



รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์

การบำบัดน้ำใต้ดินที่ปนเปื้อนอาร์เซนิกด้วยกระบวนการทางชีวภาพ

โดยใช้แบคทีเรีย

(Treatment of arsenic-contaminated ground water

by bioprocess using bacteria)

โดย

ผศ. ดร. ปราณี พัฒนพิพิธไพศาล

กันยายน ๒๕๕๔



รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์

เรื่อง การบำบัดน้ำใต้ดินที่ปนเปื้อนอาร์เซนิกด้วยกระบวนการทางชีวภาพ
โดยใช้แบคทีเรีย

(Treatment of arsenic-contaminated ground water
by bioprocess using bacteria)

ผู้วิจัย

ผศ. ดร. ปราณี พัฒนพิพิธไพศาล

ภาควิชาวิทยาศาสตร์ชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์

มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี

โครงการวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจากสำนักงานงบประมาณ

ประจำปี ๒๕๕๓-๒๕๕๔

กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากสำนักงานงบประมาณ ประจำปี พ. ศ. ๒๕๕๓-๒๕๕๔ ผู้วิจัยขอขอบคุณนางสาวปิยาดา สุรารักษ์ นางสาวนาถอนงค์ จิตต์สิงห์ นางสาวรุ่งฟ้า แสนทวีสุขและนางสาวพิทยา วามะขันต์ ที่ให้ความช่วยเหลือในการเก็บตัวอย่างและการวิเคราะห์ข้อมูล ขอขอบคุณคณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี ที่ให้ความอนุเคราะห์เครื่องมือและสถานที่สำหรับทำงานวิจัยในครั้งนี้

PRANEE PATANAPIITPAISAL

บทคัดย่อ

การปนเปื้อนของอาร์ซินิกในน้ำใต้ดินเป็นปัญหาสำคัญที่พบได้ทั่วโลก ซึ่งเป็นผลที่เกิดขึ้นจากวัฏจักรทางธรณีวิทยาและจากกิจกรรมต่างๆ บนพื้นผิวดิน โดยอาร์ซินิกที่ระดับความเข้มข้น 50 ไมโครกรัมต่อลิตร จะก่อให้เกิดปัญหาต่อสุขภาพของมนุษย์หลังการสะสมในร่างกาย 10-15 ปี ซึ่งอาการความเป็นพิษเรื้อรังเนื่องจากอาร์ซินิกหรือโรคพิษสารหนูเรื้อรังจะรุนแรงแตกต่างกันขึ้นอยู่กับเวลาการได้รับสารและการสะสมในร่างกาย วิธีการในการบำบัดความเป็นพิษของอาร์ซินิกกระทำได้หลายวิธี เช่น การบำบัดด้วยวิธีทางกายภาพ-เคมี ซึ่งต้องอาศัยผู้เชี่ยวชาญทางเทคนิค เสียค่าใช้จ่ายสูง และยังเป็นการเพิ่มสารเคมีตกค้างในสิ่งแวดล้อมมากขึ้น การบำบัดด้วยวิธีทางชีวภาพจึงเป็นทางเลือกหนึ่งที่ประหยัดในเรื่องค่าใช้จ่าย ปลอดภัยสำหรับมนุษย์และสัตว์ และลดการปนเปื้อนของสารเคมีชนิดอื่น งานวิจัยนี้ได้คัดเลือกแบคทีเรียที่ต้านทานต่ออาร์ซินิกจากตัวอย่างน้ำใต้ดินและตัวอย่างดินในเขตจังหวัดอุบลราชธานี ด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ enrichment and growth medium (EG medium) ที่มีความเข้มข้นของโพแทสเซียมอาร์ซิไนท์เท่ากับ 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถคัดแยกแบคทีเรียที่ต้านทานต่ออาร์ซินิกรวมทั้งสิ้น 203 ไอโซเลท เมื่อนำมาทดสอบความต้านทานต่อโพแทสเซียมอาร์ซินิกที่ระดับความเข้มข้นเท่ากับ 1 mM – 10 mM ผลการทดลองพบว่าแบคทีเรียที่ต้านทานต่อความเป็นพิษของโพแทสเซียมอาร์ซิไนท์ที่ระดับความเข้มข้นสูงสุดเท่ากับ 10 mM มีจำนวนเท่ากับ 18 ไอโซเลท เมื่อนำแบคทีเรียมาทดสอบประสิทธิภาพในการออกซิไดส์เพื่อลดความเป็นพิษของอาร์ซิไนท์ โดยเฉพาะเลี้ยงใน EG medium ที่มีความเข้มข้นของโพแทสเซียมอาร์ซิไนท์เริ่มต้นเท่ากับ 75 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร บ่มโดยการเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ผลการทดลองพบว่าไอโซเลท PNKP-S2 เจริญในสภาวะที่มีอาร์ซิไนท์ได้ดีที่สุด โดยมีปริมาณเชื้อเฉลี่ยมากที่สุดเท่ากับ 18.0×10^{11} cfu/ml และมีอัตราออกซิไดส์อาร์ซิไนท์ได้สูงสุดเท่ากับ 89.11 เปอร์เซ็นต์ ปัจจัยที่เหมาะสมในการออกซิไดส์อาร์ซิไนท์โดยไอโซเลท PNKP-S2 คือ เพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มี sodium acetate trihydrate เป็นแหล่งคาร์บอน ปรับพีเอชเท่ากับ 6.5 หัวเชื้อตั้งต้นปริมาตรเท่ากับ 6 % (v/v) บ่มภายใต้การเขย่าที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากการตรวจวินิจฉัยด้วยเทคนิคชีวโมเลกุล 16S rRNA analysis สามารถจัดจำแนกเชื้อแบคทีเรียออกซิไดส์อาร์ซิไนท์ไอโซเลท PNKP-S2 คือ *Bacillus megaterium* PNKP-S2 การศึกษาประสิทธิภาพของแบคทีเรียออกซิไดส์อาร์ซิไนท์ PNKP-S2 ที่สร้างไบโอฟิล์มบนก้อนหินกรวดภายในถังปฏิกรณ์ ในการบำบัดน้ำใต้ดินสังเคราะห์ที่ปนเปื้อนโซเดียมอาร์ซิไนท์ที่ระดับความเข้มข้นเริ่มต้นเท่ากับ 10 และ 20 ไมโครกรัมต่อลิตร อัตราการไหลเข้าเท่ากับ 0.5 มิลลิลิตรต่อนาที่อย่างต่อเนื่อง ที่อุณหภูมิห้อง ผลการทดลองพบว่าที่ระดับความเข้มข้นเริ่มต้นของโซเดียมอาร์ซิไนท์เท่ากับ 10 ไมโครกรัมต่อลิตร ปริมาณโซเดียมอาร์ซิไนท์ในน้ำใต้ดินสังเคราะห์ที่ไหลออกจากถังปฏิกรณ์ไบโอฟิล์มจะลดลงเรื่อยๆ และมีอัตราการบำบัดคงที่เท่ากับ 90% ในวันที่ 6-34 ของการทดลอง เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของโซเดียมอาร์ซิไนท์เท่ากับ 20 ไมโครกรัมต่อลิตรในวันที่ 35 ของการทดลอง พบว่าไบโอฟิล์มสามารถออกซิไดส์อาร์ซิไนท์โดยมีอัตราการบำบัดคงที่เท่ากับ 95% ในวันที่ 53-65 ของการทดลอง ส่วนการบำบัดด้วยถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบ membrane bioreactor ผลการทดลองพบว่าที่ระดับความเข้มข้นเริ่มต้นของโพแทสเซียมอาร์ซิไนท์เท่ากับ 50 ไมโครกรัมต่อลิตร อัตราการ

บำบัดมีค่าเพียง 18 % ภายในระยะเวลา 10 วันของการทดลอง เมื่อลดความเข้มข้นของโพแทสเซียมอาร์ซีไนท์ลงเท่ากับ 40 ไมโครกรัมต่อลิตร พบว่าอัตราการบำบัดเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องจนกระทั่งคงที่เท่ากับ 97.50% ในวันที่ 32-35 ของการทดลอง ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าถังปฏิกรณ์ไบโอฟิล์มที่มีแบคทีเรียออกซิไดส์อาร์ซีไนท์สามารถลดความเป็นพิษของโพแทสเซียมอาร์ซีไนท์และสามารถใช้เป็นแนวทางในการบำบัดอาร์ซีไนคในน้ำใต้ดินต่อไป

คำสำคัญ : แบคทีเรียออกซิไดส์อาร์ซีไนท์ แบคทีเรียต้านทานอาร์ซีไนค การบำบัดอาร์ซีไนคโดยวิธีทางชีวภาพ

PRANEE PATANAPIITPAISAL

Abstract

Arsenic contamination in groundwater is a major problem worldwide that result from natural biogeochemical cycle and from anthropogenic activities. Arsenic concentrations of 50 micrograms per liter cause human health problems after accumulate in the body for 10-15 years. A symptom of chronic toxicity due to arsenic or arsenicosis is radically different depending on the time of exposure and accumulation in the body. Several remediation techniques for arsenic removal have been applied such as physical-chemical methods. This method requires technical experts, high cost and adds more chemical residues in the environment. Biological treatment is thus an alternative way to save on costs, safe for humans and animals and also reduces contamination of other chemicals. In this study, two-hundred and three isolates were isolated from groundwater and soil samples collecting in Ubon Ratchathani Province using enrichment and growth medium (EG medium) supplemented with 50 microgram of sodium arsenite per liter. All isolates were screening for arsenic tolerant efficiency at 1-10 mM of sodium arsenite. The result showed that eighteen isolates were tolerated at the highest concentration of sodium arsenite. Selected isolates were cultured in EG medium supplemented with 75 micrograms of sodium arsenite per liter and incubated with shaking at 150 rpm at room temperature for 48 hours. The culture of isolate PNKP-S2 showed a higher growth rate and As(III)-oxidation rate at 18.0×10^{11} cfu/ml and 89.11%, respectively. The optimization of As(III)-oxidation was obtained when the bacterium was culture using sodium acetate trihydrate as carbon source, initial pH 6.5, 6.0% (v/v) of inoculum volume, incubate at 35 °C with shaking at 150 rpm for 24 hour. From 16S rDNA sequencing analysis showed that As(III)-oxidizing bacteria isolate PNKP-S2 belong to *Bacillus megaterium*. The potential of *B. megaterium* PNKP-S2 biofilm in fixed-bed bioreactor, using stone gravel as bacterial growth support was investigated. The synthetic groundwater supplement with sodium arsenite at initial concentration of 10 and 20 micrograms per liter was fed continuously at a flow rate at 0.5 milliliter per minute at room temperature. The result showed that at initial sodium arsenite concentration of 10 micrograms per liter, arsenite concentration in the outlet was gradually declined and was maintained at 90% arsenite removal at 6-34 days of experiment. When the biofilm expose to 20 micrograms of arsenite per liter at the 35th day of experiment, the biofilm was able to oxidize arsenite and the removal effectiveness rate was stable at 95% at 53-65 days of the experiment. While in membrane bioreactor, the synthetic groundwater supplement with

sodium arsenite at initial concentration of 50 micrograms per liter was fed continuously. The removal rate was only 18% at the 10th day of experiment. Then arsenite concentration in the inlet was decreased to 40 micrograms per liter. The result showed that removal rate was continuously increased and was stable at 97.50% at 32-35 days of the experiment. This Indicates that biofilm reactor containing As(III)-oxidizing bacteria remediated sodium arsenite and could be used as guidelines for the treatment of arsenic-contaminated groundwater

Keywords: arsenite-oxidizing bacteria, arsenic-tolerant bacteria, bioremediation of arsenic

PRANEE PATANAPIITPAISAL

สารบัญ

หัวข้อ	หน้า
สารบัญตาราง	9
สารบัญภาพ	12
บทนำ	13
การตรวจเอกสาร	15
วิธีการทดลอง	23
ผลการทดลอง	27
อภิปรายผลการทดลอง	97
เอกสารอ้างอิง	100
ภาคผนวก	
- ภาคผนวก ก อาหารเลี้ยงเชื้อ	104
- ภาคผนวก ข วิธีการวิเคราะห์	105
ประวัติผู้วิจัย	106

สารบัญตาราง

[illegible]

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่	หน้า
ตารางที่ 2.14 ลักษณะสัณฐานวิทยาของแบคทีเรียที่แยกได้จากตัวอย่างน้ำ อำเภोजึงเจียม จังหวัดอุบลราชธานี	45
ตารางที่ 2.15 ลักษณะสัณฐานวิทยาของแบคทีเรียที่แยกได้จากตัวอย่างดินอำเภोजึงเจียม จังหวัดอุบลราชธานี	48
3. การคัดเลือกแบคทีเรียที่มีประสิทธิภาพในการต้านทานต่อความเป็นพิษของอาร์ซินิค	
ตารางที่ 3.1 ความต้านทานต่ออาร์ซินิคของแบคทีเรียที่คัดแยกได้จากตัวอย่าง อำเภวารินชำราบ จังหวัดอุบลราชธานี	53
ตารางที่ 3.2 ความต้านทานต่ออาร์ซินิคของแบคทีเรียที่คัดแยกได้จากตัวอย่าง อำเภอเขมราฐ จังหวัดอุบลราชธานี	54
ตารางที่ 3.3 สรุประดับความต้านทานต่ออาร์ซินิคของแบคทีเรียที่คัดแยกได้จาก ตัวอย่างอำเภวารินชำราบ จังหวัดอุบลราชธานี	59
ตารางที่ 3.4 สรุประดับความต้านทานต่ออาร์ซินิคของแบคทีเรียที่คัดแยกได้จาก ตัวอย่างอำเภอเขมราฐ จังหวัดอุบลราชธานี	60
ตารางที่ 3.5 ความต้านทานต่ออาร์ซินิคของแบคทีเรียที่คัดแยกได้จากตัวอย่าง ตำบลเมืองศรีไคล อำเภวารินชำราบ จังหวัดอุบลราชธานี	63
ตารางที่ 3.6 ความต้านทานต่ออาร์ซินิคของแบคทีเรียที่คัดแยกได้จากตัวอย่าง อำเภोजึงเจียม จังหวัดอุบลราชธานี	64
ตารางที่ 3.7 สรุประดับความต้านทานต่ออาร์ซินิคของแบคทีเรียที่คัดแยกได้จากตัวอย่าง ตำบลเมืองศรีไคล อำเภวารินชำราบ จังหวัดอุบลราชธานี	69
ตารางที่ 3.8 สรุประดับความต้านทานต่ออาร์ซินิคของแบคทีเรียที่คัดแยกได้จากตัวอย่าง อำเภोजึงเจียม จังหวัดอุบลราชธานี	70
4. การคัดเลือกแบคทีเรียที่มีประสิทธิภาพในการลดความเป็นพิษของอาร์ซินิค	
ตารางที่ 4.1 ปริมาณแบคทีเรียที่เจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อ EG medium ที่มีความเข้มข้น ของโพแทสเซียมอาร์ซินิคเริ่มต้นเท่ากับ 75 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร	73
ตารางที่ 4.2 ปริมาณอาร์ซินิคที่เหลือจากการออกซิไดส์โดยแบคทีเรียจำนวน 18 ไอโซเลท	75
ตารางที่ 4.3 ปริมาณอาร์ซินิคที่เหลือ ปริมาณและเปอร์เซ็นต์ของอาร์ซินิคที่ลดลงจาก การออกซิไดส์โดยแบคทีเรียจำนวน 18 ไอโซเลท	75
5. ปัจจัยที่มีผลต่อการลดความเป็นพิษของอาร์ซินิค	
ตารางที่ 5.1 ช่วงเวลาที่เหมาะสมต่อการลดความเป็นพิษของอาร์ซินิคโดยแบคทีเรีย ออกซิไดส์อาร์ซินิคไอโซเลท PNKP-S2	78

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่	หน้า
ตารางที่ 5.2 พีเอชที่เหมาะสมต่อการลดความเป็นพิษของอาร์ซินิกโดยแบคทีเรีย ออกซิไดส์อาร์ซินที่ไอโซเลท PNKP-S2	80
ตารางที่ 5.3 อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการลดความเป็นพิษของอาร์ซินิกโดยแบคทีเรีย ออกซิไดส์อาร์ซินที่ไอโซเลท PNKP-S2	82
ตารางที่ 5.4 ปริมาณหัวเชื้อที่เหมาะสมต่อการลดความเป็นพิษของอาร์ซินิกโดยแบคทีเรีย ออกซิไดส์อาร์ซินที่ไอโซเลท PNKP-S2	84
ตารางที่ 5.5 แหล่งคาร์บอนที่เหมาะสมต่อการลดความเป็นพิษของอาร์ซินิกโดยแบคทีเรีย ออกซิไดส์อาร์ซินที่ไอโซเลท PNKP-S2	86
7. การบำบัดน้ำเสียที่ปนเปื้อนอาร์ซินิกด้วยถังปฏิกรณ์แบบต่างๆ	
ตารางที่ 7.1 ความเข้มข้นของโพแทสเซียมอาร์ซินที่ของน้ำใต้ดินสังเคราะห์ หลังการบำบัดด้วยแบคทีเรียออกซิไดส์อาร์ซินที่ <i>Bacillus megaterium</i> PNKP-S2 ในถังปฏิกรณ์ไบโอฟิล์มแบบ fixed-bed bioreactor	91
ตารางที่ 7.2 ค่าพีเอช ปริมาณแบคทีเรียและความเข้มข้นของโพแทสเซียมอาร์ซินที่ ของน้ำใต้ดินสังเคราะห์หลังการบำบัดด้วยแบคทีเรียออกซิไดส์อาร์ซินที่ <i>Bacillus megaterium</i> PNKP-S2 ในถังปฏิกรณ์ไบโอฟิล์มแบบ membrane bioreactor	94

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
2. การคัดแยกแบคทีเรียที่ต้านทานต่ออาร์ซินิค	
ภาพที่ 2.1 ลักษณะโคโลนีของเชื้อรหัส PNKP-W9	41
ภาพที่ 2.2 การดัดสีย้อมแกรมของเชื้อรหัส PNKP-W9	41
ภาพที่ 2.3 ลักษณะสัณฐานวิทยาของแบคทีเรียไอโซเลต PRJK-W19	51
ภาพที่ 2.4 ลักษณะรูปร่าง การจัดเรียงตัว ภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 1000 เท่า	51
4. การคัดเลือกแบคทีเรียที่มีประสิทธิภาพในการลดความเป็นพิษของอาร์ซินิค	
ภาพที่ 4.1 ปริมาณแบคทีเรียที่เจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อ EG medium ที่มีความเข้มข้นของโพแทสเซียมอาร์ซินิไนด์เริ่มต้นเท่ากับ 75 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เป็นเวลา 48 ชั่วโมง	74
ภาพที่ 4.2 ปริมาณอาร์ซินิไนด์ที่เหลือจากการออกซิไดส์โดยแบคทีเรียจำนวน 18 ไอโซเลต	77
5. ปัจจัยที่มีผลต่อการลดความเป็นพิษของอาร์ซินิค	
ภาพที่ 5.1 ช่วงเวลาที่เหมาะสมต่อการลดความเป็นพิษของอาร์ซินิคโดยแบคทีเรียออกซิไดส์อาร์ซินิไนด์ไอโซเลต PNKP-S2	79
ภาพที่ 5.2 พีเอชที่เหมาะสมต่อการลดความเป็นพิษของอาร์ซินิคโดยแบคทีเรียออกซิไดส์อาร์ซินิไนด์ไอโซเลต PNKP-S2	81
ภาพที่ 5.3 อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการลดความเป็นพิษของอาร์ซินิคโดยแบคทีเรียออกซิไดส์อาร์ซินิไนด์ไอโซเลต PNKP-S2	83
ภาพที่ 5.4 ปริมาณหัวเชื้อที่เหมาะสมต่อการลดความเป็นพิษของอาร์ซินิคโดยแบคทีเรียออกซิไดส์อาร์ซินิไนด์ ไอโซเลต PNKP-S2	85
ภาพที่ 5.5 แหล่งคาร์บอนที่เหมาะสมต่อการลดความเป็นพิษของอาร์ซินิคโดยแบคทีเรียออกซิไดส์อาร์ซินิไนด์ ไอโซเลต PNKP-S2	86
6. การตรวจวินิจฉัยชนิดของแบคทีเรียโดยเทคนิคทางชีวโมเลกุล	
ภาพที่ 6.1 ลำดับเบสของ 16S rDNA gene ของแบคทีเรียออกซิไดส์อาร์ซินิไนด์ไอโซเลต PNKP-S2 “N” หมายถึง Unidentified nucleotides	88
ภาพที่ 6.2 การเปรียบเทียบการเข้าคู่ของลำดับเบสของแบคทีเรียออกซิไดส์อาร์ซินิไนด์ไอโซเลต PNKP-S2 <i>Bacillus megaterium</i> strain TOBCMDU-1 16S ribosomal RNA gene	90
7. การบำบัดน้ำเสียที่ปนเปื้อนอาร์ซินิคด้วยถังปฏิกรณ์แบบต่างๆ	
ภาพที่ 7.1 ความเข้มข้นของโพแทสเซียมอาร์ซินิไนด์ของน้ำใต้ดินสังเคราะห์หลังการบำบัดผ่านถังปฏิกรณ์ไบโอฟิล์มแบบ fixed-bed bioreactor	93
ภาพที่ 7.2 ความเข้มข้นของโพแทสเซียมอาร์ซินิไนด์ของน้ำใต้ดินสังเคราะห์หลังการบำบัดผ่านถังปฏิกรณ์ไบโอฟิล์มแบบ membrane bioreactor	96

บทนำ

น้ำใต้ดิน (Groundwater) เป็นแหล่งน้ำดื่มที่สำคัญในเขตชนบทหรือในเขตชุมชนท้องถิ่นที่ไม่ได้รับการจัดสรรน้ำประปา ซึ่งมีรายงานว่าอาร์ซีนิก (As) เป็นธาตุหนึ่งที่สำคัญในการก่อให้เกิดปัญหาพิษในน้ำใต้ดินและน้ำดื่มทั่วโลก โดยเฉพาะในแถบลุ่มแม่น้ำเบงกอล ประเทศปากีสถานและอินเดีย เป็นตัวอย่างหนึ่งที่สำคัญ เพราะประชากรประมาณสามสิบล้านคนบริโภคน้ำใต้ดินที่มีการปนเปื้อนของอาร์ซีนิกที่ระดับความเข้มข้นมากกว่า 50 ไมโครกรัมต่อลิตร เป็นเวลานาน 20-30 ปี และพบว่าประชากรหนึ่งล้านคนป่วยเนื่องจากความเป็นพิษเรื้อรังของอาร์ซีนิก นอกจากนี้ยังพบการปนเปื้อนของอาร์ซีนิกในน้ำใต้ดินในประเทศแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ เช่น เวียดนาม ไทย กัมพูชาและพม่า (Berg *et al.*, 2006) โดยอาร์ซีนิกที่ระดับความเข้มข้น 50 ไมโครกรัมต่อลิตร จะก่อให้เกิดปัญหาต่อสุขภาพของมนุษย์หลังการสะสมในร่างกาย 10-15 ปี (Smith *et al.*, 2000) ซึ่งอาการความเป็นพิษเรื้อรังเนื่องจากอาร์ซีนิกหรือโรคพิษอาร์ซีนิกเรื้อรังหรืออาร์ซีนิกซิส, Arsenicosis) จะรุนแรงแตกต่างกัน ขึ้นอยู่กับเวลาการได้รับสารและการสะสมในร่างกาย อาการของโรคนี้เริ่มตั้งแต่ลักษณะผิวหนังเป็นผื่นแดงและคัน เกิดเม็ดตุ่มแล้วมีอาการคล้ายโรคหิด ตกสะเก็ด ผิวหนังจะลอกและมีสีคล้ำ มีอาการเมื่อยล้า อ่อนเพลีย อาการที่มีผลต่อระบบหลอดเลือดหัวใจ ระบบประสาท ปอด ไตและมะเร็งกระเพาะปัสสาวะ (Berg *et al.*, 2006) สำหรับประเทศไทยนั้น รัฐบาลมีนโยบายส่งเสริมให้ประชาชนทุกพื้นที่มีน้ำดื่มที่ปลอดภัยของตนเอง สนับสนุนให้มีประปาหมู่บ้าน รวมทั้งสนับสนุนให้มีการขุดบ่อน้ำบาดาลทั่วทุกภูมิภาค โดยเน้นเรื่องความสะอาดที่ปราศจากเชื้อโรค แต่เรื่องการปนเปื้อนของโลหะชนิดต่างๆ โดยเฉพาะอาร์ซีนิก ไม่มีการสนับสนุนหรือเน้นเป็นปัจจัยหลักในการตรวจวิเคราะห์ และสืบเนื่องจากการประชุมปัญหาของอาร์ซีนิกในบังกลาเทศ เบงกอลตอนใต้และเนปาล ทำให้เกิดความตื่นกลัวและตระหนักถึงปัญหาของอาร์ซีนิกในเขตประเทศลุ่มแม่น้ำ บริเวณที่ได้รับสนใจมากที่สุดคือ บริเวณลุ่มแม่น้ำโขงในเวียดนามตอนใต้และบริเวณประเทศกัมพูชาที่มีแม่น้ำโขงและแม่น้ำสาขาทิวไหลผ่านและมีการสะสมของตะกอนดินที่น้ำพัดพามา (Stanger, 2005) มีรายงานหลายฉบับพบว่าการปนเปื้อนของอาร์ซีนิกในน้ำใต้ดินในเขตชุมชนลุ่มแม่น้ำโขง ของประเทศจีน กัมพูชาและเวียดนาม อยู่ในระดับเกินมาตรฐานกำหนด และประชากรในเขตพื้นที่ดังกล่าวมีความเสี่ยงต่อความเป็นพิษเรื้อรังของอาร์ซีนิก (Feldman and Rosenboom, 2001; Halperin, 2003; Fredericks, 2003; Kyne, 2000; Fredericks, 2003; Buschmann *et al.*, 2007; Berg *et al.*, 2007; Yu *et al.*, 2007) สำหรับประเทศไทยซึ่งอยู่ในแนวลุ่มแม่น้ำโขงตอนล่างเช่นเดียวกัน โอกาสที่จะได้รับสารปนเปื้อนและตะกอนที่พัดพามากับแม่น้ำโขงจึงเป็นไปได้มาก แต่รายงานเกี่ยวกับการปนเปื้อนของอาร์ซีนิกในน้ำใต้ดินและการเตรียมพร้อมด้านเทคโนโลยีการบำบัดที่เหมาะสมกับประเทศไทยหรือในเขตชุมชนมียังมียางานน้อยมาก ซึ่งแตกต่างจากประเทศอเมริกา บังกลาเทศ กรีซ หรือแม้แต่ในประเทศจีน เวียดนามและกัมพูชา มีความตื่นตัวมากในการพัฒนาเทคโนโลยีเพื่อการบำบัดความเป็นพิษของอาร์ซีนิก

การลดความเป็นพิษของอาร์ซีนิก จะเกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนแปลงของอาร์ซีนิกที่อยู่ในรูปของอาร์ซีนิต [Arsenite; As(III)] และอาร์ซิเนต [Arsenate; As(V)] เทคนิคหรือกระบวนการทั่วไปที่ใช้คือ วิธีการเคมีในการตกตะกอนอาร์ซีนิก (arsenic precipitation) หรือการดูดซับอาร์ซีนิกบนวัสดุของแข็ง (adsorption on solid phase) เช่น hydrous-iron หรือ manganese oxides, lime treatment, activated alumina, reverse osmosis (Jekel, 1994) ion exchange (Clifford *et al.*, 1999) electrodialysis reversal และ nanofiltration (US EPA, 2001) อย่างไรก็ตามวิธีการทางเคมีเหล่านี้ใช้ได้ดีในการบำบัด As(V) แต่จะใช้ในการบำบัด As(III) ได้อย่างไม่มีประสิทธิภาพเท่าที่ควร (Zouboulis and Katsoyiannis, 2005) จึงต้องอาศัยปฏิกิริยาการเปลี่ยน As(III) เป็น As(V) ก่อน ซึ่งปฏิกิริยาดังกล่าวต้องใช้สารออกซิไดส์ต่างๆ เช่น chlorine, hypochlorite, ozone permanganate หรือ hydrogen peroxide/ Fe^{2+} (Jekel, 1994) นอกจากนี้วิธีการเคมียังต้องการอุปกรณ์เครื่องมือที่จำเพาะ ต้องการพารามิเตอร์เพื่อการดำเนินการ เช่น ความดันสูง อุณหภูมิสูง และใช้เทคนิคทางด้าน electrolysis ซึ่งต้องใช้สารเคมี เสียค่าใช้จ่ายสูง และต้องการผู้เชี่ยวชาญเฉพาะ (Battaglia-Brunet *et al.*, 2002) การบำบัดความเป็นพิษของอาร์ซีนิกโดยวิธีทางชีวภาพ จึงเป็นทางเลือกหนึ่งที่จะใช้ทดแทนวิธีการทางเคมี โดยอาศัยกิจกรรมของแบคทีเรียในการเกิดปฏิกิริยาการออกซิไดส์ As(III) เป็น As(V) เพื่อลดความเป็นพิษของอาร์ซีนิก กระบวนการทางชีวภาพซึ่งมีข้อได้เปรียบกว่าการบำบัดทางเคมี เนื่องจากเป็นระบบที่มีประสิทธิภาพ ราคาถูก ดูแลรักษาง่าย ลดการใช้สารเคมี ไม่มีผลข้างเคียงต่อสิ่งแวดล้อม และไม่ต้องอาศัยผู้เชี่ยวชาญ

โครงการวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์ในการคัดแยกและคัดเลือกแบคทีเรียที่มีประสิทธิภาพในการออกซิไดส์อาร์ซีนิตที่มีความเป็นพิษสูง และมักพบปนเปื้อนอยู่ในน้ำใต้ดิน ศึกษาสภาวะแวดล้อมหรือปัจจัยต่างๆ ที่เหมาะสมต่อกิจกรรมของแบคทีเรีย จากนั้นจึงนำเซลล์แบคทีเรียไปทำให้อยู่ในสภาพที่ถูกตรึงหรือดูดซับบนวัสดุหรือสารพอง เป็นการพัฒนาเทคโนโลยีการบำบัดโดยใช้ถึงปฏิกิริยาของจุลินทรีย์ เพื่อเพิ่มศักยภาพของเซลล์แบคทีเรียในการนำมาใช้อย่างต่อเนื่อง อันจะเป็นแนวทางในการขยายสู่ภาคสนามต่อไป ผลการทดลองที่ได้จะทำให้ได้เทคโนโลยีการบำบัดน้ำใต้ดินที่ปนเปื้อนอาร์ซีนิกที่สามารถพัฒนาสู่การออกแบบหรือขยายขนาดถึงปฏิกิริยาเพื่อการบำบัดน้ำใต้ดินในเขตชนบทของประเทศไทยต่อไป

การตรวจเอกสาร

อาร์ซีนิกหรือสารหนู เป็นธาตุกึ่งโลหะหรือเมทัลลอยด์ (metalloid) มีสัญลักษณ์คือ As เลขอะตอมเท่ากับ 33 มวลอะตอมเท่ากับ 74.92 สภาวะออกซิเดชันของอาร์ซีนิกที่พบบ่อยคือ -3 (arsenides), +3 (arsenites (III), และ most organoarsenic compounds), และ +5 (arsenates (V): the most stable inorganic arsenic oxycompounds) สารประกอบของอาร์ซีนิกที่พบทั่วไปได้แก่ arsenic acid (H_3AsO_4) Arsenous acid (H_3AsO_3) Arsenic trioxide (As_2O_3) Arsine (Arsenic Trihydride AsH_3) Cadmium arsenide (Cd_3As_2) Gallium arsenide (GaAs) Lead hydrogen arsenate (PbHAsO_4) อาร์ซีนิกและสารประกอบของอาร์ซีนิก ถูกนำมาใช้เป็นส่วนประกอบของสารปราบศัตรูพืช สารฆ่าวัชพืช สารกำจัดแมลง สารรักษาเนื้อไม้และอัลลอยด์ (<http://en.wikipedia.org/wiki/Arsenic>; The Merck Index, 1989; เกรียงศักดิ์, 2546)

อาร์ซีนิกและสารประกอบอาร์ซีนิก มีความเป็นพิษ โดยอาร์ซีนิกสามารถยับยั้งการสร้าง ATP ในทุกกระบวนการของสิ่งมีชีวิต โดยที่วงจรกรดซิตริก (citric acid cycle) อาร์ซีนิกจะยับยั้งการทำงานของ succinate dehydrogenase และแข่งขันกับฟอสเฟตในการเกิดปฏิกิริยา oxidative phosphorylation จึงเป็นผลยับยั้งปฏิกิริยาการสร้างพลังงานของ NAD^+ การหายใจของไมโทคอนเดรีย (mitochondrial respiration) และการสังเคราะห์ ATP นอกจากนี้ยังเป็นผลให้มีการสร้างไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์เพิ่มขึ้น รวมทั้งสารออกซิไดซ์อื่นๆ ปฏิกิริยาต่างๆ ที่เกิดขึ้นเนื่องจากอาร์ซีนิกดังกล่าว ทำให้ถึงแก่ชีวิตได้เนื่องจากเกิดภาวะล้มเหลวของระบบและอวัยวะต่างๆ หรือเรียกว่าเกิดความเป็นพิษของอาร์ซีนิก (<http://en.wikipedia.org/wiki/Arsenic>) ลักษณะอาการที่พบคือ ปวดท้องอย่างรุนแรง จุกแน่น รู้สึกคอแห้งและระคาย เสียงแหบห้าว ออกเสียงไม่สะดวก อาเจียนมีสีเขียวและเหลือง อาจมีเลือดปนออกมา ท้องร่วง ท้องเสียอย่างรุนแรง ระบบขับถ่ายปัสสาวะติดขัดและเจ็บปวด ตาแดงมีประกาย มึนเมา เพ้อ และถึงแก่ชีวิต อาการบางอย่างอาจไม่พบถ้าได้รับอาร์ซีนิกผ่านระบบหายใจโดยการสูดดม ความเป็นพิษของอาร์ซีนิก ยังทำให้เกิดอาการผิวหนัง ตั้งแต่ผิวหนังมีสีดำคล้ำ เป็นหูด และมะเร็งผิวหนัง

อาร์ซีนิก สามารถเข้าสู่ร่างกายมนุษย์ได้ทางการหายใจ การดูดซึมของลำไส้ และผ่านผิวหนัง ความเป็นพิษของอาร์ซีนิกอย่างรุนแรงเกิดขึ้นได้โดยการดูดซึมผ่านลำไส้ โดยจะมีอาการอย่างไรขึ้นอยู่กับรูปแบบและปริมาณของอาร์ซีนิกที่ร่างกายได้รับ โดยอาร์ซีนิกปริมาณเพียง 130 มิลลิกรัม จะทำให้สำไส้และตับถูกทำลายการทำงานของระบบหัวใจผิดปกติและเสียชีวิตได้ ส่วนความเป็นพิษของอาร์ซีนิกแบบเรื้อรัง จะมีผลต่อตับและไต เมื่อได้รับอาร์ซีนิก 1.4 มิลลิกรัมต่อวัน เป็นเวลา 3 อาทิตย์ ข้อมูลที่ได้จากสัตว์ทดลองแสดงให้เห็นว่าอาร์ซีนิกวาเลนซ์ 3 [อาร์ซีนิก; As(III)] มีพิษมากกว่าอาร์ซีนิกวาเลนซ์ 5 [อาร์ซีนิก; As(V)] และอาร์ซีนิกในรูปของสารละลายจะมีพิษมากกว่าอาร์ซีนิกที่ไม่ละลาย ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากอาร์ซีนิกในสารละลายถูกดูดซึมได้ดีกว่า อย่างไรก็ตามร่างกายสามารถขับอาร์ซีนิกออกได้เองในเวลา 2-3 วัน เมื่อได้รับอาร์ซีนิกปริมาณไม่มากนัก

ปริมาณของอาร์เซนิกในร่างกายสามารถตรวจพบได้จากปริมาณของอาร์เซนิกที่พบได้ในเส้นผมและขน (วิโรจน์ และนิตินัย, 2004)

อาร์เซนิกยังเป็นสาเหตุของโรคพิษอาร์เซนิกเรื้อรังหรืออาร์เซนิกโคซิส, Arsenicosis) ที่เกิดจากการดื่มน้ำที่มีอาร์เซนิกเจือปนที่อยู่ในรูปของ arsenate [HAsO_4^{2-} ; As(V)] และ arsenite [H_3AsO_3 ; As(III)] ซึ่งความรุนแรงจะแตกต่างกัน ขึ้นอยู่กับเวลาการได้รับสารและการสะสมในร่างกาย อาการของโรคนี้เริ่มตั้งแต่จะเริ่มตั้งแต่เกิดอาการระคายเคือง กลายเป็นด้านหนาที่ผิวหนัง เม็ดสีที่ผิวเป็นสีดำเข้ม อาจพบเป็นรอยตกกระตามร่างกาย แต่ที่ฝ่ามือจะเป็นจุดขาวๆ เต็มไปหมด ส่วนฝ่าเท้าจะเกิดจุดสีดำใหญ่เห็นได้ชัดเจนทั้งสองฝ่าเท้า จนกระทั่งถึงกลายเป็นมะเร็งที่ผิวหนังได้ มะเร็งปอด มะเร็งไตและมะเร็งกระเพาะปัสสาวะ รวมทั้งมีผลต่อระบบหลอดเลือดหัวใจและระบบประสาท (วิโรจน์ และนิตินัย, 2004; Berg et al., 2006, <http://digital.lib.kmutt.ac.th/magazine/issue2/articles/art2.html>) องค์การ WHO แนะนำระดับอาร์เซนิกในน้ำดื่มเท่ากับ 0.01 มก./ล. ถ้าบริโภคในปริมาณที่สูงกว่านี้เป็นระยะเวลานาน จะก่อให้เกิดโรคพิษอาร์เซนิกเรื้อรัง (WHO, 1993)

อาร์เซนิกในน้ำใต้ดิน (Arsenic in ground water)

ในปัจจุบัน คุณภาพของน้ำใต้ดินได้รับความสนใจจากประชากรทั่วไปเป็นจำนวนมาก ทั้งนี้เนื่องจากที่ผ่านมาเชื่อกันว่าการที่น้ำซึมผ่านชั้นใต้ดินลงไป เปรียบเสมือนการกรองโดยธรรมชาติ จึงช่วยปกป้องน้ำใต้ดินจากการปนเปื้อนสารต่าง ๆ อย่างไรก็ตามมลพิษของน้ำใต้ดิน อาจเกิดขึ้นได้หลายทาง เช่น การปนเปื้อนทางธรรมชาติทางธรณีวิทยา เช่น การซึมของน้ำผิวดินที่ปนเปื้อนสารพิษ การรั่วไหลจากระบบท่อ การปนเปื้อนจากน้ำชะซึมของหลุมฝังกลบ เป็นต้น มลพิษของน้ำใต้ดิน เกิดจากการปนเปื้อน 3 ประการคือ 1). การปนเปื้อนด้วยสารอินทรีย์ 2). การปนเปื้อนด้วยจุลินทรีย์ และ 3). การปนเปื้อนด้วยสารอนินทรีย์ที่เป็นพิษ เช่น โลหะต่างๆ การปนเปื้อนของน้ำใต้ดินที่เกิดจากโลหะ เป็นปัญหาสำคัญต่อสิ่งแวดล้อม เพราะโลหะย่อยสลายได้ยาก และมีผลโดยตรงต่อสุขภาพของมนุษย์ (Zouboulis and Katsoyiannis, 2005)

อาร์เซนิกเป็นหนึ่งในสารพิษที่ก่อปัญหาสำคัญในแหล่งน้ำดื่มของประเทศโลกที่สามบริเวณที่มีการสะสมของอาร์เซนไพไรต์ (arsenopyrites) โดยเฉพาะปัญหาที่เกิดขึ้นในบังกลาเทศ (Berg et al., 2006) ซึ่งพบว่าตั้งแต่ปี.ศ. 1970 ประชากรในประเทศนี้ดื่มน้ำจากน้ำใต้ดินหรือน้ำบาดาลที่ขุดเจาะขึ้นมา น้ำดังกล่าวมีความเข้มข้นของอาร์เซนิกมากกว่าหนึ่งในพัน ในขณะที่ WHO กำหนดค่ามาตรฐานสูงสุดเท่ากับ 1 ในพันล้านส่วน หรือ 10 ไมโครกรัมต่อลิตร (WHO, 1993)

การปนเปื้อนของอาร์เซนิกในน้ำใต้ดิน มักมีสาเหตุจากกิจกรรมทางด้านการเกษตร โดยการใช้สารฆ่าแมลงและฆ่าวัชพืชที่มีส่วนผสมของอาร์เซนิก นอกจากนี้พื้นที่ที่ใกล้กับเหมืองแร่ก็พบอาร์เซนิกในปริมาณสูงเช่นกัน เนื่องจากจะพบอาร์เซนิกอยู่ปนกับแร่ธาตุหลายชนิดเช่น อาร์เซนไพไรต์ (arsenopyrite) อาร์เซนิกที่พบในน้ำส่วนใหญ่จะอยู่ในรูปของอนินทรีย์สาร ที่พบมากที่สุดคือ อาร์เซนัท (arsenate; As(V)) และอาร์เซนไท์ (arsenite; As(III)) สำหรับ As(V) มักพบมากในน้ำที่ออกซิเจนในปริมาณมาก (oxygenated water) เช่น แหล่งน้ำผิวดินตามธรรมชาติ ส่วน As(III) มักพบมากในน้ำที่มีออกซิเจนในปริมาณน้อย เช่น ในน้ำใต้ดิน

(Fields *et al.*, 2000) As(III) มีความเป็นพิษมากกว่า As(V) และกำจัดได้ยากกว่าโดยวิธีการทางกายภาพ-เคมี โดยทั่วไป (Jekel, 1994; Pontius *et al.*, 1994)

แบคทีเรียออกซิไดส์อาร์ซีนี

Weeger และคณะ (1999) ศึกษาแบคทีเรียสายพันธุ์ใหม่ที่คัดแยกได้มีประสิทธิภาพในการออกซิไดส์ อาร์ซีนีเป็นอาร์ซีนีเนเมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว ผลการทดลองพบว่าอัตราการออกซิไดส์ขึ้นอยู่กับความหนาแน่นของเซลล์ อาร์ซีนีแต่ละชนิดถูกตรวจวิเคราะห์โดยอาศัยเทคนิค high performance liquid chromatography (HPLC) ส่วนปริมาณของอาร์ซีนีแต่ละชนิดตรวจวิเคราะห์ด้วย inductively coupled plasma-atomic emission spectrometry (ICP-AES) แบคทีเรียนี้สามารถต้านทานต่ออาร์ซีนี โดยมีค่า MIC สำหรับ As[III] เท่ากับ 6.65 มิลลิโมล (500 มิลลิกรัมต่อลิตร) และโลหะหนัก เช่น แคดเมียม เท่ากับ 1.42 mM (160 mg/L) และตะกั่ว เท่ากับ 1.20 มิลลิโมล (250 มิลลิกรัมต่อลิตร)

แบคทีเรียประเภทเคมีลิโธออโตโทรฟ (chemolithoautotrophic) ที่สามารถออกซิไดส์อาร์ซีนี ถูกแยกได้จากเหมืองทองในมลฑลทางเหนือของประเทศออสเตรเลีย และจำแนกเป็นแบคทีเรียสายพันธุ์ NT-26 แบคทีเรียนี้มีรูปร่างเป็นท่อน แกรมลบ เคลื่อนที่ได้ด้วยแฟลกเจลลา 2 เส้นแบบ subterminal flagella เมื่อเพาะเลี้ยงแบคทีเรียในอาหารเลี้ยงเชื้อ minimal medium ที่มีอาร์ซีนีเป็นสารให้อิเลคตรอน ที่ระดับความเข้มข้นเท่ากับ 5 มิลลิโมล ออกซิเจนเป็นสารรับอิเลคตรอน และคาร์บอนไดออกไซด์ ไบคาร์บอเนตเป็นแหล่งคาร์บอน พบว่าแบคทีเรียมี doubling time สำหรับการเจริญเท่ากับ 7.6 ชั่วโมง การออกซิไดส์อาร์ซีนีเกิดขึ้นโดยเอนไซม์เพอริพลาสมิกอาร์ซีนีออกซิเดส (periplasmic arsenite oxidase) (optimum pH เท่ากับ 5.5) จากการจัดจำแนกโดยอาศัยเทคนิค 16S rDNA phylogenetic sequence analysis พบว่าสายพันธุ์ NT-26 อยู่ในกลุ่มของ *Agrobacterium/Rhizobium* ซึ่งอยู่ใน alpha-Proteobacteria และอาจเป็นสปีชีส์ที่ค้นพบใหม่ (Santini *et al.*, 2000)

Thermus sp. HR13 เป็นแบคทีเรียที่คัดแยกจากบริเวณบ่อน้ำพุร้อนที่ปนเปื้อนอาร์ซีนี และถูกจำแนกชนิดโดยอาศัยความสัมพันธ์ทาง 16S rDNA phylogenetic แบคทีเรียชนิดนี้สามารถออกซิไดส์ inorganic As(III) เป็น As(V) ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน ด้วยอัตราการออกซิไดส์ที่สูงประมาณ 100 เท่า มากกว่าอัตราการออกซิไดส์ในสภาวะที่ไม่มีเซลล์ และไม่มีพลังงานเกิดขึ้นจากปฏิกิริยาการออกซิไดส์ ส่วนในสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน แบคทีเรีย *Thermus* sp. HR13 สามารถเจริญโดยกระบวนการหายใจด้วย As(V) ควบคู่ไปกับปฏิกิริยาการออกซิไดส์แลคเตท (lactate oxidation) ประสิทธิภาพในการออกซิไดส์และรีดิวส์อาร์ซีนีโดยแบคทีเรียจีส *Thermus* sp. ยังไม่เคยมีรายงานมาก่อน (Gihring and Banfield, 2001)

จากการศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน (Electron microscopy; EM), denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE) และการใช้เทคนิค 16S rDNA sequencing analysis เพื่อตรวจสอบโครงสร้างและความหลากหลายของจุลินทรีย์ในแผ่นตะกอนที่ได้จากบ่อน้ำพุร้อนที่เป็นกรดและมีซิลเฟตคลอไรด์ (pH 3.1) อุณหภูมิ 58-62 องศาเซลเซียส ใน Norris Basin, Yellowstone National Park, WY ประเทศสหรัฐอเมริกา พบว่าการศึกษาด้วย EM และวิเคราะห์ทางเคมีธรณีวิทยา (geochemical measurements) สามารถจำแนกแผ่นตะกอนได้สามชนิด และเมื่อวิเคราะห์จาก 16S rDNA และการทำเทคนิค DGGE สามารถ

ยืนยันได้ว่าแผ่นตะกอนนี้ประกอบด้วยกลุ่มแบคทีเรียและอาร์ชีแบคทีเรีย (archaeobacteria) ซึ่งการเปลี่ยนแปลงกลุ่มของจุลินทรีย์จะมีผลต่อกิจกรรมการออกซิไดส์อาร์ชีไนท์ จากการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของ 16S rDNA (ขนาด 1400 basepairs) ที่สกัดจากกลุ่มจุลินทรีย์ที่มีกิจกรรมการออกซิไดส์และรีดิวส์อาร์ชีไนท์และกลุ่มจุลินทรีย์ที่ไม่มีกิจกรรม พบว่าจุลินทรีย์ส่วนใหญ่มีความสัมพันธ์กับ *Hydrogenobacter acidophilus* และ *Desulphurella* sp. (Jackson *et al.*, 2001)

แบคทีเรียออกซิไดส์อาร์ชีไนท์ *Hydrogenobaculum* sp. คัดแยกได้จากบ่อน้ำพุร้อน ใน Yellowstone National Park แบคทีเรียนี้ใช้ออกซิไดส์อาร์ชีไนท์และอาร์ชีเนท และเป็นแบคทีเรียชนิด obligate chemolithoautotroph ที่ใช้ก๊าซไฮโดรเจนเป็นแหล่งพลังงาน อุณหภูมิที่เหมาะสมอยู่ที่ 55-60 องศาเซลเซียส พีเอชที่เหมาะสมเท่ากับ 3 การออกซิไดส์อาร์ชีไนท์โดยแบคทีเรียชนิดนี้จะถูกยับยั้งโดยก๊าซไฮโดรเจน ซัลไฟด์ (Donahoe-Christiansen *et al.*, 2004)

Hoven และ Santini (2004) รายงานว่าการออกซิไดส์อาร์ชีไนท์ (arsenite) โดย *Hydrogenophaga* sp. str. NT-14 เกิดขึ้นควบคู่กับการรีดิวส์ออกซิเจนและเป็นแหล่งพลังงานสำหรับการเจริญ เมื่อนำเอนไซม์อาร์ชีเนทออกซิเดส (arsenite oxidase) มาทำให้บริสุทธิ์และศึกษาพบว่า (1). เอนไซม์นี้ประกอบด้วย 2 ซับยูนิตที่แตกต่างกัน (heterologous subunits) คือ AroA (86 kDa) และ AroB (16 kDa), (2) มวลโมเลกุลเท่ากับ 306 kDa ซึ่งประกอบด้วย $\alpha_3\beta_3$ configuration และ (3) โมลิบดินัมและเหล็ก เป็นโคแฟกเตอร์ แม้ว่าอาร์ชีเนทออกซิเดสจากแบคทีเรีย *Hydrogenophaga* sp. str. NT-14 จะมีส่วนประกอบบางส่วนคล้ายคลึงกับอาร์ชีเนทรีดักเตสที่สกัดให้บริสุทธิ์จาก NT-26 และ *Alcaligenes faecalis* แต่กิจกรรมมีความแตกต่างกัน นอกจากนี้ยังพบว่า cytochrome c-551 สกัดแยกได้จาก *Hydrogenophaga* sp. str. NT-14 ซึ่งทำหน้าที่เป็นสารรับอิเล็กตรอนสำหรับอาร์ชีเนทออกซิเดส ยังสามารถรับอิเล็กตรอนจากปฏิกิริยาของอาร์ชีเนทออกซิเดสที่สกัดจากสายพันธุ์ NT-26 ได้ด้วย

Kinegam และคณะ (2008) คัดแยกแบคทีเรียต้านทานต่ออาร์ชีไนท์จากตัวอย่างดินที่ปนเปื้อนอาร์ชีไนท์ในเขตอำเภอด่านช้าง จังหวัดสุพรรณบุรีและอำเภอร่อนพิบูลย์ จังหวัดนครศรีธรรมราช ได้จำนวนทั้งสิ้น 288 ไอโซเลท จากการศึกษาด้วยวิธี modified microplate method พบว่าแบคทีเรียต้านทานต่ออาร์ชีไนท์ที่คัดแยกได้จำนวน 24 ไอโซเลทเป็นแบคทีเรียออกซิไดส์อาร์ชีไนท์

Yoon และคณะ (2009) คัดแยกแบคทีเรียต้านทานต่ออาร์ชีไนท์จากตัวอย่างดินในเขตเหมืองแร่ร้างประเทศเกาหลีใต้ พบว่าแบคทีเรียสามารถต้านทานอาร์ชีไนท์ได้สูงสุดเท่ากับ 26 mM แบคทีเรีย *Alcaligenes* sp. RS-19 มีประสิทธิภาพในการออกซิไดส์อาร์ชีไนท์สูงสุดในระบบแบตช์ โดยสามารถออกซิไดส์อาร์ชีไนท์ที่ระดับความเข้มข้น 1 mM เป็นอาร์ชีเนทภายในเวลา 40 ชั่วโมง

แบคทีเรียออกซิไดส์อาร์ชีไนท์ไอโซเลท *Bordetella* sp. SPB-24 และ *Achromobacter* sp. SPB-31 แยกจากดินในสวน ทั้งสองสายพันธุ์สามารถต้านทานต่อความเป็นพิษของอาร์ชีไนท์ที่ระดับความเข้มข้น 15 mM และ 40 mM สำหรับ SPB-24 และ SPB-31 ตามลำดับ และทั้งสองสายพันธุ์ต้านทานต่ออาร์ชีเนทได้มากกว่า 300 mM เมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ minimal medium ที่มีอาร์ชีไนท์เท่ากับ 5 mM พบว่าอัตราการออกซิไดส์อาร์ชีไนท์โดย SPB-24 และ SPB-31 มีค่าเท่ากับ 554 และ 558 $\mu\text{M h}^{-1}$ ตามลำดับ ส่วน

washed cells ของสายพันธุ์ทั้งสองสามารถออกซิไดส์อาร์ซีนีในน้ำได้ดีที่พีเอชเท่ากับ 6 ที่อุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียส Washed cells ของ SPB-24 มีค่า K_{max} และ V_{max} เท่ากับ 41.7 μM และ 1,166 $\mu\text{M h}^{-1}$ ตามลำดับ Washed cells ของ SPB-31 มีค่า K_{max} และ V_{max} เท่ากับ 52 μM และ 1,186 $\mu\text{M h}^{-1}$ ตามลำดับ (Bachate *et al.*, 2012)

การบำบัดความเป็นพิษของอาร์ซีนิกในน้ำใต้ดินโดยกระบวนการทางชีวภาพ

เทคโนโลยีการบำบัดอาร์ซีนิกในน้ำใต้ดินที่ใช้ทั่วไปคือ วิธีการเคมีในการตกตะกอนอาร์ซีนิก (arsenic precipitation) หรือการดูดซับอาร์ซีนิกบนวัสดุของแข็ง (adsorption on solid phase) เช่น hydrous-iron หรือ manganese oxides, lime treatment, activated alumina, reverse osmosis (Jekel, 1994) ion exchange (Clifford *et al.*, 1999) electrodialysis reversal และ nanofiltration (US EPA, 2001) อย่างไรก็ตามวิธีการทางเคมีเหล่านี้ใช้ได้ดีในการบำบัด As(V) แต่การบำบัด As(III) ยังไม่มีประสิทธิภาพเท่าที่ควร (Zouboulis and Katsoyiannis, 2005) เพราะต้องอาศัยปฏิกิริยาการเปลี่ยน As(III) เป็น As(V) ก่อน ซึ่งปฏิกิริยาดังกล่าวต้องใช้สารออกซิไดส์ต่างๆ เช่น chlorine, hypochlorite, ozone permanganate หรือ hydrogen peroxide/ Fe^{2+} (Jekel, 1994) นอกจากนี้วิธีการเคมียังต้องการอุปกรณ์เครื่องมือที่จำเพาะต้องการพารามิเตอร์เพื่อการดำเนินการ เช่น ความดันสูง อุณหภูมิสูง และใช้เทคนิคทางด้าน electrolysis ซึ่งต้องใช้สารเคมี เสียค่าใช้จ่ายสูง และต้องการผู้เชี่ยวชาญเฉพาะ (Battaglia-Brunet *et al.*, 2002)

กระบวนการบำบัดน้ำที่ปนเปื้อนอาร์ซีนิกโดยวิธีทางชีวภาพ จึงได้รับความสนใจเพิ่มมากขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการทางฟิสิกส์เคมี ทั้งนี้เพราะมีข้อได้เปรียบได้ของการลดการใช้สารเคมีแต่นำจุลินทรีย์ในการรีดิวส์ ออกซิไดส์หรือกำจัดสารปนเปื้อนในน้ำใต้ดินแทน มีรายงานว่าแบคทีเรียหลายชนิดถูกคัดแยกได้จากสภาพแวดล้อมแตกต่างกัน เช่น ดิน น้ำโสโครก แหล่งแร่ น้ำชะจากเหมืองแร่ น้ำพุร้อนและน้ำใต้ดิน แบคทีเรียเหล่านี้มีประสิทธิภาพในการออกซิไดส์อาร์ซีนิก ได้แก่ *Achromobacter* (Santini *et al.*, 2000) *Alcaligenes* (Suttigarn and Wang, 2005) *Rhizobium* (Santini *et al.*, 2002) *Sinorhizobium* (Rhine *et al.*, 2006) *Bordetella* และ *Agrobacterium* (Salmassi *et al.*, 2002; Macur *et al.*, 2004) *Thermus* (Gihring and Banfield., 2001) *Herminiimonas* (Muller *et al.*, 2003) *Pseudomonas* และ *Variovorax paradoxus* (Macur *et al.*, 2004) *Hydrogenophaga* sp. (Hoven and Santini, 2004) และมีเอกสารการวิจัยหลายฉบับในต่างประเทศที่นำจุลินทรีย์มาใช้ในการบำบัดอาร์ซีนิกในน้ำใต้ดิน ซึ่งได้แก่ *Microbacterium lacticum* คัดแยกได้จากน้ำเสียของเทศบาลโดยอาศัยเทคนิค enrichment culture แบคทีเรียนี้สามารถออกซิไดส์ As(III) ที่ความเข้มข้นสูงถึง 50 มิลลิโมลต่อลิตร เมื่อนำแบคทีเรียนี้ไปตรึงบนเศษก้อนอิฐและบรรจุลงในคอลัมน์แก้ว พบว่าสามารถออกซิไดส์ As(III) ที่ปนเปื้อนในน้ำใต้ดินได้อย่างสมบูรณ์ที่พีเอชเท่ากับ 7 อุณหภูมิห้อง โดยมีเมทานอลเป็นสับสเตรท อาร์ซีนิกชนิดอื่นยังถูกกำจัดออกจากน้ำใต้ดินโดยใช้สารเคมี 3 ชนิด คือ zero valent iron, activated charcoal และ ferric chloride (Mokashi and Paknikar, 2002)

Casiot และคณะ (2003) ศึกษา น้ำชะแร่จากโรงถลุงแร่ Carnoulès mine พบว่ามีความเป็นกรดสูง (pH = 2.73–3.37) และมีอาร์ซีนิกและเหล็กในปริมาณสูงเท่ากับ 1–3.5 มิลลิโมลต่อลิตร และ 20–40 มิลลิโมลต่อลิตร ตามลำดับ และในน้ำทั้งหมดใหญ่มี As(III) ในปริมาณสูง ในช่วงสามสิบเมตรแรกของน้ำที่ไหล พบว่า

20–60% As(III) ถูกกำจัดโดยการตกตะกอนร่วมกับ Fe(III) ซึ่งกระบวนการนี้เป็นผลจากปฏิกิริยาออกซิเดชันอาร์ซีนิกและเหล็กโดยแบคทีเรีย อัตราการตกตะกอนในแอ่งน้ำ จะขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของออกซิเจนในน้ำ ชะแ่นและจะลดลงในช่วงฤดูร้อน ซึ่งสภาพแอนออกซิก (anoxic) ในน้ำชะแ่นจะยับยั้งกิจกรรมของ oxidizing bacteria จากการทดลองนอกพื้นที่ปนเปื้อนอาร์ซีนิก พบว่าปริมาณแบคทีเรียที่เพิ่มขึ้นจะช่วยเพิ่มอัตราการกำจัดอาร์ซีนิกและเหล็ก คณะผู้วิจัยสามารถคัดแยกแบคทีเรียที่ออกซิไดส์อาร์ซีนิกได้ดีจำนวน 3 สายพันธุ์ โดยสองพันธุ์อยู่ใน *Thiomonas ynys1* sp. ส่วนสายพันธุ์ที่สาม ยังไม่ได้รับการจัดจำแนก แต่สามารถออกซิไดส์เหล็กได้อีกด้วย

Macur และคณะ (2004) ศึกษาจุลินทรีย์ที่มีบทบาทในการออกซิไดส์และรีดิวส์อาร์ซีนิกในคอลัมน์ที่บรรจุ unsaturated (aerobic) soil ที่มีอาร์ซีนิก [As(III)] เท่ากับ 75 ไมโครโมล หรือมีอาร์ซีนิก [As(V)] เท่ากับ 250 ไมโครโมล จากการทดลองพบว่า As(III) ถูกออกซิไดส์เป็น As(V) อย่างรวดเร็วโดยอาศัยกิจกรรมของจุลินทรีย์ ในขณะที่ไม่พบปฏิกิริยาการรีดิวส์ As(V) เกิดขึ้นในคอลัมน์ที่ทำการทดลอง ทำการคัดแยกแบคทีเรียจากคอลัมน์ได้จำนวน 8 ไอโซเลท มีจำนวน 3 ไอโซเลท เป็น As(III) oxidizers ได้แก่ *Agrobacterium tumefaciens*-, *Pseudomonas fluorescens*- และ *Variovorax paradoxus*-like organisms (จำแนกจากพื้นฐานด้านลำดับเบสของ 16S rRNA) และทั้งสามไอโซเลทสามารถตรวจพบรวมอยู่ใน DNA fingerprints ที่ได้จากการทำเทคนิค PCR และ denaturing gradient gel electrophoresis ของจุลินทรีย์ทั้งหมดในคอลัมน์ สำหรับอีกห้าไอโซเลท เมื่อถูกจัดจำแนกโดยพื้นฐานด้านลำดับเบสของ 16S rRNA พบว่าเป็นแบคทีเรีย *A. tumefaciens*, *Flavobacterium* sp., *Microbacterium* sp., และ *Arthrobacter* sp. -like organisms (จำนวน 2 ไอโซเลท) และทั้งห้าไอโซเลทนี้สามารถรีดิวส์ As(V) ได้อย่างรวดเร็ว ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน คณะผู้วิจัยให้ข้อเสนอแนะว่าแบคทีเรียที่สามารถออกซิไดส์ As(III) หรือรีดิวส์ As(V) จะพบได้ทั่วไปในดิน และแบคทีเรียที่มีกิจกรรมเฉพาะ จะมีบทบาทสำคัญต่อการเปลี่ยนแปลงอาร์ซีนิกแต่ละชนิดในดินที่อุ้มน้ำ

Katsoyiannis และ Zouboulis (2004) รายงานว่าแบคทีเรียออกซิไดส์เหล็ก (iron-oxidizing bacteria) มีบทบาทในการออกซิไดส์เหล็กและทำให้เกิดการตกตะกอนของเฟอร์รัสไอออน จึงนิยมใช้แบคทีเรียชนิดนี้ในกระบวนการบำบัดน้ำดื่มเพื่อกำจัดเฟอร์รัสไอออน นอกจากนี้เหล็กยังเป็นปัจจัยสำคัญต่อความเข้มข้นของอาร์ซีนิกในน้ำใต้ดินเนื่องจากเหล็กออกไซด์เป็นตัวดูดซับที่มีประสิทธิภาพในกระบวนการกำจัดอาร์ซีนิก งานวิจัยนี้ศึกษาการกำจัดอาร์ซีนิกและอาร์ซีนิกในระหว่างการออกซิไดส์เหล็กทางชีวภาพ ผลการทดลองพบว่าอาร์ซีนิกทั้งสองรูป (ความเข้มข้นเท่ากับ 50–200 mg/L) ถูกบำบัดออกจากน้ำดื่ม โดยพบว่าอาร์ซีนิกที่ถูกออกซิไดส์โดยแบคทีเรีย ซึ่งเป็นการช่วยให้เพิ่มการกำจัดเนื่องจากเหล็กออกไซด์ไม่สามารถดูดซับอาร์ซีนิกได้

Rhine และคณะ (2005) ศึกษาแบคทีเรียรีดิวส์อาร์ซีนิก (สายพันธุ์ Y5) และแบคทีเรียออกซิไดส์อาร์ซีนิก; an aerobic chemoautotrophic As(II) oxidizer (สายพันธุ์ OL1) แบคทีเรียทั้งสองสายพันธุ์นี้คัดแยกได้จากทะเลสาบ Onondaga นิวยอร์ก ประเทศสหรัฐอเมริกา ทำการทดสอบในขวดซีรั่มที่ปิดสนิท โดยเฉพาะเลี้ยงเพียงชนิดเดียวหรือสองชนิดร่วมกัน ภายใต้สภาวะ oxic/anoxic condition จากการทดลองในช่วงแรกของการเพาะเลี้ยงแบคทีเรียสองสายพันธุ์ร่วมกัน ภายใต้สภาวะ anoxic conditions พบว่า As(V) กระทบความเข้มข้น 2 มิลลิโมล ถูกรีดิวส์เป็น As(III) ภายใน 14 วัน หลังการการรีดิวส์เกิดขึ้นสมบูรณ์แล้วจึงมี

การเติมอากาศเข้าไปในขวดปฏิกิริยา จากการทดลองพบว่า As(III) ถูกออกซิไดส์เป็น As(V) ภายใน 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นจึงทำการเปลี่ยนสู่สภาวะ anoxic และ oxic อีกหนึ่งรอบ นอกจากนี้ยังพบว่าการทดลองควบคุมที่ปลอดเชื้อ ไม่มีการเปลี่ยนแปลงสารเกิดขึ้นในช่วง 28 วันของการทดลอง ผลการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่า จุลินทรีย์มีบทบาทในวัฏจักรของอาร์ซีนิกและขึ้นอยู่กับสถานะของสภาพแวดล้อมซึ่งจะมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงชนิดและความเป็นพิษของในสิ่งแวดล้อม

Salmassi และคณะ (2006) ศึกษาปฏิกิริยาในบ่อน้ำพุร้อนของแคลิฟอร์เนีย สหรัฐอเมริกา พบว่าอาร์ซีนิกที่ถูกออกซิไดส์เป็นอาร์ซีนิกอย่างรวดเร็ว ซึ่งกระบวนการนี้เป็นการบำบัดความเป็นพิษของอาร์ซีนิกโดยจุลินทรีย์ที่เจริญรวมเป็นแผ่นฟิล์มบริเวณพื้นผิวดตะกอนในบ่อน้ำพุร้อน คณะผู้วิจัยได้ศึกษาลักษณะการอยู่ร่วมกันเป็นแผ่นฟิล์มชีวภาพและกิจกรรมทางเคมีที่เกิดขึ้น เทคนิคชีวโมเลกุลที่ใช้ในการศึกษาชนิดของจุลินทรีย์คือ 16S-rRNA gene analysis และใช้เทคนิคการเพาะเลี้ยงเพื่อการนับจำนวนและการคัดแยกเชื้อ จากการทดลองสามารถแยกแบคทีเรียที่สามารถออกซิไดส์อาร์ซีนิกได้ จำนวน 3 สายพันธุ์คือ YED1-18, YED6-4 และ YED6-21 โดยทั้งสามสายพันธุ์เป็นแบคทีเรียพวก beta-Proteobacteria อยู่ในจีนัส Hydrogenophaga และเนื่องจากแบคทีเรียทั้งสามสายพันธุ์คัดแยกได้จากชั้นพื้นของแผ่นฟิล์มชีวภาพที่ระดับความเค็มสูง (ล้นเท่า) แบคทีเรียดังกล่าวจึงเปรียบเสมือนตัวแทนของแบคทีเรียออกซิไดส์อาร์ซีนิก (arsenite oxidizers) ที่พบมากที่สุดในแหล่งตัวอย่างนี้ จากการตรวจวิเคราะห์ปริมาณแบคทีเรียด้วยเทคนิค most probable number (MPN) analyses พบว่ามี arsenite-oxidizing bacteria ในตัวอย่างอยู่ในช่วง 6-56% ของจำนวนจุลินทรีย์ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ จากค่า MPN สามารถคำนวณได้ว่า V_{max} ของแหล่งตัวอย่าง มีค่าเท่ากับ 1×10^{-9} ไมโครโมลอาร์ซีนิกต่อนาที่ต่อเซลล์ ซึ่งสามารถเป็นค่าประมาณการสำหรับอัตราการออกซิไดส์อาร์ซีนิกต่อความหนาแน่นของของเซลล์ในรูป MPN ของกลุ่มจุลินทรีย์ในการทดลองภาคสนาม

Michel และคณะ (2007) ศึกษากระบวนการออกซิไดส์ As(III) และการสร้างฟิล์มชีวภาพในถังปฏิกิริยาแบบ fixed-bed bioreactor ที่ใช้ก้อนหินภูเขาไฟเป็นสารพองในการเจริญของแบคทีเรีย จากการทดลองพบว่าหลังการปล่อยน้ำที่ปนเปื้อน As(III) เป็นเวลา 60 วัน ฟิล์มชีวภาพส่วนใหญ่จะเกิดขึ้นบริเวณที่ปล่อยน้ำเข้าแทนที่จะเกิดกระจายทั่วถังปฏิกิริยา และได้นำฟิล์มชีวภาพซึ่งประกอบด้วยกลุ่มแบคทีเรีย CAOs1 และ *Thiomonas arsenivorans* มาศึกษาลักษณะโครงสร้างทั้งที่เจริญบน polystyrene และบนหินภูเขาไฟ พบว่าสารโพลิเมอร์ที่ขับออกนอกเซลล์ (Extracellular polymeric substances; EPS) และยีสต์สกัด (yeast extract) ช่วยทำให้แบคทีเรียเกาะติดกันได้ดีขึ้น และยีสต์สกัดช่วยเพิ่มจุลศาสตร์การสร้างฟิล์มชีวภาพ นอกจากนี้ยังพบว่าอาร์ซีนิกที่ออกซิไดส์ของ *T. arsenivorans* ที่เจริญอยู่ในสารละลาย ไม่ได้เกาะติดกับสารพอง มีกิจกรรมจำเพาะสูงกว่าอาร์ซีนิกที่ออกซิไดส์ของ *T. arsenivorans* ที่เจริญเกาะติดกับสารพองเท่ากับ 9 เท่า และเอนไซม์นี้ถูกเหนี่ยวนำโดย As(III) จากผลการทดลองชี้ให้เห็นว่าโครงสร้างของฟิล์มชีวภาพเป็นเหมือนการสกัดกั้นทางกายภาพ มีผลในการลดการนำ As(III) เข้าสู่แบคทีเรียที่เกาะติดอยู่ภายในแผ่นฟิล์ม จึงมีผลให้การออกซิไดส์ As(III) ลดลง ดังนั้นการนำถังปฏิกิริยาแบบ fixed bed bioreactor มาใช้ในการบำบัดน้ำที่ปนเปื้อนอาร์ซีนิก ควรมีการควบคุมปัจจัยต่าง ๆ เช่น อุณหภูมิ การเพิ่มการสังเคราะห์ EPS เพื่อเพิ่มความหนาแน่นของฟิล์มชีวภาพและกิจกรรมการออกซิไดส์

Aksornchu และคณะ (2008) คัดแยกแบคทีเรียที่เรียด้านทานต่ออาร์ซินิคจากดินที่อำเภอรัตนบุรี จังหวัดนครราชสีมา และได้้นำแบคทีเรียจำนวน 24 สายพันธุ์มาเพาะเลี้ยงใน basal salt medium ที่มี ยีสต์สกัด 0.1% และโซเดียมอาร์ซิไนท์เข้มข้นเท่ากับ 40 mM บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ภายใต้สภาวะ ที่ให้อากาศ ผลการทดลองพบว่าไอโซเลท B-2, B-3, B-4, B-21, B-25 และ B-27 สร้างสารคล้ายพอลิเมอร์อยู่ ภายนอกเซลล์ ซึ่งอาจจะมีบทบาทในการบำบัดอาร์ซินิคและสารมลพิษชนิดอื่น แบคทีเรียทุกไอโซเลทมี กิจกรรมการดูดซับอยู่ในช่วง 36.87-96.93% ที่ระดับความเข้มข้นเริ่มต้นของโซเดียมอาร์ซิไนท์เท่ากับ 40 mM โดยไม่พบการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของอาร์ซินิค ไอโซเลทที่มีกิจกรรมการดูดซับสูงสุดมีจำนวน 5 ไอโซเลทคือ B-4, B-7, B-8, B-10 และ B-13 โดยมีกิจกรรมการดูดซับเท่ากับ 80.90, 86.72, 87.08, 84.36 และ 96.93% ตามลำดับ

Ito และคณะ (2012) ศึกษาปฏิกิริยาออกซิเดชันของอาร์ซิไนท์ในน้ำใต้ดินสังเคราะห์ด้วยแบคทีเรีย ออกซิไดส์อาร์ซิไนท์ (arsenite oxidizing bacteria; AOB) ซึ่งแยกจากตะกอนแร่ จากการวิเคราะห์ทางไฟโลจี เนติกส์พบว่ามีความสัมพันธ์กับแบคทีเรีย *Ensifer adhaerens* การทดลองแบบแบตช์พบว่าอัตราส่วนของ แห่ไนโตรเจน ($\text{NH}_4\text{-N}$) กับความเข้มข้นของอาร์ซิไนท์มีค่าเท่ากับ 0.5 (52 mg/L-110 mg/L) พีเอชอยู่ใน ช่วง 6-8 อุณหภูมิของน้ำมากกว่า 20 องศาเซลเซียส การทดลองแบบต่อเนื่องในถังปฏิกิริยาที่มี AOB ตรึงรูป และมีความเข้มข้นเริ่มต้นของอาร์ซิไนท์เท่ากับ 1 mg/L ที่ hydraulic retention time (HRT) เท่ากับ 1 ชั่วโมง พบว่าอัตราการออกซิไดส์อาร์ซิไนท์มีค่าเท่ากับ 1×10^{-9} $\mu\text{g/cell/min}$ และมีประสิทธิภาพการ ออกซิเดชันเท่ากับ 92%

วิธีการทดลอง

1. การเก็บตัวอย่างและการคัดแยกแบคทีเรีย (Field sample and strain isolation)

การเก็บตัวอย่างน้ำใต้ดินและตะกอนดินจากบ่อน้ำใต้ดินที่มีการปนเปื้อนของอาร์ซินิคในเขตจังหวัดอุบลราชธานี วัดอุณหภูมิจากพีเอชของแหล่งตัวอย่าง นำตัวอย่างใส่ในหลอดฟาร์คอลที่ปลอดเชื้อ เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสและนำกลับมาวิเคราะห์ที่ห้องปฏิบัติการ

การคัดแยกแบคทีเรียด้วยเทคนิค Enrichment culture technique อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้คือ Enrichment and Growth medium (EG medium) ที่มีความเข้มข้นของโพแทสเซียมอาร์ซิไนท์ (potassium arsenite) เท่ากับ 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปรับพีเอชเท่ากับ 7.0 ด้วย NaOH และ HCl บ่มภายใต้การเขย่าที่ 150 รอบต่อนาที เป็นเวลา 3-5 วัน จากนั้นเจือจางอาหารเพาะเลี้ยงที่ระดับต่าง ๆ ทำการแยกเชื้อด้วยเทคนิค pore plate technique บนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง คัดเลือกโคโลนีเดี่ยวที่มีลักษณะสัญญาณวิทยาแตกต่างกันและนำมาทำให้เป็นเชื้อบริสุทธิ์โดยวิธี cross streak plate technique ตรวจสอบลักษณะโคโลนี สีของโคโลนี ตรวจสอบรูปร่าง และการจัดเรียงตัวของเซลล์ การติดสีแกรมด้วยกล้องจุลทรรศน์ และทำการเก็บรักษาเชื้อใน 16% glycerol ที่อุณหภูมิ -70 องศาเซลเซียส

2. การคัดเลือกแบคทีเรียที่มีประสิทธิภาพในการต้านทานต่อความเป็นพิษของอาร์ซินิค

นำแบคทีเรียที่คัดแยกได้มาเพาะเลี้ยงโดยการจุด (spot culture) บนอาหารเลี้ยงเชื้อ EG medium agar plate ที่มีความเข้มข้นของโพแทสเซียมอาร์ซิไนท์ระดับต่างๆ ตั้งแต่ 1-10 mM นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48-72 ชั่วโมง สังเกตดูการเจริญของแต่ละไอโซเลท

3. การคัดเลือกแบคทีเรียที่มีประสิทธิภาพในการลดความเป็นพิษของอาร์ซินิค

นำแบคทีเรียที่คัดแยกได้มาเพาะเลี้ยงใน EG medium (50 ml in 150 ml flask) ที่มีความเข้มข้นของโพแทสเซียมอาร์ซิไนท์เท่ากับ 75 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปรับพีเอชเท่ากับ 7.0 ด้วย NaOH และ HCl บ่มภายใต้การเขย่าที่ 150 รอบต่อนาที เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง ดูดสารละลายตัวอย่างตามช่วงเวลาต่างๆ วัดความหนาแน่นของเซลล์ ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ที่ OD₆₀₀ จากนั้นนำไปปั่นด้วยเครื่องปั่นตะกอน นำส่วนใสมาหาปริมาณอาร์ซินิคด้วยวิธี silver diethyl dithiocarbamate assay (Greenberg *et al.*, 1992) นำตะกอนมาละลายด้วยสารละลายโซเดียมคลอไรด์ วิเคราะห์หาจำนวนเซลล์ด้วยเทคนิค drop plate technique คัดเลือกแบคทีเรียที่ออกซิไดส์อาร์ซิไนท์ได้ดีที่สุดเพื่อการทดสอบต่อไป

4. ปัจจัยที่มีผลต่อการลดความเป็นพิษของอาร์ซินิคโดยแบคทีเรีย

ทำการศึกษาชนิดและระดับของปัจจัยที่มีผลต่อการลดความเป็นพิษของอาร์ซินิคโดยแบคทีเรีย ชนิดและระดับของปัจจัยที่ศึกษาได้แก่

1). ช่วงเวลาที่เหมาะสม

นำหัวเชื้อแบคทีเรียที่เพาะเลี้ยงใน LB medium เป็นเวลา 24 ชั่วโมง มาปรับความขุ่นที่ OD₆₀₀ ให้เท่ากับ 0.5 จากนั้นนำหัวเชื้อตั้งต้นปริมาตร 3% v/v เพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ EG medium มีความ

เข้มข้นของโพแทสเซียมอาร์ซีไนท์เริ่มต้นเท่ากับ 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปรับพีเอชเท่ากับ 7.0 บ่มภายใต้การเขย่าที่ 150 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เก็บสารละลายตัวอย่างตามช่วงเวลาต่างๆ คือ 24, 36, 48, 60 และ 72 ชั่วโมง นำสารละลายตัวอย่าง มาวัดความหนาแน่นของเซลล์ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ที่ OD₆₀₀ นำสารละลายตัวอย่างมาหมุนเหวี่ยงด้วยเครื่องเซนตริฟิวซ์ นำส่วนใสมาหาปริมาณอาร์ซีไนท์ที่เหลือด้วยวิธี silver diethyl dithiocarbamate assay (Greenberg *et al.*, 1992) ทำการทดลองควบคุมไม่มีเซลล์แบคทีเรีย (without cell) เพื่อตรวจสอบการดูดซับและกิจกรรมของ abiotic activity

2). พีเอช

นำหัวเชื้อแบคทีเรียที่เพาะเลี้ยงใน LB medium เป็นเวลา 24 ชั่วโมง มาปรับความขุ่นที่ OD₆₀₀ ให้เท่ากับ 0.5 จากนั้นนำหัวเชื้อตั้งต้นปริมาตร 3% v/v เพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ EG medium ซึ่งปรับพีเอชที่ระดับต่าง ๆ (4.5, 5.0, 5.5, 6.0, 6.5, 7.0, 7.5, และ 8.5) และมีความเข้มข้นของโพแทสเซียมอาร์ซีไนท์เริ่มต้นเท่ากับ 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร บ่มภายใต้การเขย่าที่ 150 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เก็บตัวอย่างตามช่วงเวลาที่เหมาะสมที่ได้จากข้อ 1) นำสารละลายตัวอย่างมาหมุนเหวี่ยงด้วยเครื่องเซนตริฟิวซ์ นำส่วนใสมาหาปริมาณอาร์ซีไนท์ที่เหลือด้วยวิธี silver diethyl dithiocarbamate assay (Greenberg *et al.*, 1992)

3). อุณหภูมิ

นำหัวเชื้อแบคทีเรียที่เพาะเลี้ยงใน LB medium เป็นเวลา 24 ชั่วโมง มาปรับความขุ่นที่ OD₆₀₀ ให้เท่ากับ 0.5 จากนั้นนำหัวเชื้อตั้งต้นปริมาตร 3% v/v เพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ EG medium ซึ่งปรับพีเอชที่เหมาะสมจากข้อ 2) และมีความเข้มข้นของโพแทสเซียมอาร์ซีไนท์เริ่มต้นเท่ากับ 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร บ่มภายใต้การเขย่าที่ 150 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิระดับต่างๆ คือ 30, 35, 40, 45 และ 50 องศาเซลเซียส เก็บตัวอย่างตามช่วงเวลาที่เหมาะสมที่ได้จากข้อ 1) นำสารละลายตัวอย่างมาหมุนเหวี่ยงด้วยเครื่องเซนตริฟิวซ์ นำส่วนใสมาหาปริมาณอาร์ซีไนท์ที่เหลือด้วยวิธี silver diethyl dithiocarbamate assay (Greenberg *et al.*, 1992)

4). ปริมาณหัวเชื้อตั้งต้น

นำหัวเชื้อแบคทีเรียที่เพาะเลี้ยงใน LB medium เป็นเวลา 24 ชั่วโมง มาปรับความขุ่นที่ OD₆₀₀ ให้เท่ากับ 0.5 จากนั้นนำหัวเชื้อตั้งต้นปริมาตรต่างๆ คือ 2.0, 3.0, 4.0, 5.0, 6.0, 7.0 และ 8.0 % v/v มาเพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ EG medium ซึ่งปรับพีเอชที่เหมาะสมจากข้อ 2) และมีความเข้มข้นของโพแทสเซียมอาร์ซีไนท์เริ่มต้นเท่ากับ 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร บ่มภายใต้การเขย่าที่ 150 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิที่เหมาะสมจากข้อ 3) เก็บตัวอย่างตามช่วงเวลาที่เหมาะสมที่ได้จากข้อ 1) นำสารละลายตัวอย่างมาหมุนเหวี่ยงด้วยเครื่องเซนตริฟิวซ์ นำส่วนใสมาหาปริมาณอาร์ซีไนท์ที่เหลือด้วยวิธี silver diethyl dithiocarbamate assay (Greenberg *et al.*, 1992)

5). แหล่งคาร์บอนที่เหมาะสม

นำหัวเชื้อแบคทีเรียที่เพาะเลี้ยงใน LB medium เป็นเวลา 24 ชั่วโมง มาปรับความขุ่นที่ OD₆₀₀ ให้เท่ากับ 0.5 จากนั้นนำหัวเชื้อตั้งต้นปริมาตรที่เหมาะสมจากข้อ 4) มาเพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ EG medium ที่มีแหล่งคาร์บอนชนิดต่างๆ (acetate, lactate, citrate, methanal, sucrose และ glucose ที่

ระดับความเข้มข้น 15 ไมโครโมลต่อลิตร) ซึ่งปรับพีเอชที่เหมาะสมจากข้อ 2) และมีความเข้มข้นของ โปแทสเซียมอาร์ซีไนท์เริ่มต้นเท่ากับ 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร บ่มภายใต้การเขย่าที่ 150 รอบต่อนาที ที่ อุณหภูมิที่เหมาะสมจากข้อ 3) เก็บตัวอย่างตามช่วงเวลาที่เหมาะสมที่ได้จากข้อ 1) นำสารละลายตัวอย่างมา หมุนเหวี่ยงด้วยเครื่องเซนตริฟิวซ์ นำส่วนใสมาหาปริมาณอาร์ซีไนท์ที่เหลือด้วยวิธี silver diethyl dithiocarbamate assay (Greenberg *et al.*, 1992)

5. การตรวจวินิจฉัยชนิดของแบคทีเรียโดยเทคนิคทางชีวโมเลกุล

การศึกษาเพื่อให้ทราบถึงชนิดหรือชื่อวิทยาศาสตร์ของแบคทีเรียที่มีประสิทธิภาพในการลดความเป็นพิษของอาร์ซีนิกโดยอาศัยเทคนิคทางชีวโมเลกุลเพื่อเพิ่มจำนวน rDNA gene ด้วยปฏิกิริยาโพลีเมอร์เรสเซนรี เอกชัน (Polymerase Chain Reaction; PCR) โดยเตรียมสารละลายผสมซึ่งประกอบด้วย crude cell lysate, primer pairs pA/pH', deoxynucleoside triphosphate, *Taq* DNA polymerase และ PCR buffer อุณหภูมิที่ใช้สำหรับปฏิกิริยาคือ 94°C เป็นเวลา 40 วินาที 55 °C เป็นเวลา 1 นาที และ 72°C เป็นเวลา 2 นาที จำนวนปฏิกิริยาเท่ากับ 35 รอบ นำสารละลาย PCR product มาทำให้บริสุทธิ์ และนำไป วิเคราะห์หาลำดับเบส (sequencing) แล้วนำมาเปรียบเทียบกับ 16S rRNA gene sequence ในฐานข้อมูล ของ EMBL database โดยใช้ BLAST search

6. การบำบัดน้ำใต้ดินสังเคราะห์ที่ปนเปื้อนสารประกอบอาร์ซีนิกด้วยถังปฏิกรณ์ไบโอฟิล์มแบบ fixed-bed bioreactor

1). การเตรียมหัวเชื้อแบคทีเรียออกซิไดส์อาร์ซีนิก PNKP-S2

ทำการเพาะเลี้ยงแบคทีเรียออกซิไดส์อาร์ซีนิก PNKP-S2 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ LB medium ปริมาตร 10 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 30 °C บนเครื่องเขย่าด้วยความเร็ว 150 รอบต่อนาที เป็นเวลา 18 ชั่วโมง หลังจากนั้นถ่ายเชื้อปริมาณ 5.0% ลงในอาหารเหลว LB medium ปริมาตร 150 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 30 °C บน เครื่องเขย่าด้วยความเร็ว 150 รอบต่อนาที เป็นเวลา 36 ชั่วโมง

2). การเตรียมวัสดุพอง (ก้อนหินกรวด)

วัสดุพองที่ใช้ในการทดลองนี้คือ ก้อนหินกรวดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 4-5 มิลลิเมตร นำก้อนหินกรวด มาล้างด้วยน้ำสะอาด 3 ครั้ง นำไปแช่ด้วยน้ำยาฆ่าเชื้อแคลเซียมไฮโปคลอไรด์ 65% ในอัตราส่วน 1 ช้อนชาต่อ น้ำ 1 ลิตร เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อภายใต้ความดันที่อุณหภูมิ 110 °C เป็นเวลา 20 นาที

3). การตรึงแบคทีเรียบนก้อนหินกรวด

นำก้อนหินกรวดปลอดเชื้อปริมาณ 140 กรัม บรรจุลงในคอลัมน์ปลอดเชื้อขนาด 12.0 x 4.0 เซนติเมตร นำหัวเชื้อแบคทีเรียออกซิไดส์อาร์ซีนิก PNKP-S2 ใส่ออกสู่คอลัมน์ด้วยอัตราการไหลเข้าเท่ากับ 0.5 มิลลิลิตรต่อนาที ทิ้งไว้เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นทำการถ่ายอาหารเลี้ยงเชื้อเก่าออกและถ่ายอาหารเลี้ยง เชื้อใหม่เข้าสู่คอลัมน์ด้วยอัตราการไหลเข้าเท่ากับ 0.5 มิลลิลิตรต่อนาที ตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ทำเช่นนี้ จนครบ 30 วัน จนกระทั่งพบการเจริญของแบคทีเรียเป็นไบโอฟิล์มบนก้อนหินกรวด

4). การบำบัดน้ำใต้ดินสังเคราะห์ที่ปนเปื้อนสารประกอบอาร์ซีนิดด้วยถังปฏิกรณ์ไบโอฟิล์ม

นำน้ำใต้ดินสังเคราะห์ที่ประกอบด้วยโพแทสเซียมอาร์ซีนีและสารให้อิเล็กตรอนคือโซเดียมอะซิเตท ที่ระดับความเข้มข้นเท่ากับ 15 ไมโครกรัมต่อลิตร ไหลผ่านเข้าสู่คอลัมน์ที่มีการตรึงแบคทีเรียบนก้อนหินกรวด อย่างต่อเนื่องด้วยอัตราการไหลเข้าเท่ากับ 0.5 มิลลิลิตรต่อนาที โดยมีความเข้มข้นของโพแทสเซียมอาร์ซีนี เริ่มต้นเท่ากับ 10 ไมโครกรัมต่อลิตร และเพิ่มระดับความเข้มข้นของโพแทสเซียมอาร์ซีนีเท่ากับ 10, 10 และ 20 ไมโครกรัมต่อลิตรในวันที่ 15, 25 และ 35 ของการทดลอง ตามลำดับ ทำการเก็บตัวอย่างทุกๆ 24 ชั่วโมง เป็นระยะเวลา 65 วัน มาวิเคราะห์ปริมาณอาร์ซีนีในน้ำด้วยวิธี silver diethyldithiocarbamate assay (Greenberg *et al.*, 1992)

7. การบำบัดน้ำใต้ดินสังเคราะห์ที่ปนเปื้อนสารประกอบอาร์ซีนิดด้วยถังปฏิกรณ์ไบโอฟิล์มแบบ membrane bioreactor

1). การเตรียมหัวเชื้อแบคทีเรียออกซิไดส์อาร์ซีนี PNKP-S2

ทำการเพาะเลี้ยงแบคทีเรียออกซิไดส์อาร์ซีนี PNKP-S2 ในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว LB medium ปริมาตร 10 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 30 °C บนเครื่องเขย่าด้วยความเร็ว 150 รอบต่อนาที เป็นเวลา 18 ชั่วโมง หลังจากนั้นถ่ายเชื้อปริมาณ 5.0% ลงในอาหารเหลว LB medium ปริมาตร 150 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 30 °C บนเครื่องเขย่าด้วยความเร็ว 150 รอบต่อนาที เป็นเวลา 36 ชั่วโมง

2). การเตรียมวัสดุพอง (เมมเบรน)

นำแผ่นเมมเบรนมาล้างด้วยน้ำสะอาดแล้วนำไปแช่ด้วยน้ำยาฆ่าเชื้อแคลเซียมไฮโปคลอไรด์ 65% ใน อัตราส่วน 1 ช้อนชาต่อน้ำ 1 ลิตร เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อภายใต้ความดันที่อุณหภูมิ 110 °C เป็นเวลา 20 นาที

3). การตรึงแบคทีเรียบนแผ่นเมมเบรน

นำแผ่นเมมเบรนปลอดเชื้อบรรจุลงในคอลัมน์ปลอดเชื้อขนาด 12.0 x 4.0 เซนติเมตร นำหัวเชื้อ แบคทีเรียออกซิไดส์อาร์ซีนี PNKP-S2 ไหลเข้าสู่คอลัมน์ด้วยอัตราการไหลเข้าเท่ากับ 0.5 มิลลิลิตรต่อนาที ตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นทำการถ่ายอาหารเลี้ยงเชื้อเก่าออกและถ่ายอาหารเลี้ยงเชื้อใหม่เข้าสู่คอลัมน์ ด้วยอัตราการไหลเข้าเท่ากับ 0.5 มิลลิลิตรต่อนาที ตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ทำเช่นนี้จนครบ 30 วัน จนกระทั่งพบการเจริญของแบคทีเรียเป็นไบโอฟิล์มบนแผ่นเมมเบรน

4). การบำบัดน้ำใต้ดินสังเคราะห์ที่ปนเปื้อนสารประกอบอาร์ซีนิดด้วยถังปฏิกรณ์ไบโอฟิล์ม

นำน้ำใต้ดินสังเคราะห์ที่ประกอบด้วยโพแทสเซียมอาร์ซีนีและสารให้อิเล็กตรอนคือโซเดียมอะซิเตท ที่ระดับความเข้มข้นเท่ากับ 15 ไมโครกรัมต่อลิตร ไหลผ่านเข้าสู่คอลัมน์ที่มีการตรึงแบคทีเรียบนแผ่นเมมเบรน อย่างต่อเนื่องด้วยอัตราการไหลเข้าเท่ากับ 0.5 มิลลิลิตรต่อนาที โดยมีความเข้มข้นของโพแทสเซียมอาร์ซีนี เริ่มต้นเท่ากับ 50 ไมโครกรัมต่อลิตร ทำการเก็บตัวอย่างทุกๆ 24 ชั่วโมง เป็นระยะเวลา 65 วัน มาวิเคราะห์ ปริมาณอาร์ซีนีในน้ำด้วยวิธี silver diethyldithiocarbamate assay (Greenberg *et al.*, 1992)

ผลการทดลอง

1. การเก็บตัวอย่าง

การเก็บตัวอย่างน้ำใต้ดินและตะกอนดินในเขตอำเภวารินชำราบและอำเภอเขมราฐ จังหวัดอุบลราชธานี รวมทั้งสิ้น 25 ตัวอย่าง แบ่งเป็นตัวอย่างน้ำ 12 ตัวอย่างและตัวอย่างดิน 13 ตัวอย่าง ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 1.1-1.2 การเก็บตัวอย่างน้ำใต้ดินและตะกอนดินในเขตตำบลเมืองศรีไคล อำเภวารินชำราบและอำเภอโขงเจียม จังหวัดอุบลราชธานี รวมทั้งสิ้น 24 ตัวอย่าง แบ่งเป็นตัวอย่างน้ำ 12 ตัวอย่างและตัวอย่างดิน 12 ตัวอย่าง ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 1.3-1.4

ตารางที่ 1.1 ตัวอย่างน้ำที่ใช้ในการคัดแยกแบคทีเรียที่ต้านทานต่ออาร์ซินิค เขตอำเภวารินชำราบและอำเภอเขมราฐ จังหวัดอุบลราชธานี

ลำดับที่	ชนิดของตัวอย่าง	pH	สถานที่เก็บตัวอย่าง
1	น้ำบ่อที่ 1	4.2	บ้านกุดเป่ง ต. คำน้ำแซบ อ. วารินชำราบ จ. อุบลราชธานี
2	น้ำบ่อที่ 2	4.6	บ้านกุดเป่ง ต. คำน้ำแซบ อ. วารินชำราบ จ. อุบลราชธานี
3	น้ำบ่อที่ 1	6.3	79/9 หมู่ 9 บ. นาหว้าน้อย ต. เขมราฐ อ. เขมราฐ จ. อุบลราชธานี
4	น้ำบ่อที่ 2	5.9	43 หมู่ 9 บ. นาหว้าน้อย ต. เขมราฐ อ. เขมราฐ จ. อุบลราชธานี
5	น้ำบ่อที่ 3	6.5	116 หมู่ 14 บ. ดงหนองหลวง ต. เขมราฐ อ. เขมราฐ จ. อุบลราชธานี
6	น้ำบ่อที่ 4	6.7	12 หมู่ 10 บ. ห้วยยาง ต. เขมราฐ อ. เขมราฐ จ. อุบลราชธานี
7	น้ำบ่อที่ 5	6.9	โรงเรียนบ้านเหนือเขมราฐ ต. เขมราฐ อ. เขมราฐ จ. อุบลราชธานี
8	น้ำบ่อที่ 6	6.5	249 บ้านนาเมือง ต.นาแก อ. เขมราฐ จ. อุบลราชธานี
9	น้ำบ่อที่ 7	6.7	รพช. (สำนักงานเร่งรัดพัฒนาชนบท) บ้านบึงซ้อง ต. นาแก อ. เขมราฐ จ. อุบลราชธานี
10	น้ำบ่อที่ 8	5.7	268 หมู่ 2 บ้านนาแก ต. นาแก อ. เขมราฐ จ. อุบลราชธานี
11	น้ำบ่อที่ 9	6.2	247 หมู่ 12 บ้านนาแก ต. นาแก อ. เขมราฐ จ. อุบลราชธานี
12	น้ำบ่อที่ 10	6.6	105 หมู่ 13 บ้านทางโค้ง ต. พะลาน อ. นาตาล จ. อุบลราชธานี

ตารางที่ 1.2 ตัวอย่างดินที่ใช้ในการคัดแยกแบคทีเรียที่ต้านทานต่ออาร์ซินิค เขตอำเภวารินชำราบและอำเภอ
เขมราฐ จังหวัดอุบลราชธานี

ลำดับที่	ชนิดของตัวอย่าง	pH	สถานที่เก็บตัวอย่าง
1	ดินบ่อที่ 1	7.4	บ้านกุดเป่ง ต. คำน้ำแซบ อ. วารินชำราบ จ. อุบลราชธานี
2	ดินบ่อที่ 2	7.2	บ้านกุดเป่ง ต. คำน้ำแซบ อ. วารินชำราบ จ. อุบลราชธานี
3	ดินบ่อที่ 1	6.0	79/9 หมู่ 9 บ้านนาหว้าน้อย ต. เขมราฐ อ. เขมราฐ จ. อุบลราชธานี
4	ดินบ่อที่ 2	6.0	43 หมู่ 9 บ้านนาหว้าน้อย ต. เขมราฐ อ. เขมราฐ จ. อุบลราชธานี
5	ดินบ่อที่ 3	5.5	116 หมู่ 14 บ้านดงหนองหลวง ต.เขมราฐ อ.เขมราฐ จ. อุบลราชธานี
6	ดินบ่อที่ 4	4.8	12 หมู่ 10 บ้านห้วยยาง ต. เขมราฐ อ. เขมราฐ จ. อุบลราชธานี
7	ดินบ่อที่ 5	4.9	โรงเรียนบ้านเหนือเขมราฐ ต.เขมราฐ อ.เขมราฐ จ. อุบลราชธานี
8	ดินริมโขงที่ 6	5.9	ท่าเรือข้ามฟาก สนง. เทศบาลตำบลเขมราฐ อ. เขมราฐ จ. อุบลราชธานี
9	ดินบ่อที่ 7	6.2	249 บ้านนาเมือง ต. นาแก อ. เขมราฐ จ. อุบลราชธานี
10	ดินบ่อที่ 8	6.1	สนง. เจริญพัฒนาชนบท บ้านบึงข้อง ต. นาแก อ. เขมราฐ จ. อุบลราชธานี
11	ดินบ่อที่ 9	5.9	268 หมู่ 2 บ้านนาแก ต. นาแก อ. เขมราฐ จ.อุบลราชธานี
12	ดินบ่อที่ 10	4.6	247 หมู่ 12 บ้านนาแก ต. นาแก อ. เขมราฐ จ. อุบลราชธานี
13	ดินบ่อที่ 11	5.1	105 หมู่ 13 บ้านทางเค็ง ต. พะลาน อ. นาตาล จ. อุบลราชธานี

ตารางที่ 1.3 ตัวอย่างน้ำที่ใช้ในการคัดแยกแบคทีเรียที่ต้านทานต่ออาร์ซินิค เขตตำบลเมืองศรีโคก อำเภวาริน
ชำราบ และอำเภอโขงเจียม จังหวัดอุบลราชธานี

ลำดับที่	ชนิดของตัวอย่าง	พีเอช	สถานที่/ที่ตั้ง
1	น้ำบ่อที่ 1	7.1	46 หมู่ 4 บ้านศรีโคก ต. เมืองศรีโคก อ. วารินชำราบ จ. อุบลราชธานี
2	น้ำบ่อที่ 2	7.2	72 หมู่ 3 บ้านศรีโคก ต. เมืองศรีโคก อ. วารินชำราบ จ. อุบลราชธานี
3	น้ำบ่อที่ 1	7.1	72 หมู่ 6 บ้านปากห้วยแคน ต. โขงเจียม อ. โขงเจียม จ. อุบลราชธานี
4	น้ำบ่อที่ 2	7.1	4 หมู่ 12 บ้านผาประตู่ทอง ต. โขงเจียม อ. โขงเจียม จ. อุบลราชธานี
5	น้ำบ่อที่ 3	8.2	28 หมู่ 4 บ้านหัวเหว่ ต.โขงเจียม อ. โขงเจียม จ. อุบลราชธานี
6	น้ำบ่อที่ 4	6.7	48 หมู่ 7 บ้านห้วยหมากใต้ ต. โขงเจียม อ. โขงเจียม จ. อุบลราชธานี
7	น้ำบ่อที่ 5	7.2	106 หมู่ 10 บ้านท่าแพ ต. โขงเจียม อ. โขงเจียม จ. อุบลราชธานี
8	น้ำบ่อที่ 6	7.2	177 หมู่ 8 บ้านถ้ำป่อง ต. ห้วยไผ่ อ. โขงเจียม จ. อุบลราชธานี
9	น้ำบ่อที่ 7	6.8	ร้านวาริน (ลุงสวຍบริการ) 89 บ้านหนองผือน้อย ต. ห้วยไผ่ อ. โขงเจียม จ. อุบลราชธานี
10	น้ำบ่อที่ 8	6.8	22 หมู่ 7 บ้านหนองผือน้อย ต. ห้วยไผ่ อ. โขงเจียม จ. อุบลราชธานี
11	น้ำบ่อที่ 9	7.3	193 หมู่ 7 บ้านหนองผือน้อย ต. ห้วยไผ่ อ. โขงเจียม จ. อุบลราชธานี
12	น้ำบ่อที่ 10	7.3	91 หมู่ 7 บ้านปะไฮ ต. ห้วยยาง อ. โขงเจียม จ. อุบลราชธานี

ตารางที่ 1.4 ตัวอย่างตะกอนดินที่ใช้ในการคัดแยกแบคทีเรียที่ต้านทานต่ออาร์ซินิค เขตตำบลเมืองศรีโคคล อำเภวารินชำราบ และอำเภอโขงเจียม จังหวัดอุบลราชธานี

ลำดับที่	ชนิดของตัวอย่าง	พีเอช	สถานที่เก็บ
1	ดินบ่อที่ 1	7.0	46 หมู่ 4 บ้านศรีโค ต. เมืองศรีโค อ.วารินชำราบ จ.อุบลราชธานี
2	ดินบ่อที่ 2	7.0	72 หมู่ 3 บ้านศรีโค ต. เมืองศรีโค อ.วารินชำราบ จ.อุบลราชธานี
3	ดินบ่อที่ 1	7.0	72 หมู่ 6 บ้านปากห้วยแคน ต. โขงเจียม อ. โขงเจียม จ.อุบลราชธานี
4	ดินบ่อที่ 2	7.0	4 หมู่ 12 บ้านผาประตู่ทอง ต. โขงเจียม อ. โขงเจียม จ.อุบลราชธานี
5	ดินบ่อที่ 3	6.0	28 หมู่ 4 บ้านหัวเหว่ ต. โขงเจียม อ. โขงเจียม จ. อุบลราชธานี
6	ดินบ่อที่ 4	7.0	48 หมู่ 7 บ้านห้วยหมากใต้ ต. โขงเจียม อ. โขงเจียม จ.อุบลราชธานี
7	ดินบ่อที่ 5	6.5	106 หมู่ 10 บ้านท่าแพ ต. โขงเจียม อ. โขงเจียม จ. อุบลราชธานี
8	ดินบ่อที่ 6	7.0	177 หมู่ 8 บ้านถ้ำป่อง ต. ห้วยไผ่ อ. โขงเจียม จ. อุบลราชธานี
9	ดินบ่อที่ 7	7.0	ร้านวาริณี (ลุงสวยบริการ) 89 บ้านหนองผือน้อย ต. ห้วยไผ่ อ. โขงเจียม จ. อุบลราชธานี
10	ดินบ่อที่ 8	7.5	22 หมู่ 7 บ้านหนองผือน้อย ต. ห้วยไผ่ อ. โขงเจียม จ. อุบลราชธานี
11	ดินบ่อที่ 9	7.0	193 หมู่ 7 บ้านหนองผือน้อย ต. ห้วยไผ่ อ. โขงเจียม จ. อุบลราชธานี
12	ดินบ่อที่ 10	7.0	91 หมู่ 7 บ้านบะไห ต. ห้วยยาง อ. โขงเจียม จ. อุบลราชธานี

2. การคัดแยกแบคทีเรียที่ต้านทานต่ออาร์ซินิค

1). การคัดแยกแบคทีเรียที่ต้านทานต่ออาร์ซินิคจากตัวอย่างในเขตอำเภวารินชำราบและอำเภอเขมราฐ จังหวัดอุบลราชธานี

การคัดแยกแบคทีเรียจากตัวอย่างน้ำและตัวอย่างดินในเขตอำเภวารินชำราบและอำเภอเขมราฐ จังหวัดอุบลราชธานี โดยทำการคัดแยกด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ Enrichment and Growth medium (EG medium) ที่มีความเข้มข้นของโพแทสเซียมอาร์ซิไนท์ (potassium arsenite) เท่ากับ 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร บ่มเพาะที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 3-5 วัน จากนั้นนำตัวอย่างมาแยกเชื้อโดยวิธี pour plate technique ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ EG medium บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ทำการคัดเลือกโคโลนีเดี่ยวที่มีลักษณะสัณฐานวิทยาแตกต่างกันและนำมาทำให้เชื้อบริสุทธิ์โดยวิธี cross streak plate technique

ผลการทดลองพบว่าสามารถคัดแยกแบคทีเรียจากตัวอย่างที่เก็บจากอำเภวารินชำราบ จังหวัดอุบลราชธานี จำนวน 15 ไอโซเลท (แยกได้จากตัวอย่างน้ำ 6 ไอโซเลท และตัวอย่างดิน 9 ไอโซเลท) แบคทีเรียที่คัดแยกได้จากตัวอย่าง อำเภอเขมราฐ จังหวัดอุบลราชธานี จำนวน 85 ไอโซเลท (แยกได้จากตัวอย่างน้ำ 38 ไอโซเลทและตัวอย่างดิน 47 ไอโซเลท) รวมทั้งสิ้น 100 ไอโซเลท จากนั้นทำการศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาและการติดสีย้อมแกรม ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 2.1-2.8 ตัวอย่างลักษณะโคโลนี ลักษณะเซลล์และการติดสีย้อมแกรม ดังแสดงในภาพที่ 2.1-2.2

ตารางที่ 2.1 จำนวนแบคทีเรียที่คัดแยกได้จากตัวอย่างน้ำ อำเภวารินชำราบ จังหวัดอุบลราชธานี

ชนิดของตัวอย่าง	รหัสเชื้อ	จำนวนไอโซเลท
น้ำบ่อที่ 1	PNKP-W1, PNKP-W2, PNKP-W3	3
น้ำบ่อที่ 2	PNKP-W7, PNKP-W8, PNKP-W9	3
รวม		6

ตารางที่ 2.2 จำนวนแบคทีเรียที่คัดแยกได้จากตัวอย่างดิน อำเภวารินชำราบ จังหวัดอุบลราชธานี

ชนิดของตัวอย่าง	รหัสเชื้อ	จำนวนไอโซเลท
ดินบ่อที่ 1	PNKP-S1, PNKP-S2, PNKP-S3, PNKP-S4, PNKP-S5, PNKP-S6	6
ดินบ่อที่ 2	PNKP-S7, PNKP-S8, PNKP-S9	3
รวม		9

ตารางที่ 2.3 จำนวนแบคทีเรียที่คัดแยกได้จากตัวอย่างน้ำ อำเภอเขมราฐ จังหวัดอุบลราชธานี

ชนิดของตัวอย่าง	รหัสเชื้อ	จำนวนไอโซเลต
น้ำบ่อที่ 1	PNKR-W13, PNKR-W14	2
น้ำบ่อที่ 2	PNKR-W8, PNKR-W9, PNKR-W10	3
น้ำบ่อที่ 3	PNKR-W11, PNKR-W12	2
น้ำบ่อที่ 4	PNKR-W15	1
น้ำบ่อที่ 5	PNKP-W1, PNKP-W2, PNKP-W3, PNKP-W4, PNKP-W5, PNKP-W6, PNKP-W7	7
น้ำบ่อที่ 6	PNKR-W15a, PNKR-W16, PNKR-W17, PNKR-W18, PNKR-W19	5
น้ำบ่อที่ 7	PNKR-W20, PNKR-W21, PNKR-W22, PNKR-W23	4
น้ำบ่อที่ 8	PNKR-W24, PNKR-W25, PNKR-W26, PNKR-W27	4
น้ำบ่อที่ 9	PNKR-W28, PNKR-W29, PNKR-W30, PNKR-W31, PNKR-W32	5
น้ำบ่อที่ 10	PNKR-W33, PNKR-W34, PNKR-W35, PNKR-W36, PNKR-W37	5
รวม		38

ตารางที่ 2.4 จำนวนแบคทีเรียที่คัดแยกได้จากตัวอย่างดินอำเภอเขมราฐ จังหวัดอุบลราชธานี

ชนิดของตัวอย่าง	รหัสเชื้อ	จำนวนไอโซเลต
ดินบ่อที่ 1	PNKR-S2, PNKR-S3, PNKR-S4, PNKR-S5, PNKR-S7, PNKR-S8	6
ดินบ่อที่ 2	PNKR-S9, PNKR-S10, PNKR-S11, PNKR-S13	4
ดินบ่อที่ 3	PNKR-S14, PNKR-S15, PNKR-S16, PNKR-S17	4
ดินบ่อที่ 4	PNKR-S18, PNKR-S19, PNKR-S20, PNKR-S21, PNKR-S22	5
ดินบ่อที่ 5	PNKR-S23, PNKR-S25, PNKR-S26, PNKR-S27, PNKR-S28	5
ดินริมโขงที่ 6	PNKR-S30, PNKR-S31	2
ดินบ่อที่ 7	PNKP-S32, PNKP-S33, PNKP-S34	3
ดินบ่อที่ 8	PNKP-S37, PNKP-S38	2
ดินบ่อที่ 9	PNKP-S39, PNKP-S40, PNKP-S41, PNKP-S42, PNKR-S43	5
ดินบ่อที่ 10	PNKR-S44, PNKR-S45, PNKR-S46, PNKR-S48	4
ดินบ่อที่ 11	PNKR-S49, PNKR-S50, PNKR-S51, PNKR-S52, PNKR-S53, PNKR-S54, PNKR-S55	7
รวม		47

ตารางที่ 2.5 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของแบคทีเรียที่คัดแยกได้จากตัวอย่างน้ำ อำเภอลำทะเมนชัย จังหวัดบุรีรัมย์

ชนิดของตัวอย่าง	รหัสเชื้อ	ลักษณะโคโลนี	การติดสีแกรม	รูปร่างเซลล์
น้ำบ่อที่ 1	PNKP-W1	Circular, pulvinate, smooth, entire, ขนาดใหญ่, สีขาวขุ่น, ผิวหน้ำมันเยิ้ม	Gram positive	bacilli
	PNKP-W2	Circular, convex, smooth, entire, ขนาดเล็ก, สีขาวขุ่น, ผิวหน้ำมันขาว	Gram positive	bacilli
	PNKP-W3	Circular, raised, smooth, entire, ขนาดใหญ่, สีขาวขุ่น, ผิวหน้ำมันขาว	Gram positive	bacilli
น้ำบ่อที่ 2	PNKP-W7	Irregular, raised, smooth, undulate, ขนาดปานกลาง, สีส้มอมเหลือง, ผิวหน้ำมันเยิ้ม	Gram negative	bacilli
	PNKP-W8	Punctiform, pulvinate, smooth, entire, ขนาดเล็กมาก, ใส, ผิวหน้ำมันขาว	Gram positive	short rod
	PNKP-W9	Circular, umbonate, contoured, entire, ขนาดเล็ก, สีขาวขุ่น, ผิวหน้ำมันขาว	Gram positive	short rod

ตารางที่ 2.6 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของแบคทีเรียที่คัดแยกได้จากตัวอย่างดิน อำเภอมารินชำราบ จังหวัดอุบลราชธานี

ชนิดของตัวอย่าง	รหัสเชื้อ	ลักษณะโคโลนี	การติดสีแกรม	รูปร่างเซลล์
ดินบ่อที่ 1	PNKP-S1	Circular, convex, contoured, entire, ขนาดเล็ก, สีขาวขุ่น, ผิวหน้ำมันเยิ้ม	Gram positive	bacilli
	PNKP-S2	Circular, pulvinate, smooth, entire, ขนาดใหญ่, สีขาวขุ่น, ผิวหน้ำมันวาว	Gram positive	bacilli
	PNKP-S3	Irregular, convex, smooth, entire, ขนาดเล็กสีขาวยุ่น, ผิวหน้ำมันเยิ้ม	Gram negative	bacilli
	PNKP-S4	Circular, flat, , smooth, entire, ขนาดใหญ่, สีขาวขุ่น, ผิวหน้ำมันเยิ้ม	Gram positive	bacilli
	PNKP-S5	Punctiform, raised, smooth, entire, ขนาดเล็กมาก, สีขาวขุ่น, ผิวหน้ำมันวาว	Gram negative	bacilli
	PNKP-S6	Irregular, convex, smooth, entire, ขนาดเล็กสีขาวยุ่น, ผิวหน้ำมันเยิ้ม	Gram positive	bacilli
ดินบ่อที่ 2	PNKP-S7	Punctiform, pulvinate, smooth, entire, ขนาดเล็กมาก, ผิวหน้ำมันวาว	Gram negative	bacilli
	PNKP-S8	Irregular, convex, smooth, entire, ขนาดเล็ก สีขาวขุ่น, ผิวหน้ำมันวาว	Gram positive	bacilli
	PNKP-S9	Circular, convex, smooth, entire, ขนาดเล็ก, สีขาวขุ่น, ผิวหน้ำมันวาว	Gram positive	bacilli

ตารางที่ 2.7 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของแบคทีเรียที่คัดแยกได้จากตัวอย่างน้ำ อำเภอยะรัง จังหวัด
อุบลราชธานี

ชนิดของ ตัวอย่าง	รหัสเชื้อ	ลักษณะโคโลนี	การติดสีแกรม	รูปร่างเซลล์
น้ำบ่อที่ 1	PNKR-W13	Circular, convex, smooth, entire, ขนาดเล็กสีขาวยาว, ผิวหน้ำมันวาว	Gram positive	bacilli
	PNKR-W14	Circular, convex, smooth, entire, ขนาดเล็กสีเหลือง, ผิวหน้ำมันเยิ้ม	Gram positive	bacilli
น้ำบ่อที่ 2	PNKR-W8	Circular, convex, smooth, entire, ขนาดเล็กสีเหลือง, ผิวหน้ำมันเยิ้ม	Gram positive	bacilli
	PNKR-W9	Circular, convex, smooth, entire, ขนาดเล็กสีเหลือง, ผิวหน้ำมันวาว	Gram positive	bacilli
	PNKR-W10	Circular, convex, smooth, entire, ขนาดกลาง, สีเหลือง, ผิวหน้ำมันเยิ้ม	Gram positive	bacilli
น้ำบ่อที่ 3	PNKR-W11	Circular, raised, smooth, entire, ขนาดเล็กสีขาวยาว, ผิวหน้ำมันวาว	Gram positive	bacilli
	PNKR-W12	Circular, convex, smooth, entire, ขนาดปานกลาง, สีเหลือง, ผิวหน้ำมัน เยิ้ม	Gram positive	bacilli
น้ำบ่อที่ 4	PNKR-W15	Circular, raised, smooth, entire, ขนาดเล็ก, สีขาว, ผิวหน้ำมันวาว	Gram positive	bacilli
น้ำบ่อที่ 5	PNKR-W1	Circular, raised, smooth, undulate, ขนาดปานกลาง, สีขาวขุ่น, ผิวหน้ำมันวาว	Gram positive	bacilli
	PNKR-W2	Circular, raised, smooth, entire, ขนาดปานกลาง, สีขาวขุ่น, ผิวหน้ำมัน วาว	Gram positive	bacilli
	PNKR-W3	Circular, raised, smooth, entire, ขนาดปานกลาง, สีขาวขุ่น, ผิวหน้ำมัน วาว	Gram negative	bacilli
	PNKR-W4	Circular, raised, smooth, entire, ขนาดเล็กสีขาวยาว, ผิวหน้ำมันวาว	Gram negative	bacilli
	PNKR-W5	Circular, raised, smooth, entire,	Gram negative	bacilli

ชนิดของตัวอย่าง	รหัสเชื้อ	ลักษณะโคโลนี	การติดสีแกรม	รูปร่างเซลล์
		ขนาดปานกลาง, สีขาวขุ่น, ผิวหน้ำมันวาว		
	PNKR-W6	Circular, raised, smooth, curled, ขนาดใหญ่, สีขาวขุ่น, ผิวหน้ำมันวาว	Gram positive	bacilli
	PNKR-W7	Circular, raised, smooth, undulate, ขนาดปานกลาง, สีขาวขุ่น, ผิวหน้ำมันวาว	Gram positive	bacilli
น้ำป๋อที่ 6	PNKR-W15a	Circular, convex, smooth, entire, ขนาดปานกลาง, สีขาว, ผิวหน้ำมันวาว	Gram negative	short rod
	PNKR-W16	Circular, flat, smooth, entire, ขนาดปานกลาง, สีครีม, ผิวหน้ำมันวาว	Gram negative	bacilli
	PNKR-W17	Circular, convex, smooth, entire, ขนาดปานกลาง, สีขาว, ผิวหน้ำมันวาว	Gram positive	bacilli
	PNKR-W18	Circular, convex, smooth, entire, ขนาดปานกลาง สีครีม, ผิวหน้ำมันเยิ้ม	Gram positive	short rod
	PNKR-W19	Circular, convex, smooth, entire, ขนาดเล็ก, สีครีม, ผิวหน้ำมันวาว	Gram positive	bacilli
น้ำป๋อที่ 7	PNKR-W20	Circular, flat, concentrically ringed, entire,ขนาดปานกลาง, สีขาว, ผิวหน้ำมันวาว	Gram negative	bacilli
	PNKR-W21	Circular, umbonate, smooth, undulate, ขนาดใหญ่, สีครีม, ผิวหน้ำมันเยิ้ม	Gram positive	bacilli
	PNKR-W22	Circular, umbonate, smooth, undulate, ขนาดใหญ่, สีครีม, ผิวหน้ำมันเยิ้ม	Gram positive	bacilli
	PNKR-W23	Circular, umbonate, rough, undulate, ขนาดปานกลาง, สีครีม, ผิวหน้ำมันเยิ้ม	Gram positive	bacilli
น้ำป๋อที่ 8	PNKR-W24	Irregular, flat, smooth, undulate,	Gram positive	bacilli

ชนิดของตัวอย่าง	รหัสเชื้อ	ลักษณะโคโลนี	การติดสีแกรม	รูปร่างเซลล์
		ขนาดปานกลาง, สีครีม, ผิวหน้ำมันเยิ้ม		
	PNKR-W25	Circular, flat, smooth, entire, ขนาดเล็ก, สีครีม, ผิวหน้ำมันเยิ้ม	Gram positive	short rod
	PNKR-W26	Punctiform, convex, smooth, entire, ขนาดเล็กมาก, สีขาว, ผิวหน้ำมันขาว	Gram positive	bacilli
	PNKR-W27	Circular, umbonate, contoured, undulate, ขนาดปานกลาง, สีครีม, ผิวหน้ำมันเยิ้ม	Gram positive	bacilli
น้ำป๋อที่ 9	PNKR-W28	Punctiform, flat, smooth, erose, ขนาดเล็กมาก, สีครีม, ผิวหน้ำมันเยิ้ม	Gram positive	short rod
	PNKR-W29	Circular, umbonate, smooth, entire, ขนาดปานกลาง, สีครีม, ผิวหน้ำมันเยิ้ม	Gram positive	bacilli
	PNKR-W30	Irregular, flat, smooth, undulate, ขนาดปานกลาง, สีครีม, ผิวหน้ำมันเยิ้ม	Gram negative	bacilli
	PNKR-W31	Circular, flat, smooth, entire, ขนาดเล็กสีครีม, ผิวหน้ำมันเยิ้ม	Gram positive	bacilli
	PNKR-W32	Irregular, umbonate, smooth, entire, ขนาดปานกลาง, สีครีม, ผิวหน้ำมันเยิ้ม	Gram positive	short rod
น้ำป๋อที่ 10	PNKR-W33	Circular, convex, smooth, entire, ขนาดเล็กใส, ผิวหน้ำมันขาว	Gram positive	bacilli
	PNKR-W34	Circular, flat, smooth, undulate, ขนาดใหญ่สีครีม, ผิวหน้ำมันขาว	Gram negative	bacilli
	PNKR-W35	Irregular, convex, smooth, entire, ขนาดปานกลาง, สีขาว, ผิวหน้ำมันขาว	Gram negative	bacilli
	PNKR-W36	Irregular, flat, smooth, entire, ขนาดเล็ก, สีครีม, ผิวหน้ำมันเยิ้ม	Gram positive	short rod
	PNKR-W37	Circular, flat, smooth, entire, ขนาดเล็กสีครีม, ผิวหน้ำมันเยิ้ม	Gram positive	bacilli

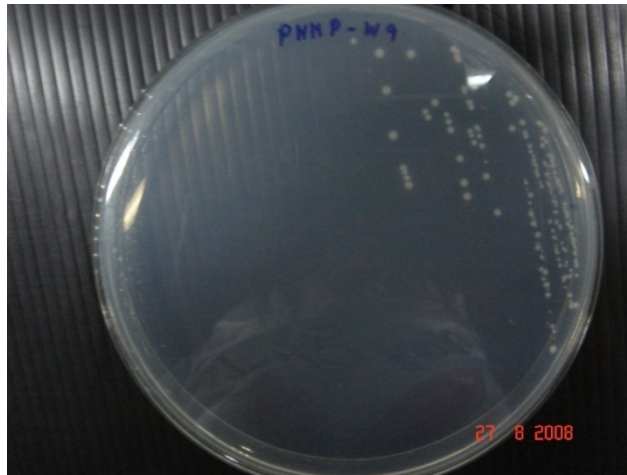
ตารางที่ 2.8 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของแบคทีเรียที่คัดแยกได้จากตัวอย่างดิน อำเภอเขมราฐ จังหวัดอุบลราชธานี

ชนิดของตัวอย่าง	รหัสเชื้อ	ลักษณะโคโลนี	การติดสีแกรม	รูปร่างเซลล์
ดินบ่อที่1	PNKR-S2	Circular, raised, smooth, undulate, ขนาดเล็ก, สีเหลืองอ่อน, ผิวหน้ำมันเยิ้ม	Gram positive	short rod
	PNKR-S3	Circular, raised, smooth, entire, ขนาดปานกลาง, สีขาวขุ่น, ผิวหน้ำมันวาว	Gram positive	short rod
	PNKR-S4	Irregular, raised, smooth, undulate, ขนาดเล็ก, สีขาวขุ่น, ผิวหน้ำมันเยิ้ม	Gram positive	bacilli
	PNKR-S5	Punctiform, flat, smooth, entire, ขนาดเล็กมาก, ใส, ผิวหน้ำมันเยิ้ม	Gram positive	bacilli
	PNKR-S7	Circular, convex, smooth, entire, ขนาดปานกลาง, สีขาวขุ่น, ผิวหน้ำมันเยิ้ม	Gram positive	bacilli
	PNKR-S8	Circular, raised, smooth, entire, ขนาดเล็ก, ใส, ผิวหน้ำมันวาว	Gram positive	bacilli
ดินบ่อที่2	PNKR-S9	Circular, convex, smooth, entire, ขนาดปานกลาง, สีขาวขุ่น, ผิวหน้ำมันวาว	Gram positive	bacilli
	PNKR-S10	Circular, raised, smooth, entire, ขนาดเล็ก, สีเหลือง, ผิวหน้ำมันวาว	Gram positive	bacilli
	PNKR-S11	Circular, raised, smooth, entire, ขนาดเล็ก, สีขาวขุ่น, ผิวหน้ำมันวาว	Gram positive	short rod
	PNKR-S13	Circular, raised, contoured, undulate, ขนาดปานกลาง, สีขาวขุ่น, ผิวหน้ำมันวาว	Gram positive	short rod
ดินบ่อที่3	PNKR-S14	Circular, convex, smooth, entire, ขนาดเล็ก, สีเหลือง, ผิวหน้ำมันวาว	Gram positive	short rod
	PNKR-S15	Circular, convex, smooth, entire, ขนาดเล็กสีเหลือง, ผิวหน้ำมันวาว	Gram positive	bacilli
	PNKR-S16	Circular, raised, contoured, entire, ขนาดปานกลาง, สีขาวขุ่น, ผิวหน้ำมันวาว	Gram positive	bacilli
	PNKR-S17	Circular, raised, smooth, undulate, ขนาดปานกลาง, สีขาวขุ่น, ผิวหน้ำมันวาว	Gram positive	bacilli

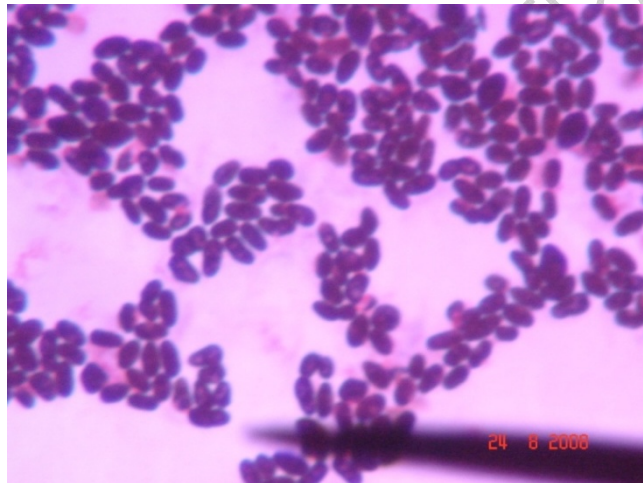
ชนิดของตัวอย่าง	รหัสเชื้อ	ลักษณะโคโลนี	การติดสีแกรม	รูปร่างเซลล์
ดินบ่อที่ 4	PNKR-S18	Circular, raised, smooth, entire , ขนาดเล็ก, สีขาวขุ่น, ผิวหน้ำมันวาว	Gram positive	bacilli
	PNKR-S19	Circular, raised, smooth, entire, ขนาด เล็กสีเหลืองอ่อน, ผิวหน้ำมันวาว	Gram positive	bacilli
	PNKR-S20	Circular, raised, smooth, entire , ขนาดปานกลาง, สีขาวขุ่น, ผิวหน้ำมันเยิ้ม	Gram positive	bacilli
	PNKR-S21	Circular, convex, smooth, entire, ขนาดเล็ก, สีเหลืองนวล, ผิวหน้ำมันวาว	Gram positive	bacilli
	PNKR-S22	Punctiform, convex, smooth, entire, ขนาดเล็กมาก, สีขาวขุ่น, ผิวหน้ำมันวาว	Gram positive	bacilli
ดินบ่อที่ 5	PNKR-S23	Circular, raised, smooth, undulate, ขนาดเล็ก, สีขาวขุ่น, ผิวหน้ำมันวาว	Gram positive	bacilli
	PNKR-S25	Circular, raised, contoured, entire, ขนาดเล็ก, สีขาวขุ่น, ผิวหน้ำมันวาว	Gram positive	short rod
	PNKR-S26	Irregular, raised, rough, lobate, ขนาดเล็ก, สีขาวขุ่น, ผิวหน้ำมันวาว	Gram negative	bacilli
	PNKR-S27	Irregular, raised, rough, undulate, ขนาดปานกลาง, สีขาวขุ่น, ผิวหน้ำมันวาว	Gram positive	short rod
	PNKR-S28	Irregular, raised, rough, undulate, ขนาดปานกลาง, สีขาวขุ่น, ผิวหน้ำมันวาว	Gram positive	bacilli
ดินริมโขง ที่ 6	PNKR-S30	Circular, raised, smooth, undulate, ขนาดใหญ่, สีขาวขุ่น, ผิวหน้ำมันวาว	Gram negative	bacilli
	PNKR-S31	Circular, convex, smooth, entire, ขนาดเล็ก,ใส, ผิวหน้ำมันเยิ้ม	Gram positive	bacilli
ดินบ่อที่ 7	PNKR-S32	Circular, flat, rough, erose, ขนาดปานกลาง, สีครีม, ผิวหน้ำมันวาว	Gram positive	short rod
	PNKR-S33	Circular, flat, smooth, undulate, ขนาดปานกลาง,สีครีม,ผิวหน้ำมันวาว	Gram positive	short rod
	PNKR-S34	Circular, flat, , smooth, entire, ขนาดเล็ก, สีขาว, ผิวหน้ำมันเยิ้ม	Gram positive	bacilli

ชนิดของตัวอย่าง	รหัสเชื้อ	ลักษณะโคโลนี	การติดสีแกรม	รูปร่างเซลล์
ดินบ่อที่ 8	PNKR-S37	Irregular, flat, smooth, undulate, ขนาดปานกลาง, สีขาว, ผิวหน้ำมันวาว	Gram positive	bacilli
	PNKR-S38	Circular, flat, , smooth, entire, ขนาดปานกลาง, สีขาว, ผิวหน้ำมันเยิ้ม	Gram negative	bacilli
ดินบ่อที่ 9	PNKR-S39	Circular, flat, , smooth, entire, ขนาดเล็ก, สีขาว, ผิวหน้ำมันวาว	Gram positive	bacilli
	PNKR-S40	Circular, convex, smooth, entire, ขนาดเล็ก, สี, ผิวหน้ำมันวาว	Gram positive	short rod
	PNKR-S41	Circular, flat, , smooth, entire, ขนาดปานกลาง, สีขาว, ผิวหน้ำมันวาว	Gram positive	bacilli
	PNKR-S42	Circular, convex, smooth, undulate, ขนาดใหญ่, สีขาว, ผิวหน้ำมันวาว	Gram positive	bacilli
	PNKR-S43	Punctiform, convex, smooth, entire, ขนาดเล็กมาก, สีครีม, ผิวหน้ำมันเยิ้ม	Gram positive	short rod
ดินบ่อที่ 10	PNKR-S44	Circular, pulvinate, smooth, entire, ขนาดปานกลาง, สีเหลือง, ผิวหน้ำมันวาว	Gram positive	bacilli
	PNKR-S45	Circular, pulvinate, smooth, entire, ขนาดเล็ก, สีครีม, ผิวหน้ำมันวาว	Gram positive	bacilli
	PNKR-S46	Circular, umbonate, smooth, entire, ขนาดเล็ก, สีเหลือง, ผิวหน้ำมันวาว	Gram positive	short rod
	PNKR-S48	Circular, convex, smooth, entire, ขนาดเล็ก, สีเหลือง, ผิวหน้ำมันวาว	Gram negative	short rod
ดินบ่อที่ 11	PNKR-S49	Circular, convex, rough, entire, ขนาดปานกลาง, สีเหลือง, ผิวหน้ำมันเยิ้ม	Gram positive	short rod
	PNKR-S50	Irregular, raised, smooth, undulate, ขนาดปานกลาง, สีครีม, ผิวหน้ำมันเยิ้ม	Gram positive	bacilli
	PNKR-S51	Punctiform, convex, smooth, entire, ขนาดเล็กมาก, สีครีม, ผิวหน้ำมันวาว	Gram positive	bacilli
	PNKR-S52	Circular, convex, smooth, entire, ขนาดเล็ก, สีเหลือง, ผิวหน้ำมันวาว	Gram positive	short rod

ชนิดของ ตัวอย่าง	รหัสเชื้อ	ลักษณะโคโลนี	การติดสีแกรม	รูปร่างเซลล์
ดินบ่อที่ 11	PNKR-S53	Circular, flat, smooth, undulate, ขนาดปานกลาง, สีครีม, ผิวหน้ำมันเยิ้ม	Gram positive	bacilli
	PNKR-S54	Irregular, flat, contoured, undulate, ขนาดปานกลาง, สีขาว, ผิวหน้ำมันเยิ้ม	Gram positive	short rod
	PNKR-S55	Circular, flat, concentrically ringed, undulate, ขนาดปานกลาง, สีขาว, ผิวหน้ำมันเยิ้ม	Gram positive	bacilli



ภาพที่ 2.1 ลักษณะโคโลนีของเชื้อรหัส PNKP-W9



ภาพที่ 2.2 การติดสีย้อมแกรมของเชื้อรหัส PNKP-W9

2). การคัดแยกแบคทีเรียที่ต้านทานต่ออาร์ซีนิกจากตัวอย่างในเขตตำบลเมืองศรีไคลและอำเภอโขงเจียม จังหวัดอุบลราชธานี

การคัดแยกแบคทีเรียจากตัวอย่างน้ำและตัวอย่างดินในเขตตำบลเมืองศรีไคล และอำเภอโขงเจียม จังหวัดอุบลราชธานี โดยทำการคัดแยกด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ Enrichment and Growth medium (EG medium) ที่มีความเข้มข้นของโพแทสเซียมอาร์ซีนีท์ (potassium arsenite) เท่ากับ 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 3-5 วัน จากนั้นนำตัวอย่างมาแยกเชื้อโดยวิธี pour plate technique ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ EG medium บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ทำการคัดเลือกโคโลนีเดี่ยวที่มีลักษณะสัณฐานวิทยาแตกต่างกันและนำมาทำให้เชื้อบริสุทธิ์โดยวิธี cross streak plate technique

ผลการทดลองพบว่าสามารถคัดแยกแบคทีเรียจากตัวอย่างที่เก็บจากตำบลเมืองศรีไคล จำนวน 14 ไอโซเลต (แยกได้จากตัวอย่างน้ำ 5 ไอโซเลต และตัวอย่างดิน 9 ไอโซเลต) คัดแยกแบคทีเรียจากตัวอย่างที่เก็บจากอำเภอโขงเจียม จังหวัดอุบลราชธานี จำนวน 89 ไอโซเลต (แยกได้จากตัวอย่างน้ำ 44 ไอโซเลต แยกได้จากตัวอย่างดิน 45 ไอโซเลต) รวมทั้งสิ้น 103 ไอโซเลต จากนั้นทำการศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาและการติดสีย้อมแกรม ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 2.9-2.15 ตัวอย่างลักษณะโคโลนี ลักษณะเซลล์และการติดสีย้อมแกรม ดังแสดงในภาพที่ 2.3-2.4

ตารางที่ 2.9 จำนวนแบคทีเรียที่คัดแยกได้จากตัวอย่างน้ำ ตำบลเมืองศรีไคล อำเภอวารินชำราบ จังหวัดอุบลราชธานี

ชนิดของตัวอย่าง	รหัสเชื้อ	จำนวนไอโซเลต
น้ำบ่อที่ 1	PRSK-W1, PRSK-W2	2
น้ำบ่อที่ 2	PRSK-W3, PRSK-W4, PRSK-W5	3
รวม		5

ตารางที่ 2.10 จำนวนแบคทีเรียที่คัดแยกได้จากตัวอย่างดิน ตำบลเมืองศรีไคล อำเภอวารินชำราบ จังหวัดอุบลราชธานี

ชนิดของตัวอย่าง	รหัสเชื้อ	จำนวนไอโซเลต
ดินบ่อที่ 1	PRSK-S1, PRSK-S2, PRSK-S3, PRSK-S4	4
ดินบ่อที่ 2	PRSK-S5, PRSK-S6, PRSK-S7, PNKP-S8, PNKP-S9	5
รวม		9

ตารางที่ 2.11 จำนวนแบบที่เรียที่คัดแยกได้จากตัวอย่างน้ำ อำเภอโขงเจียม จังหวัดอุบลราชธานี

ชนิดของตัวอย่าง	รหัสเชื้อ	จำนวนไอโซเลท
น้ำบ่อที่ 1	PRJK-W1, PRJK-W2, PRJK-W3, PRJK-W4	4
น้ำบ่อที่ 2	PRJK-W5, PRJK-W6, PRJK-W7, PRJK-W8, PRJK-W9	5
น้ำบ่อที่ 3	PRJK-W10, PRJK-W11, PRJK-W12, PRJK-W13, PRJK-W14	5
น้ำบ่อที่ 4	PRJK-W15, PRJK-W16, PRJK-W17, PRJK-W18, PRJK-W19, PRJK-W20, PRJK-W21	7
น้ำบ่อที่ 5	PRJK-W22, PRJK-W23, PRJK-W24, PRJK-W25	4
น้ำบ่อที่ 6	PRJK-W26, PRJK-W27, PRJK-W28, PRJK-W29	4
น้ำบ่อที่ 7	PRJK-W30, PRJK-W31, PRJK-W32	3
น้ำบ่อที่ 8	PRJK-W33, PRJK-W34, PRJK-W35, PRJK-W36	4
น้ำบ่อที่ 9	PRJK-W37, PRJK-W38, PRJK-W39, PRJK-W40	4
น้ำบ่อที่ 10	PRJK-W41, PRJK-W42, PRJK-W43, PRJK-W44	4
รวม		44

ตารางที่ 2.12 จำนวนแบบที่เรียที่คัดแยกได้จากตัวอย่างดิน อำเภอโขงเจียม จังหวัดอุบลราชธานี

ชนิดของตัวอย่าง	รหัสเชื้อ	จำนวนไอโซเลท
ดินบ่อที่ 1	PRJK-S1, PRJK-S2, PRJK-S3	3
ดินบ่อที่ 2	PRJK-S4, PRJK-S5, PRJK-S6, PRJK-S7	4
ดินบ่อที่ 3	PRJK-S8, PRJK-S9, PRJK-S10, PRJK-S11	4
ดินบ่อที่ 4	PRJK-S12, PRJK-S13, PRJK-S14	3
ดินบ่อที่ 5	PRJK-S15, PRJK-S16, PRJK-S17, PRJK-S18, PRJK-S19, PRJK-S20, PRJK-S21	7
ดินบ่อที่ 6	PRJK-S22, PRJK-S23, PRJK-S24, PRJK-S25, PRJK-S2	5
ดินบ่อที่ 7	PRJK-S27, PRJK-S28, PRJK-S29, PRJK-S30	4
ดินบ่อที่ 8	PRJK-S31, PRJK-S32, PRJK-S33, PRJK-S34	4
ดินบ่อที่ 9	PRJK-S35, PRJK-S36, PRJK-S37, PRJK-S38, PRJK-S39	5
ดินบ่อที่ 10	PRJK-S40, PRJK-S41, PRJK-S42, PRJK-S43, PRJK-S44, PRJK-S45	6
รวม		45

ตารางที่ 2.13 ลักษณะสัณฐานวิทยาของแบคทีเรียที่แยกได้จากตัวอย่างน้ำและตัวอย่างดิน ตำบลเมืองศรีไคล อำเภวารินชำราบ จังหวัดอุบลราชธานี

ชนิดของ ตัวอย่าง	รหัสเชื้อ	ลักษณะโคโลนี	การติดสีแกรม	รูปร่าง เซลล์
น้ำบ่อที่ 1	PRSK-W1	Circular, entire, raised, สีขาวขุ่น ผิวหน้า มันเยิ้ม	Gram positive	Short rod
	PRSK-W2	Circular, entire, convex สีขาวใส ผิวหน้า มันเยิ้ม	Gram positive	bacilli
น้ำบ่อที่ 2	PRSK-W3	Circular, entire, raised, สีขาวใส ผิวหน้า มันเยิ้ม	Gram positive	cocci
	PRSK-W4	Irregular, undulate, convex สีขาวใส ผิวหน้ามันเยิ้ม	Gram positive	bacilli
	PRSK-W5	Circular, entire, convex, สีขาวใส ผิวหน้ามันเยิ้ม	Gram negative	Short rod
ดินบ่อที่ 1	PRSK-S1	Irregular, undulate, convex สีขาวใส ผิวหน้ามันเยิ้ม	Gram positive	bacilli
	PRSK-S2	Circular, entire, raised, สีขาวใส ผิวหน้า มันเยิ้ม	Gram positive	bacilli
	PRSK-S3	Circular, entire, raised, สีขาวขุ่น ผิวหน้า มันเยิ้ม	Gram positive	Short rod
	PRSK-S4	Circular, entire, convex สีขาวขุ่น ผิวหน้ามันเยิ้ม	Gram positive	bacilli
ดินบ่อที่ 2	PRSK-S5	Circular, entire, convex, สีขาวขุ่น ผิวหน้ามันเยิ้ม	Gram positive	bacilli
	PRSK-S6	Irregular, undulate, convex สีขาวใส ผิวหน้ามันเยิ้ม	Gram negative	cocci
	PRSK-S7	Irregular, undulate, convex สีขาวใส ผิวหน้ามันเยิ้ม	Gram positive	bacilli
	PRSK-S8	Circular, entire, convex, สีเหลืองใส ผิวหน้ามันเยิ้ม	Gram negative	bacilli
	PRSK-S9	Circular, entire, convex, สีขาวใส ผิวหน้าแห้ง	Gram positive	cocci

ตารางที่ 2.14 ลักษณะสัณฐานวิทยาของแบคทีเรียที่แยกได้จากตัวอย่างน้ำ อำเภอลำทะเมนชัย จังหวัดบุรีรัมย์

ชนิดของตัวอย่าง	รหัสเชื้อ	ลักษณะโคโลนี	การติดสีแกรม	รูปร่างเซลล์
น้ำบ่อที่ 1	PRJK-W1	Circular, entire, raised, สีขาวขุ่น ผิวหน้ามันเยิ้ม	Gram negative	short rod
	PRJK-W2	Circular, entire, convex สีขาวขุ่น ผิวหน้ามันเยิ้ม	Gram positive	bacilli
	PRJK-W3	Circular, entire, raised, สีขาวขุ่น ผิวหน้ามันเยิ้ม	Gram positive	bacilli
	PRJK-W4	Circular, entire, raised, สีขาวขุ่น ผิวหน้ามันเยิ้ม	Gram negative	short rod
น้ำบ่อที่ 2	PRJK-W5	Circular, entire, convex, สีขาวขุ่น ผิวหน้ามันเยิ้ม	Gram positive	cocci
	PRJK-W6	Circular, undulate, convex, สีขาวใส ผิวหน้ามันเยิ้ม	Gram positive	bacilli
	PRJK-W7	Irregular, undulate, convex สีเหลืองขุ่น ผิวหน้ามันเยิ้ม	Gram positive	short rod
	PRJK-W8	Circular, entire, raised, สีขาวขุ่น ผิวหน้ามันเยิ้ม	Gram positive	cocci
	PRJK-W9	Circular, entire, convex สีขาวใส ผิวหน้ามันเยิ้ม	Gram positive	bacilli
น้ำบ่อที่ 3	PRJK-W10	Circular, entire, convex, สีขาวใส ผิวหน้ามันเยิ้ม	Gram positive	bacilli
	PRJK-W11	Irregular, undulate, convex สีขาวขุ่น ผิวหน้ามันเยิ้ม	Gram positive	bacilli
	PRJK-W12	Irregular, undulate, convex สีขาวใส ผิวหน้ามันเยิ้ม	Gram positive	bacilli
	PRJK-W13	Circular, entire, convex, สีเหลืองใส ผิวหน้ามันเยิ้ม	Gram positive	bacilli
	PRJK-W14	Circular, entire, convex, สีขาวใส ผิวหน้าแห้ง	Gram positive	cocci

ชนิดของ ตัวอย่าง	รหัสเชื้อ	ลักษณะโคโลนี	การติดสีแกรม	รูปร่าง เซลล์
น้ำป๋อที่ 4	PRJK-W15	Circular, entire, raised, สีขาวขุ่น ผิวหน้ามันเยิ้ม	Gram positive	cocci
	PRJK-W16	Circular, entire, convex สีขาวใส ผิวหน้ามันเยิ้ม	Gram positive	bacilli
	PRJK-W17	Circular, entire, raised, สีเหลืองใส ผิวหน้ามันเยิ้ม	Gram positive	bacilli
	PRJK-W18	Irregular, undulate, convex สีขาวขุ่น ผิวหน้ามันเยิ้ม	Gram positive	bacilli
	PRJK-W19	Circular, entire, raised, สีขาวขุ่น ผิวหน้ามันเยิ้ม	Gram positive	bacilli
	PRJK-W20	Irregular, undulate, raised, สีขาวใส ผิวหน้ามันเยิ้ม	Gram positive	cocci
	PRJK-W21	Irregular, undulate, convex, สีขาวขุ่น ผิวหน้ามันเยิ้ม	Gram negative	short rod
น้ำป๋อที่ 5	PRJK-W22	Circular, entire, raised, สีขาวขุ่น ผิวหน้ามันเยิ้ม	Gram positive	short rod
	PRJK-W23	Circular, entire, convex สีเหลืองใส ผิวหน้ามันเยิ้ม	Gram positive	bacilli
	PRJK-W24	Irregular, undulate, convex สีขาวขุ่น ผิวหน้ามันเยิ้ม	Gram positive	bacilli
	PRJK-W25	Circular, entire, convex, สีขาวขุ่น ผิวหน้ามันเยิ้ม	Gram negative	short rod
น้ำป๋อที่ 6	PRJK-W26	Circular, entire, raised, สีขาวขุ่น ผิวหน้ามันเยิ้ม	Gram positive	bacilli
	PRJK-W27	Circular, entire, convex สีเหลืองใส ผิวหน้ามันเยิ้ม	Gram positive	bacilli
	PRJK-W28	Irregular, undulate, convex สีขาวขุ่น ผิวหน้ามันเยิ้ม	Gram positive	bacilli
	PRJK-W29	Circular, entire, convex, สีขาวขุ่น ผิวหน้ามันเยิ้ม	Gram positive	bacilli

ชนิดของ ตัวอย่าง	รหัสเชื้อ	ลักษณะโคโลนี	การติดสีแกรม	รูปร่าง เซลล์
น้ำบ่อที่ 7	PRJK-W30	Irregular, undulate, convex, สีขาวขุ่น ผิวหน้ามันเยิ้ม	Gram positive	cocci
	PRJK-W31	Circular, undulate, convex, สีขาวใส ผิวหน้ามันเยิ้ม	Gram positive	bacilli
	PRJK-W32	Irregular, undulate, convex, สีขาวขุ่น ผิวหน้ามันเยิ้ม	Gram positive	cocci
น้ำบ่อที่ 8	PRJK-W33	Irregular, undulate, convex, สีขาวขุ่น ผิวหน้ามันเยิ้ม	Gram positive	cocci
	PRJK-W34	Circular, undulate, convex, สีขาวใส ผิวหน้ามันเยิ้ม	Gram positive	bacilli
	PRJK-W35	Irregular, undulate, convex สีขาวขุ่น ผิวหน้ามันเยิ้ม	Gram negative	bacilli
	PRJK-W36	Circular, undulate, convex, สีขาวใส ผิวหน้ามันเยิ้ม	Gram positive	bacilli
น้ำบ่อที่ 9	PRJK-W37	Circular, entire, raised, สีขาวขุ่น ผิวหน้า มันเยิ้ม	Gram positive	cocci
	PRJK-W38	Circular, entire, convex สีขาวขุ่น ผิวหน้ามันเยิ้ม	Gram negative	bacilli
	PRJK-W39	Irregular, undulate, convex สีขาวใส ผิวหน้ามันเยิ้ม	Gram positive	bacilli
	PRJK-W40	Circular, entire, convex สีขาวขุ่น ผิวหน้ามันเยิ้ม	Gram positive	bacilli
น้ำบ่อที่ 10	PRJK-W41	Circular, undulate, convex, สีขาวใส ผิวหน้ามันเยิ้ม	Gram positive	bacilli
	PRJK-W42	Irregular, undulate, convex สีขาวขุ่น ผิวหน้ามันเยิ้ม	Gram negative	bacilli
	PRJK-W43	Circular, undulate, convex, สีขาวใส ผิวหน้ามันเยิ้ม	Gram positive	bacilli
	PRJK-W44	Circular, undulate, convex, สีขาวใส ผิวหน้ามันเยิ้ม	Gram positive	bacilli

ตารางที่ 2.15 ลักษณะสัณฐานวิทยาของแบคทีเรียที่แยกได้จากตัวอย่างดินอำเภोजงเจียม จังหวัดอุบลราชธานี

ชนิดของตัวอย่าง	รหัสเชื้อ	ลักษณะโคโลนี	การติดสีแกรม	รูปร่างเซลล์
ดินบ่อที่ 1	PRJK-S1	Circular, entire, raised, สีขาวขุ่น ผิวหน้ามันเยิ้ม	Gram negative	short rod
	PRJK-S2	Circular, entire, convex สีขาวขุ่น ผิวหน้ามันเยิ้ม	Gram positive	bacilli
	PRJK-S3	Circular, entire, raised, สีขาวขุ่น ผิวหน้ามันเยิ้ม	Gram positive	bacilli
ดินบ่อที่ 2	PRJK-S4	Circular, entire, convex, สีขาวขุ่น ผิวหน้ามันเยิ้ม	Gram positive	cocci
	PRJK-S5	Circular, undulate, convex, สีขาวใส ผิวหน้ามันเยิ้ม	Gram positive	bacilli
	PRJK-S6	Irregular, undulate, convex สีเหลืองขุ่น ผิวหน้ามันเยิ้ม	Gram positive	short rod
	PRJK-S7	Irregular, undulate, convex สีเหลืองขุ่น ผิวหน้ามันเยิ้ม	Gram positive	bacilli
ดินบ่อที่ 3	PRJK-S8	Circular, entire, raised, สีขาวขุ่น ผิวหน้ามันเยิ้ม	Gram positive	cocci
	PRJK-S9	Circular, entire, convex สีขาวใส ผิวหน้ามันเยิ้ม	Gram positive	bacilli
	PRJK-S10	Circular, entire, raised, สีขาวขุ่น ผิวหน้ามันเยิ้ม	Gram positive	cocci
	PRJK-S11	Circular, entire, convex สีขาวใส ผิวหน้ามันเยิ้ม	Gram positive	bacilli
ดินบ่อที่ 4	PRJK-S12	Circular, entire, convex, สีขาวใส ผิวหน้ามันเยิ้ม	Gram positive	bacilli
	PRJK-S13	Irregular, undulate, convex สีขาวขุ่น ผิวหน้ามันเยิ้ม	Gram positive	bacilli
	PRJK-S14	Irregular, undulate, convex สีขาวใส ผิวหน้ามันเยิ้ม	Gram positive	bacilli

ชนิดของ ตัวอย่าง	รหัสเชื้อ	ลักษณะโคโลนี	การติดสีแกรม	รูปร่าง เซลล์
ดินบ่อที่ 5	PRJK-S15	Circular, entire, raised, สีขาวขุ่น ผิวหน้า มันเยิ้ม	Gram positive	cocci
	PRJK-S16	Circular, entire, convex สีขาวใส ผิวหน้ามันเยิ้ม	Gram positive	bacilli
	PRJK-S17	Circular, entire, raised, สีเหลืองใส ผิวหน้ามันเยิ้ม	Gram positive	bacilli
	PRJK-S18	Irregular, undulate, convex สีขาวขุ่น ผิวหน้ามันเยิ้ม	Gram positive	bacilli
	PRJK-S19	Circular, entire, raised, สีขาวขุ่น ผิวหน้า มันเยิ้ม	Gram positive	bacilli
	PRJK-S20	Circular, entire, raised, สีขาวขุ่น ผิวหน้า มันเยิ้ม	Gram positive	bacilli
	PRJK-S21	Circular, entire, raised, สีขาวขุ่น ผิวหน้า มันเยิ้ม	Gram positive	bacilli
ดินบ่อที่ 6	PRJK-S22	Irregular, undulate, raised, สีขาวใส ผิวหน้ามันเยิ้ม	Gram positive	cocci
	PRJK-S23	Irregular, undulate, convex, สีขาวขุ่น ผิวหน้ามันเยิ้ม	Gram negative	short rod
	PRJK-S24	Circular, entire, raised, สีขาวขุ่น ผิวหน้า มันเยิ้ม	Gram positive	bacilli
	PRJK-S25	Circular, entire, raised, สีขาวขุ่น ผิวหน้า มันเยิ้ม	Gram positive	bacilli
	PRJK-S26	Circular, entire, raised, สีขาวขุ่น ผิวหน้า มันเยิ้ม	Gram positive	bacilli
ดินบ่อที่ 7	PRJK-S27	Circular, entire, raised, สีขาวขุ่น ผิวหน้า มันเยิ้ม	Gram positive	short rod
	PRJK-S28	Circular, entire, convex สีเหลืองใส ผิวหน้ามันเยิ้ม	Gram positive	bacilli
	PRJK-S29	Irregular, undulate, convex สีขาวขุ่น ผิวหน้ามันเยิ้ม	Gram positive	bacilli
	PRJK-S30	Circular, entire, convex, สีขาวขุ่น เยิ้ม	Gram negative	short rod

ชนิดของตัวอย่าง	รหัสเชื้อ	ลักษณะโคโลนี	การติดสีแกรม	รูปร่างเซลล์
ดินบ่อที่ 8	PRJK-S31	Circular, entire, raised, สีขาวขุ่น ผิวหน้ามันเยิ้ม	Gram positive	bacilli
	PRJK-S32	Circular, entire, convex สีเหลืองใส ผิวหน้ามันเยิ้ม	Gram positive	bacilli
	PRJK-S33	Irregular, undulate, convex สีขาวขุ่น ผิวหน้ามันเยิ้ม	Gram positive	bacilli
	PRJK-S34	Irregular, undulate, convex, สีขาวขุ่น ผิวหน้ามันเยิ้ม	Gram positive	cocci
ดินบ่อที่ 9	PRJK-S35	Irregular, undulate, convex, สีขาวขุ่น ผิวหน้ามันเยิ้ม	Gram positive	cocci
	PRJK-S36	Circular, undulate, convex, สีขาวใส ผิวหน้ามันเยิ้ม	Gram positive	bacilli
	PRJK-S37	Irregular, undulate, convex สีขาวขุ่น ผิวหน้ามันเยิ้ม	Gram negative	bacilli
	PRJK-S38	Circular, undulate, convex, สีขาวใส ผิวหน้ามันเยิ้ม	Gram positive	bacilli
	PRJK-S39	Circular, undulate, convex, สีขาวใส ผิวหน้ามันเยิ้ม	Gram positive	bacilli
ดินบ่อที่ 10	PRJK-S40	Circular, entire, raised, สีขาวขุ่น ผิวหน้ามันเยิ้ม	Gram positive	cocci
	PRJK-S41	Circular, entire, convex สีขาวขุ่น ผิวหน้ามันเยิ้ม	Gram negative	bacilli
	PRJK-S42	Irregular, undulate, convex สีขาวใส ผิวหน้ามันเยิ้ม	Gram positive	bacilli
	PRJK-S43	Circular, entire, convex สีขาวขุ่น ผิวหน้ามันเยิ้ม	Gram positive	bacilli
	PRJK-S44	Circular, entire, convex สีขาวขุ่น ผิวหน้ามันเยิ้ม	Gram positive	bacilli
	PRJK-S45	Circular, entire, convex สีขาวขุ่น ผิวหน้ามันเยิ้ม	Gram positive	bacilli



ภาพที่ 2.3 ลักษณะสัณฐานวิทยาของแบคทีเรียไอโซเลต PRJK-W19



ภาพที่ 2.4 ลักษณะรูปร่าง การจัดเรียงตัว ภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 1000 เท่า

3. การคัดเลือกแบคทีเรียที่มีประสิทธิภาพในการต้านทานต่อความเป็นพิษของอาร์ซีนิก

1). การคัดเลือกแบคทีเรียที่ต้านทานต่อความเป็นพิษของอาร์ซีนิกจากตัวอย่างในเขตอำเภวาริน ชำราบและอำเภอเขมราฐ จังหวัดอุบลราชธานี

นำแบคทีเรียที่คัดแยกได้เพาะเลี้ยงโดยการจุด (spot culture) บนอาหารเลี้ยงเชื้อ EG medium agar plate ที่มีความเข้มข้นของโพแทสเซียมอาร์ซีนีท์ (potassium arsenite) ระดับต่างๆ ตั้งแต่ 1-10 mM นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48-72 ชั่วโมง ผลการทดลองพบว่าแบคทีเรียสามารถเจริญได้เนื่องจากมีความสามารถในการต้านทานต่อความเป็นพิษของโพแทสเซียมอาร์ซีนีท์แตกต่างกัน ดังแสดงในตารางที่ 3.1 และตารางที่ 3.2 แบคทีเรียที่คัดแยกได้จากตัวอย่าง (น้ำและดิน) อำเภวารินชำราบ จังหวัดอุบลราชธานี มีประสิทธิภาพในการต้านทานต่อความเป็นพิษของโพแทสเซียมอาร์ซีนีท์ที่ระดับความเข้มข้นเท่ากับ 2, 3, 5, 6, และ 10 mM มีจำนวนเท่ากับ 2, 1, 2, 3, และ 7 ไอโซเลท ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 3.3 แบคทีเรียที่คัดแยกได้จากตัวอย่าง (น้ำและดิน) อำเภอเขมราฐ จังหวัดอุบลราชธานี มีประสิทธิภาพในการต้านทานต่อความเป็นพิษของโพแทสเซียมอาร์ซีนีท์ที่ระดับความเข้มข้นเท่ากับ 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 และ 10 mM มีจำนวนเท่ากับ 3, 3, 5, 3, 5, 3, 2, 3, 5 และ 36 ไอโซเลท ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 3.4

ตารางที่ 3.1 ความต้านทานต่ออาร์ซีนีท์ของแบคทีเรียที่คัดแยกได้จากตัวอย่างอำเภวารินชำราบ จังหวัดอุบลราชธานี เมื่อเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ EG medium agar plate ที่มีความเข้มข้นของโพแทสเซียมอาร์ซีนีท์ในระดับต่างๆ บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง

ชนิดของตัวอย่าง	รหัสเชื้อ	ความเข้มข้นของโพแทสเซียมอาร์ซีนีท์ (potassium arsenite) (mM)									
		1.0	2.0	3.0	4.0	5.0	6.0	7.0	8.0	9.0	10.0
น้ำป๋อที่ 1	PNKP-W1	+++	+++	+++	++	++	++	---	---	---	--
	PNKP-W2	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	---	+++
	PNKP-W3	--	++	++	---	---	++	---	---	---	---
น้ำป๋อที่ 2	PNKP-W7	+++	+++	---	---	---	---	---	---	---	++
	PNKP-W8	+++	++	++	+++	+++	---	---	++	---	---
	PNKP-W9	+++	+++	+++	+++	++	---	+-	++	---	+-
ดินป๋อที่ 1	PNKP-S1	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	---	---	---
	PNKP-S2	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	PNKP-S3	+++	+++	+++	+++	+++	+-	+++	++	++	+++
	PNKP-S4	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	PNKP-S5	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	PNKP-S6	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
ดินป๋อที่ 2	PNKP-S7	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	PNKP-S8	- + -	++	++	--	++	+-	---	++	---	---
	PNKP-S9	+++	+++	+++	+++	+++	++	---	--	--	---

หมายเหตุ: +++ หมายถึง แบคทีเรียเจริญได้ทั้งสามซ้ำการทดลอง

++ หมายถึง แบคทีเรียเจริญได้ทั้งสองซ้ำการทดลอง

+- หมายถึง แบคทีเรียเจริญได้หนึ่งซ้ำการทดลอง

--- หมายถึง เชื้อไม่เจริญทั้งสามซ้ำการทดลอง

ตารางที่ 3.2 ความต้านทานต่ออาร์ซีนีท์ของแบคทีเรียที่คัดแยกได้จากตัวอย่างอำเภอยะหมะราฐ จังหวัดอุบลราชธานี เมื่อเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ EG medium agar plate ที่มีความเข้มข้นของโพแทสเซียมอาร์ซีนีท์ระดับต่างๆ บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง

ชนิดของตัวอย่าง	รหัสเชื้อ	ความเข้มข้นของโพแทสเซียมอาร์ซีนีท์ (potassium arsenite) (mM)									
		1.0	2.0	3.0	4.0	5.0	6.0	7.0	8.0	9.0	10.0
น้ำบ่อที่ 1	PNKR-W13	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	---	---
	PNKR-W14	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	---	---
น้ำบ่อที่ 2	PNKR-W8	+++	+++	---	---	---	---	---	---	---	---
	PNKR-W9	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	---	---
	PNKR-W10	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	---	---
น้ำบ่อที่ 3	PNKR-W11	+++	---	---	---	---	---	---	---	---	---
	PNKR-W12	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
น้ำบ่อที่ 4	PNKP-W15	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	---	---
น้ำบ่อที่ 5	PNKR-W1	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	PNKR-W2	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	PNKR-W3	+++	+++	+++	+++	---	---	---	---	---	---
	PNKR-W4	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	PNKR-W5	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	PNKR-W6	+++	+++	+++	+++	---	---	---	---	---	---
	PNKR-W7	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
น้ำบ่อที่ 6	PNKR-W15a	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
	PNKR-W16	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++

ชนิดของตัวอย่าง	รหัสเชื้อ	ความเข้มข้นของโพแทสเซียมอาร์ซีไนท์ (potassium arsenite) (mM)									
		1.0	2.0	3.0	4.0	5.0	6.0	7.0	8.0	9.0	10.0
น้ำบ่อที่ 6	PNKR-W17	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++-	+++	++-
	PNKR-W18	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	-++	++-
	PNKR-W19	--+	---	---	---	+--	---	---	---	---	---
น้ำบ่อที่ 7	PNKR-W20	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	PNKR-W21	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	PNKR-W22	+++	-++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	PNKR-W23	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++-
น้ำบ่อที่ 8	PNKR-W24	+++	-++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	PNKR-W25	--+	---	---	---	---	---	---	---	---	---
	PNKR-W26	++-	++-	+++	-++	+--	---	---	---	---	---
	PNKR-W27	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
น้ำบ่อที่ 9	PNKR-W28	++-	+++	+++	-++	+--	---	+--	++-	---	---
	PNKR-W29	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	PNKR-W30	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	PNKR-W31	+++	--+	---	-+-	++-	-++	-+-	---	-+-	---
	PNKR-W32	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++-
น้ำบ่อที่ 10	PNKR-W33	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	PNKR-W34	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	PNKR-W35	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++

ชนิดของตัวอย่าง	รหัสเชื้อ	ความเข้มข้นของโพแทสเซียมอาร์ซีไนท์ (potassium arsenite) (mM)									
		1.0	2.0	3.0	4.0	5.0	6.0	7.0	8.0	9.0	10.0
	PNKR-W36	+-	---	---	+-	--+	---	---	---	---	---
	PNKR-W37	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
ดินบ่อที่ 1	PNKR-S2	+++	+-	++	+-	---	---	+-	+-	---	---
	PNKR-S3	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+++	---	--+
	PNKR-S4	+++	+++	+++	+++	+++	--+	+-	--+	---	+-
	PNKR-S5	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+++
	PNKR-S7	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
ดินบ่อที่ 2	PNKR-S9	+++	+++	+++	+++	++	+++	++	---	---	+-
	PNKR-S10	+++	+++	+++	--+	+-	---	+-	+-	---	---
	PNKR-S11	+++	+++	++	--+	---	+-	---	---	---	---
	PNKR-S13	+++	+++	+++	+++	+++	---	---	+-	---	---
ดินบ่อที่ 3	PNKR-S14	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+++
	PNKR-S15	+++	+++	++	---	---	---	---	---	---	---
	PNKR-S16	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+++
	PNKR-S17	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+++
ดินบ่อที่ 4	PNKR-S18	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+-	---	---
	PNKR-S19	+++	++	---	---	---	---	---	---	---	---
	PNKR-S20	++	--+	---	---	---	---	---	---	---	---
	PNKR-S21	+++	+++	+++	---	---	---	---	---	---	---

ชนิดของตัวอย่าง	รหัสเชื้อ	ความเข้มข้นของโพแทสเซียมอาร์ซีไนท์ (potassium arsenite) (mM)									
		1.0	2.0	3.0	4.0	5.0	6.0	7.0	8.0	9.0	10.0
	PNKR-S22	+++	+++	---	---	---	---	---	---	---	---
ดินบ่อที่ 5	PNKR-S23	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+--
	PNKR-S25	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++-	+--
	PNKR-S26	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	---
	PNKR-S27	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	---
	PNKR-S28	+++	+++	+++	+++	++-	---	---	---	---	---
ดินริมโขงที่ 6	PNKR-S30	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	PNKR-S31	+++	+++	+++	+++	+--	---	---	---	---	---
ดินบ่อที่ 7	PNKP-S32	+++	+++	-++	---	-+-	---	---	---	--+	---
	PNKP-S33	+++	++-	+++	++-	++-	--+	+-	---	-+-	--+
	PNKP-S34	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
ดินบ่อที่ 8	PNKP-S37	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++-
	PNKP-S38	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
ดินบ่อที่ 9	PNKR-S39	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
	PNKR-S40	--+	+--	-+-	---	---	---	---	---	---	---
	PNKR-S41	+--	--+	+--	---	---	+--	-+-	---	---	---
	PNKR-S42	---	--+	--+	-+-	+--	---	---	---	---	---
	PNKR-S43	---	---	-+-	---	---	-+-	---	---	---	---
ดินบ่อที่ 10	PNKR-S44	+++	+++	+++	+++	-++	-++	+++	+++	++-	+++

ชนิดของตัวอย่าง	รหัสเชื้อ	ความเข้มข้นของโพแทสเซียมอาร์ซีไนท์ (potassium arsenite) (mM)									
		1.0	2.0	3.0	4.0	5.0	6.0	7.0	8.0	9.0	10.0
	PNKR-S45	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
	PNKR-S46	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	PNKR-S48	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
ดินบ่อที่ 11	PNKR-S49	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	PNKR-S50	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++-	+-	+++	+++
	PNKR-S51	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	PNKR-S52	---	---	---	---	+-	---	---	---	---	---
	PNKR-S53	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	PNKR-S54	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
	PNKR-S55	---	---	+-	++	---	---	---	---	---	---

ตารางที่ 3.3 สรุประดับความต้านทานต่ออาร์ซีไนท์ของแบคทีเรียที่คัดแยกได้จากตัวอย่างอำเภวารินชำราบ จังหวัดอุบลราชธานี

รหัสเชื้อ	ความเข้มข้นของโพแทสเซียม อาร์ซีไนท์ (mM)	รหัสเชื้อ	ความเข้มข้นของโพแทสเซียม อาร์ซีไนท์ (mM)
ตัวอย่างน้ำ		ตัวอย่างดิน	
PNKP-W1	6.0	PNKP-S1	6.0
PNKP-W2	10.0	PNKP-S2	10.0
PNKP-W3	2.0	PNKP-S3	10.0
PNKP-W7	2.0	PNKP-S4	10.0
PNKP-W8	5.0	PNKP-S5	10.0
PNKP-W9	5.0	PNKP-S6	10.0
		PNKP-S7	10.0
		PNKP-S8	3.0
		PNKP-S9	6.0

ตารางที่ 3.4 สรุประดับความต้านทานต่ออาร์ซีไนท์ของแบคทีเรียที่คัดแยกได้จากตัวอย่างอำเภอมะนัง จังหวัด
อุบลราชธานี

รหัสเชื้อ	ความเข้มข้นของโพแทสเซียม อาร์ซีไนท์ (mM)	รหัสเชื้อ	ความเข้มข้นของโพแทสเซียม อาร์ซีไนท์ (mM)
ตัวอย่างน้ำ		ตัวอย่างดิน	
PNKR-W1	10.0	PNKR-S2	1.0
PNKR-W2	10.0	PNKR-S3	8.0
PNKR-W3	10.0	PNKR-S4	5.0
PNKR-W4	10.0	PNKR-S5	10.0
PNKR-W5	10.0	PNKR-S7	10.0
PNKR-W6	6.0	PNKR-S9	7.0
PNKR-W7	10.0	PNKR-S10	3.0
PNKR-W8	2.0	PNKR-S11	3.0
PNKR-W9	6.0	PNKR-S13	5.0
PNKR-W10	5.0	PNKR-S14	10.0
PNKR-W11	<1.0	PNKR-S15	3.0
PNKR-W12	<1.0	PNKR-S16	10.0
PNKR-W13	8.0	PNKR-S17	10.0
PNKR-W14	6.0	PNKR-S18	7.0
PNKR-W15	8.0	PNKR-S19	2.0
PNKR-W15a	<1.0	PNKR-S20	1.0
PNKR-W16	10.0	PNKR-S21	3.0
PNKR-W17	10.0	PNKR-S22	2.0
PNKR-W18	9.0	PNKR-S23	9.0
PNKR-W19	<1.0	PNKR-S25	10.0
PNKR-W20	10.0	PNKR-S26	9.0
PNKR-W21	10.0	PNKR-S27	9.0
PNKR-W22	10.0	PNKR-S28	5.0
PNKR-W23	9.0	PNKR-S30	10.0
PNKR-W24	10.0	PNKR-S31	4.0
PNKR-W25	<1.0	PNKR-S32	3.0
PNKR-W26	4.0	PNKR-S33	5.0
PNKR-W27	10.0	PNKR-S34	<1.0

รหัสเชื้อ	ความเข้มข้นของโพแทสเซียม อาร์ซีไนท์ (mM)	รหัสเชื้อ	ความเข้มข้นของโพแทสเซียม อาร์ซีไนท์ (mM)
PNKR-W28	4.0	PNKP-S37	10.0
PNKR-W29	10.0	PNKP-S38	10.0
PNKR-W30	10.0	PNKR-S39	<1.0
PNKR-W31	1.0	PNKR-S40	<1.0
PNKR-W32	10.0	PNKR-S41	<1.0
PNKR-W33	10.0	PNKR-S42	<1.0
PNKR-W34	10.0	PNKR-S43	<1.0
PNKR-W35	10.0	PNKR-S44	10.0
PNKR-W36	<1.0	PNKR-S45	<1.0
PNKR-W37	10.0	PNKR-S46	10.0
		PNKR-S48	10.0
		PNKR-S49	10.0
		PNKR-S50	10.0
		PNKR-S51	10.0
		PNKR-S52	<1.0
		PNKR-S53	10.0
		PNKR-S54	<1.0
		PNKR-S55	<1.0

2). การคัดเลือกแบคทีเรียที่ต้านทานต่อความเป็นพิษของอาร์ซีนิกจากตัวอย่างในเขตตำบลเมืองศรีไคลอำเภวารินชำราบและอำเภอโขงเจียม จังหวัดอุบลราชธานี

นำแบคทีเรียที่คัดแยกได้ มาเพาะเลี้ยงโดยการจุด (spot culture) บนอาหารเลี้ยงเชื้อ EG medium agar plate ที่มีความเข้มข้นของโพแทสเซียมอาร์ซีนีท์ (potassium arsenite) ระดับต่างๆ ตั้งแต่ 1-10 mM นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48-72 ชั่วโมง ผลการทดลองพบว่าแบคทีเรียสามารถเจริญได้เนื่องจากมีความสามารถในการต้านทานต่อความเป็นพิษของโพแทสเซียมอาร์ซีนีท์แตกต่างกัน ดังแสดงในตารางที่ 3.5 และตารางที่ 3.6 แบคทีเรียที่คัดแยกได้จากตัวอย่าง (น้ำและดิน) ตำบลเมืองศรีไคล อำเภวารินชำราบ จังหวัดอุบลราชธานี มีประสิทธิภาพในการต้านทานต่อความเป็นพิษของโพแทสเซียมอาร์ซีนีท์ที่ระดับความเข้มข้นเท่ากับ 1, 2, 5, 8, 9, และ 10 mM มีจำนวนเท่ากับ 4, 2, 1, 3, 2, และ 2 ไอโซเลท ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 3.7 แบคทีเรียที่คัดแยกได้จากตัวอย่าง (น้ำและดิน) อำเภอโขงเจียม จังหวัดอุบลราชธานี มีประสิทธิภาพในการต้านทานต่อความเป็นพิษของโพแทสเซียมอาร์ซีนีท์ที่ระดับความเข้มข้นเท่ากับ 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 และ 10 mM มีจำนวนเท่ากับ 11, 7, 10, 8, 10, 10, 7, 6, 9 และ 11 ไอโซเลท ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 3.8

ตารางที่ 3.5 ความต้านทานต่ออาร์ซีนีของแบคทีเรียที่คัดแยกได้จากตัวอย่างตำบลเมืองศรีโคล อำเภวารินชำราบ จังหวัดอุบลราชธานี เมื่อเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ EG medium agar plate ที่มีความเข้มข้นของโพแทสเซียมอาร์ซีนีในระดับต่างๆ บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง

ชนิดของตัวอย่าง	รหัสเชื้อ	ความเข้มข้นของโพแทสเซียมอาร์ซีนี (potassium arsenite) (mM)									
		1.0	2.0	3.0	4.0	5.0	6.0	7.0	8.0	9.0	10.0
น้ำบ่อที่ 1	PRSK-W1	+++	+++	++-	++-	+++	+++	++-	+++	+++	++-
	PRSK-W2	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++-	---
น้ำบ่อที่ 2	PRSK-W3	++-	---	---	---	---	---	---	---	---	---
	PRSK-W4	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++-	-++	-+-	---
	PRSK-W5	+++	+++	++-	++-	++-	-+-	---	-+-	---	---
ดินบ่อที่ 1	PRSK-S1	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	PRSK-S2	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++-	-++	-+-	---
	PRSK-S3	-++	---	---	---	---	---	---	---	---	---
	PRSK-S4	+++	---	---	---	---	---	---	---	---	---
ดินบ่อที่ 2	PRSK-S5	++-	++-	+-	---	---	---	---	---	---	---
	PRSK-S6	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	---	---
	PRSK-S7	+++	+++	+++	++-	+++	+++	+++	+++	+++	+-
	PRSK-S8	+++	+++	---	---	---	---	---	---	---	---
	PRSK-S9	+++	+-	-+-	---	---	---	---	---	---	---

ตารางที่ 3.6 ความต้านทานต่ออาร์ซีนีของแบคทีเรียที่คัดแยกได้จากตัวอย่างอำเภอลำปาง จังหวัดอุบลราชธานี เมื่อเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ EG medium agar plate ที่มีความเข้มข้นของโพแทสเซียมอาร์ซีนีในระดับต่างๆ บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง

ชนิดของตัวอย่าง	รหัสเชื้อ	ความเข้มข้นของโพแทสเซียมอาร์ซีนี (potassium arsenite) (mM)									
		1.0	2.0	3.0	4.0	5.0	6.0	7.0	8.0	9.0	10.0
น้ำบ่อที่ 1	PRJK-W1	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	PRJK-W2	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++-	---
	PRJK-W 3	+++	---	---	---	---	---	---	---	---	---
	PRJK-W4	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	-++	-+-
น้ำบ่อที่ 2	PRJK-W5	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+-	---	---	---
	PRJK-W6	+++	---	---	---	---	---	---	---	---	---
	PRJK-W7	+++	-++	+++	+++	+++	+++	+++	---	---	---
	PRJK-W8	+++	+++	+-	+++	---	---	---	---	---	---
	PRJK-W9	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+-+	+-	---	+-
น้ำบ่อที่ 3	PRJK-W10	+++	+-	+-	---	---	---	---	---	---	---
	PRJK-W11	+++	+++	+++	+++	+-	+++	+-	+++	+-+	+-
	PRJK-W12	+++	+-	+++	---	---	---	---	---	---	---
	PRJK-W13	+++	+++	+++	+-	---	---	---	---	---	---
	PRJK-W14	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+-+	---
น้ำบ่อที่ 4	PRJK-W15	+-	+++	+++	-++	+++	+++	-+-	---	---	---
	PRJK-W16	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+-+	+++	---	---
	PRJK-W17	+++	+-	---	---	---	---	---	---	---	---

ชนิดของตัวอย่าง	รหัสเชื้อ	ความเข้มข้นของโพแทสเซียมอาร์ซีไนท์ (potassium arsenite) (mM)									
		1.0	2.0	3.0	4.0	5.0	6.0	7.0	8.0	9.0	10.0
	PRJK-W18	+++	+++	+++	---	---	---	---	---	---	---
น้ำบ่อที่ 5	PRJK-W19	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	PRJK-W20	+++	+++	+++	---	+-	---	---	---	---	---
	PRJK-W21	+++	+++	+++	+++	+++	+++	---	---	---	---
	PRJK-W22	+++	+++	+++	+++	---	---	---	---	---	---
	PRJK-W23	+++	+++	+++	+++	+++	+++	---	---	---	---
	PRJK-W24	+++	---	---	---	---	---	---	---	---	---
	PRJK-W25	+++	++-	+++	---	---	---	---	---	---	---
น้ำบ่อที่ 6	PRJK-W26	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++-	+++
	PRJK-W27	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++-	---
	PRJK-W28	+++	++-	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++-
	PRJK-W29	+++	++-	---	---	---	---	---	---	---	---
น้ำบ่อที่ 7	PRJK-W30	+++	++-	---	---	---	---	---	---	---	---
	PRJK-W31	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	PRJK-W32	++-	+++	+++	+++	++-	---	---	---	---	---
น้ำบ่อที่ 8	PRJK-W33	++-	+++	---	---	++-	---	---	---	---	---
	PRJK-W34	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++-	++-
	PRJK-W35	+++	+++	+++	+++	---	++-	---	---	---	---
	PRJK-W36	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++-	---

ชนิดของตัวอย่าง	รหัสเชื้อ	ความเข้มข้นของโพแทสเซียมอาร์ซีไนท์ (potassium arsenite) (mM)									
		1.0	2.0	3.0	4.0	5.0	6.0	7.0	8.0	9.0	10.0
น้ำบ่อที่ 9	PRJK-W37	+++	-++	+++	---	---	---	---	---	---	---
	PRJK-W38	+++	+++	+++	+++	+++	---	---	--+	---	---
	PRJK-W39	+++	---	---	--+	---	---	---	---	---	---
	PRJK-W40	+++	+++	+++	++-	---	---	---	---	---	---
น้ำบ่อที่ 10	PRJK-W41	+++	+++	+++	+++	+++	+++	---	--+	---	---
	PRJK-W42	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	---
	PRJK-W43	+++	-++	+++	++-	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	PRJK-W44	+++	+++	+++	+++	+++	+++	---	---	---	+--
ดินบ่อที่ 1	PRJK-S1	+++	++-	++-	+-	++-	+-	---	---	---	---
	PRJK-S2	+++	+++	+++	+-	+-	---	---	---	---	---
	PRJK-S3	+++	+++	+++	++-	+-	---	---	---	---	---
ดินบ่อที่ 2	PRJK-S4	+++	+++	+++	+++	++-	+++	---	---	---	---
	PRJK-S5	+++	+++	+++	+++	---	---	---	---	---	---
	PRJK-S6	+++	+++	+++	+++	+++	++-	---	---	-+-	---
	PRJK-S7	+++	+++	+++	+++	+++	+-	---	---	---	---
ดินบ่อที่ 3	PRJK-S8	++	---	---	---	---	---	---	---	---	---
	PRJK-S9	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	-++	+++	---
	PRJK-S10	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+-	---
	PRJK-S11	+++	+++	++-	+++	+++	++-	+++	+++	++-	---

ชนิดของตัวอย่าง	รหัสเชื้อ	ความเข้มข้นของโพแทสเซียมอาร์ซีไนท์ (potassium arsenite) (mM)									
		1.0	2.0	3.0	4.0	5.0	6.0	7.0	8.0	9.0	10.0
ดินบ่อที่ 4	PRJK-S12	+++	+++	+-	---	---	---	---	---	---	---
	PRJK-S13	+++	+++	---	---	---	---	---	---	---	---
	PRJK-S14	+++	+++	+++	+++	+++	---	---	---	---	---
ดินบ่อที่ 5	PRJK-S15	+++	+++	+++	+++	+++	---	-+-	--+	---	---
	PRJK-S16	+++	+++	+++	+++	+++	--+	---	---	---	---
	PRJK-S17	+++	+++	+++	+++	---	---	---	---	---	---
	PRJK-S18	+++	+++	+++	+++	-++	+-	---	---	---	---
	PRJK-S19	+++	+++	-+-	---	---	---	---	---	---	---
	PRJK-S20	+++	+++	++-	---	---	---	---	---	---	---
	PRJK-S21	++-	---	---	---	---	---	---	---	---	---
ดินบ่อที่ 6	PRJK-S22	+++	+++	+++	+++	++-	+++	+-+	+++	+-	---
	PRJK-S23	+++	+++	+++	--+	---	---	---	---	---	---
	PRJK-S24	+++	-++	+++	---	---	---	---	---	---	---
	PRJK-S25	+++	-++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	PRJK-S26	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
ดินบ่อที่ 7	PRJK-S27	+++	-++	+++	+++	+++	+++	+++	+-	---	---
	PRJK-S28	+++	+++	---	---	--+	---	---	---	---	---
	PRJK-S29	+++	-++	+++	+++	+++	++-	+++	+++	---	--+
	PRJK-S30	++-	+-	+++	-++	+-	---	---	---	---	---

ชนิดของตัวอย่าง	รหัสเชื้อ	ความเข้มข้นของโพแทสเซียมอาร์ซีไนท์ (potassium arsenite) (mM)									
		1.0	2.0	3.0	4.0	5.0	6.0	7.0	8.0	9.0	10.0
ดินบ่อที่ 8	PRJK-S31	+++	-++	+++	+++	+++	+++	+++	---	---	---
	PRJK-S32	+++	+++	+++	+++	+++	+++	-++	+++	+++	+--
	PRJK-S33	+++	+++	+++	+++	+++	---	---	+--	---	---
	PRJK-S34	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	-++	+--
ดินบ่อที่ 9	PRJK-S35	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	---	---	---
	PRJK-S36	+++	+++	+++	+++	---	---	+--	---	---	---
	PRJK-S37	+++	---	---	---	---	---	---	---	---	---
	PRJK-S38	+++	---	---	---	-++	---	---	---	---	---
	PRJK-S39	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+--	---	+--
ดินบ่อที่ 10	PRJK-S40	+++	-++	+++	+++	+++	+++	---	---	---	---
	PRJK-S41	+++	+++	+++	+++	+--	+++	---	---	---	---
	PRJK-S42	+++	-++	+++	+++	+++	+++	+++	---	-+-	---
	PRJK-S43	+++	+++	+++	+--	+++	+++	+++	+++	+++	---
	PRJK-S44	++-	+++	++-	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+--
	PRJK-S45	++-	+++	+++	+--	+++	---	---	---	---	---

ตารางที่ 3.7 สรุประดับความต้านทานต่ออาร์ซีไนท์ของแบคทีเรียที่คัดแยกได้จากตัวอย่างตำบลเมืองศรีไคล อำเภวารินชำราบ จังหวัดอุบลราชธานี

รหัสเชื้อ	ความเข้มข้นของโพแทสเซียม อาร์ซีไนท์ (mM)	รหัสเชื้อ	ความเข้มข้นของโพแทสเซียม อาร์ซีไนท์ (mM)
ตัวอย่างน้ำ		ตัวอย่างดิน	
PRSK-W1	10.0	PRSK-S1	10.0
PRSK-W2	9.0	PRSK-S2	8.0
PRSK-W3	1.0	PRSK-S3	1.0
PRSK-W4	8.0	PRSK-S4	1.0
PRSK-W5	5.0	PRSK-S5	2.0
		PRSK-S6	8.0
		PRSK-S7	9.0
		PRSK-S8	2.0
		PRSK-S9	1.0

ตารางที่ 3.8 สรุประดับความต้านทานต่ออาร์ซีไนท์ของแบคทีเรียที่คัดแยกได้จากตัวอย่างอำเภोजงเจียม จังหวัดอุบลราชธานี

รหัสเชื้อ	ความเข้มข้นของโพแทสเซียม อาร์ซีไนท์ (mM)	รหัสเชื้อ	ความเข้มข้นของโพแทสเซียม อาร์ซีไนท์ (mM)
ตัวอย่างน้ำ		ตัวอย่างดิน	
PRJK-W1	10.0	PRJK-S1	5.0
PRJK-W2	9.0	PRJK-S2	3.0
PRJK-W 3	1.0	PRJK-S3	4.0
PRJK-W4	9.0	PRJK-S4	6.0
PRJK-W5	6.0	PRJK-S5	4.0
PRJK-W6	1.0	PRJK-S6	6.0
PRJK-W7	7.0	PRJK-S7	5.0
PRJK-W8	4.0	PRJK-S8	1.0
PRJK-W9	7.0	PRJK-S9	9.0
PRJK-W10	2.0	PRJK-S10	8.0
PRJK-W11	10.0	PRJK-S11	9.0
PRJK-W12	3.0	PRJK-S12	2.0
PRJK-W13	3.0	PRJK-S13	2.0
PRJK-W14	9.0	PRJK-S14	5.0
PRJK-W15	6.0	PRJK-S15	5.0
PRJK-W16	8.0	PRJK-S16	5.0
PRJK-W17	1.0	PRJK-S17	4.0
PRJK-W18	3.0	PRJK-S18	5.0
PRJK-W19	10.0	PRJK-S19	2.0
PRJK-W20	3.0	PRJK-S20	3.0
PRJK-W21	6.0	PRJK-S21	1.0
PRJK-W22	1.0	PRJK-S22	8.0
PRJK-W23	6.0	PRJK-S23	3.0
PRJK-W24	1.0	PRJK-S24	3.0
PRJK-W25	3.0	PRJK-S25	10.0
PRJK-W26	10.0	PRJK-S26	10.0
PRJK-W27	9.0	PRJK-S27	7.0

รหัสเชื้อ	ความเข้มข้นของโพแทสเซียม อาร์ซีไนท์ (mM)	รหัสเชื้อ	ความเข้มข้นของโพแทสเซียม อาร์ซีไนท์ (mM)
PRJK-W28	10.0	PRJK-S28	2.0
PRJK-W29	1.0	PRJK-S29	8.0
PRJK-W30	2.0	PRJK-S30	5.0
PRJK-W31	10.0	PRJK-S31	7.0
PRJK-W32	4.0	PRJK-S32	9.0
PRJK-W33	2.0	PRJK-S33	5.0
PRJK-W34	8.0	PRJK-S34	10.0
PRJK-W35	4.0	PRJK-S35	7.0
PRJK-W36	8.0	PRJK-S36	4.0
PRJK-W37	3.0	PRJK-S37	1.0
PRJK-W38	5.0	PRJK-S38	1.0
PRJK-W39	1.0	PRJK-S39	7.0
PRJK-W40	4.0	PRJK-S40	6.0
PRJK-W41	6.0	PRJK-S41	6.0
PRJK-W42	9.0	PRJK-S42	7.0
PRJK-W43	10.0	PRJK-S43	9.0
PRJK-W44	6.0	PRJK-S44	10.0
		PRJK-S45	5.0

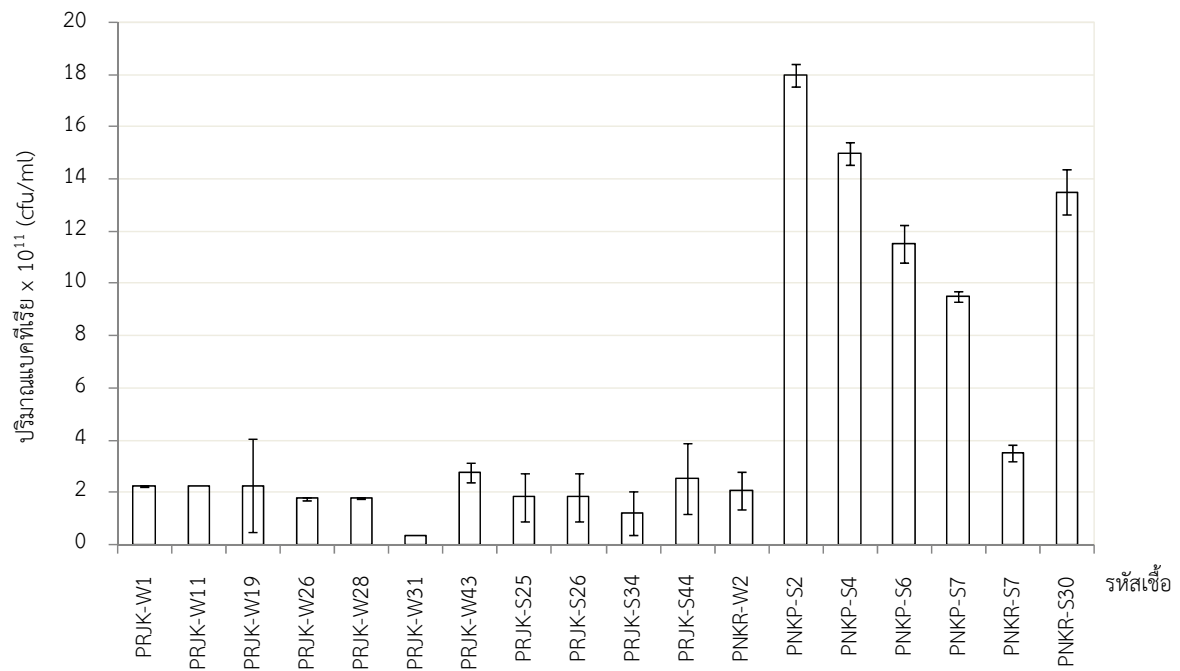
4. การคัดเลือกแบคทีเรียที่มีประสิทธิภาพในการลดความเป็นพิษของอาร์ชินิค

แบคทีเรียที่ใช้ในการวิจัยเป็นแบคทีเรียที่มีประสิทธิภาพในการต้านทานต่อโพแทสเซียมอาร์ชินิที่ได้ดีที่สุดที่ระดับความเข้มข้นเท่ากับ 10 mM จำนวน 18 ไอโซเลท โดยแบ่งเป็นแบคทีเรียที่คัดแยกจากตัวอย่างอำเภอโขงเจียม จังหวัดอุบลราชธานี จำนวน 11 ไอโซเลท ดังนี้คือ PRJK-W1, PRJK-W11, PRJK-W19, PRJK-W26, PRJK-W28, PRJK-W31, PRJK-W43, PRJK-S25, PRJK-S26, PRJK-S34 และ PRJK-S44 แบคทีเรียที่คัดแยกจากตัวอย่างอำเภอเขมราฐ จังหวัดอุบลราชธานี จำนวน 7 ไอโซเลท ดังนี้คือ PNKR-W2, PNKP-S2, PNKP-S4, PNKP-S6, PNKP-S7, PNKR-S7 และ PNKR-S30 โดยนำแบคทีเรียมาเพาะเลี้ยงใน EG medium ที่มีความเข้มข้นของโพแทสเซียมอาร์ชินิเริ่มต้นเท่ากับ 75 ไมโครกรัมต่อมิลลิตร เป็นเวลา 48 ชั่วโมง เพื่อคัดเลือกแบคทีเรียที่สามารถออกซิไดส์อาร์ชินิได้ดีที่สุดเพื่อการทดสอบต่อไป ผลการทดลองพบว่า ไอโซเลท PNKP-S2 สามารถเจริญในสภาวะที่มีอาร์ชินิได้ดีที่สุด โดยมีปริมาณเชื้อเฉลี่ยมากที่สุด เท่ากับ 18.0×10^{11} cfu/ml รองลงมาคือ ไอโซเลท PNKP-S4, PNKR-S30, PNKP-S6 และ PNKP-S7 มีปริมาณเชื้อเฉลี่ยเท่ากับ 15.0×10^{11} cfu/ml, 13.50×10^{11} cfu/ml, 11.50×10^{11} cfu/ml และ 9.50×10^{11} cfu/ml ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 4.1 และภาพที่ 4.1

แบคทีเรียที่มีประสิทธิภาพในการลดความเป็นพิษของอาร์ชินิค โดยสามารถออกซิไดส์อาร์ชินิเริ่มต้น 75 ไมโครกรัมต่อมิลลิตร ได้ดีที่สุด คือ ไอโซเลท PNKP-S2, PRJK-W26, PNKP-S4, PRJK-W1, และ PNKR-S7 โดยมีปริมาณอาร์ชินิที่เหลืออยู่เท่ากับ 8.0, 9.50, 10.50, 12.00 และ 13.00 $\mu\text{g/ml}$ ตามลำดับ ซึ่งคิดเป็นเปอร์เซ็นต์การลดลงของอาร์ชินิเท่ากับ 89.11, 87.12, 85.79, 83.79 และ 82.46 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 4.2-4.3 และภาพที่ 4.2 จากผลการทดลองสรุปได้ว่านอกจากไอโซเลท PNKP-S2 จะเป็นแบคทีเรียที่ออกซิไดส์อาร์ชินิเพื่อลดความเป็นพิษของอาร์ชินิคได้ดีที่สุดแล้วยังเป็นเชื้อที่ต้านทานและเจริญได้ดีที่สุดในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีอาร์ชินิด้วยเช่นกัน จึงคัดเลือกไอโซเลท PNKP-S2 เพื่อการศึกษาต่อไป

ตารางที่ 4.1 ปริมาณแบคทีเรียที่เจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อ EG medium ที่มีความเข้มข้นของโพแทสเซียมอาร์ซีนัทเริ่มต้นเท่ากับ 75 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

ลำดับที่	รหัสเชื้อ	ปริมาณเชื้อแบคทีเรีย $\times 10^{11}$ (CFU/ml)			ค่า SD
		การทดลองครั้งที่ 1	การทดลองครั้งที่ 2	ค่าเฉลี่ย	
1	PRJK-W1	2.40	2.00	2.20	0.03
2	PRJK-W11	2.10	2.30	2.20	0.01
3	PRJK-W19	1.80	2.70	2.25	1.78
4	PRJK-W26	2.10	1.40	1.75	0.05
5	PRJK-W28	2.00	1.50	1.75	0.04
6	PRJK-W31	0.30	0.30	0.30	0.00
7	PRJK-W43	2.80	2.70	2.75	0.37
8	PRJK-S25	1.50	2.10	1.80	0.91
9	PRJK-S26	1.50	2.10	1.80	0.91
10	PRJK-S34	1.20	1.20	1.20	0.83
11	PRJK-S44	2.20	2.80	2.50	1.36
12	PNKR-W2	1.40	2.70	2.05	0.73
13	PNKP-S2	15.00	21.00	18.00	0.42
14	PNKP-S4	12.00	18.00	15.00	0.42
15	PNKP-S6	13.00	10.00	11.50	0.71
16	PNKP-S7	8.00	11.00	9.50	0.21
17	PNKR-S7	5.00	2.00	3.50	0.34
18	PNKR-S30	15.00	12.00	13.50	0.86



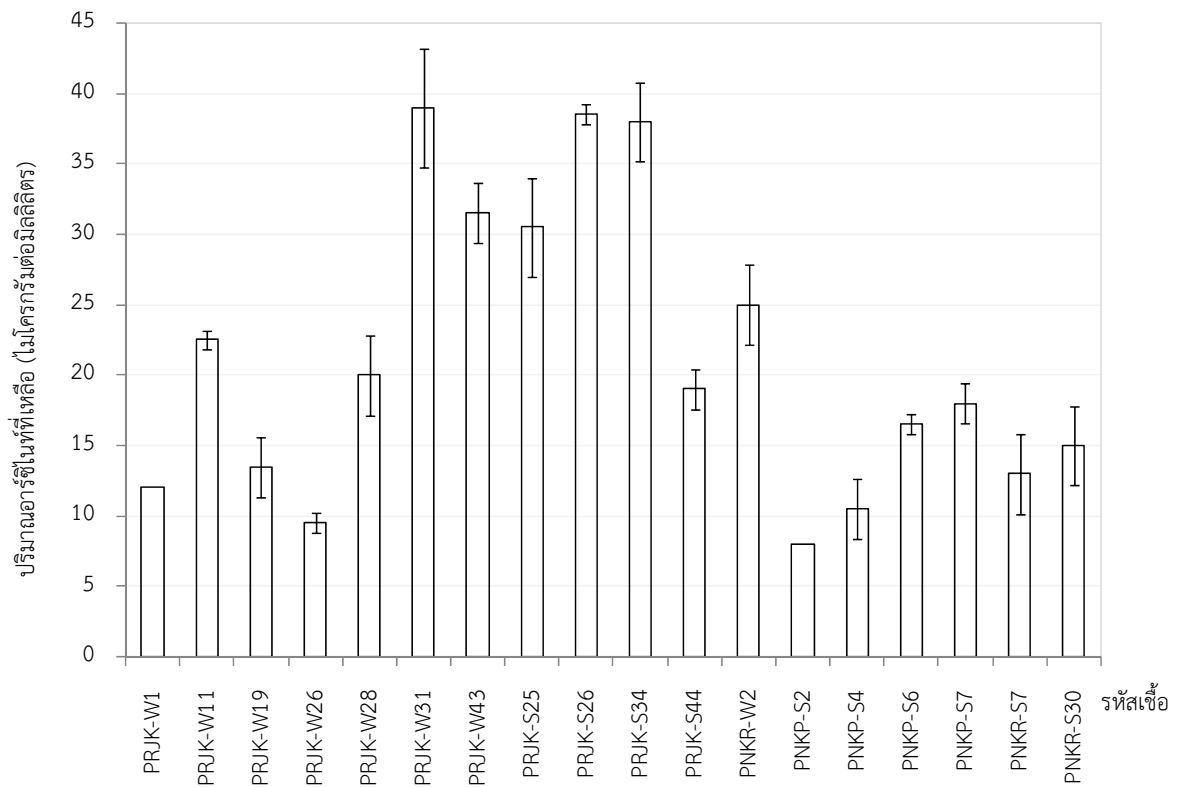
ภาพที่ 4.1 ปริมาณแบคทีเรียที่เจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อ EG medium ที่มีความเข้มข้นของโพแทสเซียมอาร์ซีไนท์เริ่มต้นเท่ากับ 75 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

ตารางที่ 4.2 ปริมาณอาร์ซีไนท์ที่เหลือจากการออกซิไดส์โดยแบคทีเรียจำนวน 18 ไอโซเลท เมื่อเพาะเลี้ยงใน EG medium ที่มีความเข้มข้นของโพแทสเซียมอาร์ซีไนท์เริ่มต้นเท่ากับ 75 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

ลำดับที่	รหัสเชื้อ	ปริมาณอาร์ซีไนท์ที่เหลือ ($\mu\text{g/ml}$)			ค่า SD
		การทดลองครั้งที่ 1	การทดลองครั้งที่ 2	ค่าเฉลี่ย	
1	PRJK-W1	12.00	12.00	12.00	0.00
2	PRJK-W11	22.00	23.00	22.50	0.71
3	PRJK-W19	15.00	12.00	13.50	2.12
4	PRJK-W26	9.00	10.00	9.50	0.71
5	PRJK-W28	18.00	22.00	20.00	2.83
6	PRJK-W31	36.00	42.00	39.00	4.24
7	PRJK-W43	30.00	33.00	31.50	2.12
8	PRJK-S25	28.00	33.00	30.50	3.54
9	PRJK-S26	38.00	39.00	38.50	0.71
10	PRJK-S34	40.00	36.00	38.00	2.83
11	PRJK-S44	20.00	18.00	19.00	1.41
12	PNKR-W2	27.00	23.00	25.00	2.83
13	PNKP-S2	8.00	8.00	8.00	0.00
14	PNKP-S4	12.00	9.00	10.50	2.12
15	PNKP-S6	16.00	17.00	16.50	0.71
16	PNKP-S7	19.00	17.00	18.00	1.41
17	PNKR-S7	11.00	15.00	13.00	2.83
18	PNKR-S30	17.00	13.00	15.00	2.83

ตารางที่ 4.3 ปริมาณอาร์ซีไนท์ที่เหลือ ปริมาณและเปอร์เซ็นต์ของอาร์ซีไนท์ที่ลดลงจากการออกซิไดส์โดยแบคทีเรียจำนวน 18 ไอโซเลท เมื่อเพาะเลี้ยงใน EG medium ที่มีความเข้มข้นของโพแทสเซียมอาร์ซีไนท์เริ่มต้นเท่ากับ 75 ไมโครกรัมต่อมิลลิตร เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

ปริมาณอาร์ซีไนท์ที่เหลือ ($\mu\text{g/ml}$)		ปริมาณอาร์ซีไนท์ที่ลดลง ($\mu\text{g/ml}$)	
รหัสเชื้อ	ค่าเฉลี่ย	ค่าเฉลี่ย	คิดเป็น %
PNKP-S2	8.00	67.00	89.11
PRJK-W26	9.50	65.50	87.12
PNKP-S4	10.50	64.50	85.79
PRJK-W1	12.00	63.00	83.79
PNKR-S7	13.00	62.00	82.46
PRJK-W19	13.50	61.50	81.80
PNKR-S30	15.00	60.00	79.80
PNKP-S6	16.50	58.50	77.81
PNKP-S7	18.00	57.00	75.81
PRJK-S44	19.00	56.00	74.48
PRJK-W28	20.00	55.00	73.15
PRJK-W11	22.50	52.50	69.83
PNKR-W2	25.00	50.00	66.50
PRJK-S25	30.50	44.50	59.19
PRJK-W43	31.50	43.50	57.86
PRJK-S34	38.00	37.00	49.21
PRJK-S26	38.50	36.50	48.55
PRJK-W31	39.00	36.00	47.88



ภาพที่ 4.2 ปริมาณอาร์ซีไนท์ที่ปล่อยจากการออกซีไดส์โดยแบคทีเรียจำนวน 18 ไอโซเลท เมื่อเพาะเลี้ยงใน EG medium ที่มีความเข้มข้นของโพแทสเซียมอาร์ซีไนท์เริ่มต้นเท่ากับ 75 ไมโครกรัมต่อมิลลิตร เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

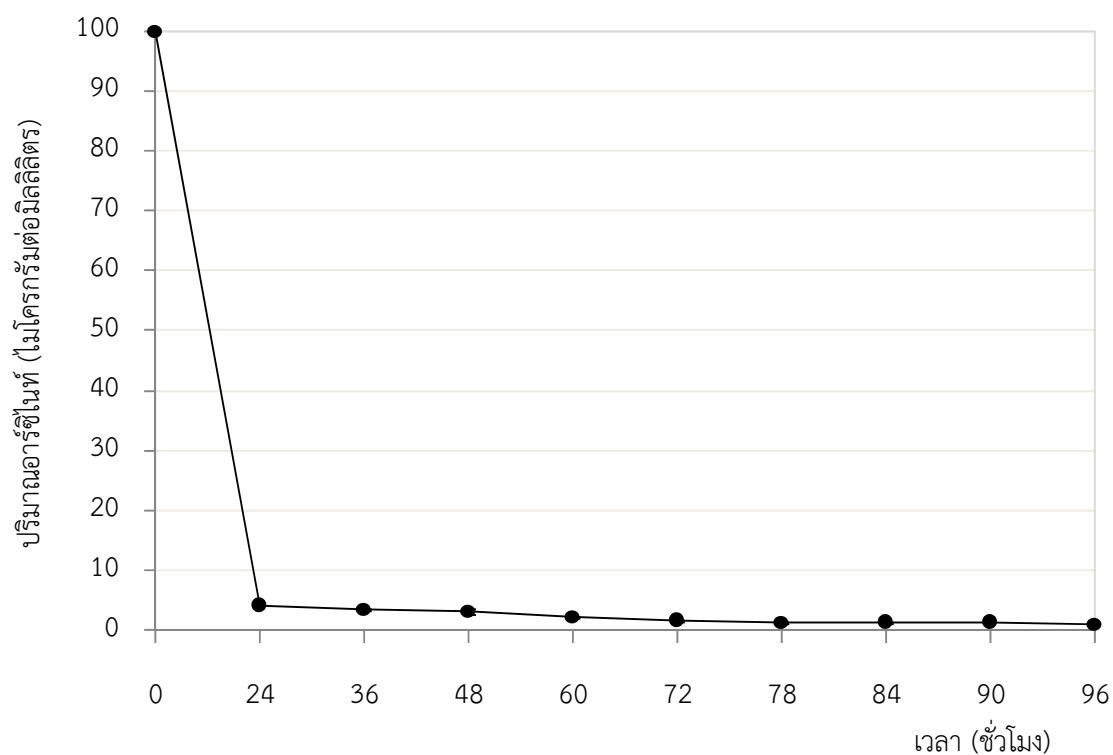
5. ปัจจัยที่มีผลต่อการลดความเป็นพิษของอาร์ซินิค

1). ช่วงเวลาที่เหมาะสม

เมื่อนำหัวเชื้อตั้งต้นของแบคทีเรียออกซิไดส์อาร์ซินิคที่ไอโซเลท PNKP-S2 มาเพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ EG medium มีความเข้มข้นของโพแทสเซียมอาร์ซินิคเริ่มต้นเท่ากับ 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปรับพีเอชเท่ากับ 7.0 บ่มภายใต้การเขย่าที่ 150 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ตามช่วงเวลาต่างๆ เพื่อศึกษาช่วงเวลาที่เหมาะสมในการลดความเป็นพิษของอาร์ซินิคโดยแบคทีเรียออกซิไดส์อาร์ซินิคที่ไอโซเลท PNKP-S2 ผลการทดลองพบว่า แบคทีเรียสามารถออกซิไดส์ลดปริมาณอาร์ซินิคได้อย่างรวดเร็วภายในเวลา 24 ชั่วโมง คือ มีปริมาณอาร์ซินิคเหลือเท่ากับ 4.05 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลานานขึ้นอัตราการออกซิไดส์เป็นไปอย่างช้าๆ สอดคล้องกับการเจริญของแบคทีเรีย ดังแสดงในตารางที่ 5.1 และภาพที่ 5.1 เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 96 ชั่วโมง ซึ่งเป็นช่วงเวลาสุดท้ายที่ทำการบ่ม พบว่ามีปริมาณอาร์ซินิคเหลืออยู่เท่ากับ 1.21 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร แสดงให้เห็นว่าการเพาะเลี้ยงแบคทีเรียเป็นเวลา 96 ชั่วโมง เป็นช่วงเวลาที่เหมาะสมต่อการลดความเป็นพิษของอาร์ซินิคโดยแบคทีเรียออกซิไดส์อาร์ซินิคที่ไอโซเลท PNKP-S2) นอกจากนี้ยังพบว่าปริมาณโพแทสเซียมอาร์ซินิคในการทดลองควบคุมไม่มีเซลล์แบคทีเรียมีปริมาณลดลงเพียงเล็กน้อยเท่ากับ 0.5-1.0% ตลอดการทดลอง

ตารางที่ 5.1 ช่วงเวลาที่เหมาะสมต่อการลดความเป็นพิษของอาร์ซินิคโดยแบคทีเรียออกซิไดส์อาร์ซินิคที่ไอโซเลท PNKP-S2 เมื่อเพาะเลี้ยงด้วยปริมาตรหัวเชื้อเท่ากับ 3% (v/v) ในอาหารเลี้ยงเชื้อ EG medium ปรับพีเอชเท่ากับ 7.0 และมีความเข้มข้นของโพแทสเซียมอาร์ซินิคเริ่มต้นเท่ากับ 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร บ่มภายใต้การเขย่าในอัตรา 150 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส

เวลา (ชม.)	ปริมาณอาร์ซินิค ($\mu\text{g/ml}$)				OD ₆₀₀		
	การทดลองที่ 1	การทดลองที่ 2	ค่าเฉลี่ย	ค่า SD	การทดลองที่ 1	การทดลองที่ 2	เฉลี่ย
0	100.00	100.00	100.00	0.00	0.05	0.05	0.05
24	4.05	4.04	4.05	0.00	0.15	0.16	0.16
36	3.77	3.52	3.64	0.18	0.17	0.18	0.17
48	3.59	3.03	3.31	0.40	0.18	0.18	0.18
60	2.49	2.32	2.40	0.12	0.21	0.21	0.21
72	1.73	1.51	1.62	0.15	0.22	0.22	0.22
78	1.61	1.40	1.51	0.15	0.22	0.22	0.22
84	1.43	1.36	1.39	0.05	0.23	0.23	0.23
90	1.31	1.25	1.28	0.04	0.23	0.23	0.23
96	1.25	1.18	1.21	0.05	0.24	0.24	0.24



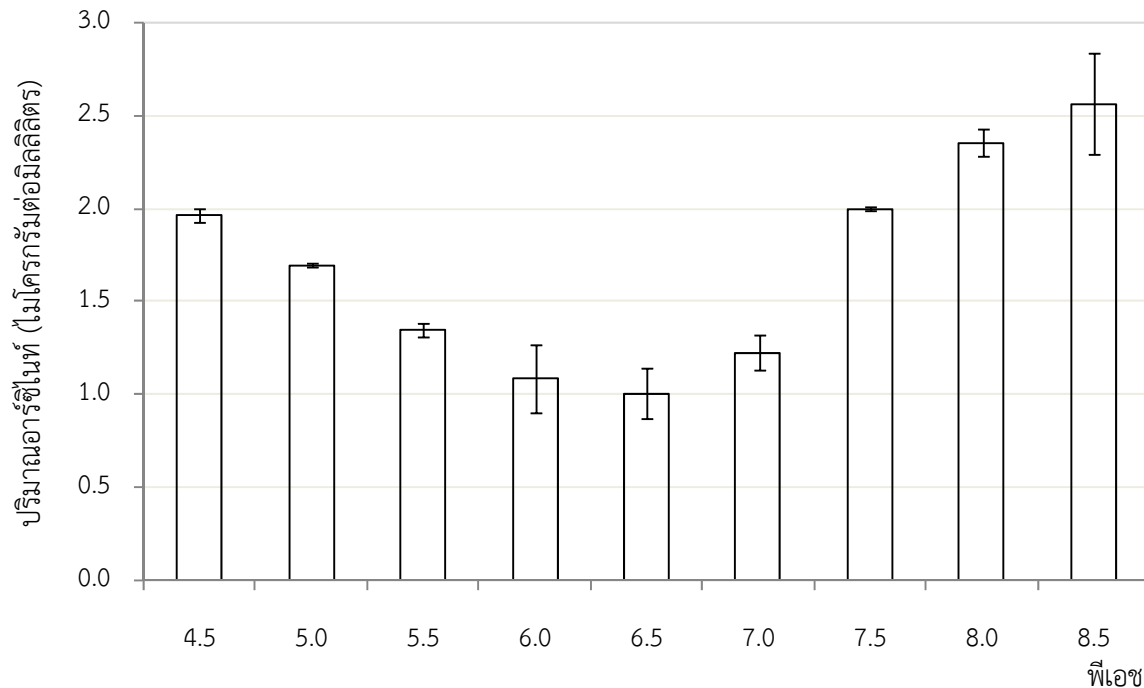
ภาพที่ 5.1 ช่วงเวลาที่เหมาะสมต่อการลดความเป็นพิษของอาร์ชีไนท์โดยแบคทีเรียออกซิไดส์อาร์ชีไนท์ไอโซเลท PNKP-S2 เมื่อเพาะเลี้ยงด้วยปริมาตรหัวเชื้อเท่ากับ 3% (v/v) ในอาหารเลี้ยงเชื้อ EG medium ปรับพีเอช เท่ากับ 7.0 และมีความเข้มข้นของโพแทสเซียมอาร์ชีไนท์เริ่มต้นเท่ากับ 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิตร บ่มภายใต้ การเขย่าในอัตรา 150 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส

2). พีเอชที่เหมาะสม

เมื่อนำหัวเชื้อตั้งต้นของแบคทีเรียออกซิไดส์อาร์ซีไนท์ไอโซเลท PNKP-S2 มาเพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ EG medium มีความเข้มข้นของโพแทสเซียมอาร์ซีไนท์เริ่มต้นเท่ากับ 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปรับพีเอชที่ระดับต่างๆ บ่มภายใต้การเขย่าที่ 150 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 96 ชั่วโมง เพื่อศึกษาพีเอชที่เหมาะสมในการลดความเป็นพิษของอาร์ซีนิกโดยแบคทีเรียออกซิไดส์อาร์ซีไนท์ไอโซเลท PNKP-S2 ผลการทดลองพบว่าแบคทีเรียสามารถออกซิไดส์ลดปริมาณอาร์ซีไนท์ได้ดีที่สุดเมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ปรับพีเอชเท่ากับ 6.5 โดยมีปริมาณอาร์ซีไนท์เหลือเท่ากับ 1.01 $\mu\text{g/ml}$ ดังแสดงในตารางที่ 5.2 และภาพที่ 5.2 สรุปได้ว่าพีเอชเท่ากับ 6.5 เป็นพีเอชที่เหมาะสมที่สุดในการลดความเป็นพิษของอาร์ซีนิกเมื่อพีเอชสูงหรือต่ำกว่าพีเอชที่เหมาะสมจะพบว่าอัตราการออกซิไดส์อาร์ซีไนท์จะลดลงเนื่องจากเป็นสภาวะที่ไม่เหมาะสมต่อการเกิดปฏิกิริยา

ตารางที่ 5.2 พีเอชที่เหมาะสมต่อการลดความเป็นพิษของอาร์ซีนิกโดยแบคทีเรียออกซิไดส์อาร์ซีไนท์ไอโซเลท PNKP-S2 เมื่อเพาะเลี้ยงด้วยปริมาตรหัวเชื้อเท่ากับ 3% (v/v) ในอาหารเลี้ยงเชื้อ EG medium ปรับพีเอชระดับต่างๆ และมีความเข้มข้นของโพแทสเซียมอาร์ซีไนท์เริ่มต้นเท่ากับ 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร บ่มภายใต้การเขย่าในอัตรา 150 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 96 ชั่วโมง

พีเอช	ปริมาณอาร์ซีไนท์ ($\mu\text{g/ml}$)			
	การทดลองที่ 1	การทดลองที่ 2	ค่าเฉลี่ย	ค่า SD
4.5	1.93	1.99	1.96	0.04
5.0	1.70	1.69	1.69	0.01
5.5	1.32	1.38	1.35	0.04
6.0	0.96	1.22	1.09	0.18
6.5	0.91	1.11	1.01	0.14
7.0	1.16	1.29	1.23	0.09
7.5	1.99	2.00	2.00	0.01
8.0	2.30	2.41	2.35	0.07
8.5	2.37	2.75	2.56	0.27



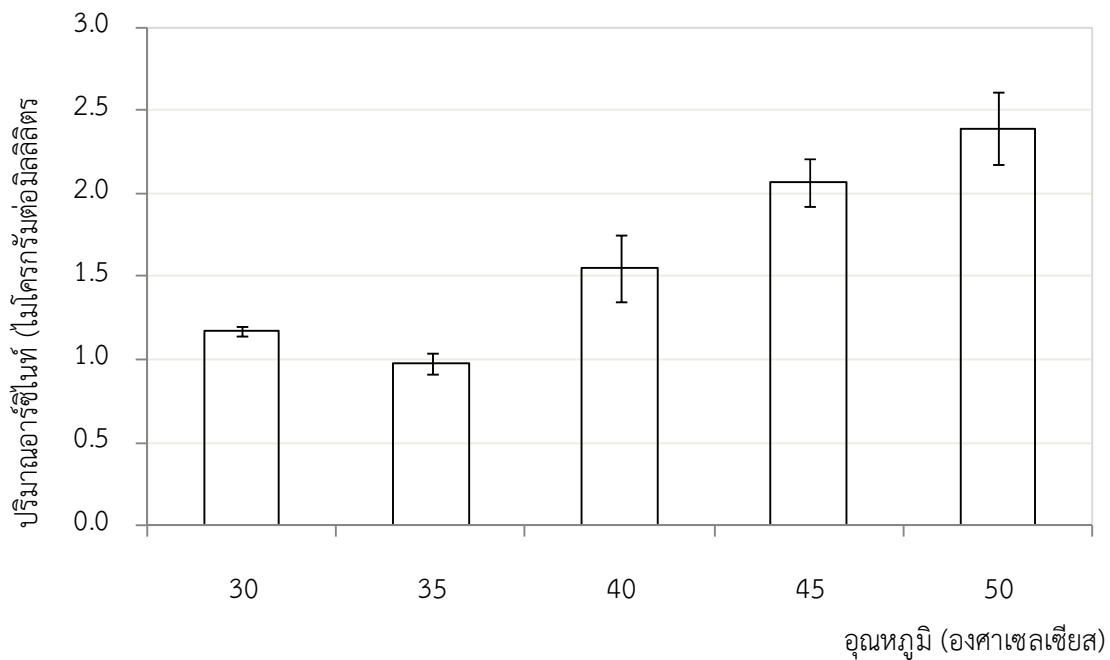
ภาพที่ 5.2 พีเอชที่เหมาะสมต่อการลดความเป็นพิษของอาร์ซีนิกโดยแบคทีเรียออกซิไดส์อาร์ซีนีในไอโซเลท PNKP-S2 เมื่อเพาะเลี้ยงด้วยปริมาตรหัวเชื้อเท่ากับ 3% (v/v) ในอาหารเลี้ยงเชื้อ EG medium ปรับพีเอชระดับต่างๆ และมีความเข้มข้นของโพแทสเซียมอาร์ซีนีเริ่มต้นเท่ากับ 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร บ่มภายใต้การเขย่าในอัตรา 150 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 96 ชั่วโมง

3). อุณหภูมิ

เมื่อนำหัวเชื้อตั้งต้นของแบคทีเรียออกซิไดส์อาร์ซีไนท์ไอโซเลท PNKP-S2 มาเพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ EG medium มีความเข้มข้นของโพแทสเซียมอาร์ซีไนท์เริ่มต้นเท่ากับ 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปรับพีเอชเท่ากับ 6.5 บ่มภายใต้การเขย่าที่ 150 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิระดับต่างๆ เป็นเวลา 96 ชั่วโมง เพื่อศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมในการลดความเป็นพิษของอาร์ซีนิกโดยแบคทีเรียออกซิไดส์อาร์ซีไนท์ไอโซเลท PNKP-S2 ผลการทดลองพบว่าแบคทีเรียสามารถออกซิไดส์ลดปริมาณอาร์ซีไนท์ได้ดีที่สุด เมื่อบ่มภายใต้การเขย่าที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส โดยมีปริมาณอาร์ซีไนท์เหลือเท่ากับ 0.97 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ดังแสดงในตารางที่ 5.3 และภาพที่ 5.3 สรุปได้ว่าอุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นอุณหภูมิที่เหมาะสมที่สุดในการลดความเป็นพิษของอาร์ซีนิก เมื่ออุณหภูมิสูงหรือต่ำกว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมจะพบว่าอัตราการออกซิไดส์อาร์ซีไนท์จะลดลงเนื่องจากเป็นสภาวะที่ไม่เหมาะสมต่อการเกิดปฏิกิริยา

ตารางที่ 5.3 อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการลดความเป็นพิษของอาร์ซีนิกโดยแบคทีเรียออกซิไดส์อาร์ซีไนท์ไอโซเลท PNKP-S2 เมื่อเพาะเลี้ยงด้วยปริมาตรหัวเชื้อเท่ากับ 3% (v/v) ในอาหารเลี้ยงเชื้อ EG medium ปรับพีเอชเท่ากับ 6.5 และมีความเข้มข้นของโพแทสเซียมอาร์ซีไนท์เริ่มต้นเท่ากับ 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร บ่มภายใต้การเขย่าในอัตรา 150 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิต่างๆ เป็นเวลา 96 ชั่วโมง

อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	ปริมาณอาร์ซีไนท์ ($\mu\text{g/ml}$)			
	การทดลองที่ 1	การทดลองที่ 2	ค่าเฉลี่ย	ค่า SD
30	1.15	1.19	1.17	0.03
35	0.93	1.02	0.97	0.06
40	1.41	1.69	1.55	0.20
45	1.96	2.17	2.07	0.14
50	2.23	2.54	2.39	0.22



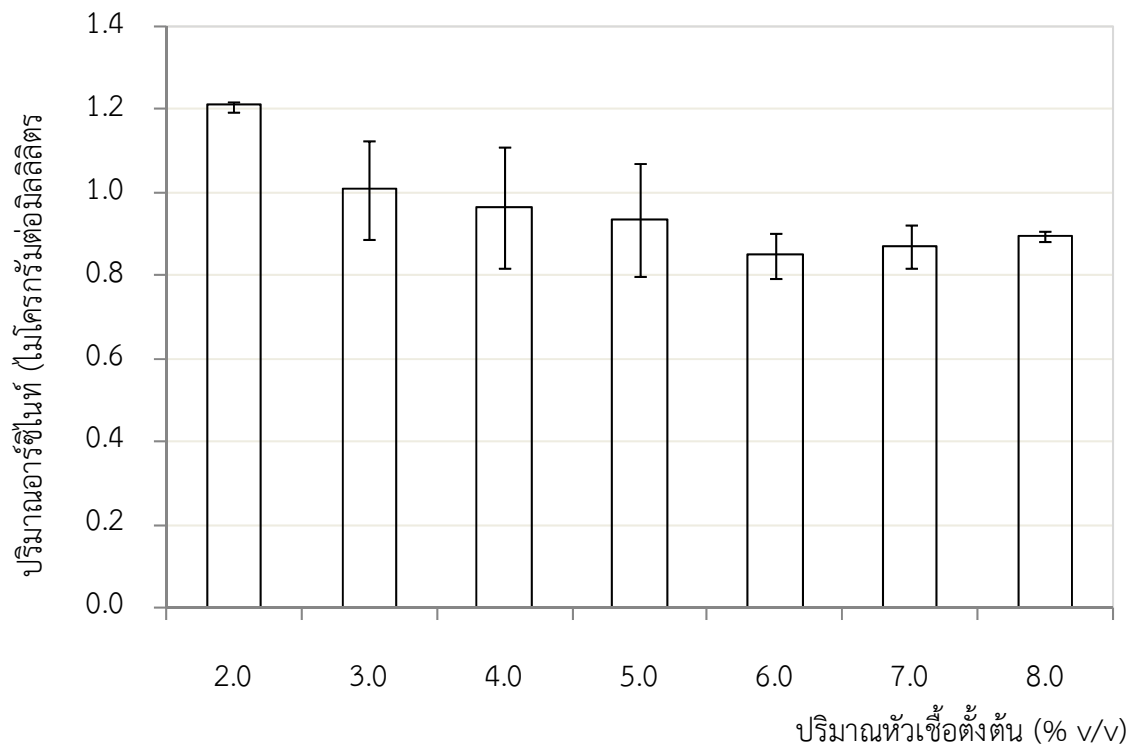
ภาพที่ 5.3 อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการลดความเป็นพิษของอาร์ซินคโดยแบคทีเรียออกซิไดส์อาร์ซินท์ไอโซเลท PNKP-S2 เมื่อเพาะเลี้ยงด้วยปริมาตรหัวเชื้อเท่ากับ 3% (v/v) ในอาหารเลี้ยงเชื้อ EG medium ปรับพีเอช เท่ากับ 6.5 และมีความเข้มข้นของโพแทสเซียมอาร์ซินท์เริ่มต้นเท่ากับ 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิตร บ่มภายใต้ การเขย่าในอัตรา 150 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิต่างๆ เป็นเวลา 96 ชั่วโมง

4). ปริมาณหัวเชื้อตั้งต้น

เมื่อนำหัวเชื้อตั้งต้นที่มีปริมาตร (% v/v) ระดับต่างๆ ของแบคทีเรียออกซิไดส์อาร์ซีไนท์ไอโซเลท PNKP-S2 มาเพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ EG medium มีความเข้มข้นของโพแทสเซียมอาร์ซีไนท์เริ่มต้นเท่ากับ 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปรับพีเอชเท่ากับ 6.5 บ่มภายใต้การเขย่าที่ 150 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 96 ชั่วโมง เพื่อศึกษาปริมาณหัวเชื้อตั้งต้นที่เหมาะสมในการลดความเป็นพิษของอาร์ซีนิกโดยแบคทีเรียออกซิไดส์อาร์ซีไนท์ไอโซเลท PNKP-S2 ผลการทดลองพบว่าแบคทีเรียสามารถออกซิไดส์ลดปริมาณอาร์ซีนิกได้ดีที่สุด เมื่อใช้หัวเชื้อตั้งต้นที่มีปริมาตรเท่ากับ 6 % (v/v) โดยมีปริมาณอาร์ซีนิกเหลือเท่ากับ 0.85 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ดังแสดงในตารางที่ 5.4 และภาพที่ 5.4

ตารางที่ 5.4 ปริมาณหัวเชื้อที่เหมาะสมต่อการลดความเป็นพิษของอาร์ซีนิกโดยแบคทีเรียออกซิไดส์อาร์ซีไนท์ไอโซเลท PNKP-S2 เมื่อเพาะเลี้ยงด้วยปริมาตรหัวเชื้อระดับต่างๆ ในอาหารเลี้ยงเชื้อ EG medium ปรับพีเอชเท่ากับ 6.5 และมีความเข้มข้นของโพแทสเซียมอาร์ซีไนท์เริ่มต้นเท่ากับ 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร บ่มภายใต้การเขย่าในอัตรา 150 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 96 ชั่วโมง

ปริมาณหัวเชื้อตั้งต้น (% v/v)	ปริมาณอาร์ซีนิก ($\mu\text{g/ml}$)			
	การทดลองที่ 1	การทดลองที่ 2	ค่าเฉลี่ย	ค่า SD
2.0	1.22	1.20	1.21	0.01
3.0	1.09	0.92	1.01	0.12
4.0	1.07	0.86	0.97	0.15
5.0	1.03	0.84	0.94	0.14
6.0	0.89	0.81	0.85	0.05
7.0	0.91	0.83	0.87	0.05
8.0	0.91	0.89	0.90	0.01



ภาพที่ 5.4 ปริมาณหัวเชื้อที่เหมาะสมต่อการลดความเป็นพิษของอาร์ซินิคโดยแบคทีเรียออกซิไดส์อาร์ซินีในไฮโซเลท PNKP-S2 เมื่อเพาะเลี้ยงด้วยปริมาณหัวเชื้อระดับต่างๆ ในอาหารเลี้ยงเชื้อ EG medium ปรับพีเอชเท่ากับ 6.5 และมีความเข้มข้นของโพแทสเซียมอาร์ซินีเริ่มต้นเท่ากับ 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร บ่มภายใต้การเขย่าในอัตรา 150 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 96 ชั่วโมง

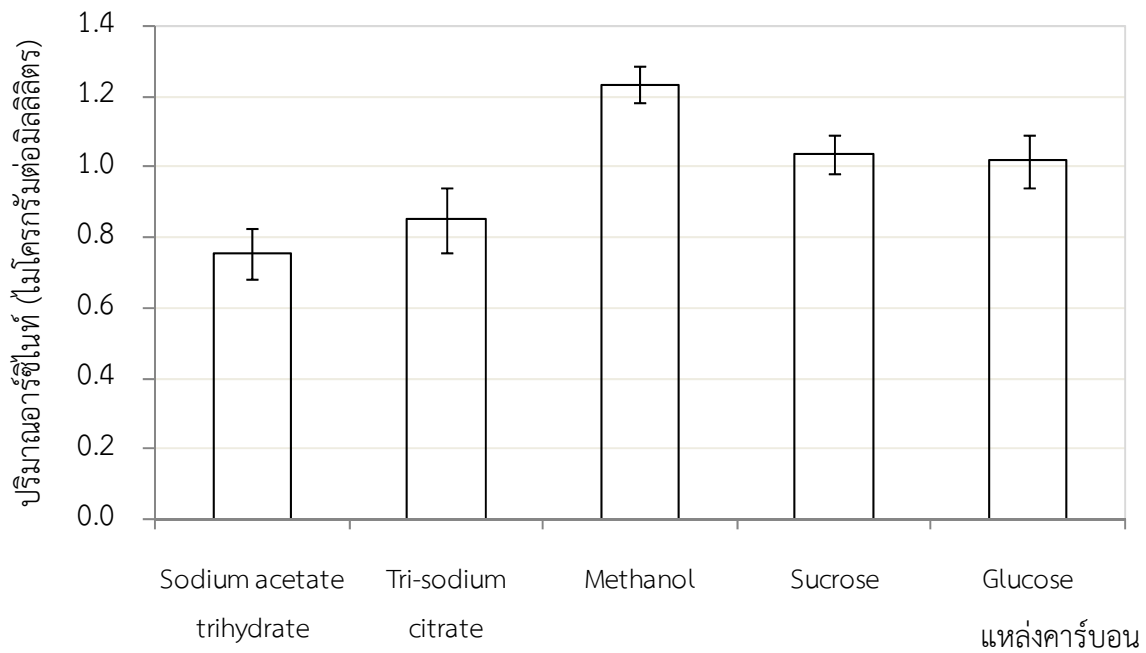
5). แหล่งคาร์บอนที่เหมาะสม

เมื่อนำหัวเชื้อตั้งต้นปริมาตร 6% (v/v) ของแบคทีเรียออกซิไดส์อาร์ซีไนท์ไอโซเลท PNKP-S2 มาเพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ EG medium ที่มีแหล่งคาร์บอนชนิดต่างๆ มีความเข้มข้นของโพแทสเซียมอาร์ซีไนท์เริ่มต้นเท่ากับ 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปรับพีเอชเท่ากับ 6.5 บ่มภายใต้การเขย่าที่ 150 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 96 ชั่วโมง เพื่อศึกษาปริมาณหัวเชื้อตั้งต้นที่เหมาะสมในการลดความเป็นพิษของอาร์ซีนิกโดยแบคทีเรียออกซิไดส์อาร์ซีไนท์ไอโซเลท PNKP-S2 ผลการทดลองพบว่าแบคทีเรียสามารถออกซิไดส์ลดปริมาณอาร์ซีนิกได้ดีที่สุด เมื่อใช้ sodium acetate trihydrate เป็นแหล่งคาร์บอน โดยมีปริมาณอาร์ซีนิกที่เหลือเท่ากับ 0.75 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ดังแสดงในตารางที่ 5.5 และภาพที่ 5.5

ตารางที่ 5.5 แหล่งคาร์บอนที่เหมาะสมต่อการลดความเป็นพิษของอาร์ซีนิกโดยแบคทีเรียออกซิไดส์อาร์ซีนิกไอโซเลท PNKP-S2 เมื่อเพาะเลี้ยงด้วยปริมาตรหัวเชื้อ 6% (v/v) ในอาหารเลี้ยงเชื้อ EG medium ที่มีแหล่งคาร์บอนชนิดต่างๆ ปรับพีเอชเท่ากับ 6.5 และมีความเข้มข้นของโพแทสเซียมอาร์ซีนิกเริ่มต้นเท่ากับ 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร บ่มภายใต้การเขย่าในอัตรา 150 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 96 ชั่วโมง

แหล่งคาร์บอน*	ปริมาณอาร์ซีนิก (µg/ml)			
	การทดลองที่ 1	การทดลองที่ 2	ค่าเฉลี่ย	ค่า SD
Sodium acetate trihydrate	0.80	0.70	0.75	0.07
Tri-sodium citrate	0.92	0.79	0.85	0.09
Methanol	1.20	1.27	1.23	0.05
Sucrose	1.07	1.00	1.04	0.05
Glucose	1.07	0.96	1.02	0.07

* แหล่งคาร์บอนมีความเข้มข้นเท่ากับ 15 ไมโครโมลต่อลิตร



ภาพที่ 5.5 แหล่งคาร์บอนที่เหมาะสมต่อการลดความเป็นพิษของอาร์ชีไนท์โดยแบคทีเรียออกซิไดส์อาร์ชีไนท์ ไอโซเลท PNKP-S2 เมื่อเพาะเลี้ยงด้วยปริมาตรหัวเชื้อ 6% (v/v) ในอาหารเลี้ยงเชื้อ EG medium ที่มีแหล่งคาร์บอนชนิดต่างๆ ปรับพีเอชเท่ากับ 6.5 และมีความเข้มข้นของโพแทสเซียมอาร์ชีไนท์เริ่มต้นเท่ากับ 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิตร บ่มภายใต้การเขย่าในอัตรา 150 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 96 ชั่วโมง

6. การตรวจวินิจฉัยชนิดของแบคทีเรียโดยเทคนิคทางชีวโมเลกุล

เมื่อนำแบคทีเรียออกซิโดสอาร์ซีไนท์ไอโซเลท PNKP-S2 มาจัดจำแนกระดับสปีชีส์ด้วยเทคนิค PCR เพื่อเพิ่มจำนวน 16S rDNA fragments โดยใช้ primer pairs pA/pH' และนำ PCR product ที่ได้ไปวิเคราะห์หาลำดับเบส (direct sequencing) โดยใช้ primer 943 reverse แล้วนำลำดับเบสที่ได้มาเปรียบเทียบลำดับเบสที่เหมือนกันที่สุดในฐานข้อมูลของ EMBL database โดยใช้ BLAST search ผลการสืบค้นข้อมูลพบว่า ลำดับเบสของแบคทีเรียออกซิโดสอาร์ซีไนท์ไอโซเลท PNKP-S2 สอดคล้อง 97 เปอร์เซ็นต์กับลำดับเบสของ *Bacillus megaterium* strain TOBCMDU-1 16S rRNA gene ดังนั้นแบคทีเรียออกซิโดสอาร์ซีไนท์ไอโซเลท PNKP-S2 คือ *Bacillus megaterium* PNKP-S2 (ภาพที่ 6.1-6.2)

GNGCTATAATGCAGTCGAGCGAACTGATTAGAAGCTTGCTTCTATGACGTTAGCGGCGGACGGGTGAGTA
ACACGTGGGCAACCTGCCTGTAAGACTGGGATAACTTCGGGAAACCGAAGCTAATACCGGATAGGATCTT
CTCCTTCATGGGAGATGATTGAAAGATGGTTTCGGCTATCATTACAGATGGGCCCCGCGGTGCATTAGCT
AGTTGGTGAGGTAACGGCTCACCAAGGCAACGATGCATAGCCGACCTGAGAGGGTGATCGGCCACACTG
GGACTGAGACACGGCCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCGCAATGGACGAAAGTCT
GACGGAGCAACGCCGCGTGAGTGATGAAGGCTTTCGGGTCGTAAACTCTGTTGTTAGGGAAGAACAAG
TACGAGAGTAACTGCTCGTACCTTGACGGTACCTAACCAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCC
GCGGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTATCCGGAATTATTGGGCGTAAAGCGCGCGCAGGCGGTTTCTTAA
GTCTGATGTGAAAGCCACGGCTCAACCGTGGAGGGTCATTGGAAACTGGGGAACCTTGAGTGCAGAAGA
GAAAAGCGGAATTCCACGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATGTGGAGGAACACCAGTGGCGAAGGCGG
CTTTTTGGTCTGTAACTGACGCTGAGGCGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGT
CCACGCCGTAACGATGAGTGCTAAGTGTTAGAGGGTTTCCGCCCTTTAGTGCTGCAGCTAACGCATTAAG
CACTCCGCCTGGGGGAGTACGGTCGCAAGACTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCCGACAAGCGG
TGGAGCATGTGGTNTAATTTGAAGCAACGCGAAGACCTTACCAGTCTTGACATCNTCTGACACTCTAGA
GATAGAGCGTGCCCGTTTCGGGGACAGNNNGACAGTNNGCATGTGTGTCGTGAGCTCGTGTGTCGTGAGATGT
GGNTTAGTCCCGCACGAGCGCACCNNTTGATCTANTGCAGCA

ภาพที่ 6.1 ลำดับเบสของ 16S rDNA gene ของแบคทีเรียออกซิโดสอาร์ซีไนท์ ไอโซเลท PNKP-S2 “N”

หมายถึง Unidentified nucleotides

Query: 12 ctataatgcagtcgagcgaactgattagaagcttgcttctatgacgtagcgggcgacgg 71
 |||
 Sbjct: 13 ctataatgcagtcgagcgaactgattagaagcttgcttctatgacgtagcgggcgacgg 72

Query: 72 gtgagtaacacgtgggcaacctgcctgtaagactgggataacttcgggaaaccgaagcta 131
 |||
 Sbjct: 73 gtgagtaacacgtgggcaacctgcctgtaagactgggataacttcgggaaaccgaagcta 132

Query: 132 ataccggataggatcttctccttcattgggagatgattgaaagatggtttcggctatcact 191
 |||
 Sbjct: 133 ataccggataggatcttctccttcattgggagatgattgaaagatggtttcggctatcact 192

Query: 192 tacagatgggcccgcggtgcattagctagttggtgaggtaacggctcaccaaggcaacga 251
 |||
 Sbjct: 193 tacagatgggcccgcggtgcattagctagttggtgaggtaacggctcaccaaggcaacga 252

Query: 252 tgcatagccgacctgagaggggtgatcgccacactgggactgagacacggcccagactcc 311
 |||
 Sbjct: 253 tgcatagccgacctgagaggggtgatcgccacactgggactgagacacggcccagactcc 312

Query: 312 tacgggaggcagcagtagggaatcttccgcaatggacgaaagtctgacggagcaacgccg 371
 |||
 Sbjct: 313 tacgggaggcagcagtagggaatcttccgcaatggacgaaagtctgacggagcaacgccg 372

Query: 372 cgtgagtgatgaaggctttcgggtcgtaaaactctgttgtagggaagaacaagtacgag 431
 |||
 Sbjct: 373 cgtgagtgatgaaggctttcgggtcgtaaaactctgttgtagggaagaacaagtacgag 432

Query: 432 agtaactgctcgtaccttgacggtaacctaacagaaagccacggctaactacgtgccagc 491
 |||
 Sbjct: 433 agtaactgctcgtaccttgacggtaacctaacagaaagccacggctaactacgtgccagc 492

Query: 492 agccgcggtaataacgtaggtggcaagcggttatccggaattattgggcgtaaaagcgcgcg 551
 |||
 Sbjct: 493 agccgcggtaataacgtaggtggcaagcggttatccggaattattgggcgtaaaagcgcgcg 552

Query: 552 aggcgggtttcttaagtctgatgtgaaagcccacggctcaaccgtggaggggtcattggaaa 611
 |||
 Sbjct: 553 aggcgggtttcttaagtctgatgtgaaagcccacggctcaaccgtggaggggtcattggaaa 612

Query: 612 ctggggaacttgagtgcagaagagaaaagcggaattccacgtgtagcggtgaaatgcgta 671
 |||
 Sbjct: 613 ctggggaacttgagtgcagaagagaaaagcggaattccacgtgtagcggtgaaatgcgta 672

Query: 672 gagatgtggaggaacaccagtggcgaaggcggctttttggtctgtaactgacgctgaggc 731
 |||
 Sbjct: 673 gagatgtggaggaacaccagtggcgaaggcggctttttggtctgtaactgacgctgaggc 732

Query: 732 gcgaaagcgtggggagcaaacaggattagataccctggtagtccacgccgt-aacgatga 790
 |||
 Sbjct: 733 gcgaaagcgtggggagcaaacaggattagataccctggtagtccacgccgttaaagcatga 792

Query: 791 gtgctaagtgttagaggggtttccgcccttttagtgctgcagctaacgcattaagcactccg 850
 |||
 Sbjct: 793 gtgctaagtgttagaggggtttccgcccttttagtgctgcagctaacgcattaagcactccg 852

Query: 851 cctgggggagtagcggtcgcaagactgaaactcaaaggaattgacggggggcccgcacaaagc 910
 |||
 Sbjct: 853 cct-ggggagtagcggtcgcaagactgaaactcaaaggaattgacggggggcccgcacaaagc 911

7. การบำบัดน้ำเสียที่ปนเปื้อนอาร์ซินิคด้วยถังปฏิกรณ์แบบต่างๆ

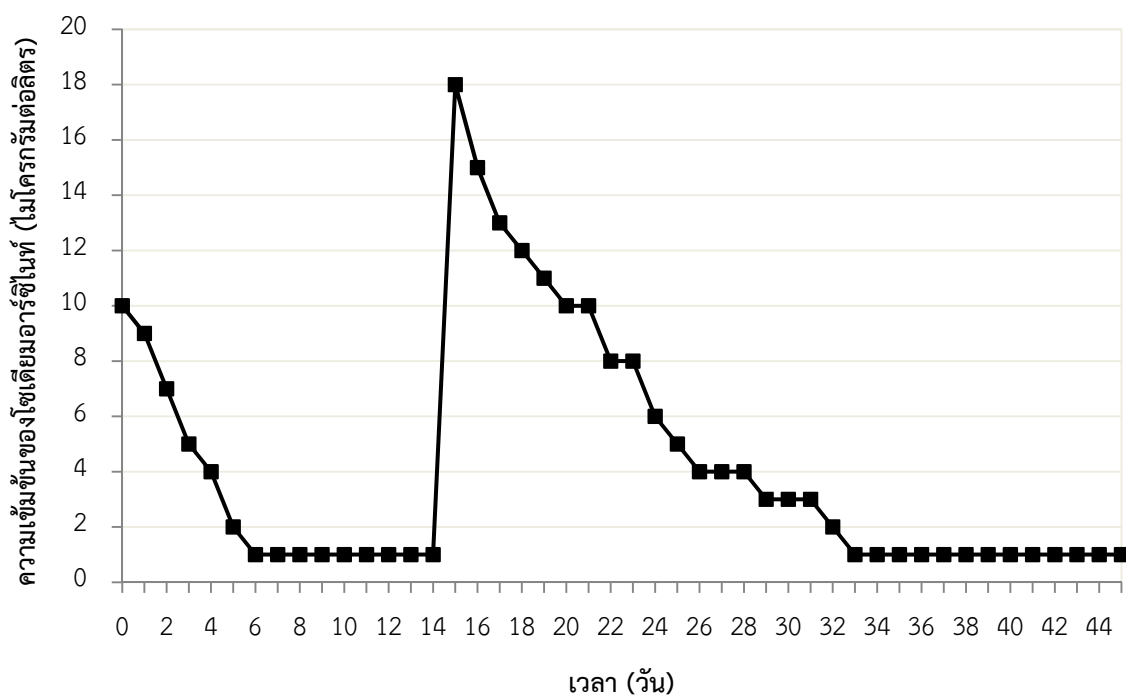
1). การบำบัดน้ำใต้ดินสังเคราะห์ที่ปนเปื้อนสารประกอบอาร์ซินิคด้วยถังปฏิกรณ์ไบโอฟิล์มแบบ fixed-bed bioreactor

จากการศึกษาประสิทธิภาพของแบคทีเรียออกซิไดส์อาร์ซินิค *B. megaterium* PNKP-S2 ที่สร้างไบโอฟิล์มบนก้อนหินกรวดภายในถังปฏิกรณ์ชีวภาพ ผลการทดลองพบว่าที่ระดับความเข้มข้นเริ่มต้นของโพแทสเซียมอาร์ซินิคเท่ากับ 10 ไมโครกรัมต่อลิตร ปริมาณโพแทสเซียมอาร์ซินิคจะลดลงเรื่อยๆ โดยพบว่าในวันที่ 6 อัตราการบำบัดมีค่าเท่ากับ 90% และคงที่จนถึงวันที่ 14 ของการทดลอง ดังนั้นในวันที่ 15 ของการทดลองจึงได้เพิ่มความเข้มข้นของโพแทสเซียมอาร์ซินิคเป็น 20 ไมโครกรัมต่อลิตร พบว่าปริมาณโพแทสเซียมอาร์ซินิคที่ลดลงเหลือเท่ากับ 10 ไมโครกรัมต่อลิตรหรือมีอัตราการบำบัดเท่ากับ 50% ในวันที่ 20 ของการทดลอง หลังจากนั้นปริมาณโพแทสเซียมอาร์ซินิคที่ลดลงจะลดลงเรื่อยๆ โดยอัตราการบำบัดคงที่เท่ากับ 90% ในวันที่ 33 จนกระทั่งสิ้นสุดการทดลองเป็นเวลา 45 วัน สำหรับค่าเฉลี่ยของพีเอชและปริมาณเซลล์ที่หลุดลอกออกจากถังปฏิกรณ์มีค่าเท่ากับ 7.8 และ 4.90×10^4 - 7.7×10^5 cfu/ml ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 7.1 และภาพที่ 7.1

ตารางที่ 7.1 ความเข้มข้นของโพแทสเซียมอาร์ซินิคของน้ำใต้ดินสังเคราะห์หลังการบำบัดด้วยแบคทีเรียออกซิไดส์อาร์ซินิค *B. megaterium* PNKP-S2 ในถังปฏิกรณ์ไบโอฟิล์มแบบ fixed-bed bioreactor เป็นเวลา 45 วัน

เวลา (วัน)	ค่า pH	ปริมาณแบคทีเรีย (CFU/ml)	ความเข้มข้นของโพแทสเซียมอาร์ซินิค (ไมโครกรัมต่อลิตร)	การลดลงของโพแทสเซียมอาร์ซินิค (%)
0	8.25	NA	10.0±0.00	0.00
1	8.0	NA	9.0±2.12	10.00
2	7.9	NA	7.0±0.70	30.00
3	8.0	NA	5.0±0.00	50.00
4	7.8	NA	4.0±0.00	60.00
5	7.9	NA	2.0±0.70	80.00
6	7.8	NA	1.0±0.00	90.00
7	7.8	NA	1.0±0.70	90.00
8	7.8	4.9×10^4	1.0±0.00	90.00
9	7.8	NA	1.0±0.00	90.00
10	7.5	NA	1.0±0.70	90.00
11	7.1	NA	1.0±0.70	90.00
12	7.1	5.0×10^4	1.0±0.70	90.00
13	7.3	NA	1.0±0.70	90.00
14	7.8	NA	1.0±0.70	90.00
15*	8.1	5.0×10^4	18.0±1.41	10.00

เวลา (วัน)	ค่า pH	ปริมาณแบคทีเรีย (CFU/ml)	ความเข้มข้นของโพแทสเซียมอาร์ซีไนท์ (ไม่โครกรัมต่อลิตร)	การลดลงของโพแทสเซียม อาร์ซีไนท์ (%)
16	8.0	NA	15.0±0.70	25.00
17	7.9	NA	13.0±1.41	35.00
18	8.0	NA	12.0±0.00	40.00
19	8.1	NA	11.0±0.70	45.00
20	8.1	7.7×10 ⁵	10.0±1.41	50.00
21	7.9	NA	10.0±0.70	50.00
22	8.1	NA	8.0±1.41	60.00
23	7.9	NA	8.0±0.00	60.00
24	8.0	NA	6.0 ± 0.00	70.00
25	8.1	7.6×10 ⁴	5.00±0.00	75.00
26	8.0	NA	4.00±0.70	80.00
27	8.0	NA	4.00±0.70	80.00
28	7.9	NA	4.00±0.00	80.00
29	8.0	NA	3.00±0.70	85.00
30	7.9	9.2×10 ⁴	3.00±1.41	85.00
31	7.8	NA	3.00±1.41	85.00
32	7.8	NA	2.00±0.00	90.00
33	7.9	NA	1.00±0.70	95.00
34	7.9	NA	1.00±0.70	95.00
35	8.0	9.7×10 ⁴	1.00±0.00	95.00
36	8.0	NA	1.00±0.00	95.00
37	8.0	NA	1.00±0.00	95.00
38	8.1	NA	1.00±0.00	95.00
39	8.1	NA	1.00±0.00	95.00
40	7.9	7.7×10 ⁵	1.00±0.00	95.00
41	8.1	NA	1.00±0.00	95.00
42	7.9	NA	1.00±0.00	95.00
43	7.9	NA	1.00±0.00	95.00
44	8.0	NA	1.00±0.00	95.00
45	8.0	6.6×10 ⁴	1.00±0.00	95.00



ภาพที่ 7.1 ความเข้มข้นของฟอสเฟตที่ละลายได้ของน้ำได้ดินสังเคราะห์หลังการบำบัดด้วยแบคทีเรียออกซิไดส์อาร์ซีไนท์ *B. megaterium* PNKP-S2 ในถังปฏิกรณ์ไบโอฟิล์มแบบ fixed-bed bioreactor เป็นเวลา 45 วัน ข้อมูลได้จากการทดลอง 2 ซ้ำการทดลอง

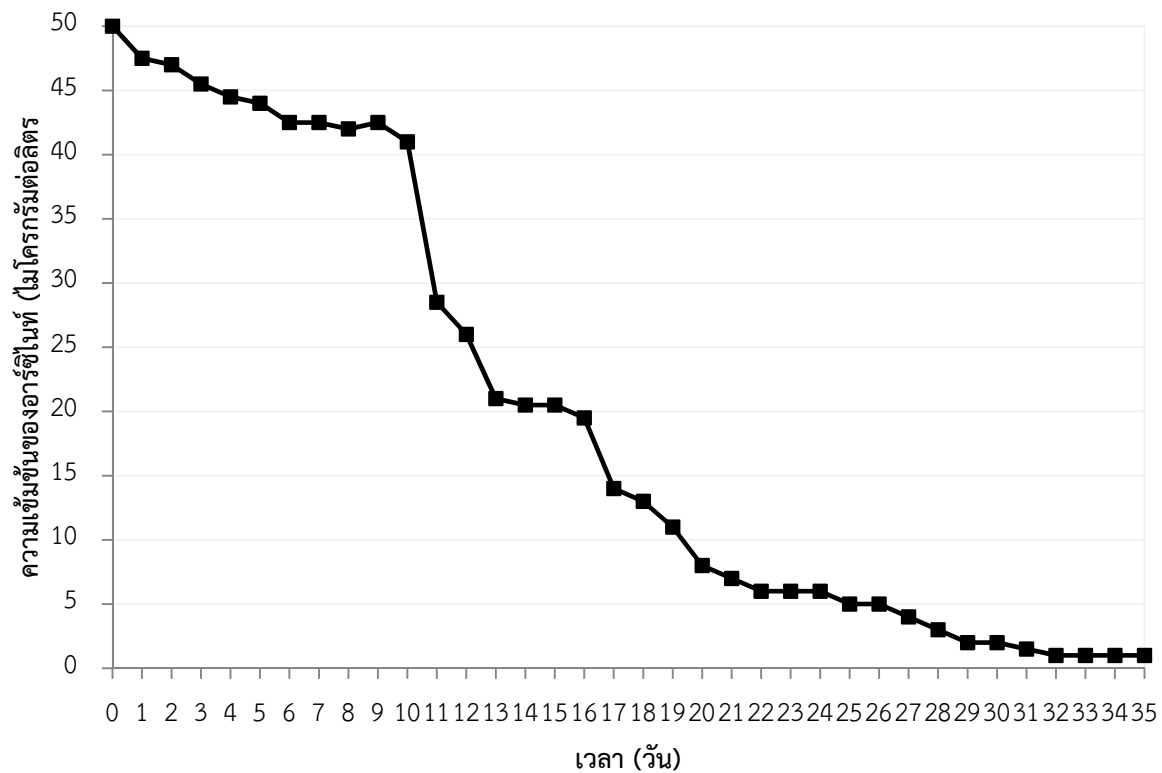
2). การบำบัดน้ำใต้ดินสังเคราะห์ที่ปนเปื้อนสารประกอบอาร์ซีนิดด้วยถังปฏิกรณ์ไบโอฟิล์มแบบ membrane bioreactor

จากการศึกษาประสิทธิภาพของแบคทีเรียออกซิไดส์อาร์ซีนี *B. megaterium* PNKP-S2 ที่สร้างไบโอฟิล์มภายในถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบ membrane bioreactor ผลการทดลองพบว่าที่ระดับความเข้มข้นเริ่มต้นของโพแทสเซียมอาร์ซีนีเท่ากับ 50 ไมโครกรัมต่อลิตร อัตราการลดลงของโพแทสเซียมอาร์ซีนีเป็นไปค่อนข้างช้า โดยพบว่าภายใน 10 วัน อัตราการบำบัดมีค่าเพียง 18.00 % จึงได้ลดความเข้มข้นของโพแทสเซียมอาร์ซีนีลงเท่ากับ 40 ไมโครกรัมต่อลิตร ผลการทดลองพบว่าปริมาณโพแทสเซียมอาร์ซีนีที่ลดลงเรื่อยๆ จนเหลือเท่ากับ 6 ไมโครกรัมต่อลิตรหรือมีอัตราการบำบัดเท่ากับ 85% ในวันที่ 23 ของการทดลอง และเท่ากับ 97.50% ในวันที่ 32 ของการทดลองจนกระทั่งสิ้นสุดการทดลองเป็นเวลา 35 วัน สำหรับค่าเฉลี่ยของพีเอชและปริมาณเซลล์ที่หลุดลอกออกจากถังปฏิกรณ์มีค่าเท่ากับ 7.8 และ $8.85 \times 10^5 - 1.14 \times 10^5$ cfu/ml ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 7.2 และภาพที่ 7.2

ตารางที่ 7.2 ค่าพีเอช ปริมาณแบคทีเรียและความเข้มข้นของโพแทสเซียมอาร์ซีนีของน้ำใต้ดินสังเคราะห์หลังการบำบัดด้วยแบคทีเรียออกซิไดส์อาร์ซีนี *B. megaterium* PNKP-S2 ในถังปฏิกรณ์ไบโอฟิล์มแบบ membrane bioreactor เป็นเวลา 35 วัน

เวลา (วัน)	ค่า pH	ปริมาณแบคทีเรีย (CFU/ml)	ความเข้มข้นของโพแทสเซียมอาร์ซีนี ($\mu\text{g/l}$)	การลดลงของโพแทสเซียมอาร์ซีนี (%)
0	6.5	0	50.00	0.00
1	7.9	1.04×10^6	47.50	5.00
2	7.8	NA	47.00	6.00
3	8.0	NA	45.50	9.00
4	7.9	NA	44.50	11.00
5	7.9	9.9×10^5	44.00	12.00
6	7.9	NA	42.50	15.00
7	8.0	NA	42.50	15.00
8	8.0	NA	42.00	16.00
9	7.8	NA	42.50	15.00
10	7.9	9.2×10^5	41.00	18.00
11	7.9	9.6×10^5	28.50	28.75
12	7.6	NA	26.00	35.00
13	7.9	NA	21.00	47.5
14	7.8	9.9×10^5	20.50	48.75
15	7.9	NA	20.50	48.75
16	7.8	NA	19.50	51.25

17	7.9	NA	14.00	65.00
18	7.6	NA	13.00	67.50
19	7.8	NA	11.00	72.50
20	7.8	8.85×10^5	8.00	80.00
21	7.6	NA	7.00	82.50
22	7.8	NA	6.00	85.00
23	7.7	NA	6.00	85.00
24	7.6	NA	6.00	85.00
25	7.6	NA	5.00	87.50
26	7.6	NA	5.00	87.50
27	7.6	NA	4.00	90.00
28	7.6	1.14×10^6	3.00	92.50
29	7.7	NA	2.00	95.00
30	7.9	NA	2.00	95.00
31	7.7	9.85×10^5	1.50	96.25
32	7.8	NA	1.00	97.50
33	7.8	NA	1.00	97.50
34	7.9	NA	1.00	97.50
35	7.7	NA	1.00	97.50



ภาพที่ 7.2 ความเข้มข้นของโพแทสเซียมอาร์ซีไนท์ของน้ำใต้ดินสังเคราะห์หลังการบำบัดด้วยแบคทีเรียออกซิโดสอาร์ซีไนท์ *B. megaterium* PNKP-S2 ในถังปฏิกรณ์ไบโอฟิล์มแบบ membrane bioreactor เป็นเวลา 35 วัน ข้อมูลได้จากการทดลอง 2 ซ้ำการทดลอง

อภิปรายผลการทดลอง

การคัดแยกแบคทีเรียจากตัวอย่างน้ำใต้ดินและตัวอย่างดินในเขตจังหวัดอุบลราชธานี จำนวน 49 ตัวอย่าง (ตัวอย่างน้ำใต้ดิน 24 ตัวอย่างและตัวอย่างดิน 25 ตัวอย่าง) ด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ EG medium ที่มีความเข้มข้นของโพแทสเซียมอาร์ซิไนท์เท่ากับ 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิเมตร สามารถคัดแยกแบคทีเรียที่ต้านทานต่ออาร์ซิไนท์ทั้งหมดทั้งสิ้น 203 ไอโซเลท เมื่อนำเชื้อแบคทีเรียที่คัดแยกได้มาทดสอบความต้านทานต่ออาร์ซิไนท์บนอาหารเลี้ยงเชื้อ EG medium ที่มีความเข้มข้นของโพแทสเซียมอาร์ซิไนท์ตั้งแต่ 1 mM – 10 mM ผลการทดลองพบว่าแบคทีเรียที่มีความต้านทานต่อความเป็นพิษของโพแทสเซียมอาร์ซิไนท์ที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน โดยพบว่าแบคทีเรียที่สามารถเจริญได้ดีในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีความเข้มข้นของโพแทสเซียมอาร์ซิไนท์สูงสุดเท่ากับ 10 mM มีจำนวน 18 ไอโซเลท โดยแบ่งเป็นแบคทีเรียที่คัดแยกจากตัวอย่างอำเภอลือไชยภูมิ จังหวัดอุบลราชธานี จำนวน 11 ไอโซเลท ดังนี้คือ PRJK-W1, PRJK-W11, PRJK-W19, PRJK-W26, PRJK-W28, PRJK-W31, PRJK-W43, PRJK-S25, PRJK-S26, PRJK-S34 และ PRJK-S44 แบคทีเรียที่คัดแยกจากตัวอย่างอำเภอยางชุมน้อย จังหวัดอุบลราชธานี จำนวน 7 ไอโซเลท ดังนี้คือ PNKR-W2, PNKP-S2, PNKP-S4, PNKP-S6, PNKP-S7, PNKR-S7 และ PNKR-S30 แบคทีเรียดังกล่าวเป็นไอโซเลทที่คัดแยกจากตัวอย่างน้ำใต้ดินและตะกอนดินจากบ่อน้ำใต้ดินที่มีการปนเปื้อนของอาร์ซิไนท์ในเขตจังหวัดอุบลราชธานี โดยในบางแหล่งตัวอย่างมีปริมาณอาร์ซิไนท์เกินกว่าค่ามาตรฐานกำหนดโดยกระทรวงทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม (ปราณีและพิยาดา สุรารักษ์, 2554) แบคทีเรียแต่ละสายพันธุ์มีความต้านทานต่ออาร์ซิไนท์แตกต่างกัน เช่น Yoon และคณะ (2009) คัดแยกแบคทีเรียต้านทานต่ออาร์ซิไนท์จากตัวอย่างดินในเขตเหมืองแร่ร้าง ประเทศเกาหลีใต้ พบว่าแบคทีเรีย *Alcaligenes* sp. RS-19 สามารถต้านทานอาร์ซิไนท์ได้สูงสุดเท่ากับ 26 mM Bachate และคณะ (2012) รายงานว่าแบคทีเรียออกซิโดสอาร์ซิไนท์ไอโซเลท *Bordetella* sp. SPB-24 และ *Achromobacter* sp. SPB-31 ที่แยกจากดินในสวนสามารถต้านทานต่อความเป็นพิษของอาร์ซิไนท์ที่ระดับความเข้มข้นเท่ากับ 15 mM และ 40 mM สำหรับ SPB-24 และ SPB-31 ตามลำดับ การที่จุลินทรีย์ที่สามารถเจริญที่ระดับความเข้มข้นสูงของโลหะได้นั้นขึ้นอยู่กับกลไกทางเมแทบอลิซึมต่างๆ รวมทั้งปัจจัยทางสภาวะแวดล้อม กลไกที่จุลินทรีย์สามารถต้านทานต่อความเป็นพิษของโลหะหนักและโลหะได้แก่ การดูดซับที่พื้นผิวของจุลินทรีย์ (microbial surface sorption) การปรับเปลี่ยนรูปร่างโดยเอนไซม์ (enzymatic transformation) การตกตะกอนโดยปฏิกิริยาออกซิเดชัน-รีดักชัน (precipitation by oxidation/reduction) และการสังเคราะห์ทางชีวภาพโดยการที่โลหะจับกับโปรตีนหรือพอลิเมอร์ที่อยู่ภายนอกเซลล์ (biosynthesis of metal binding proteins or extracellular polymers) ส่วนปัจจัยทางสภาวะแวดล้อมได้แก่ พีเอชและ redox potential ชนิดของโลหะ และสารอินทรีย์ละลายได้ (Srinath *et al.*, 2002; Zoubilis *et al.*, 2004)

เมื่อนำแบคทีเรียทั้ง 18 ไอโซเลทมาศึกษาผลของอาร์ซิไนท์ต่อการเจริญและการลดความเป็นพิษของอาร์ซิไนท์ พบว่าโพแทสเซียมอาร์ซิไนท์ไม่มีผลในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย แบคทีเรียสามารถเจริญเพิ่ม

จำนวนมากกว่าจำนวนเชื้อเริ่มต้น โดยไอโซเลท PNKP-S2 สามารถเจริญในสภาวะที่มีอาร์ซีนีในที่ได้ดีที่สุดมีปริมาณเชื้อเฉลี่ยมากที่สุดเท่ากับ 18.0×10^{11} cfu/ml และสามารถออกซิไดส์เพื่อลดความเป็นพิษของอาร์ซีนีในที่ได้สูงสุดเท่ากับ 89.11 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลานานขึ้น อัตราการออกซิไดส์เป็นไปอย่างช้าๆ สอดคล้องกับการเจริญของแบคทีเรีย นอกจากนี้ยังพบว่าปริมาณโพแทสเซียมอาร์ซีนีในการทดลองควบคุมไม่มีเซลล์แบคทีเรียมีปริมาณลดลงเพียงเล็กน้อยเท่ากับ 0.5-1.0% ตลอดการทดลอง จึงสามารถสรุปว่ากลไกการต้านทานต่อความเป็นพิษของโพแทสเซียมอาร์ซีนีของแบคทีเรียเกิดจากปฏิกิริยาออกซิเดชันการเปลี่ยนอาร์ซีนีในที่เป็นอาร์ซีนีในภายใต้สภาวะที่มีอากาศ ไอโซเลท PNKP-S2 สามารถเพิ่มจำนวนได้ในสภาวะที่มีโพแทสเซียมอาร์ซีนีในที่แสดงให้เห็นว่าแบคทีเรียเจริญได้โดยใช้โพแทสเซียมอาร์ซีนีในที่เป็นแหล่งคาร์บอน ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Santini และคณะ (2000) รายงานว่าเมื่อเพาะเลี้ยงแบคทีเรียคลิโมลิโทรออโตโทรปสายพันธุ์ NT-26 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ minimal medium ที่มีอาร์ซีนีในที่เป็นสารให้อิเลคตรอน ที่ระดับความเข้มข้นเท่ากับ 5 มิลลิโมล ออกซิเจนเป็นสารรับอิเลคตรอน และคาร์บอนไดออกไซด์ ไบคาร์บอเนตเป็นแหล่งคาร์บอนพบว่าแบคทีเรียมี doubling time เท่ากับ 7.6 ชั่วโมง

ปัจจัยที่เหมาะสมในการออกซิไดส์อาร์ซีนีในโดยไอโซเลท PNKP-S2 ที่ระดับความเข้มข้นของโพแทสเซียมอาร์ซีนีในเริ่มต้นเท่ากับ 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร คือ หัวเชื้อตั้งต้นปริมาตรเท่ากับ 6 % (v/v) เพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มี sodium acetate trihydrate เป็นแหล่งคาร์บอน พีเอชเท่ากับ 6.5 บ่มภายใต้การเขย่าที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แบคทีเรียแต่ละชนิดมีปัจจัยที่เหมาะสมต่อการออกซิไดส์แตกต่างกันดังนี้ Gihring และ Banfield (2001) รายงานว่า *Thermus* sp. HR13 สามารถออกซิไดส์ inorganic As(III) เป็น As(V) ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน ด้วยอัตราการออกซิไดส์ที่สูงประมาณ 100 เท่า มากกว่าอัตราการออกซิไดส์ในสภาวะที่ไม่มีเซลล์และไม่มีพลังงานเกิดขึ้นจากปฏิกิริยาการออกซิไดส์ ส่วนในสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน แบคทีเรีย *Thermus* sp. HR13 สามารถเจริญโดยกระบวนการหายใจด้วย As(V) ควบคู่ไปกับปฏิกิริยาการออกซิไดส์แลคเตท (lactate oxidation) Yoon และคณะ (2009) พบว่าแบคทีเรีย *Alcaligenes* sp. RS-19 มีประสิทธิภาพในการออกซิไดส์อาร์ซีนีในที่สูงสุดในระบบแบตช์ โดยสามารถออกซิไดส์อาร์ซีนีในที่ระดับความเข้มข้น 1 mM เป็นอาร์ซีนีในภายในเวลา 40 ชั่วโมง Santini และคณะ (2000) รายงานว่าเมื่อเพาะเลี้ยงแบคทีเรียคลิโมลิโทรออโตโทรปสายพันธุ์ NT-26 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ minimal medium ที่มีอาร์ซีนีในที่เป็นสารให้อิเลคตรอน ที่ระดับความเข้มข้นเท่ากับ 5 mM ออกซิเจนเป็นสารรับอิเลคตรอน และคาร์บอนไดออกไซด์ ไบคาร์บอเนตเป็นแหล่งคาร์บอน พบว่าแบคทีเรียมี doubling time เท่ากับ 7.6 ชั่วโมง การออกซิไดส์อาร์ซีนีในที่เกิดขึ้นโดยเอนไซม์เพอริพลาสมิคอาร์ซีนีในออกซิเดส (periplasmic arsenite oxidase) พีเอชที่เหมาะสมเท่ากับ 5.5 Bachate และคณะ (2012) รายงานว่าเมื่อเพาะเลี้ยงแบคทีเรียออกซิไดส์อาร์ซีนีในไอโซเลท *Bordetella* sp. SPB-24 และ *Achromobacter* sp. SPB-31 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ minimal medium ที่มีอาร์ซีนีในเท่ากับ 5 mM พบว่าอัตราการออกซิไดส์อาร์ซีนีในโดย SPB-24 และ SPB-31 มีค่าเท่ากับ 554 และ 558 $\mu\text{M h}^{-1}$ ตามลำดับ ส่วน washed cells ของสายพันธุ์ทั้งสองสามารถออกซิไดส์อาร์ซีนีในได้ดีที่พีเอชเท่ากับ 6 ที่อุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียส

จากผลการบำบัดน้ำใต้ดินสังเคราะห์ที่ปนเปื้อนโพแทสเซียมอาร์ซีนีด้วยถังปฏิกรณ์ไบโอฟิล์มแบบ fixed-bed และ membrane reactor ด้วยแบคทีเรียออกซิไดส์อาร์ซีนี *B. megaterium* PNKP-S2 พบว่าแบคทีเรียสามารถลดปริมาณอาร์ซีนีได้อย่างต่อเนื่อง โดยมีอัตราการบำบัดเท่ากับ 95.00% และ 97.50% ตามลำดับ โดยประสิทธิภาพของแบคทีเรียออกซิไดส์อาร์ซีนี *B. megaterium* PNKP-S2 ในการออกซิไดส์และต้านทานต่อความเป็นพิษของอาร์ซีนิก เกิดจากความสามารถของแบคทีเรียในการออกซิไดส์อาร์ซีนี [As(III)] ไปเป็นอาร์ซิเนต [As(V)] ด้วยเอนไซม์ที่เรียกว่า arsenite-oxidase และการสร้างและกิจกรรมของไบโอฟิล์มของแบคทีเรียออกซิไดส์อาร์ซีนี (Michel et al., 2007) ซึ่งผลที่ได้สอดคล้องกับการทดลองของ Dastidar และ Wang (2012) ที่ทำการศึกษการออกซิเดชันอาร์ซีนีในน้ำ ที่ระดับความเข้มข้นเท่ากับ 500-4,000 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยแบคทีเรีย *Thiomonas arsenivorans* สายพันธุ์ b6 ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบแพ็คเบต เป็นระยะเวลา 137 วัน พบว่าประสิทธิภาพการออกซิเดชันอาร์ซีนีมีค่าเท่ากับ 48.2% ถึง 99.3% และการทดลองของ Ito และคณะ (2012) ที่ทำการศึกษการออกซิเดชันทางชีวภาพของอาร์ซีนีในน้ำใต้ดินสังเคราะห์ โดยใช้ถังปฏิกรณ์ชีวภาพที่มีการตรึงรูปของ arsenite oxidizing bacteria (AOB) ที่แยกได้จากตะกอนกระตุ้น (activated sludge) พบว่า ที่ระดับความเข้มข้นเริ่มต้นของอาร์ซีนีเท่ากับ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่ระยะเวลากักเก็บ 1 ชั่วโมง มีอัตราการออกซิไดส์อาร์ซีนีเท่ากับ 1×10^{-9} $\mu\text{g}/\text{cell}/\text{min}$ และประสิทธิภาพการออกซิไดส์อาร์ซีนีมีค่าเท่ากับ 92.0% แสดงให้เห็นว่าแบคทีเรียออกซิไดส์อาร์ซีนีในถังปฏิกรณ์ชีวภาพมีประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำใต้ดินสังเคราะห์ที่ปนเปื้อนสารประกอบอาร์ซีนิก โดยอาศัยกิจกรรมของแบคทีเรียในการเกิดปฏิกิริยาการออกซิไดส์อาร์ซีนี [arsenite; As(III)] เป็นอาร์ซิเนต [arsenate; As(V)] เพื่อลดความเป็นพิษของอาร์ซีนิก ซึ่งเป็นกระบวนการบำบัดทางชีวภาพที่เมื่อเปรียบเทียบกับ การบำบัดทางกายภาพ-เคมี จะเห็นได้ว่าเป็นระบบที่มีประสิทธิภาพ ราคาถูก ดูแลรักษาง่าย ลดการใช้สารเคมี ไม่มีผลข้างเคียงต่อสิ่งแวดล้อม ไม่มีผลิตภัณฑ์พลอยได้และไม่ต้องอาศัยผู้เชี่ยวชาญ

ข้อเสนอแนะ

ผลการวิจัยนี้เป็นการศึกษาประสิทธิภาพของแบคทีเรียออกซิไดส์อาร์ซีนี PNKP-S2 ที่สร้างไบโอฟิล์มบนก้อนหินกรวดและเมมเบรนภายในถังปฏิกรณ์ในการบำบัดน้ำใต้ดินสังเคราะห์ที่ปนเปื้อนโพแทสเซียมอาร์ซีนีในระดับห้องปฏิบัติการ หากจะนำไปประยุกต์ใช้ในการบำบัดอาร์ซีนิกในน้ำใต้ดินธรรมชาติทั่วไป ควรมีการศึกษาเพิ่มเติมดังนี้ (1) ศึกษาการบำบัดน้ำใต้ดินที่ปนเปื้อนสารประกอบอาร์ซีนิกโดยเพิ่มระดับความเข้มข้นของสารประกอบอาร์ซีนิก เพื่อทดสอบความสามารถสูงสุดในการบำบัดของแบคทีเรียออกซิไดส์อาร์ซีนีในถังปฏิกรณ์ไบโอฟิล์มต่อไป (2) ศึกษาความเป็นไปได้ทางเศรษฐศาสตร์ในการนำระบบมาใช้ปฏิบัติจริง และ (3) สำหรับในการพัฒนาและออกแบบนอกจากที่จะคำนึงถึงประสิทธิภาพในการบำบัดแล้ว ควรที่จะคำนึงถึงสภาพแวดล้อมและความยืดหยุ่นของระบบ ซึ่งจะเป็นข้อมูลในการนำไปพัฒนาเป็นแนวทางในการบำบัดอาร์ซีนิกในน้ำใต้ดินที่มีประสิทธิภาพที่สูงขึ้น

เอกสารอ้างอิง

- กระทรวงทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม. 2551. ประกาศกระทรวงอุตสาหกรรม ฉบับที่ 332 (พ.ศ.2521) ออกตามความในพระราชบัญญัติมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม พ.ศ.2511 เรื่องกำหนดมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมน้ำบริโภค ตีพิมพ์ในราชกิจจานุเบกษา เล่ม 95 ตอนที่ 68 ลงวันที่ 4 กรกฎาคม 2551.
- เกรียงศักดิ์ อุดมสินโรจน์. 2546. ของเสียอันตราย. ภาควิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยรังสิต.
- วิโรจน์ บุญอำนวยวิทยา และนิตินัย ขำมาลัย 2004. *สารหนูกับสิ่งแวดล้อม*. นิตยสารออนไลน์ของโครงการ การเรียนการสอนทางไกล ด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี ผ่านระบบเครือข่าย ของมหาวิทยาลัย เทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี. ฉบับที่ 2
- ปราณี พัฒนพิพิธไพศาล และ พียาดา สุรารักษ์. 2554. การปนเปื้อนอาร์ซีนิกและคุณภาพน้ำใต้ดินใน อำเภอเขมราฐและอำเภอโขงเจียม จังหวัดอุบลราชธานี. *วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี*. 13: 48-56.
- Aksornchu, P., P. Prasertsan, V. Sobhon. 2008. Isolation of arsenic-tolerant bacteria from arsenic-contaminates soil. *Songklanakarin J. Sci. Technol.* 30: 95-102.
- Berg, M., Giger, W., T. H. Con, P. H. Viet, P. T. K. Trang, and R. Schertenleib. 2006. Extent and severity of arsenic pollution in Vietnam and Cambodia In Managing arsenic in the environment: From soil to human health CSIRO Publishing. Melbourne.
- Bachate, S. P., R. M. Khapare, and K. M. Kodam. 2012. Oxidation of arsenite by two β -proteobacteria isolated from soil. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 93: 2135-2145.
- Battaglia-Brunet, F., M. C. Dictor, F. Garrido, C. Crouzet, D. Morin, K. Dekeyser, M. Clarens, and P. Baranger. 2002. An As(III)-oxidizing bacterial population: selection, characterization, and performance in bioreactors. *J. Appl. Microbiol.* 93: 656-667.
- Buschmann, J., M. Berg, C. Stengel, and M. L. Sampson. 2007. Arsenic and manganese contamination of drinking water resources in Cambodia: coincidence of risk areas with relief topography. *Environ. Sci. Technol.* 41: 2146-2152.
- Casiot, C., G. Morin, F. Juillot, O. Bruneel, J.-C. Personné, M. Leblanc, K. Duquesne, V. Bonnefoy and F. Elbaz-Poulichet. 2003. Bacterial immobilization and oxidation of arsenic in acid mine drainage (Carnoulès creek, France) *Water Research*. 37: 2929-2936.
- Clifford, D. G. Ghurye, and A. Tripp. 1999. Development of an anion exchange process for arsenic removal from water. In: Abermathy, R. and R. Calderon (eds). Arsenic exposure and health effect. Elsevier, The Netherlands, PP. 379-387.

- Donahoe-Christiansen J., S. D' Imperio, C. R. Jackson, W. P. Inskeep, and T. R. McDermott. 2004. Arsenite-oxidizing *Hydrogenobaculum* strain isolated from an acid-sulfate-chloride geothermal spring in Yellowstone National Park. *Appl. Environ. Microbiol.* 70:1865-1868.
- Dastidar, A. and Yi-Tin Wang. 2012. Modeling arsenite oxidation by chemoautotrophic *Thiomonas arsenivorans* strain b6 in a packed-bed bioreactor. *Sci. of the Total Environ.* 432: 113-121.
- Feldman, P. R. and J. W. Rosenboom. 2001. Cambodia drinking water quality assessment, WHO in cooperation with Cambodian Ministry of Rural Development and the Ministry of Industry, Mines and Energy, Phnom Penh, Cambodia.
- Fields, K., A. Chen, and L. Wang. 2000. Arsenic removal from drinking water by coagulation/filtration and lime softening plants, Batelle, Cincinnati, EPA/600/R-00/063.
- Fredericks, D. 2003. *Arsenic contamination of groundwater in Cambodia*. UNICEF. Phnom Penh. Cambodia.
- Gihring, T. M. and J. F. Banfield. 2001. Arsenite oxidation and arsenate respiration by a new *Thermus* isolate. *FEMS Microbiol. Lett.* 204: 335-340.
- Halperin, A. 2003. Arsenic found in rural Mekong river wells. *Cambodia Daily*, 25 June. Phnom Penh. Cambodia: 11.
- Hoven, R. N. V. and J. M. Santini. 2004. Arsenite oxidation by the heterotroph *Hydrogenophaga* sp. str. NT-14: the arsenite oxidase and its physiological electron acceptor. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics*. 1656: 148-155.
- Ito, A., J-I. Miura, N. Ishikawa, and T. Umita. 2012. Biological oxidation of arsenite in synthetic groundwater using immobilized bacteria. *Wat. Res.* : 1-7.
- Jackson, C. R., H. W. Langner, J. Donahoe-Christiansen, W. P. Inskeep, and T. R. McDermott. 2001. Molecular analysis of microbial community structure in an arsenite-oxidizing acidic thermal spring. *Environ. Microbiol.* 3:532-542.
- Jekel, M. R. 1994. Removal of arsenic in drinking water treatment. *In: Nriagu, J. O. (eds) Arsenic in Environment, Part I: Cycling and characterization*. Wiley, New York NY, pp 119-132.
- Katsoyiannis, I. A. and A. I. Zouboulis. 2004. Application of biological processes for the removal of arsenic from groundwaters. *Wat. Res.* 38: 17-26.
- Kinegam, S., T. Yingprasertchai, S. Tanasupawat, N. Leepipatpiboom, A. Akaracharanya, and K-W, Kim. 2008. Isolation and characterization of arsenite-oxidizing bacteria from

- arsenic-contaminated soil in Thailand. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 24: 3091-3096.
- Kyne, P. 2000. Arsenic threat found in groundwater survey. *Phnom Penh Post*, 18-31 August. Phnom Penh. Cambodia: 1-2.
- Macur, R. E., C. R. Jackson, L. M. Botero, T. R. McDermott, and W. P. Inskeep. 2004. Bacterial populations associated with the oxidation and reduction of arsenic in an unsaturated soil. *Environ. Sci. Technol.* 38: 104-111
- Michel, C., M. Jean, S. Coulon, M.-C. Dictor, F. Delorme, D. Morin and F. Garrido. 2007. Biofilms of As(III)-oxidising bacteria: formation and activity studies for bioremediation process development. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 77: 457-467.
- Mokashi, S. A. and K. M. Paknikar. 2002. Arsenic (III) oxidizing *Microbacterium lacticum* and its use in the treatment of arsenic contaminated groundwater. *Lett. Appl. Microbiol.* 34: 258-262.
- Muller, D., D. Lièvreumont, D. Simeonova, J. C. Hubert and M. C. Lett. 2003. Arsenic oxidase *aox* genes from a metal-resistant α -proteobacterium. *J. Bact.* 185: 135-141.
- Pontius, F. W. G. K. Brown, and J. C. Chien. 1994. Health implications of arsenic in drinking water. *J. Am. Water. Works. Assoc.* 96: 52-63.
- Rhine, E. D., E. Garcia-Dominguez, C. D. Phelps and L. Y. Young. 2005. Environmental microbes can speciate and cycle arsenic. *Environ. Sci. Technol.* 39: 9569-9573.
- Rhine, E. D., C. D. Phelps and L. Y. Young. 2006. Anaerobic arsenite oxidation by novel denitrifying isolates. *Environ. Microbiol.* 8: 899-908.
- Salmassi, T., K. Venkateswaren, M. Satomi, K. Nealson, D. Newman, and J. Hering. 2002. Oxidation of arsenite by *Agrobacterium albertimagni* AOL15, sp. Nov., isolated from hot creek. California. *Geomicrobiol. J.* 19: 53-66.
- Salmassi, T. M., J. J. Walker, D. K. Newman, J. R. Leadbetter, N. R. Pace and J. G. Hering. 2006. Community and cultivation analysis of arsenite oxidizing biofilms at Hot Creek. *Environ Microbiol.* 8: 50-59.
- Santini, J. M., L. I. Sly, R. D. Schnagl, and J. M. Macy. 2000. A new chemolithoautotrophic arsenite-oxidizing bacterium isolated from a gold mine: phylogenetic, physiological, and preliminary biochemical studies. *Appl Environ Microbiol.* 66: 92-97.
- Santini, J. M., L. I. Sly, A. M. Wen, D. Comrie, P. Wulf-Durand and J. M. Macy. 2002. New arsenite-oxidizing bacteria isolated from Australian gold mining environments: phylogenetic relationships. *Geomicrobiol. J.* 19: 67-76.

- Smith, A. H., E. O. Lingas, and M. Rahman. 2000. Contamination of drinking-water by arsenic in Bangladesh: a public health emergency. *Bull. WHO.* 78: 1093-1103.
- Srinath, T., T. Verma, P. W. Ramteke, and S. K. Garg. 2002. Chromium (VI) biosorption and bioaccumulation by chromate resistant bacteria. *Chemosphere.* 48: 427-435.
- Suttigarn, A. and Y-T. Wang. 2005. Arsenite oxidation by *Alcaligenes faecalis* strain O1201. *J. Environ. Eng.* 131: 1293-1301.
- The Merck Index: An Encyclopedia of Chemicals, Drugs, and Biologicals. 11th Edition. 1989. Ed. Susan Budavari. Merck & Co., Inc. New Jersey.
- United States Environmental Protection Agency. 2001. National Primary Drinking Water Standards. EPA 816-F-01-007.
- Weeger, W., D. Lièvremon, M. Perret, F. Lagarde, J. C. Hubert, M. Leroy, and M. C. Lett. 1999. Oxidation of arsenite to arsenate by a bacterium isolated from an aquatic environment. *Biometals.* 12:141-149.
- WHO. 1993. Guidelines for drinking-water quality. Volume 1: Recommendation, 2 nd ed. WHO, Geneva.
- Yoon, I-H, J-S Chang, J-H Lee, and K-W Kim. 2009. Arsenite oxidation by *Alcaligenes* sp. strain RS-19 isolated from arsenic-contaminated mines in the Republic of Korea. *Environ. Geochem. Health.* 31: 109-117.
- Yu, G., D. Sun, and Y. Zheng. 2007. Health effects of exposure to natural arsenic in groundwater and coal in China: Overview of occurrence. *Environ. Health Perspect.* 15:636-642.
- Zouboulis, A. I. and I. A. Katsoyiannis. 2005. Recent advances in the bioremediation of arsenic-contaminated groundwaters. *Environ. Inter.* 31: 213-219.
- Zoubilis, A. I., M. X. Loukidou, and K. A. Matis. 2004. Biosorption of toxic metals from aqueous solutions by bacteria strains isolated from metal-polluted soils. *Process Biochem.* 39: 1-8.

เว็บไซต์

<http://digital.lib.kmutt.ac.th/magazine/issue2/articles/art2.html> (เข้าถึงค้นเมื่อ 15 พ.ค. 2555)

<http://en.wikipedia.org/wiki/Arsenic> (เข้าถึงค้นเมื่อ 15 พ.ค. 2555)

ภาคผนวก ก
อาหารเลี้ยงเชื้อ

1. Enrichment and Growth medium (EG medium) 1 ลิตร ประกอบด้วย

- Yeast extract 0.02 g
- $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0.8 g
- KH_2PO_4 0.4 g
- $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.18 g
- NaCl 0.18 g
- ปรับ pH ให้ได้ 6.5 ด้วย NaOH

ภาคผนวก ข
วิธีการวิเคราะห์

Silver Diethyldithiocarbamate Method

Procedure

A). Arsenite

1). Preparation of scrubber and absorber

- Dip glass wool into lead acetate solution; remove excess by squeezing glass wool
- Press glass wool between pieces of filter paper, then stuff it (ให้กระดาษกรองจับสารละลายออกบ้าง และทำให้ glass wool ฟองออกเหมือนเดิม)
- Place glass wool in scrubber tube.
- Add 4.00 ml of Silver diethyldithiocarbamate solution in absorber tube

2). Loading of arsine generator

- Pipet not more than 70 ml of sample containing not more than 20 ug arsenite into the generator flask.
- Add 10 ml acetate buffer.
- Flush flask with nitrogen at the rate of 60 ml/min

3). Arseine generation and measurement

- While N₂ is passing through the system, use a 30 ml syringe to inject through the septum 15 ml 1% sod. Borohydride solution within 2 min.
- Stir vigorously with magnetic stirrer.
- Pass N₂ through system for additional 15 min. to flush arsine into absorber solution.
- Pour absorber solution into a clean and dry spectrophotometric cells and measure absorbance at 520 nm against chloroform.
- If arsenate also is to be determinate for this sample by using the same portion, save the liquid in the generator flask.

4). Preparation of standard curves

- Treat standard arsenite solution containing 0.0, 1.0, 2.0, 5.0, 10.0, and 20.0 ug. As described in 1)-3).

ประวัติผู้วิจัย

1. ชื่อ-นามสกุล (ภาษาไทย) นางปราณี พัฒนพิพิธไพศาล
(ภาษาอังกฤษ) Mrs. Pranee Pattanapipitpaisal
2. เพศ หญิง สถานภาพ สมรส
3. วันเดือนปีเกิด 21 สิงหาคม 2505
4. ตำแหน่งปัจจุบัน ผู้ช่วยศาสตราจารย์
5. ที่อยู่ ภาควิชาวิทยาศาสตร์ชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี
อำเภอวารินชำราบ จังหวัดอุบลราชธานี รหัสไปรษณีย์ 34190
โทรศัพท์: 045-288400 ต่อ 4502 โทรสาร: 045-288380
6. E-mail address: praneesci@gmail.com

7. ประวัติการศึกษา

- 7.1 ปริญญาตรีสาขาชีววิทยา ปีที่สำเร็จการศึกษา : 2527
สถาบันการศึกษา มหาวิทยาลัยบูรพา ประเทศไทย
- 7.2 ปริญญาโทสาขา จุลชีววิทยา ปีที่สำเร็จการศึกษา: 2531
สถาบันการศึกษา มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ประเทศไทย
- 7.3 ปริญญาเอกสาขา Biological Sciences ปีที่สำเร็จการศึกษา: 2544
สถาบัน: The University of Birmingham ประเทศอังกฤษ
แหล่งทุนที่ได้รับในขณะศึกษาระดับปริญญาเอก ทุนพัฒนาอาจารย์ สำนักงานคณะกรรมการ
อุดมศึกษา

8. ผลงานวิจัย

8.1 ผลงานวิจัยที่ตีพิมพ์เผยแพร่

1. ปราณี มุ่งสันติ. 2527. ผลของแอลกอฮอล์และกรัมม็อกโซนต่อการเจริญของ *Aeromonas hydrophila* (Effect of Adrin and Gromxon on the growth of *Aeromonas hydrophila*. สารนิพนธ์ระดับปริญญาตรี. ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ บางแสน ชลบุรี.
2. ปราณี มุ่งสันติ. 2531. การศึกษาเอนไซม์ย่อยแป้งที่ผลิตจากเชื้อราเจริญที่อุณหภูมิสูง (A Study on Starch Saccharifying Enzyme from Thermotolerant Fungi) วิทยานิพนธ์ระดับปริญญาโท. ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ บางเขน กรุงเทพมหานคร.
3. ปราณี พัฒนพิพิธไพศาล. 2545. การลดความเป็นพิษของโครเมียมโดยแบคทีเรีย *วารสารวิชาการ ม.อบ.* 2: 30-35.
4. ปราณี พัฒนพิพิธไพศาล. 2547. การคัดแยกแบคทีเรียทนอุณหภูมิสูงที่มีประสิทธิภาพในการรีดิวส์โครเมต *วารสารวิชาการ ม.อบ.* 6 : 53-63.
5. ปราณี พัฒนพิพิธไพศาล. 2548. การคัดแยกแบคทีเรียทนอุณหภูมิสูงที่สร้างไลเปส *วารสารวิชาการ*

ม.อบ. 7 : 95-114.

6. ปราณี พัฒนพิพิธไพศาล. 2549. การลดปริมาณโครเมตที่มีความเป็นพิษโดยเซลล์และสารสกัดจากเซลล์ที่ถูกตรึงด้วยโพลีไวนิลแอลกอฮอล์. *วารสารวิทยาศาสตร์ลาดกระบัง*. 15: 1-11.
7. ปราณี พัฒนพิพิธไพศาล. 2549. การลดความเป็นพิษของโครเมตโดยเซลล์แบคทีเรีย *Bacillus fusiformis* NTR9 และเม็ดปืตริงเซลล์. การประชุมวิชาการ ม. อบ. ครั้งที่ 1. 28-29 กรกฎาคม 2549 มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี. อุบลราชธานี.
8. ปราณี พัฒนพิพิธไพศาล. 2551. การปนเปื้อนสารหนูในน้ำใต้ดินเขตลุ่มแม่น้ำโขงตอนล่าง. *วารสารวิชาการ ม.อบ.* 10: 27-39.
9. ปราณี พัฒนพิพิธไพศาล เอมอร คำเพราะ และรัชฎาพร นวะพิณ. 2552. การคัดเลือกเชื้อแอคติโนมัยสัที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการ เจริญของเชื้อราสาเหตุโรคเหี่ยวของมะเขือเทศ. *วารสารวิชาการ ม.อบ.* 11: 9-17.
10. Badar, U., N. Ahmed, A. J. Beswick, **P. Pattanapitpaisal** and L. E. Macaskie. 2000. Reduction of chromate by microorganisms isolated from metal contaminated sites of Karachi, Pakistan. *Biotechnology Letters*. 22: 829-836.
11. De Mot R., I. Nagy, A. De Schrijer, **P. Pattanapitpaisal**, G. Schoofs and J.
12. Vanderleyden. 1997. Structural analysis of the 6-kb cryptic plasmid pFAJ2600 from *Rhodococcus erythropolis* N186/21 and construction of *Escherichia coli*-*Rhodococcus* shuttle vectors. *Journal of Microbiology*. 143: 3137-3147.
13. **Pattanapitpaisal P**, N. L. Brown and L. E. Macaskie. 2001. Chromate reduction and 16S rRNA identification of bacteria isolated from a Cr(VI) contaminated site. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 57: 257-261.
14. **Pattanapitpaisal P.**, N.L. Brown and L. E. Macaskie. 2001. Chromate reduction by *Microbacterium liquefaciens* immobilized in polyvinyl alcohol. *Biotechnology Letters*. 23: 61-65.
15. **Pattanapitpaisal P.**, A. N. Mabbett, J. A. Finlay, A. J. Beswick, M. Paterson-Beedle, A.
16. Essa, J. Wright, M. R. Tolly, U. Badar, N. Ahmed, J. L. Hobman, N. L. Brown and L. E. Macaskie. 2001. Reduction of Cr(VI) and bioaccumulation of chromium by Gram-positive and Gram-negative microorganisms not previously exposed to Cr-stress. *Environmental Technology*. 23:731-745.
17. **Pattanapitpaisal, P.**, J. L. Hobman, N. L. Brown and L. E. Macaskie. 2001. Bioreduction of Cr(VI) by *Microbacterium* sp. isolated from tannery waste and used of immobilised cells for continuous removal of Cr(VI). Proceeding of the International Biohydrometallurgy Symposium, Brazil, September.

18. Nuratsa, I and P. Pattanapipitpaisal. 2004. Chromate removal by polyvinyl alcohol-immobilized bacterium. 30th C

19. ongress on Science and Technology of Thailand 19-21 October 2004. Impact Exhibition and Convention Center, Muang Thong Thani, Bangkok.

9. โครงการวิจัยที่ได้รับทุนสนับสนุน :

1). โครงการวิจัยเรื่องการใช้กล้ำเชื้อแอคติโนมัยสีทปฏิบัติที่มีฤทธิ์ต้านเชื้อสาเหตุโรคเพื่อการผลิตพริกและแตงกวาอินทรีย์ ทุนสนับสนุนจากฝ่ายวิชาการ สำนักงานกองทุนสนับสนุนวิจัย ปีงบประมาณ 2549-2552 (28 ก.ค. 49 – 27 ก.ค. 52) สถานภาพการวิจัย: หัวหน้าโครงการ (ดำเนินการเรียบร้อยแล้ว)

2). โครงการวิจัยเรื่องการควบคุมเชื้อสาเหตุโรคเหี่ยวของมะเขือเทศด้วยกล้ำเชื้อเอนโดฟัยติกแอคติโนมัยสีท เงินงบประมาณเพื่อการวิจัยสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (วช.) ประจำปีงบประมาณ พ. ศ. 2550- 2551 (1 ต.ค. 49 – 30 ก.ย. 51) สถานภาพการวิจัย: หัวหน้าโครงการ (ดำเนินการเรียบร้อยแล้ว)

3). โครงการวิจัยเรื่อง การรีดิวส์โครเมตโดยเซลล์และเอนไซม์โครเมตรีดักเตสที่ถูกตรึง เงินงบประมาณเพื่อการวิจัยสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (วช.) ประจำปีงบประมาณ พ. ศ. 2548-2549 (1 ต.ค. 47 – 30 ก.ย. 49) สถานภาพการวิจัย: หัวหน้าโครงการ (ดำเนินการเรียบร้อยแล้ว)

4). โครงการวิจัยเรื่อง การตรวจวินิจฉัยและเก็บรวบรวมแอคติโนมัยสีทที่แยกจากดินในเขตพื้นที่มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี เงินงบประมาณเพื่อการวิจัยโครงการทำนุบำรุงศิลปวัฒนธรรม ประจำปีงบประมาณ พ. ศ. 2547 (1 ต.ค. 46 – 30 ก.ย. 47) สถานภาพการวิจัย: หัวหน้าโครงการ (ดำเนินการเรียบร้อยแล้ว)

5). โครงการวิจัยเรื่อง การรีดิวส์โครเมตโดยแบคทีเรียทนอุณหภูมิสูง เงินงบประมาณเพื่อการวิจัยสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (วช.) ประจำปีงบประมาณ พ. ศ. 2547 (1 ต.ค. 46 – 30 ก.ย. 47) สถานภาพการวิจัย: หัวหน้าโครงการ (ดำเนินการเรียบร้อยแล้ว)

6). โครงการวิจัยเรื่อง การคัดเลือกแบคทีเรียทนอุณหภูมิสูงที่สร้างเอนไซม์ไลเปส ทุนสนับสนุนการทำวิจัยเงินรายได้มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2546 สถานภาพการวิจัย: หัวหน้าโครงการ (ดำเนินการเรียบร้อยแล้ว)