไพรีน-4,5-ออกไซด์ (Pyrene-4,5-oxide) และตามด้วยปฏิกิริยาการเติมน้ำโดยอาศัยเอนไซม์

ไพรีน-4,5-อิพอกไซด์ ไฮโครเลส (pyrene-4,5-epoxide hydrolase) ได้ผลิตภัณฑ์เป็นทรานซ์-4,5-ไดไฮดรอกซี-4,5-ไดไฮโดรไพรีน (*trans*-4,5-dihydroxy-4,5-dihydropyrene)



รูปที่ 2.3 **วิถีการย่อยสลายไพรีนโดย** *Aspergillus niger* SK 9317 **และ** *Penicillium glabrum* TW 9424 (1), **และ** *Mycobacterium* sp. AP1, PYR-1 **และ** *Pleurotus ostreatus* (2) (Keith, 2006)

ในบางครั้งพบว่าการทำงานของแบคทีเรียบริสุทธิ์ ไม่สามารถใช้ไพรีนหรือสาร PAHs ที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูงได้โดยตรง อาจต้องอาศัยซับสเตรทร่วม (co-substrate) เป็นสารตั้งต้นให้เกิดการย่อยสลายและ/หรือใช้ในการเพิ่มจำนวนแบคทีเรีย หรือช่วยกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ที่ใช้ในปฏิกิริยาก่อน เพื่อให้เกิดการเปลี่ยนโครงสร้างของสาร PAHs บางส่วน ซึ่งเดิมแบคทีเรียไม่สามารถใช้สารดังกล่าวเป็นแหล่งคาร์บอนและพลังงานได้ เมื่อในระบบมีซับสเตรทร่วมจึงชักนำการสร้างเอนไซม์มาเร่งปฏิกิริยาการย่อยสลายสาร PAHs ดังกล่าวได้ เรียกว่า โคเมแทบอลิซึม (co-metabolism) (Cerniglia, 1992)

สาร PAHs ที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูงที่ประกอบด้วยวงอะโรมาติกตั้งแต่ 4 วงขึ้นไป จะมีความเสถียรสูง ทำให้ยากต่อการย่อยสลาย ดังนั้น แบคทีเรียบริสุทธิ์สายพันธุ์เดี่ยวส่วนใหญ่ไม่สามารถย่อยสลายสารดังกล่าวได้สมบูรณ์ การย่อยสลายสาร PAHs ที่มีโครงสร้างโมเลกุลซับซ้อนนั้นต้องอาศัยกระบวนการย่อยสลายแบบโคเมแทบอลิซึมหรืออาศัยการย่อยสลายโดยกลุ่มจุลินทรีย์ (Wilson และ Jones, 1993)

โคเมแทบอลิซึมไม่ใช่กระบวนการเมแทบอลิซึมแต่เป็นกระบวนการเปลี่ยนโครงสร้างของซับสเตรท ซึ่งจุลินทรีย์จำเป็นต้องได้พลังงานจากการย่อยสลายซับสเตรทเพื่อใช้ในการเจริญ โดยเอนไซม์ที่เกิดขึ้นในขั้นตอนนี้สามารถเปลี่ยนแปลงโครงสร้างซับสเตรทที่แตกต่างกัน ผลจากการเปลี่ยนโครงสร้างซับสเตรทนี้จะไม่มีผลต่อจุลินทรีย์ไม่ว่าจะเป็นแหล่งพลังงาน แหล่งคาร์บอน หรือกระบวนการอื่นๆที่ใช้ในการเจริญ (John และ Cookson, 1995) ซึ่งเชื่อว่าในสิ่งแวดล้อมกระบวนการนี้น่าจะเกิดขึ้นอยู่แล้ว เนื่องจากในสิ่งแวดล้อมจะมีการปนเปื้อนสาร PAHs หลายชนิด ถึงแม้ว่าจุลินทรีย์จะไม่สามารถนำสารที่เกิดจากกระบวนการโคเมแทบอลิซึมไปใช้ในการเจริญ แต่อาจมีจุลินทรีย์ชนิดอื่นในสิ่งแวดล้อมนั้น สามารถนำสารดังกล่าวใช้เป็นแหล่งคาร์บอน และพลังงานได้ การย่อยสลายสาร PAHs แบบโคเมแทบอลิซึมทำให้สามารถย่อยสลายสาร PAHs ให้สมบูรณ์ได้หลายชนิด โดยเฉพาะสาร PAHs ที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูง ซึ่งยากต่อการย่อยสลายโดยจุลินทรีย์เพียงชนิดเดียว ซับสเตรทที่จุลินทรีย์ใช้ในการเจริญอาจเป็นสารอินทรีย์ที่มีโครงสร้างไม่ซับซ้อนชนิดต่างๆ ที่อยู่ในบริเวณนั้นหรืออาจเป็นสาร PAHs ที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ ซึ่งจุลินทรีย์จะนำไปใช้ในการเจริญและเพิ่มจำนวนมากขึ้นแล้วสร้างเอนไซม์ที่สามารถย่อยสลายสาร PAHs ที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูงได้

ตัวอย่างแบคทีเรียบริสุทธิ์ที่สามารถย่อยสลายไพรีนแบบโคเมแทบอลิซึมแสดงดังตารางที่ 2.2

ตารางที่ 2.2 แบคทีเรียที่สามารถย่อยสลายไพรีนแบบโคเมแทบอลิซึม

สายพันธุ์แบคทีเรีย	โคซับสเตรท	เอกสารอ้างอิง
Mycobacterium sp.	สารอินทรีย์	Heitkamp และคณะ (1988a)
Flavobacterium sp.	เปปโตนและสารสกัดจากยีสต์	Trezesicka-Mlynarz และ Ward (1995)
Pseudomonas aeruginosa		
Pseudomanas putida		
Cycloclasticus sp.	ฟีแนนทรีน	Geiselbrecht และคณะ (1998)
Mycobacterium sp.	ฟีแนนทรีน	Molina และคณะ (1999)
Sphingomonas sp. P2	ฟีแนนทรีน	Supaka และคณะ (2001)

2. กลุ่มแบคทีเรีย

โดยทั่วไปสาร PAHs ที่ปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อมมีด้วยกันหลายชนิด ในบางกรณีการย่อยสลายสาร PAHs จำเป็นต้องอาศัยการทำงานร่วมกันของจุลินทรีย์หลายๆ ชนิด จุลินทรีย์เหล่านั้นจะอยู่ร่วมกันแบบ synergism โดยปกติสาร PAHs ที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูงจะถูกย่อยสลายได้ยากโดยจุลินทรีย์เพียงชนิดเดียว การย่อยสลายโดยกลุ่มจุลินทรีย์จะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการย่อยสลาย PAHs ให้ดียิ่งขึ้น ทำให้อัตราเร็วในการย่อยสลายเพิ่มขึ้น ที่สำคัญยังทำให้เกิดการย่อยสลายสาร PAHs ได้อย่างสมบูรณ์ (mineralization) ความสัมพันธ์หรือกลไกที่เกิดขึ้นระหว่างการทำงานร่วมกันของจุลินทรีย์ต่อการย่อยสลายสาร PAHs นั้น สิ่งที่สำคัญ คือ ระบบเอนไซม์ของจุลินทรีย์ชนิดที่ 1 สามารถสร้างเอนไซม์ย่อยสลายสารตั้งต้นได้ แต่เนื่องจากไม่มีระบบเอนไซม์ที่สามารถย่อยสารให้สมบูรณ์ เมื่อจุลินทรีย์ไม่สามารถย่อยสลายสารมัธยันตร์ที่เกิดขึ้นภายในระบบได้ (dead-end metabolite) จึงทำให้เกิดการสะสมของสารมัธยันตร์ดังกล่าวและอาจเป็นพิษต่อจุลินทรีย์ชนิดที่ 1 ในขณะที่จุลินทรีย์ชนิดที่ 2 มีระบบเอนไซม์ที่สามารถย่อยสลายสารมัธยันตร์นั้นได้ อาจมีผลทำให้ความเป็นพิษของสารมัธยันตร์ลดลงหรือสามารถนำสารดังกล่าวใช้ในการเจริญได้ ผลจากการเจริญของจุลินทรีย์ชนิดที่ 2 อาจสร้างวิตามิน กรดอะมิโน หรือสารที่ช่วยให้มีการ

ย่อยสลายสารตั้งต้นดีขึ้น เช่น สารลดแรงตึงผิวชีวภาพ (biosurfactant) ซึ่งเป็นปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญและการย่อยสลายสาร PAHs ของแบคทีเรียชนิดอื่น (Mueller และคณะ, 1989)

Juhasz และคณะ (1997) แยกแบคทีเรียจากดินจากแหล่งปนเปื้อนสาร PAHs ได้กลุ่มแบคทีเรีย ที่ประกอบด้วยแบคทีเรีย 3 สายพันธุ์ ได้แก่ *Burkholderia cepacia* สายพันธุ์ VUN10,001 VUN10,002 และ VUN10,003 มาเลี้ยงร่วมกัน พบว่ากลุ่มแบคทีเรียนี้สามารถใช้ไพรีน ฟลูออรีน และฟีแนนทรีน เป็นแหล่งคาร์บอนและพลังงานได้ นอกจากนี้ยังสามารถย่อยสลายฟลูออแรนธีน เบนโซ(เอ)ไพรีน, ไดเบนซ(เอ,เอช)แอนทราซีน (dibenz(a,h)anthracene) ซึ่งมีโครงสร้างประกอบด้วยวง อะโรมาติก 5 วง โดยกระบวนการโคเมแทบอลิซึม ที่มีฟีแนนทรีนเป็นซับสเตรทเพื่อการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย

Boonchan และคณะ (2000) ศึกษาการย่อยสลายทางชีวภาพของ high-molecular-weight PAHs ที่มีโมเลกุลสูง ในอาหารเหลวและในดิน โดย *Stenotrophomonas maltophilia* VUN 10,010 และ bacterial consortium VUN 10,009 และ *Penicillium janthinellum* VUO 10,021 ซึ่งแยกได้จากน้ำมันและโรงงานอุตสาหกรรมผลิตก๊าซพบว่า *Stenotrophomonas maltophilia* VUN 10,010 สามารถใช้ไพรีนเป็นแหล่งคาร์บอนและพลังงานได้เมื่อเลี้ยงเชื้อในอาหาร BSM (Basal salts medium) และสามารถย่อยสลายเบนโซ(เอ)ไพรีนได้อย่างสมบูรณ์เมื่อทำการเลี้ยงเชื้อโดยใช้ไพรีนเป็นสารตั้งต้นร่วม ขณะที่ *Penicillium janthinellum* VUO 10,021 ไม่สามารถใช้ high-molecular-weight PAHs เป็นแหล่งคาร์บอนและพลังงานได้แต่สารประกอบเหล่านี้จะถูกย่อยได้เพียงบางส่วนถ้าเลี้ยงเชื้อใน nutrient broth นอกจากนี้หากทำการเลี้ยงเชื้อเดี่ยวเหล่านี้ใน BSM ที่เติม PAHs ทีละชนิด คือ ไครซีน (chrysene) เบนซ(เอ)แอนทราซีน (benz(a)anthracene) เบนโซ(เอ)ไพรีน และ ไดเบนซ(เอ,เอช)แอนทราซีน พบว่าเกิดการย่อยสลายสารเหล่านี้เพียงเล็กน้อยเท่านั้น แต่พบว่าหากเลี้ยงเชื้อร่วมกันจะทำให้เกิดการย่อยสลาย high-molecular-weight PAHs ได้ดีขึ้น เช่น การเลี้ยง *Penicillium janthinellum* VUO 10,021 ร่วมกับ bacterial consortium VUN 10,009 หรือ *Stenotrophomonas maltophilia* VUN 10,010 พบว่าสามารถย่อยสลายเบนโซ(เอ)ไพรีนได้อย่างสมบูรณ์จนได้ผลิตภัณฑ์เป็นคาร์บอนไดออกไซด์ถึง 25% ภายในเวลา 49 วัน

หอสมุดกลาง ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

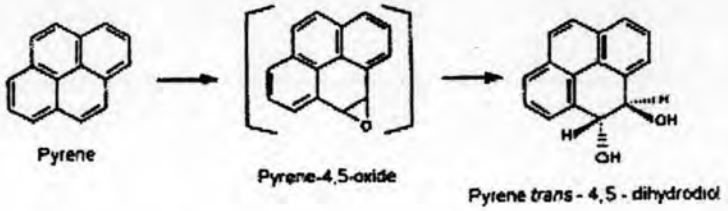
Yu และคณะ (2005) ศึกษาการย่อยสลายสาร PAHs (ฟลูออรีน ฟีแนนทรีน และไพรีน) โดยกลุ่มแบคทีเรียที่แยกมาจากตะกอนดินชายเลน ซึ่งประกอบด้วยแบคทีเรียที่จัดอยู่ในสกุล *Rhodococcus* sp. *Acinetobacter* sp. และ *Pseudomonas* sp. พบว่าสามารถย่อยฟลูออรีนและฟีแนนทรีนได้ 100% ภายใน 4 สัปดาห์ และย่อยสลายไพรีนได้หมดใน 6 สัปดาห์

การย่อยสลายไพรีนโดยรา

ราหลายชนิดย่อยสลายไพรีนโดยใช้ระบบไซโตโครมพี-450 โมโนออกซีจีเนส (cytochrome P-450 monooxygenase system) ราที่ใช้ระบบไซโตโครมพี-450 โมโนออกซีจีเนสจะเติมออกซิเจนแก่ซับสเตรททำให้เกิดสารเอรีน ออกไซด์(arene oxide) แล้วย่อยต่อไปจะได้ผลิตภัณฑ์ที่เป็น ทรานซ์-4,5-ไดไฮโดรไดออล (*trans*-dihydrodiol) ซึ่งไม่สามารถนำไปใช้เป็นแหล่งคาร์บอนและพลังงานในการเจริญได้

Benzalel และคณะ (1996) ศึกษาการย่อยสลายไพรีน แอนทราซีน ฟลูออรีน และ ไดเบนโซไทโอฟีน โดย *Pleurotus ostreatus* แล้ววิเคราะห์ด้วย HPLC ,GC-MS และ ^{1}H NMR พบ metabolites ของไพรีน แอนทราซีน ฟลูออรีน และ ไดเบนโซไทโอฟีน ปริมาณ 45 ,84 ,64 และ 96% จากการสกัดตัวอย่างด้วยสารอินทรีย์ ตามลำดับ และพบว่าไพรีนส่วนใหญ่ถูกเปลี่ยนโครงสร้างไปเป็น ทราน-4,5-ไดไฮโดรไดออล

Da Silva และคณะ (2004) พบว่ารา *Cyclothyrium* sp.CBS 109850 ที่แยกได้จากตะกอนที่ปนเปื้อนจากโรงงานอุตสาหกรรมในประเทศบราซิล สามารถย่อยสลายไพรีน แล้วเกิดการสะสมสารมัธยันตร์ที่เกิดจากการย่อยสลายไพรีน ซึ่งสารมัธยันตร์ที่เกิดขึ้นสามารถสกัดและแยกออกมาได้โดย HPLC และจากการวิเคราะห์คุณสมบัติของสารโดย ^{1}H NMR พบว่าสารมัธยันตร์ของการย่อยสลายไพรีนโดยรา *Cyclothyrium* sp.CBS 109850 คือ pyrene *trans*-4,5-dihydrodiol



รูปที่ 2.4 วิถีการย่อยสลายไพรีนโดย *Cyclothyrium* sp.(Da Silva และคณะ ,2004)

นอกจากนี้ยังมีราไวท์รอทที่มีความสามารถในการย่อยสลายลิกนินที่มีโครงสร้างเป็นวงอะโรมาติกที่มีความซับซ้อนได้ ซึ่งเกิดจากกิจกรรมของเอนไซม์กลุ่มเปอร์ออกซิเดส ซึ่งได้แก่ ลิกนินเปอร์ออกซิเดส แมงกานีสเปอร์ออกซิเดส และแลคเคส โดยเอนไซม์ในกลุ่มนี้ไม่มีความจำเพาะต่อสารตั้งต้นจึงสามารถย่อยสลายลิกนินและสารพอลิไซคลิกอะโรมาติกที่มีลักษณะโครงสร้างเป็นวงอะโรมาติกเหมือนกันได้ โดยมีรายงานการใช้ลิกนินเปอร์ออกซิเดสจาก *Phanerochaete chrysosporium* ในการออกซิไดส์ไพรีน แต่พบว่าการย่อยสลายไม่สมบูรณ์ ได้ผลิตภัณฑ์เป็น 1,6-ควิโนน (1,6-quinone) หรือ 1,8-ควิโนน (1,6-quinone) (Hemmel,1995)

การย่อยสลายไพรีนโดยสิ่งมีชีวิตชนิดอื่น

Stroomberg และคณะ (1996) ศึกษาการเกิดสารมัธยันตร์ของไพรีนโดย *Porcellio scaber* ซึ่งเป็นสิ่งมีชีวิตประเภทสัตว์น้ำที่มีเปลือกแข็ง โดยทำการเติม 100 μg/g ไพรีน ในอาหารแล้วเลี้ยงเป็นเวลา 13 วัน ทำการสกัดตัวอย่างด้วยวิธีย่อยสลายด้วยด่าง (Alkaline hydrolysis method) และตามด้วยวิธีการสกัดแบบของเหลว-ของเหลว (liquid-liquid extraction) ทำการติดตามสารมัธยันตร์ที่เกิดขึ้น โดยเฉพาะอย่างยิ่ง 1-ไฮดรอกซีไพรีน โดยใช้ Synchronous Fluorescence Spectroscopy (SFS) และยืนยันด้วย HPLC พบ 1-ไฮดรอกซีไพรีน ปริมาณมากกว่าไพรีน เป็นการแสดงว่าไพรีนถูกย่อยสลายไปแล้วเกิดสารอื่นขึ้นมาแทน

Christensen และคณะ (2002) ศึกษาการดูดซับและการกำจัด [^{14}C-4,5,9,10] pyrene และการเกิดสารอนุพันธุ์ของไพรีนทั้งที่ละลายน้ำและที่ไม่ละลายน้ำ โดยสิ่งมีชีวิตพวก polychaete สายพันธุ์ *Nereis diversicolor* และ *Arenicola marina* ซึ่งทั้ง 2 สายพันธุ์สามารถสะสมและกำจัดไพรีนได้อย่างรวดเร็วโดยทำการเลี้ยง polychaete 2 สายพันธุ์ ในตะกอนที่ปนเปื้อนไพรีนความเข้มข้นคงที่สม่ำเสมอ เป็นเวลา 5 วัน ซึ่ง *Arenicola marina* มีค่า bioaccumulation factor ของไพรีนมากกว่า *Nereis diversicolor* 5-10 เท่า และยังพบว่ามีสารมัธยันตร์ทั้งที่ละลายน้ำและที่ไม่ละลายน้ำสะสมอยู่ในเนื้อเยื่อของทั้ง 2 สายพันธุ์ หลังจากถ่าย polychaete 2 สายพันธุ์ ลงในตะกอนที่ปราศจากการปนเปื้อนประมาณ 50 เปอร์เซ็นต์ของไพรีนในเนื้อเยื่อเริ่มถูกกำจัดออกภายในเวลา 1-5 วัน ซึ่ง *Arenicola marina* สามารถกำจัดได้เร็วกว่า *Nereis diversicolor* และพบว่า *Nereis diversicolor* เท่านั้นที่สังเคราะห์สารมัธยันตร์ที่ละลายน้ำได้โดยวิเคราะห์แล้วพบว่าสารมัธยันตร์ที่เกิดขึ้นคือ 1-ไฮดรอกซีไพรีน

Babson และคณะ (1986) ศึกษาเมแทบอลิซึมของฟลูออแรนทีน (fluoranthene) โดยการบ่มกับเอนไซม์จากตับหนู พบว่าสารมัธยันตร์ ฟลูออแรนทีน-2,3-ไดไฮดรอกซี-2,3-ไดไฮโดรฟลูออแรนทีน (fluoranthene-2,3-dihydroxy-2,3-dihydrofluoranthene) เป็นสารก่อการกลายพันธุ์ต่อ *Samonella typhimurium* TM 677

Zielinska-Park และคณะ (2004) พบว่าแบคทีเรียที่สามารถย่อยสลายไพรีนไปเป็น ไพรีน-4,5-ควิโนน (pyrene-4,5-quinone) ก่อให้เกิดการกลายพันธุ์ต่อสิ่งมีชีวิตได้ โดยไพรีน-4,5-ควิโนนจะไปทำลาย DNA ของต่อมไทมัสของลูกวัว โดยผ่าน copper-mediated redox cycle

จากวิถีการย่อยสลายไพรีนที่กล่าวข้างต้นพบว่ามีการสะสมสารมัธยันตร์เกิดขึ้นซึ่งมีการค้นพบว่าสารมัธยันตร์เหล่านั้นเป็นพิษต่อเซลล์ของสิ่งมีชีวิต ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงมีการศึกษาความเป็นพิษของสารมัธยันตร์ โดยอาศัยวิธีของเอมส์ (Ames' test)

การทดสอบความเป็นพิษของสารมัธยันตร์โดยวิธี Ames test (Maron and Ames, 1983)

การทดสอบเอมส์เป็นการทดสอบการกลายพันธุ์แบบย้อนกลับ (Backward or reverse mutation) ในแบคทีเรีย *Salmonella typhimurium* เพราะว่าแบคทีเรียที่นำมาใช้ทดสอบ เป็นแบคทีเรียที่ผ่านการทำให้กลายพันธุ์ให้ไม่สามารถสังเคราะห์กรดอะมิโนฮีสทิดีน (histidine) ได้ แบคทีเรียจะไม่เจริญในอาหารที่ไม่มีกรดอะมิโนฮีสทิดีน เรียกว่า Histidine dependent ใช้สัญลักษณ์ *his*$^-$ สารที่นำมาทดสอบที่มีสมบัติก่อให้เกิดการกลายพันธุ์จะทำให้แบคทีเรียสามารถไปสร้างกรดอะมิโนฮีสทิดีนได้ จึงเป็นการย้อนกลับของการกลายพันธุ์ครั้งแรก แบคทีเรียที่เป็นเครื่องมือในการทดสอบนี้ นอกจากต้องอาศัยกรดอะมิโนฮีสทิดีนแล้ว ยังมีสมบัติอื่นๆ ที่ทำให้แบคทีเรียมีความไวต่อการเกิดกลายพันธุ์ ได้แก่

1. *rfa* mutation คือการทำให้แบคทีเรียขาดสารไลโปพอลิแซ็คคาไรด์ที่เคลือบบนผนังเซลล์ของแบคทีเรีย ทำให้สารกลายพันธุ์ที่มีโมเลกุลใหญ่สามารถซึมผ่านผนังเซลล์เข้าไปในตัวแบคทีเรียได้
2. *uvrB* mutation คือการทำให้แบคทีเรียขาดระบบซ่อมแซมดีเอ็นเอที่ผิดปกติ (loss of DNA excision repairing system) ดังนั้นเมื่อมีดีเอ็นเอกลายพันธุ์เกิดขึ้น จะไม่ถูกซ่อมแซมให้ดีเหมือนเดิม ทำให้ดีเอ็นเอผิดปกตินี้ถูกนำไปถ่ายทอดได้

3. R factor คือการเติมพลาสมิดชนิด pKM 101 หรือ pAQ1 เข้าไปในแบคทีเรียเพื่อช่วยให้แบคทีเรียมีความไวต่อการถูกเปลี่ยนแปลงโดยสารก่อกลายพันธุ์ได้มากขึ้น

ความเป็นสารก่อกลายพันธุ์อาจเกิดขึ้นได้สองแบบคือ แบบแรกเป็นสารก่อกลายพันธุ์ที่ออกฤทธิ์โดยตรงโดยไม่ต้องอาศัยการกระตุ้นโดยระบบเอนไซม์ ส่วนแบบที่สองเป็นสารก่อกลายพันธุ์ที่ออกฤทธิ์โดยอาศัยการกระตุ้นจากระบบเอนไซม์

ระบบเอนไซม์ที่ใช้ในการทดสอบความเป็นสารก่อกลายพันธุ์ คือ S9-mix ซึ่งเป็นส่วนผสมของเอนไซม์และโคแฟคเตอร์ที่จำเป็นในการกระตุ้นสารเคมี ซึ่งสารเคมีต่างๆ เมื่อเข้าสู่ร่างกายจะต้องถูกเปลี่ยนแปลงโดยกระบวนการเมแทบอลิซึม โดยปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นเริ่มจากปฏิกิริยาการเปลี่ยนแปลงสารเคมีต่างๆ โดยอาศัยเอนไซม์ Microsomal mixed-function oxidase ซึ่งเป็นเอนไซม์ของ microsome จาก endoplasmic reticulum ของเซลล์ เป็นเอนไซม์ในระบบ mixed function oxidase ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นเป็นการออกซิไดส์โดยเติมออกซิเจนแก่ซับสเตรทซึ่งหมายถึงสารเคมีต่างๆ ทั้งนี้เพราะสารเคมีเหล่านี้ ส่วนมากจะไม่สามารถละลายน้ำ ทำให้ยากต่อการขับออกจากร่างกาย จึงต้องมีการเปลี่ยนแปลง โดยเอนไซม์ระบบนี้ทำให้เปลี่ยนสถานะของสารเคมีจากไลโปฟิลลิคเป็นสารที่ละลายน้ำได้ดีขึ้น นอกจากนี้ยังเป็นการเปลี่ยนสารเคมีเพื่อกลายเป็นซับสเตรทของเอนไซม์ในปฏิกิริยาขั้นตอนต่อไป ซึ่งเป็นขั้นตอนการเกิดปฏิกิริยาการรวม (conjugation) ระหว่างซับสเตรทที่เกิดขึ้นกับ conjugating agents ของร่างกาย เช่น กลูตาไธโอน, ไกลซีน, กลูคิวโรไนด์ และ ซัลเฟต เป็นต้น ผลที่เกิดขึ้นคือได้สารที่มีความเป็นขั้วมากขึ้นและพิษน้อยลง

S9 fraction คือส่วนของน้ำใสที่ได้จากการปั่นตับหนูที่ถูกเหนี่ยวนำให้มีกิจกรรมของเอนไซม์เพิ่มขึ้น เป็นส่วนที่มีเอนไซม์ของระบบเมแทบอลิซึมสารพิษอยู่ สามารถนำไปกระตุ้นปฏิกิริยาการเป็นสารก่อกลายพันธุ์ของสารเคมีที่ใช้ทดสอบที่ต้องผ่านกระบวนการเมแทบอลิซึมได้ ซึ่งสารเคมีที่ใช้ในการกระตุ้นเพื่อเพิ่มกิจกรรมของเอนไซม์ ได้แก่ โพลิคลอริเนต (polychlorinated), อะโรคอร์ 1254 (arochor 1254), ฟีโนบาบิทอล (phenobarbitol) และ 5,6-แนพโทฟลาโวน (5,6-naphthoflavone) เป็นต้น

การทดสอบการก่อกลายพันธุ์ในแบคทีเรีย ได้เพิ่มระบบการกระตุ้นสารเคมีโดยเอนไซม์ของระบบเมตาบอลิซึม ได้แก่เอนไซม์ที่อยู่ใน S9 fraction เปรียบเหมือนจำลองสถานะการณ์การกระตุ้นสารเคมีด้วยเอนไซม์ที่พบในคน เข้าไปในการทดลองด้วย การทดสอบฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ที่เติม S9 mix ในปฏิกิริยา หมายถึงทำให้เกิด metabolic activation กับสารเคมีโดยเอนไซม์ในหลอดทดลอง ส่วนการทดลองที่ไม่เติม S9 mix เป็นการทดสอบฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ของสารเคมีที่ออกฤทธิ์โดยตรงไม่ผ่านการ metabolic activation โดยเอนไซม์ นับได้ว่าการทดสอบเอมส์สามารถจำลองสถานะการณ์การเมแทบอลิซึมสารพิษจนสามารถเปลี่ยนแปลงดีเอ็นเอให้ผิดปกติไปได้ เหมือนกับที่อาจเกิดในร่างกาย

การบำบัด PAHs ที่ปนเปื้อนในดินโดยวิธีทางชีวภาพนั้นต้องอาศัยระยะเวลาในการกำจัด เนื่องจากอัตราการย่อยสลายและการนำ PAHs ไปใช้ในการเจริญของจุลินทรีย์ในดินมีอย่างจำกัด ซึ่งเป็นผลมาจาก PAHs มีสมบัติไฮโดรโฟบิกทำให้การละลายน้ำต่ำ รวมทั้งสามารถจับและแทรกตัวอยู่ระหว่างช่องว่างภายในอนุภาคดินได้เป็นอย่างดี แต่มีจุลินทรีย์ในดินไม่มากนักที่สามารถย่อยสลาย PAHs ในรูปผลึกที่จับอยู่กับดินได้โดยตรง (Verstraete และ Devliegher ,1996) ดังนั้นสมบัติไฮโดรโฟบิกของผิวเซลล์ของแบคทีเรียจึงมีผลต่อการยึดเกาะระหว่างเซลล์กับ PAHs (van Loosdrecht และคณะ ,1987)

Bastiaens และคณะ(2000) ได้คัดแยกแบคทีเรียที่ย่อยสลาย PAHs จากดินที่มีการปนเปื้อนโดยใช้แผ่นเทฟลอน (teflon) ที่มีสมบัติไฮโดรโฟบิก พบว่าแบคทีเรียที่ได้นี้แตกต่างจากวิธี enrichment liquid culture กล่าวคือสามารถแยก *Mycobacterium* sp. สายพันธุ์ LC501T ซึ่งมีสมบัติไฮโดรโฟบิกสูง สามารถย่อยสลายแอนทราซีนและผลิตสารเคลือบผิวทางชีวภาพ เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการยึดเกาะบนผลึกแอนทราซีน ซึ่งไม่พบในการคัดแยกด้วยวิธี enrichment liquid culture สาเหตุหนึ่งเกิดจากแบคทีเรียที่สามารถเกาะกับผลึก PAHs ไม่สามารถปรับตัวและเพิ่มจำนวนในสภาวะแวดล้อมนี้ได้ การใช้วัสดุที่มีสมบัติไฮโดรโฟบิกจึงเป็นประโยชน์ในการคัดแยกแบคทีเรียที่ย่อยสลาย PAHs ชนิดใหม่และมีความสามารถในการเกาะติดกับ PAHs ได้ดี

ทิมากร แสงดำ (2547) ได้คัดแยกกลุ่มแบคทีเรีย STK จากปุ๋ยหมักใบมะขามใช้แผ่นโพลิเตตระฟลูออโรเอทธิลีน (PTFE) โดยกลุ่มแบคทีเรียประกอบด้วยแบคทีเรีย STK1 STK2 และ STK3 มีความคล้ายคลึงกับแบคทีเรียที่จัดอยู่ในจีนัส *Zoogloea* sp., *Stenotrophomonas* sp. และ

Mesorhizobium sp. โดยมีเปอร์เซ็นต์ความคล้ายคลึง (%homology) เท่ากับ 99% แบคทีเรียกลุ่มนี้สามารถใช้ไพรีนเป็นแหล่งคาร์บอนและพลังงานได้ โดยพบว่า STK มีประสิทธิภาพสูงมากในการย่อยสลายไพรีน ซึ่งสามารถย่อยสลายไพรีนในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวได้หมดในระยะเวลา 8 วัน และสามารถย่อยสลาย PAHs อื่น ได้แก่ ฟีแนนทรีน ไดเบนโซฟูแรน อะซีแนพธีน อะซีแนพธิลีน และยังสามารถย่อยสลาย แอนทราซีนกับฟลูออรีนได้เล็กน้อย รวมทั้งเบนโซ(เอ)ไพรีน ในขณะที่มีน้ำมันดีเซลรวมอยู่ด้วย

รุจา สารคุณ (2548) ศึกษาผลของสารลดแรงตึงผิวสังเคราะห์ (Brij 35 และ SDS) สารลดแรงตึงผิวชีวภาพ (แรมโนลิปิดที่ผลิตโดย *Pseudomonas aeruginosa* สายพันธุ์ A41 และเซอร์แฟคติน ที่ผลิตโดย *Bacillus subtilis* สายพันธุ์ BBK1) และแบคทีเรียที่สามารถสร้างสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ (*P. aeruginosa* สายพันธุ์ A41 และ *B. subtilis* สายพันธุ์ BBK1) ต่อการย่อยสลายฟลูออรีน ฟีแนนทรีน และไพรีน โดยกลุ่มแบคทีเรีย STK ในระบบสเลอรีที่มีอัตราส่วนดินต่อน้ำ 1:8 (กรัม/มล.) พบว่าการเติม Brij 35 ร่วมกับกลุ่มแบคทีเรีย STK สามารถเพิ่มการย่อยสลายฟลูออรีนได้ดีกว่าการไม่เติมสารนี้ และมีประสิทธิภาพมากกว่าการเติม SDS แรมโนลิปิด เซอร์แฟคติน *P. aeruginosa* สายพันธุ์ A41 และ *B. subtilis* สายพันธุ์ BBK1 แต่พบว่าการเติม SDS แรมโนลิปิด เซอร์แฟคติน *P. aeruginosa* สายพันธุ์ A41 และ *B. subtilis* สายพันธุ์ BBK1 ไม่ส่งเสริมการย่อยสลายฟีแนนทรีน และไพรีน ในแง่ของความสามารถในการชะ PAHs ออกจากดิน พบว่าสารลดแรงตึงผิวสังเคราะห์ Brij 35 และ SDS สามารถชะฟลูออรีน ฟีแนนทรีน และไพรีนออกจากดินสู่วัฏภาคน้ำได้มากกว่าสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ สำหรับการเติม *P. aeruginosa* สายพันธุ์ A41 และ *B. subtilis* สายพันธุ์ BBK1 ลงในระบบ พบว่าสามารถสร้างสารลดแรงตึงผิวได้เล็กน้อยระหว่างการทดลอง โดยทำให้มีค่าแรงตึงผิวของสารละลายดินลดลงจาก 60 มิลลินิวตันต่อเมตร เป็น 47 และ 45 มิลลินิวตันต่อเมตร ตามลำดับ ทำให้มีการชะฟลูออรีน ฟีแนนทรีน และไพรีนออกจากดินสู่วัฏภาคน้ำได้

จากงานวิจัยของ ทิมากร แสงดำ และ รุจา สารคุณ แสดงให้เห็นว่ากลุ่มแบคทีเรีย STK นี้มีศักยภาพที่จะนำมาใช้บำบัดสาร PAHs ในสิ่งแวดล้อม แต่ในการย่อยสลายจะมีการสร้างสารมัธยันตร์เกิดขึ้นในระหว่างปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นด้วย ทั้งในระยะสั้นหรือยาว เป็นผลให้ได้สารที่อาจมีพิษมากขึ้นหรือน้อยลงกว่าสารตั้งต้น และสารที่เกิดถ้ามีสมบัติที่เกาะติดกับ macromolecule ของสารอินทรีย์ในดินหรือรวมเข้าไปในส่วนของชั้นฮิวมัส เกิดเป็น bound residue ขึ้น จะยิ่งทำให้เกิดผล

เสียมากขึ้น ดังนั้นการศึกษาเพื่อให้ทราบชนิดของสารมัธยันตร์ที่สร้างขึ้น ก่อนที่จะนำจุลินทรีย์ไปใช้ในการบำบัดจึงเป็นสิ่งที่มีความสำคัญและจำเป็น