

## ภาคผนวก ก

การเทียบเคียงเชื้อแบคทีเรียโดยอาศัยคุณสมบัติทางชีวเคมี

### 1. การทดสอบแคตาเลส (Catalase Test)

อุปกรณ์และสารเคมี

1. สารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 3
2. กระจกสไลด์
3. ห่วงเย็บเชื้อ

วิธีการ

1. เลี้ยงเชื้อในอาหาร nutrient broth บ่มที่อุณหภูมิที่เหมาะสมเป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง
2. หยดสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 3 ลงบนสไลด์
3. ใช้ห่วงเย็บเชื้อ เย็บเชื้อลงไปแล้วทำการผสมให้เข้ากัน

การวิเคราะห์

ผลบวก เกิดฟองแก๊ส  
ผลลบ ไม่มีฟอง

### 2. การทดสอบออกซิเดส (Oxidase Test)

อุปกรณ์และสารเคมี

1. กระดาษกรอง
2. สารละลาย tetramethyl-p-phenylenediamine HCl ความเข้มข้นร้อยละ 0.5
3. เข็มเย็บเชื้อ

วิธีการ

1. วางกระดาษกรองที่อ้อมด้วยสารละลาย tetramethyl-p-phenylenediamine HCl ความเข้มข้นร้อยละ 0.5
2. ใช้เข็มเย็บเชื้อเย็บโคโลนีออกมาทดสอบ โดยลากโคโลนีไปมาบนกระดาษ

การวิเคราะห์

ผลบวก เกิดสีม่วงเข้มภายใน 10 วินาที

### 3. การทดสอบ MR (Methyl Red Test)

#### อุปกรณ์และสารเคมี

1. อาหารเหลว MR-VP
2. methyl red

#### วิธีการ

1. เลี้ยงเชื้อในอาหารเหลว MR-VP บ่มที่อุณหภูมิเป็นเวลา 5 วัน
2. หยด methyl red 5 - 6 หยดลงไปในการที่มีเชื้อ 5 มิลลิลิตร

#### การวิเคราะห์

ผลบวก สีแดง

ผลลบ เหลืองหรือส้ม

### 4. การทดสอบ VP (Voges-Proskauer (VP) Test)

#### อุปกรณ์และสารเคมี

1. อาหารเหลว MR-VP
2. สารละลาย naphthol ความเข้มข้นร้อยละ 5
3. สารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 40

#### วิธีการ

1. เลี้ยงเชื้อในอาหารเหลว MR-VP บ่มเป็นเวลา 48 ชั่วโมง
2. ถ่ายเชื้อจากข้อ 1 มา 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดสอบ
3. เติม สารละลาย naphthol ความเข้มข้นร้อยละ 5 ปริมาตร 0.6 มิลลิลิตร
4. เติมสารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 40 ปริมาตร 0.2 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน

#### การวิเคราะห์

ผลบวก สีแดงภายใน 5 นาที

ผลลบ สีเหลือง

## 5. การทดสอบอินโดล (Indole Test)

### อุปกรณ์และสารเคมี

1. อาหารเหลว Tryptone
2. สารละลาย Kovacs' reagent

### วิธีการ

1. เลี้ยงเชื้อในอาหารเหลว Tryptone
2. บ่มไว้เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง แล้วเติมสารละลาย Kovacs' reagent ปริมาตร 5 มิลลิลิตรลงไป

### การวิเคราะห์

ผลบวก สีแดงที่ผิวชั้นบน

ผลลบ ไม่เกิดสี ถ้าเป็นสีส้มจัดเป็น variable เนื่องจาก tryptophan ถูกออกซิไดซ์เป็น skatole (methyl indole)

## 6. การทดสอบการใช้ซิเตรต (Citrate Utilization Test)

### อุปกรณ์และสารเคมี

1. อาหารแข็ง Simmons' Citrate agar
2. เจ็มเขี้ยวเชื้อ

### วิธีการ

1. เลี้ยงเชื้อในอาหารแข็ง Simmons' Citrate agar โดยใช้เจ็มเขี้ยวเชื้อทำเชื้อให้เป็นจุด
2. บ่มเป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง (สูงสุด 7 วัน)

### การวิเคราะห์

ผลบวก มีการเจริญอาหารจะเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีน้ำเงิน

ผลลบ ไม่มีการเจริญ

## 7. การทดสอบการย่อยเจลาติน (Gelatin liquefaction Test)

### อุปกรณ์และสารเคมี

1. อาหารเหลว nutrient broth
2. เจลาตินความเข้มข้นร้อยละ 12
3. สารละลาย mercuric chloride

**วิธีการ**

1. เลี้ยงเชื้อในอาหาร nutrient broth ที่มีการเติมเจลาตินความเข้มข้นร้อยละ 12 โดยเลี้ยงเชื้อให้เป็นจุดที่เรียกว่า point inoculate บ่มไว้เป็นเวลา 3 วัน
2. เทสารละลาย mercuric chloride ลงไป
3. อ่านผล

**การวิเคราะห์**

ผลบวก เกิดวงใสรอบบริเวณที่เชื้อเจริญ

ผลลบ ไม่เกิด

**8. การทดสอบการย่อยแป้ง****อุปกรณ์และสารเคมี**

1. อาหารแข็ง nutrient agar ที่มี soluble starch ร้อยละ 0.2
2. สารละลายไอโอดีน

**วิธีการ**

1. เลี้ยงเชื้อในอาหารแข็ง nutrient agar ที่มี soluble starch ร้อยละ 0.2 บ่มที่อุณหภูมิที่เหมาะสม จนเชื้อมีการเจริญเกิดขึ้น
2. เทน้ำยาไอโอดีนลงไป แล้วอ่านผล

**การวิเคราะห์**

ผลบวก อาหารเป็นสีน้ำเงินแต่รอบๆ โคลนนี้ไม่มีสี

ผลลบ เป็นสีน้ำเงินหมด

**9. การทดสอบการรีดิวซ์ไนเตรต (Nitrate reduction Test)****อุปกรณ์และสารเคมี**

1. อาหารเหลว nitrate broth
2. sulfanilic acid
3.  $\alpha$ -naphthylamine
4. ผงสังกะสี

**วิธีการ**

1. เชื้อที่มียอายุ 24 ชั่วโมงลงในอาหารเหลว nitrate broth
2. บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 48 ชั่วโมง

3. หยด sulfinilic acid และ  $\alpha$ - naphthylamine
4. ถ้าเกิดสีแดงปนตะกอนแสดงว่าผลการทดสอบเป็นบวก
5. ถ้าไม่เกิดให้เติมผงสังกะสีลงไป

#### การวิเคราะห์

ผลบวก ไม่เกิดสีเนื่องจากไนเตรตถูกรีดิวซ์เป็นไนไตรต์และไนโตรเจน

ผลลบ ถ้าเกิดสีแดงผลเป็นลบ

### 10. การทดสอบการสร้างแก๊สไฮโดรเจนซัลไฟด์ (Hydrogen sulfide (H<sub>2</sub>S) Production Test)

#### อุปกรณ์และสารเคมี

1. เข็มเขี่ยเชื้อ
2. อาหารแข็ง triple sugar iron agar (TSI)

#### วิธีการ

1. ใช้เข็มเขี่ยเชื้อแตะลงในอาหารแข็ง TSI slant โดยขีดไปขีดมาที่ผิวของพื้นเอียงแล้วแทงลงไปทั่วส่วนก้นหลอด
2. บ่มที่อุณหภูมิห้อง ตรวจสอบทุกวันจนครบ 5 วัน

#### การวิเคราะห์

ผลบวก - เกิดสีเหลืองเฉพาะที่ก้นหลอดส่วนผิวพื้นเอียงของอาหารจะมีสีแดงแสดงว่าเชื้อใช้ กลูโคสเพียงอย่างเดียว

- มีสีเหลืองเกิดขึ้นที่ผิวพื้นเอียงเนื่องจากเชื้อมีการใช้แลคโตสหรือซูโครสด้วย
- ถ้ามีการผลิต อาหารจะลอยขึ้นจากก้นหลอด ถ้าเชื้อผลิต H<sub>2</sub>S จะเกิดสีดำของเฟอร์รัสซัลไฟด์ตามรอยที่เชื้อเจริญ

## 11. การทดสอบการหมักคาร์โบไฮเดรต (Carbohydrate fermentation Test)

### อุปกรณ์และสารเคมี

1. อาหาร fermentation carbohydrate medium
2. หลอดดักแก๊ส

### วิธีการ

1. เลี้ยงเชื้อในอาหาร fermentation carbohydrate medium
2. บ่มที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง
3. ตรวจสอบผลโดยการเปลี่ยนสีของอาหารและดูการเกิดแก๊สในหลอดดักแก๊ส

### การวิเคราะห์

- ผลบวก - อาหารเปลี่ยนเป็นสีเหลือง แต่ไม่มีแก๊สในหลอดดักแก๊ส แสดงว่าเชื้อหมักคาร์โบไฮเดรตได้เฉพาะกรด
- อาหารมีสีเหลืองและแก๊สในหลอดดักแก๊ส แสดงว่าเชื้อหมักในคาร์โบไฮเดรตแล้วได้กรดและแก๊ส
- ผลลบ - อาหารไม่เปลี่ยนสีคือเป็นสีเขียว

## 12. การทดสอบการออกซิไดซ์และการหมัก (Oxidation-Fermentation Test)

### อุปกรณ์และสารเคมี

1. อาหาร Hugh and Leifson's O-F medium
2. พาราฟิน
3. หลอดดักแก๊ส

### วิธีการ

1. เลี้ยงเชื้อในอาหาร Hugh and Leifson's O-F medium ชนิดละ 2 หลอด โดยการแทงตรงลงไปในอาหาร
2. หลอดหนึ่งให้อยู่ในสภาพขาดอากาศโดยเทพาราฟินเหลวปิดผิวหน้าประมาณ 2 เซนติเมตร
3. บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง นานประมาณ 48 ชั่วโมง
4. ดูการเปรียบเทียบสีของอาหารและการเกิดแก๊ส

### การวิเคราะห์

อาหารเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นเหลือง เฉพาะหลอดที่ไม่ได้เทพาราฟิน แสดงว่าเกิด oxidation แต่ถ้าเกิดเปลี่ยนสีทั้งสองหลอด แสดงว่าเป็น fermentation

### สูตรอาหารที่ใช้ในการจำแนกเชื้อ

อาหารทุกสูตรใช้ผสมน้ำกลั่น 1 ลิตร

#### 1. Nutrient agar

Beef extract	3.0	กรัม
Peptone	5.0	กรัม
Agar	15.0	กรัม

#### 2. Motility test medium

Tryptone	10.0	กรัม
Sodium chloride	5.0	กรัม
Agar	5.0	กรัม

#### 3. Hugh and Leifson's O-F medium (pH 7.1)

Peptone	2.0	กรัม
$K_2HPO_4$	0.3	กรัม
NaCl	5.0	กรัม
Agar	3.0	กรัม
Bromthymol blue 0.2%	15.0	กรัม

#### 4. Nitrate broth

Beef extract	3.0	กรัม
Peptone	5.0	กรัม
Potassium nitrate	1.0	กรัม

#### 5. Nutrient gelatin medium

Beef extract	3.0	กรัม
Peptone	5.0	กรัม
Gelatin	120.0	กรัม

6. Tryptone broth		
Tryptone	10	กรัม
7. MR-VP medium		
Buffered Peptone	7.0	กรัม
Dipotassium phosphate	5.0	กรัม
Dextrose	5.0	กรัม
pH 6.9 ที่ 25 องศาเซลเซียส		
8. Simmons' citrate agar		
MnSO <sub>4</sub>	0.2	กรัม
(NH <sub>4</sub> )H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	1.0	กรัม
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	1.0	กรัม
NaCl	5.0	กรัม
Sodium citrate	2.0	กรัม
Bromthymol blue	0.08	กรัม
Agar	15.0	กรัม
pH 6.8		
9. Starch agar		
Beef extract	3.0	กรัม
Peptone	5.0	กรัม
Potato starch	10.0	กรัม
Agar	15.0	กรัม
10. Fermentation Carbohydrate medium		
Beef extract	3.0	กรัม
Peptone	5.0	กรัม
น้ำตาล	10.0	กรัม
(กลูโคส แล็กโตส ซูโครส)		
Bromthymol blue 1.6%	4.0	กรัม
pH 6.8-7.0		



### สารเคมีที่ใช้ในการศึกษาคุณสมบัติทางชีวเคมี

#### 1. สารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 3

H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	3.0	กรัม
H <sub>2</sub> O	100	มิลลิลิตร

#### 2. สารละลายเมทิลเรด (Methyl red)

Methyl red	0.8	กรัม
Ethanol 95%	300	มิลลิลิตร
น้ำกลั่น	200	มิลลิลิตร

#### 3. สารละลายทดสอบไนเตรต (Nitrate test solution)

สารละลาย A:

Sulfanilic acid	0.8	กรัม
5 N acetic acid	100	มิลลิลิตร

#### 4. Voges-Proskauer test solution

สารละลาย A (เก็บในขวดสีชา):

Alpha naphthol	10	กรัม
Ethanol 95%	100	มิลลิลิตร

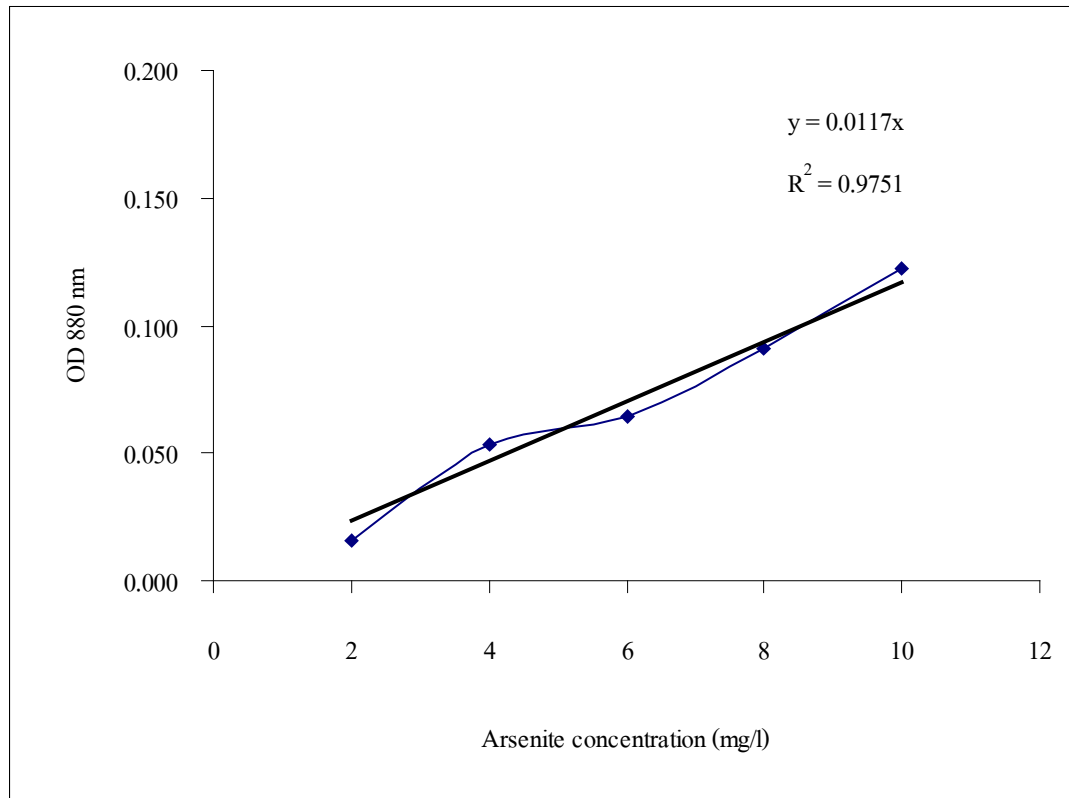
สารละลาย B:

KOH	20	กรัม
น้ำกลั่น	100	มิลลิลิตร

#### 5. Bromthymol blue 1.6%

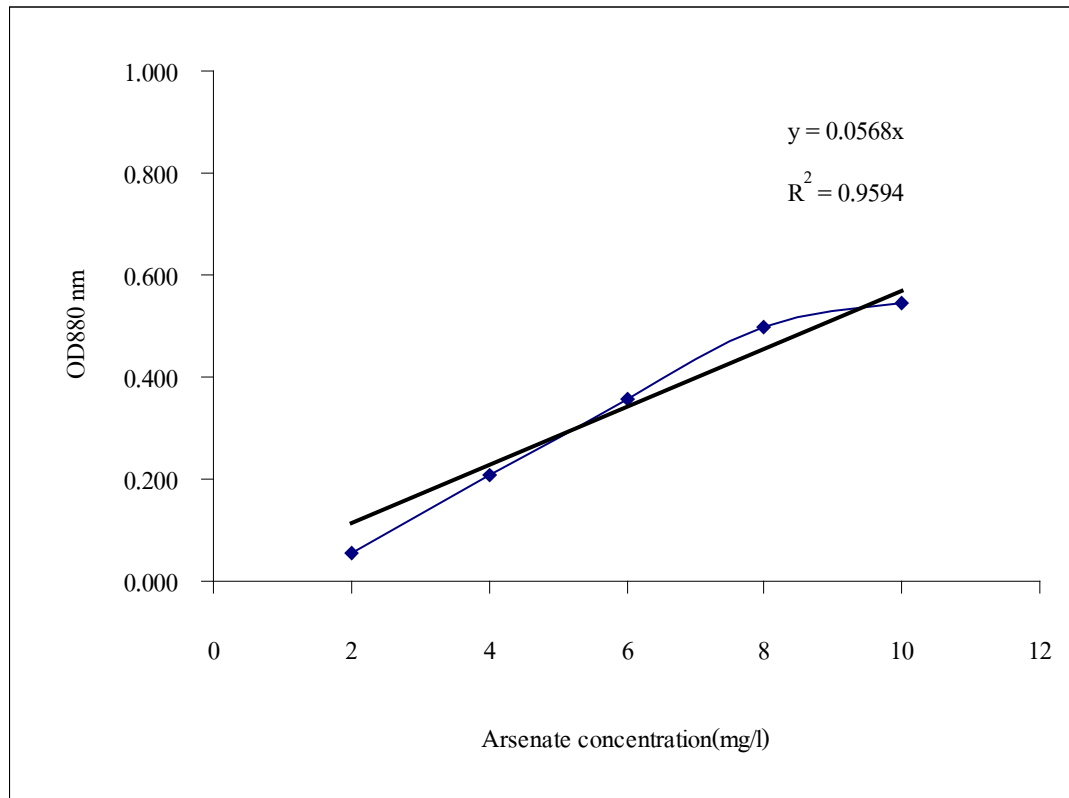
Bromthymol blue	1.6	กรัม
Ethyl alcohol	100	มิลลิลิตร

## ภาคผนวก ข



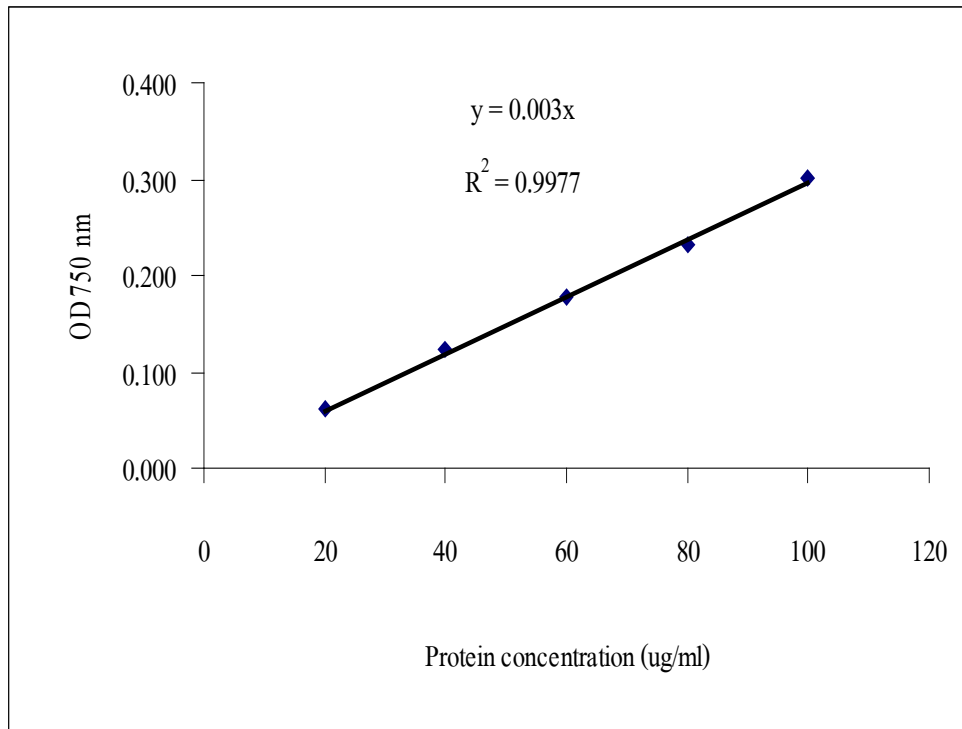
ภาพที่ 22 กราฟมาตรฐานของความเข้มข้นของอาร์เซไนต์ที่ค่าการดูดกลืนแสง 880 นาโนเมตร

Figure 22. Standard curve of arsenite concentration at optical density 880 nm.



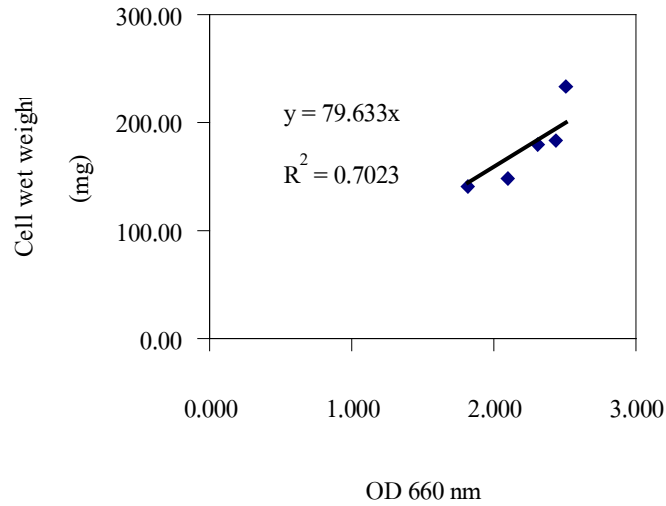
ภาพที่ 23 กราฟมาตรฐานของความเข้มข้นของอาร์เซนตที่ค่าการดูดกลืนแสง 880 นาโนเมตร

Figure 23. Standard curve of arsenate concentration at optical density 880 nm.

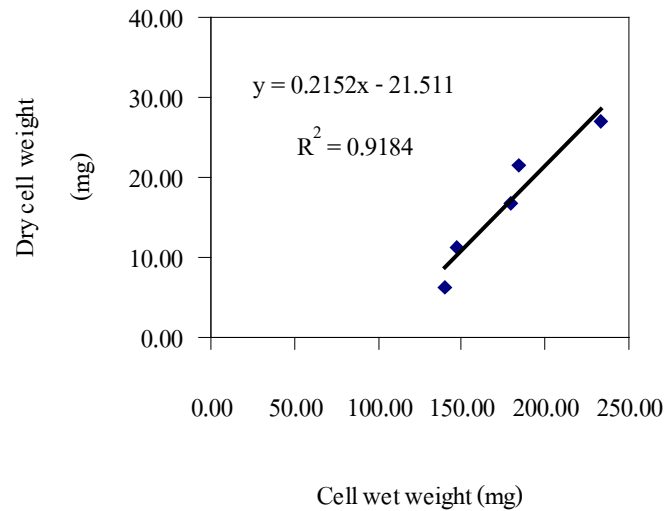


ภาพที่ 24 กราฟมาตรฐานของความเข้มข้นของโปรตีนที่ค่าการดูดกลืนแสง 750 นาโนเมตร  
Figure 24. Standard curve of protein concentration at optical density 750 nm.

A.



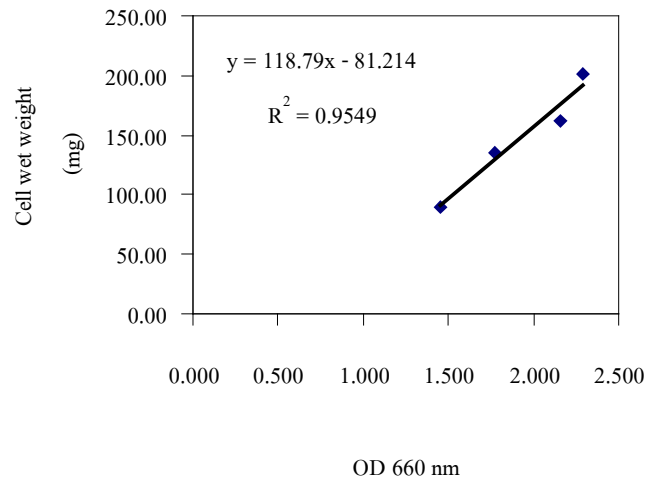
B.



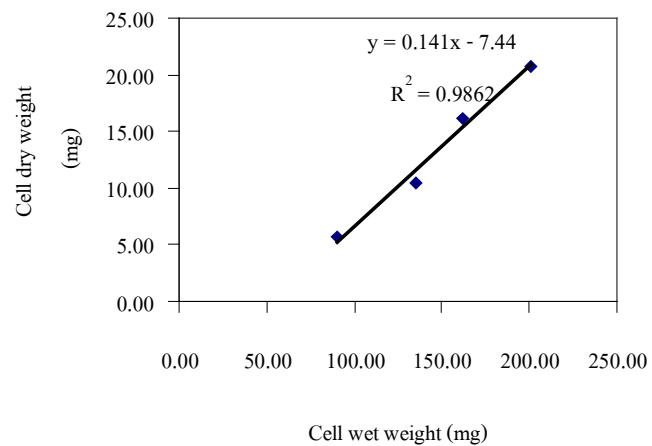
ภาพที่ 25 กราฟมาตรฐาน A: ความเข้มข้นของเชื้อจุลินทรีย์ที่ค่าการดูดกลืนแสง 660 นาโนเมตรและ น้ำหนักเซลล์เปียก (มิลลิกรัม) ของเชื้อ B-4  
 B: น้ำหนักเซลล์แห้ง (มิลลิกรัม) และน้ำหนักเซลล์เปียก (มิลลิกรัม) ของเชื้อ B-4

Figure 25. Standard curve A: cell concentration at optical density 660 nm. and wet cell weight (mg) of strain B-4.  
 B: dry cell weight (mg) and wet cell weight (mg) of strain B-4.

A.



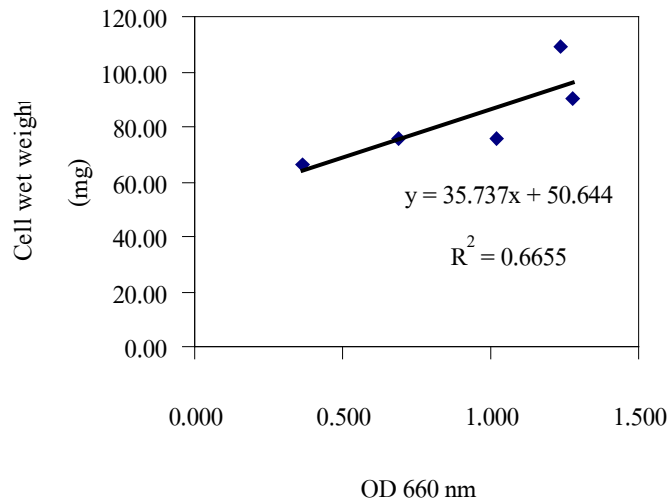
B.



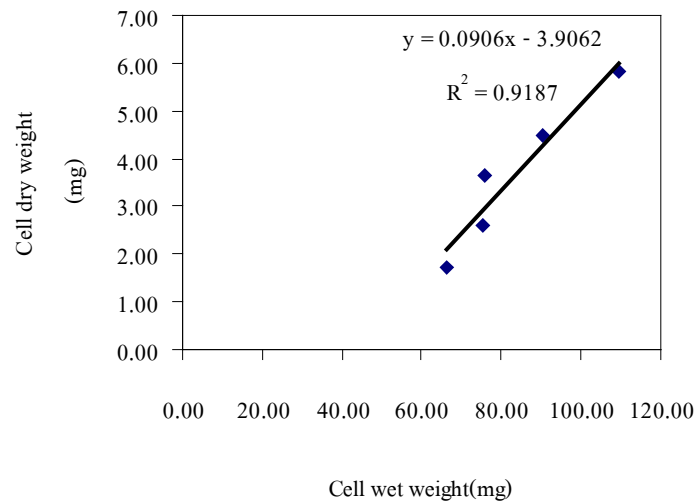
ภาพที่ 26 กราฟมาตรฐาน A: ความเข้มข้นของเชื้อจุลินทรีย์ที่ค่าการดูดกลืนแสง 660 นาโนเมตรและ น้ำหนักเซลล์เปียก (มิลลิกรัม) ของเชื้อ B-7  
B: น้ำหนักเซลล์แห้ง (มิลลิกรัม) และน้ำหนักเซลล์เปียก (มิลลิกรัม)ของเชื้อ B-7

Figure 26. Standard curve A: cell concentration at optical density 660 nm. and wet cell weight (mg) of strain B-7.  
B: dry cell weight (mg) and wet cell weight (mg) of strain B-7.

A.



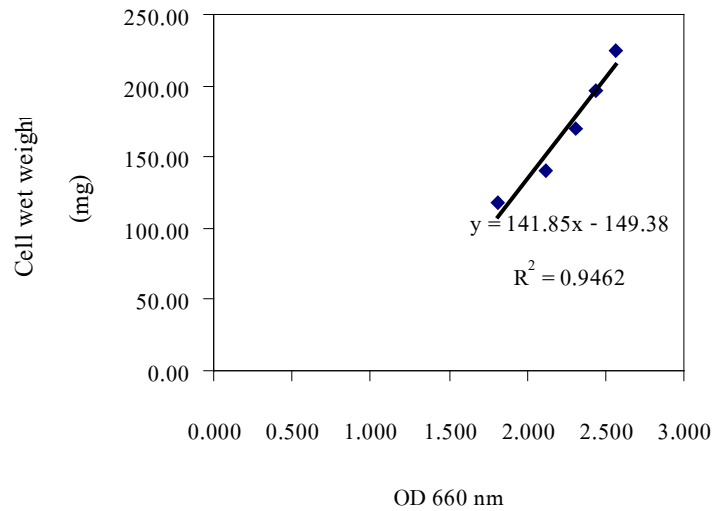
B.



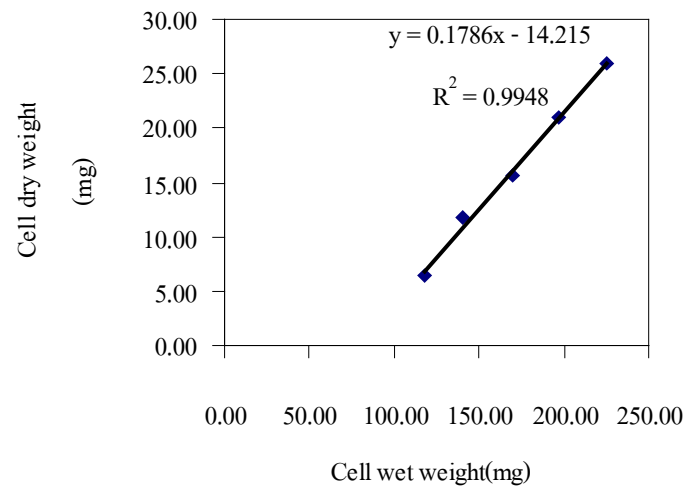
ภาพที่ 27 กราฟมาตรฐาน A: ความเข้มข้นของเชื้อจุลินทรีย์ที่ค่าการดูดกลืนแสง 660 นาโนเมตรและน้ำหนักเซลล์เปียก (มิลลิกรัม) ของเชื้อ B-8  
B: น้ำหนักเซลล์แห้ง (มิลลิกรัม) และน้ำหนักเซลล์เปียก (มิลลิกรัม) ของเชื้อ B-8

Figure 27. Standard curve A: cell concentration at optical density 660 nm, and wet cell weight (mg) of strain B-8.  
B: dry cell weight (mg) and wet cell weight (mg) of strain B-8.

A.



B.

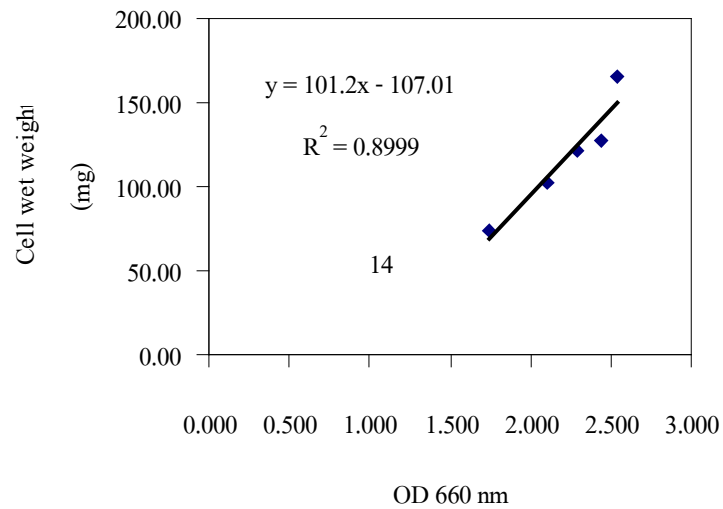


ภาพที่ 28 กราฟมาตรฐาน A: ความเข้มข้นของเชื้อจุลินทรีย์ที่ค่าการดูดกลืนแสง 660 นาโนเมตรและน้ำหนักเซลล์เปียก (มิลลิกรัม) ของเชื้อ B-10  
B: น้ำหนักเซลล์แห้ง (มิลลิกรัม) และน้ำหนักเซลล์เปียก (มิลลิกรัม) ของเชื้อ B-10

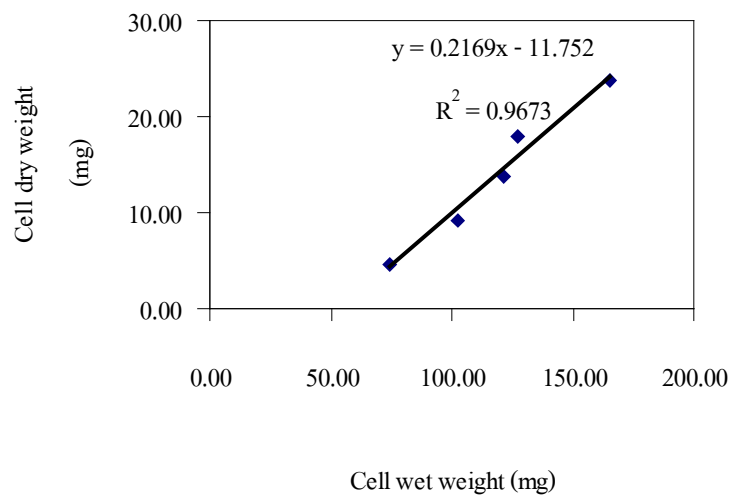
Figure 28. Standard curve A: cell concentration at optical density 660 nm. and wet cell weight (mg) of strain B-10  
B: dry cell weight (mg) and wet cell weight (mg) of strain B-10.



A.



B.



ภาพที่ 29 กราฟมาตรฐาน A: ความเข้มข้นของเชื้อจุลินทรีย์ที่ค่าการดูดกลืนแสง 660 นาโนเมตร และน้ำหนักเซลล์เปียก (มิลลิกรัม) ของเชื้อ B-13  
B: น้ำหนักเซลล์แห้ง (มิลลิกรัม) และน้ำหนักเซลล์เปียก (มิลลิกรัม) ของเชื้อ B-13

Figure 29. Standard curve A: cell concentration at optical density 660 nm, and wet cell weight (mg) of strain B-13  
B: dry cell weight (mg) and wet cell weight (mg) of strain B-13.

ตาราง 12 ผลของพีเอชเริ่มต้นของสารละลายสารหนูต่อการลดลงของสารหนู  
 Table 12. Effect of initial pH on arsenic removal.

pH	Arsenic adsorbed on biomass (x100 mg/g biomass)				
	B-4	B-7	B-8	B-10	B-13
4	26.41±6.08 <sup>a</sup>	15.61±11.80 <sup>a</sup>	12.84±10.05 <sup>a</sup>	14.52±3.08 <sup>a</sup>	14.65±8.10 <sup>a</sup>
5	28.07±11.01 <sup>a</sup>	15.26±4.00 <sup>a</sup>	8.54±10.60 <sup>a</sup>	18.27±8.51 <sup>a</sup>	8.57±5.35 <sup>a</sup>
6	30.22±15.05 <sup>b</sup>	13.59±1.11 <sup>a</sup>	17.48±21.04 <sup>a</sup>	9.71±2.97 <sup>a</sup>	2.10±1.27 <sup>a</sup>
7	44.04±10.31 <sup>a</sup>	13.43±8.20 <sup>a</sup>	7.03±3.88 <sup>a</sup>	11.87±7.16 <sup>a</sup>	4.11±0.87 <sup>a</sup>
8	19.81±4.70 <sup>a</sup>	18.63±6.35 <sup>a</sup>	9.26±9.59 <sup>a</sup>	28.17±10.98 <sup>a</sup>	16.93±4.10 <sup>a</sup>

a, b and c: statistically significantly difference with p value < 0.05.

ตาราง 13 ผลของอุณหภูมิต่อการลดลงของสารหนู  
 Table 13. Effect of temperature on arsenic removal.

Temperature (°C)	Arsenic adsorbed on biomass (x100 mg/g biomass)				
	B-4	B-7	B-8	B-10	B-13
25	27.95±12.90 <sup>a</sup>	9.08±3.29 <sup>a</sup>	4.67±3.29 <sup>ab</sup>	8.32±8.93 <sup>a</sup>	0.83±2.80 <sup>a</sup>
30	25.10±0.80 <sup>a</sup>	13.18±6.82 <sup>a</sup>	16.83±6.60 <sup>b</sup>	12.71±7.12 <sup>a</sup>	2.95±1.37 <sup>a</sup>
37	18.40±0.20 <sup>a</sup>	13.19±1.02 <sup>a</sup>	13.28±3.97 <sup>bc</sup>	8.18±6.22 <sup>a</sup>	0.28±2.27 <sup>a</sup>
45	13.84±2.55 <sup>a</sup>	7.96±5.37 <sup>a</sup>	3.87±2.82 <sup>c</sup>	6.92±9.49 <sup>a</sup>	4.43±1.70 <sup>a</sup>

a, b and c: statistically significantly difference with p value < 0.05.

ตาราง 14 ผลของระยะเวลาในการดูดซับต่อการลดลงของสารหนู

Table 14. Effect of adsorption time on arsenic removal.

Contact time (hours)	Arsenic adsorbed on biomass (x100 mg/g biomass)				
	B-4	B-7	B-8	B-10	B-13
2	11.94±9.21 <sup>a</sup>	5.64±4.84 <sup>a</sup>	8.38±4.14 <sup>a</sup>	7.89±4.84 <sup>abc</sup>	8.03±7.38 <sup>a</sup>
4	15.30±6.72 <sup>a</sup>	6.75±3.30 <sup>a</sup>	12.20±8.31 <sup>a</sup>	10.44±4.37 <sup>abc</sup>	5.23±4.12 <sup>a</sup>
8	11.79±9.21 <sup>a</sup>	6.72±2.39 <sup>a</sup>	6.41±0.27 <sup>a</sup>	14.14±0.57 <sup>b</sup>	5.40±3.31 <sup>a</sup>
12	27.95±12.90 <sup>a</sup>	13.18±6.82 <sup>b</sup>	22.44±2.53 <sup>b</sup>	12.71±7.12 <sup>bc</sup>	2.95±1.37 <sup>a</sup>
16	13.16±1.74 <sup>a</sup>	9.65±2.07 <sup>ab</sup>	7.39±3.89 <sup>a</sup>	3.44±1.63 <sup>a</sup>	6.93±4.70 <sup>a</sup>
24	15.52±0.45 <sup>a</sup>	8.02±3.67 <sup>ab</sup>	3.91±1.31 <sup>a</sup>	4.57±4.44 <sup>ab</sup>	10.66±2.02 <sup>a</sup>

a, b and c: statistically significantly difference with p value < 0.05.

ตาราง 15 ผลของความเข้มข้นเริ่มต้นของสารหนูต่อการลดลงของสารหนู

Table 15. Effect of arsenic concentration on arsenic removal.

Arsenic concentration (mM)	Arsenic adsorbed on biomass(x100 mg/g biomass)				
	B-4	B-7	B-8	B-10	B-13
40	22.14±5.59 <sup>b</sup>	10.77±4.82 <sup>a</sup>	12.23±5.21 <sup>b</sup>	17.98±6.58 <sup>b</sup>	23.47±0.56 <sup>b</sup>
60	12.10±2.99 <sup>a</sup>	8.80±10.03 <sup>a</sup>	9.91±6.82 <sup>a</sup>	5.98±3.46 <sup>a</sup>	11.73±5.76 <sup>a</sup>
80	9.19±3.80 <sup>a</sup>	21.49±14.97 <sup>a</sup>	13.81±9.25 <sup>ab</sup>	6.42±1.79 <sup>a</sup>	11.64±5.99 <sup>a</sup>

a, b and c: statistically significantly difference with p value < 0.05.

ตาราง 16 ผลของปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ต่อการลดลงของสารหนู

Table 16. Effect of cell concentration on arsenic removal.

Cell concentration (mg/l)	Arsenic adsorbed on biomass (x100 mg/g biomass)				
	B-4	B-7	B-8	B-10	B-13
0.5	20.44±5.16 <sup>a</sup>	31.54±15.95 <sup>a</sup>	42.60±22.03 <sup>a</sup>	13.98±4.58 <sup>a</sup>	19.77±6.34 <sup>a</sup>
1.0	19.87±7.86 <sup>a</sup>	24.27±17.52 <sup>a</sup>	18.20±17.40 <sup>a</sup>	9.58±7.05 <sup>a</sup>	16.96±3.00 <sup>a</sup>
1.5	21.92±7.26 <sup>a</sup>	10.43±2.96 <sup>a</sup>	40.26±7.20 <sup>a</sup>	8.10±1.13 <sup>a</sup>	17.61±3.94 <sup>a</sup>
2.0	28.49±5.09 <sup>a</sup>	29.25±18.62 <sup>a</sup>	22.06±12.77 <sup>a</sup>	8.73±6.73 <sup>a</sup>	18.20±6.64 <sup>a</sup>

a, b and c: statistically significantly difference with p value < 0.05.

ตาราง 17 ประสิทธิภาพการนำตัวดูดซับกลับมาใช้ใหม่

Table 17. Biosorbent regeneration efficiency (%).

Cycles	Biosorbent regeneration efficiency (%)				
	B-4	B-7	B-8	B-10	B-13
1	40.63±26.84 <sup>a</sup>	21.99±12.66 <sup>a</sup>	21.77±0.81 <sup>a</sup>	37.62±16.87 <sup>a</sup>	45.30±27.32 <sup>a</sup>
2	56.00±28.05 <sup>a</sup>	79.31±14.11 <sup>a</sup>	60.77±8.98 <sup>a</sup>	56.63±13.66 <sup>a</sup>	73.74±11.42 <sup>a</sup>
3	26.39±6.07 <sup>a</sup>	68.28±20.15 <sup>a</sup>	66.97±11.20 <sup>a</sup>	59.30±28.00 <sup>a</sup>	40.55±20.66 <sup>a</sup>

a, b and c: statistically significantly difference with p value < 0.05.

ตาราง 18 ประสิทธิภาพการปลดปล่อยสารหนู  
 Table 18. Arsenic desorption efficiency (%).

Cycles	Arsenic desorption efficiency (%)				
	B-4	B-7	B-8	B-10	B-13
1	21.76±12.69 <sup>a</sup>	22.73±13.50 <sup>a</sup>	29.57±15.50 <sup>a</sup>	22.90±17.43 <sup>a</sup>	33.57±25.49 <sup>a</sup>
2	29.11±31.82 <sup>a</sup>	28.74±18.49 <sup>a</sup>	28.39±14.73 <sup>a</sup>	23.71±21.31 <sup>a</sup>	18.02±5.57 <sup>a</sup>
3	26.44±17.90 <sup>a</sup>	38.07±16.92 <sup>a</sup>	38.44±19.31 <sup>a</sup>	20.19±18.31 <sup>a</sup>	22.09±9.74 <sup>a</sup>

a, b and c: statistically significantly difference with p value < 0.05.

ตารางที่ 19 การเทียบเคียงชื่อแบคทีเรียที่คัดแยกได้ (B-7, B-8 และ B-10)

Table 19. Identification of isolated bacteria (B-7, B-8 and B-10)

Phylogenetic affiliation	Related species	Accession no.	Similarity (%)	Isolated bacteria
Actinobacteria	<i>Microbacterium oxydans</i> strain S28n	AY509223.1	97	B-7
	<i>Microbacterium</i> sp. B-2033	DQ347557.1	97	
	<i>Microbacterium paraoxydans</i> strain C57-33	AJ581908.1	97	
	<i>Actinobacterium</i> RG-63	AY561622.1	97	
	<i>Microbacterium maritopicum</i> strain DSM 12512T	AJ853910.1	96	
Betaproteobacteria	<i>Achromobacter</i> sp. LMG 5911	AY170848.1	99	B-8
	Arsenite-oxidizing bacterium BEN-4	AY027504.1	99	
	Bacterium RRP-E5	AJ536691.1	99	
	<i>Alcaligenes faecalis</i> isolate 5659-H	AJ509012.1	99	
	<i>Alcaligenes</i> sp. isolate 159	AJ002804.1	99	
Alphaproteobacteria	<i>Ochrobactrum anthropi</i> isolate CLF19	AF526523.2	97	B-10
	<i>Ochrobactrum cytisi</i> strain 6zhy	AM411072.1	97	
	<i>Ochrobactrum</i> sp. 1605	DQ989292.1	97	
	<i>Ochrobactrum lupini</i>	AY457038.2	97	
	<i>Ochrobactrum tritici</i> strain CCUG 29689	AM114403.1	97	

TTCGCAGATACGCAGCGTATCATGCAGTCGTACAGGTAGCCGTATATGNTCTGTGGTATCAGTGGCGAA  
 CGGGTGAGTAACACGTGAGCAACCTGCCCTGACTCTGGGATAAGCGCTGGAAACGGCGTCTAATACTG  
 GATATGTGACGTGACCGCATGGTCTGCGTTTGGAAAAGATTTTTTCGGTTGGGGATGGGCTCGCGGCCTAT  
 CAGCTTGTGGTGAGGTAATGGCTCACCAAGGCGTCAACGGGTAGCCGTACTGAGAGGGTGACCGGCCA  
 CACTGGGACTGAGACACGGCCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCACAATGGGCGGA  
 AGCCTGATGCAGCAACGCCGCGTGAGGGATGACGGCCTTCGGGTTGTAAACCTCTTTTAGCAGGGAAGA  
 AGCGAAAGTGACGGTACCTGCAGAAAAAGCGCCGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAG  
 GCGCAAGCGTTATCCGGAATTATTGGGCGTAAAGAGCTCGTAGGCGGTTTGTGCGCTCTGCTGTGAAA  
 TCCCAGAGGCTCAACCTCGGGCCTGCAGTGGGTACGGGCAGACTAGAGTGCGGTAGGGGAGATTGGAATT  
 CCTGGTGTAGCGGTGGAATGCGCAGATATCCAGAAGGAACACCGATGGCCGAAGGCCAAGATCTCTGGG  
 CCGTTAACTGACGCTGAAGAGCGAAAAGGGTGGGGAGCAAACAGGCTTAGGAGTACCATGGTATGTCCA  
 CCCCCTAAACGTTGCAGAACTTAGTTCAGGAGTCCAGTCCACTGGGCCATTCCGTGACGCAGCTAACGC  
 ACTTAAGATCCTCCGAAAATGGGGAGAACGGCACGCAAGGCATTAGAATCAACTGTAACGTCGTGAAGA  
 CTCACAATCTGCAGGGCAGAGGCAGTAATGAGGTCCAGGACTTCGATCTTGACCAAGACGTGACAGTAT  
 AGGGGACCTGGGCCAGTAAGTAAATAAGATTTAGGCCAGTCGAGAACATATGGTACAGGGTGGTGGTCA  
 GAACTTATCTGGGGATGGTTGTATAAGTCGGGCACACGATCTCAACCCGCGAAAGAGGTTGCCAACCG  
 AAGTGGTGGGTACTTCACGCAGCCTGCCGGGTCAATGTAGGAGGAAGGTGGGGAAGATATCAAATCGT  
 CAGCGCCCCGTAGGAGTAGGGTTCGAGGTATAGTACAATGCGCGGGTGCATGATGATCGCAGAACAGGA  
 AGGGAGAATGGATCCCAAAGAAGCGCGGTCCCCGTTAGGAATTAGGTCTGCAAATGGGGCGGATCAGAA  
 GTGCGGATGAATATTGTAACCCCAAGTGGGCACAGGGGATATGAACAGGTTTCCCGGAGTGATACTCAC  
 GCAACAAGGCAAAGTACTTCAAGCGNGATACANCANGNANNNTTATAGANTTTATCNNGCTCNTTCCTA  
 GAGTTTTGTATTCTGGG

ภาพที่ 30 ลำดับเบส 16S rDNA ของเชื้อ B-7

Figure 30. 16S rDNA base sequences of isolated bacteria B-7.

NNCCGATANNNNNNNNGGGATGGCAGCATAACNTGCAGNTCGAACGGCAGCACGGACTTCGGTCTGGTG  
 GCGAGTGGCGAACGGGTGAGTAATGTATCGGAACGTGCCTAGTAGCGGGGGATAACTACGCGAAAGCGT  
 AGCTAATACCGCATAACGCCCTACGGGGGAAAGCAGGGGATCGCAAGACCTTGCCTATTAGAGCGGCCG  
 ATATCGGATTAGCTAGTTGGTGGGGTAACGGCTCACCAAGGCGACGATCCGTAGCTGGTTTGAGAGGAC  
 GACCAGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATTTTGGACA  
 ATGGGGAAACCCTGATCCAGCCATCCCCTGTGCGATGAAGGCCCTTCGGGTTGTAAAGCACTTTTGG  
 CAGGAAAGAAACGTCATGGGCTAATACCCCGTGAAACTGACGGTACCTGCAGAATAAGCACCGGCTAAC  
 TACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGGTGAAGCGTTAATCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGTGC  
 GCAGGCGGTTTCGAAAGAAAGATGTGAAATCCCAGAGCTTAACTTTGGAAGTGCATTTTTAACTACCGA  
 GCTAGAGTGTGTGAGAGGGAGGTGGAATTCGCGTGTAGCAGTGAAATGCGTAGATATGCGGAGGAACA  
 CCGATGGCGAAGGCAGCCTCCTGGGATAACACTGACGCTCATGCACGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGA  
 TTAGATAACCTGGTAGTCCACGCCCTAAACGATGTCAACTAGCTGTTGGGGCCTTCGGGCCTTGGTAGC  
 GCAGCTAACCGGTGAAGTTGACCGCCTGGGGAGTACGGTCGNCAAGATTTAAACTCAAAGGAATTGACG  
 GGGACCCGCACAAGCGGTGGATGATGTGGATTAATTCGATGCAACGCGAAAAACCTTACCTACCCTTGA  
 CATGTCTGGAATTCGGAAGAGATTTGGAAGTGCTCGCAAGAGAACCAGGACACAGGTGCTGCATGGCTG  
 TCGTCAGCTCGTGTGAGATGTTGGGTAAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTGTATTAGTTGCTA  
 CGAAAGGGCACTCTAATGAGACTGCCGGTGACAAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCCTCAT  
 GGCCCTTATGGGTAGGGCTTCACACGTCATACAATGGTCGGGACAGAGGGTCGCCAACCCGCGAGGGGG  
 AGCCAATCCCAGAAACCCGATCGTAGTCCGGATCGCAGTCTGCAACTCGACTGCGTGAAGTCGGAATCG  
 CTAGTAATCGCGGATCAGCATGTCGCGGTGAATACGTTCCCGGGTCTTGTACACACCGCCCGTCACACC  
 ATGGGAGTGGGTTTTACCAGAAGTAGTTAGCCTAACCGAAGGGGGCATACCCTGAGTCAGAGCCCTGAN

ภาพที่ 31 ลำดับเบส 16S rDNA ของเชื้อ B-8

Figure 31. 16S rDNA base sequences of isolated bacteria B-8.



GGGGAGCGCGCTACCTCAGTCAGGCCCGCAGGGGAGCGGCAGACGGGTGAGTAACGCGTGGGAACGTAC  
 CTTTTGCTACGGAATAACTCAGGGAACTTGTGCTAATACCGTATGTGCCCTTCGGGGGAAAGATTTAT  
 CGGCAAAGGATCGGCCCGCGTTGGATTAGCTAGTTGGTGAGGTAAAGGCTCACCAAGGCGACGATCCAT  
 AGCTGGTCTGAGAGGATGATCAGCCACACTGGGACTGAGACACGGGCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCA  
 GTGGGGAATATTGGACAATGGGCGCAAGCCTGATCCAGCCATGCCGCGTGAGTGATGAAGGCCCTAGGG  
 TTGTAAAGCTCTTTACCCGGTGAAGATAATGACGGTAACCGGAGAAGAAGCCCCGGCTAACTTCGTGCC  
 AGCAGCCGCGGTAATACGAAGGGGGCTAGCGTTGTTCCGATTTACTGGGCGTAAAGCGCACGTAGGCGG  
 ACTTTTAAAGTCAGGGGTGAAATCCCGGGCTCAACCCCGGAACTGCCTTTGATACTGGAAGTCTTGAGT  
 ATGGTAGAGGTGAGTGGAATTCCGAGTGCAGAGGCGAAATTCGTAGATATTCGGAGGAACACCAGCGGC  
 GAAGGCGGCTCACTGGATCCATTAATGACGCTGAGAGTGCGAAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGAC  
 ACCCTGGTAGTGACGCTCATAAACGATGAATGCTAGCCGTTGGGGAGTATACTATTCGGTGGAGCAGT  
 TAACGCATTAACATTCCGCCTGGGGAGTACGGTCGCAAGATTA AAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCC  
 CGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCAACGCGCAGAACCTTACCAGCCCTTGCCATACC  
 GGTGCGGGACACAGAGATGTGTCTTTTCAGTTCCGGCTGGTCCGGATACAGGTGCTGCATGGCTGTGCTCA  
 GCTCGTGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCCTCGCCGTTAGTTGCCAGCATT  
 AGTTGGGCACTTTAAGGGGACTGCTGGTGATAAGCTGAGAGGAAGGTGGGGATGCCGTC AAGTCTTCAT  
 GTGCCCTTTCCGGCTGGGCTACACACGCTGCTTCAAAGGTGGTGACAGTGGGCAAGCGACCACGAGATG  
 TGTGACGCTAATCTAACAATACAGCCATATGCAGTTCTGGATCTGCACATGTGACATACCTGAGACGTG  
 CCACTGAACGTCCGGAATCGGACTAAGTAATCGGCGTGGATGCACGCAGAAGCTCAGGCGAAGTGCTGT  
 TTTCCGGGCGTTGTACACACCTCCTGTACAGCCAAGGGAGCTTGGTCTTACCCTGAAGCGCGTCTGTC  
 CTAACNCGCAGCGATGCAGGCTGCNCGCTGCGGTACTGTTGCCCCC

ภาพที่ 32 ลำดับเบส 16S rDNA ของเชื้อ B-10

Figure 32. 16S rDNA base sequences of isolated bacteria B-10.