# การประเมินประสิทธิภาพของแบคทีเรียและชีวภัณฑ์ในการลดความเป็นพิษของอาร์เซนิกในดิน

# Efficiency Evaluations of Bacteria and Bio-products in Reducing Arsenic Toxicity in Soils

**กนกขวัญ ปัญญาสิทธิ์ ยุพา จอมแก้ว และ อรวรรณ ฉัตรสีรุ้ง***

Kanokkwan Panyasite, Yupa Chromkaew and Arawan Shutsrirung*

*ภาควิชาพืชศาสตร์และปฐพีศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จ. เชียงใหม่ 50200*

*Department of Plant and Soil Sciences, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200, Thailand*

**Corresponding author: Email: arawan.s@cmu.ac.th*

*(Received: 17 December 2018; Accepted: 15 March 2019)*

**Abstract**: Microbial reduction of arsenic (As) plays an important role in arsenic (As) detoxification in contaminated soils. Arsenic reducing microorganisms i.e. isolate BPAs17 and FPAs24 were isolated from arsenic-contaminated soils, exhibited high potential in As resistance. In this study, therefore, the two isolates were used to test their effectiveness in soil-arsenic reduction. Preliminary study showed that liming for pH adjustment together with microbial application resulted in As reduction in all the treatments. Liming with BPAs17 application gave the highest reduction of As in soil. Therefore, isolate BPAs17 was used to evaluate its survival in three types of carriers. The results showed that mixed media (MMC) gave the highest BPAs17 population at all stages of incubation. From the results of the experiments, isolate BPAs17 was selected to mix with MMC to produce bio-product prototype. The bio-product was then used to test its effectiveness to reduce As in soils with initial As concentration of 50 mg/kg. The results showed that soil pH adjustment with the application of bio-product gave the highest reduction of As at both 7 and 30 days after incubation with the reduced values of only 24.7 and 20.8 mg/kg, respectively (reduction percentage of -50.6 and -58.5% , respectively). The results of the present investigation indicated that bio-product prototype could be applied for management of As contaminated soils.

**Keywords**: Arsenic reducing microorganisms, arsenic contaminated soils, microbial carrier, bio-product



Copyright @ Journal of Agriculture, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University. All rights reserved.

**บทคัดย่อ**: การลดความเข้มข้นของอาร์เซนิก (As) โดยใช้จุลินทรีย์มีบทบาทสำคัญในการลดความเป็นพิษของ As ในดินปนเปื้อน จุลินทรีย์ลด As คือไอโซเลท BPAs17 และ FPAs24 ที่แยกได้จากดินปนเปื้อน As มีความสามารถสูงในการต้านทาน As ในการทดลองครั้งนี้จึงได้นำสองไอโซเลทนี้ มาทดสอบประสิทธิภาพในการลดปริมาณ As ในดิน ผลการทดลองเบื้องต้น พบว่า การใส่ปูนเพื่อปรับค่า pH ร่วมกับการใช้จุลินทรีย์ส่งผลให้ค่า As ลดลงในทุกกรรมวิธี โดยกรรมวิธีที่สามารถลด As ได้มากที่สุด คือ การใส่ปูนกับเชื้อ BPAs17 จึงได้เลือกไอโซเลทนี้มาทดสอบความอยู่รอดในวัสดุรองรับสามชนิด พบว่า mixed media (MMC) ให้จำนวนประชากรของ BPAs17 สูงสุดในทุกระยะการบ่ม จากผลการทดลองนี้จึงได้นำไอโซเลท BPAs17 มาผสมกับ MMC เพื่อผลิตเป็นชีวภัณฑ์ต้นแบบ แล้วนำไปทดสอบประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์ในการลด As ในดินที่มีค่า As เริ่มต้นที่ 50 mg/kg พบว่า กรรมวิธีการปรับ pH ดินร่วมกับการใช้ชีวภัณฑ์ทำให้ลดค่า As ได้มากที่สุด ทั้งที่ระยะ 7 และ 30 วัน หลังการบ่มเชื้อ คือ มีค่าเหลือเพียง 24.7 และ 20.8 mg/kg (ลดลง -50.6 และ -58.5% ตามลำดับ) ผลการทดลองนี้ชี้ให้เห็นว่าชีวภัณฑ์ต้นแบบสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการจัดการดินที่ปนเปื้อน As ได้

**คำสำคัญ**: จุลินทรีย์ลดอาร์เซนิก ดินปนเปื้อนอาร์เซนิก วัสดุรองรับหัวเชื้อจุลินทรีย์ ชีวภัณฑ์

## คำนำ

สารหนู หรือ อาร์เซนิก (arsenic) เป็นธาตุกึ่งโลหะ (metalloid) มีสัญลักษณ์ทางเคมี คือ As เลขอะตอมเท่ากับ 33 มวลอะตอมเท่ากับ 74.92 อาร์เซนิกเป็นธาตุหนึ่งที่มีความเป็นพิษและตกค้างในดินเป็นเวลานาน ทั้งธาตุและสารประกอบของอาร์เซนิกมีพิษมาก เมื่อเข้าไปในร่างกายในระดับเกินค่ามาตรฐาน (0.01 mg/kg) จะเกิดอาการเป็นพิษอาร์เซนิกเรื้อรัง ได้แก่ ผลต่อระบบผิวหนัง ทำให้ผิวหนังหนาแข็งและเปลี่ยนสีที่เป็นลักษณะเฉพาะโรค ผื่นที่ตุ่มตามฝ่ามือฝ่าเท้าจนกระทั่งอาจกลายเป็นมะเร็งผิวหนัง ทำให้มีอาการชาจากความผิดปกติของเส้นประสาท ผลต่อระบบโลหิต ทำให้เป็นโรคโลหิตจาง แต่ถ้าได้รับอาร์เซนิกในปริมาณมากอยู่ในช่วง 1.5-500 mg/kg ของน้ำหนักตัวส่งผลทำให้เสียชีวิตได้ (Toxicology Information Center, 2002) อาร์เซนิกที่พบในธรรมชาติโดยทั่วไปมี 4 รูปแบบ ได้แก่ อาร์ซิเนท [arsenate, As(+5)] อาร์ซิไนท์ [arsenite, As(+3)] อาร์เซนิก [arsenic, As(0)] และ อาร์ซีน [arsine, As(-3)] (Sharma and Sohn, 2009) สารประกอบของอาร์เซนิก ได้แก่ อาร์เซนิกอินทรีย์ (organic arsenic) และ อาร์เซนิกอนินทรีย์ (inorganic arsenic) ซึ่งอาร์เซนิกอนินทรีย์ จะมีพิษร้ายแรงกว่า ธาตุอาร์เซนิกบริสุทธิ์ (As) และ อาร์เซนิกอินทรีย์ อาร์เซนิกอนินทรีย์ส่วนใหญ่พบในแหล่งโรงงานอุตสาหกรรมที่ใช้อาร์เซนิกและแหล่งที่มีการใช้สารกำจัดศัตรูพืช ตลอดจนในบริเวณพื้นที่มีกิจกรรมการถลุงแร่ (Pollution Control Department, 1998) สารประกอบอาร์เซนิกอนินทรีย์แบ่งเป็น 2 กลุ่ม ได้แก่ 1) สารประกอบเวเลนซ์สาม (trivalent compound) เช่น arsenic trioxide ($As_2O_3$) sodium arsenite ($NaAsO_2$) และ arsenic trichloride ($AsCl_3$) 2) สารประกอบเวเลนซ์ห้า (pentavalent compound) เช่น arsenic pentoxide ($AsO_5$) และ arsenic acid ($H_3AsO_4$) การปนเปื้อนอาร์เซนิกในสิ่งแวดล้อม ส่วนมากมาจากการถลุงแร่ การเผาไหม้ถ่านหิน สารเคมีทางการเกษตร ยารักษาเนื้อไม้ สารเคมีที่ใช้กับปศุสัตว์ และการเผาขยะ ซึ่งมีปริมาณการปล่อยสารอาร์เซนิกรวมกันถึงปีละหลายหมื่นตัน (Matschullat, 2000) ซึ่งตามมาตรฐานของค่าโลหะหนักในดินเพื่อการเพาะปลูกของประเทศไทยกำหนดให้ค่าอาร์เซนิกทั้งหมด (total As) ไม่เกิน 3.9 mg/kg ต่อน้ำหนักดินแห้ง (Center of Excellence on Hazardous Substance Management, 2007) เทคโนโลยีการลดปริมาณสารพิษตกค้างและฟื้นฟูดินที่ปนเปื้อนโลหะหนักมีหลายวิธีการ เช่น วิธีการทางชีวภาพ และ วิธีการทางเคมีและฟิสิกส์ เป็นต้น โดยวิธีทางชีวภาพนั้นได้รับความนิยมอย่างมากในปัจจุบัน เนื่องจากเป็นเทคโนโลยีที่ใช้กระบวนการย่อยสลายตามธรรมชาติของสิ่งมีชีวิต ได้แก่ จุลินทรีย์ พืช หรือวัสดุชีวภาพในการบำบัดสารมลพิษที่ปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อม ใช้ต้นทุนต่ำและเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม มีการศึกษาวิจัยที่ใช้แบคทีเรียและเชื้อรา ที่สามารถบำบัดอาร์เซนิก ได้แก่

สกุล *Aspergillus, Trichoderma, Staphylococcus, Pseudomonas* และ *Thiobacillus ferrooxidans* (Nateewattana, 2012; Khummalai *et al*., 2000)

อาร์เซนิกในดินทางการเกษตรบนพื้นที่สูงทางภาคเหนือของประเทศไทย มีความเข้มข้นสูงกว่าค่ามาตรฐาน (ไม่เกิน 3.9 mg/kg) (Shutsrirung, 2012) ในพื้นที่เกษตรดังกล่าวนี้ เกษตรกรมีการใช้สารเคมีเกษตรในปริมาณสูง และคาดว่าจะเป็นแหล่งหลักที่ทำให้ดินเกิดการปนเปื้อนอาร์เซนิก ดินชั้นบนที่มีอาร์เซนิกสูงโดยเฉพาะดินบริเวณรอบรากพืชมีแนวโน้มทำให้ปริมาณอาร์เซนิกในพืชเพิ่มขึ้นจึงทำให้มีความเสี่ยงสูงที่จะส่งผลด้านลบต่อสุขภาพของมนุษย์ ผลการวิจัยของ Shutsrirung (2016) ซึ่งได้คัดกรองจุลินทรีย์กลุ่มแบคทีเรียและเชื้อราจากพื้นที่ ที่มีการปนเปื้อนของสารเคมีกำจัดศัตรูพืช และ โลหะหนัก โดยนำจุลินทรีย์ที่แยกได้มาทดสอบความต้านทานต่อสารเคมีกำจัดศัตรูพืชและโลหะหนัก 2 ชนิด คือ โซเดียมอาเซไนท์ ($NaAsO_2$) และแคดเมียมคลอไรด์ ($CdCl_2$) โดยทำการทดสอบในอาหารเหลว ผลการวิจัยสรุปว่า แบคทีเรียไอโซเลท 17 (BPAs17) มีความสามารถเจริญได้ที่ระดับความเข้มข้นสูงสุดของ $NaAsO_2$ และ $CdCl_2$ เท่ากับ 500 mg/L และเชื้อราไอโซเลท 24 (FPAs24) เจริญเติบโตได้ใน $NaAsO_2$ ความเข้มข้นสูงสุดถึง 1000 mg/L และ $CdCl_2$ ถึงความเข้มข้น 250 mg/L จุลินทรีย์ทั้งสองไอโซเลทนี้จึงมีศักยภาพสูงในการนำมาการประยุกต์ใช้เพื่อลดอาร์เซนิกในดินและในพืช อย่างไรก็ตามการนำจุลินทรีย์ในภาคสนามส่วนใหญ่จะใช้ในรูปหัวเชื้อจุลินทรีย์ ซึ่งผลิตโดยมีวัสดุรองรับผสมกับจุลินทรีย์คัดเลือกเพื่อให้จุลินทรีย์มีชีวิตอยู่รอดในดินได้นาน วัสดุรองรับหัวเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้กันอย่างแพร่หลายและถือว่าเป็นวัสดุมาตรฐานคือ พีท (peat) เนื่องจากเป็นวัสดุอินทรีย์ธรรมชาติที่จุลินทรีย์สามารถมีความอยู่รอดได้นานและมีปริมาณสูง อย่างไรก็ตาม ในปัจจุบันพีทเป็นวัสดุราคาแพงและหายากในหลายประเทศ จึงมีการนำเอาวัสดุหลายประเภทมาทดสอบเป็นวัสดุรองรับแทนพีท เช่น ไบโอชาร์ (biochar) ลีโอนาร์ไดท์ (leaonardite) และเพอร์ไลท์ (perlite) เป็นต้น ไบโอชาร์ (biochar) คือ วัสดุที่คล้ายถ่านซึ่งผลิตโดยการเผาชีวมวลโดยกระบวนการ pyrolysis ซึ่งเป็นการเผาภายใต้สภาพไร้ออกซิเจน จากผลการทดลองพบว่า การใช้ไบโอชาร์เป็นวัสดุรองรับหัวเชื้อไรโซเบียมถั่วลิสง สามารถให้ปริมาณเชื้อไรโซเบียมได้สูงใกล้เคียงกับการใช้พีทเป็นวัสดุรองรับ (Kremer and Peterson, 1983) ลีโอนาไดท์ (leaonardite) เป็นวัสดุอินทรีย์ธรรมชาติที่มีคาร์บอนและฮิวมัสสูง จึงมีศักยภาพในการนำมาทดแทนพีทได้ อย่างไรก็ตามลีโอนาไดท์ มี pH ต่ำ เมื่อนำมาผสมกับไบโอชาร์ อัตราส่วน 1:1 สามารถใช้เป็นวัสดุรองรับจุลินทรีย์ได้ โดยให้ปริมาณจุลินทรีย์ประมาณ $10^7$-$10^8$ CFU/g (Shutsrirung, 2016) เพอร์ไลท์ (perlite) มีคุณสมบัติสามารถใช้เป็นวัสดุรองรับหัวเชื้อได้ คือ ผิวหน้าของเม็ดจะปกคลุมด้วยช่องว่างขนาดเล็กที่มีพื้นที่ผิวสูง ช่องว่างภายในเม็ดจะถูกเชื่อมติดกันด้วยความร้อนระหว่างการเผาทำให้มีความสามารถในการดูดซับได้ดี (Duangpatra, 2010)

การศึกษาหาวิธีการที่เหมาะสมเพื่อลดปริมาณอาร์เซนิกในดินจึงมีความสำคัญอย่างยิ่ง ดังนั้นการศึกษาครั้งนี้จะนำแบคทีเรียและเชื้อราที่ผ่านการคัดเลือกจากงานทดลองของ Shutsrirung (2015) ซึ่งผ่านการทดสอบในอาหารเหลวแล้วว่ามีศักยภาพสูงในการลดโลหะหนักอาร์เซนิกดังกล่าวข้างต้น มาทดสอบประสิทธิภาพในการลดอาร์เซนิกในดินพื้นที่สูงที่ปนเปื้อนอาร์เซนิก เพื่อคัดกรองเชื้อที่มีประสิทธิภาพสูงสุด แล้วจึงนำไปผลิตเป็นชีวภัณฑ์ลดสารอาร์เซนิก พร้อมทั้งทดสอบประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์ในการลดอาร์เซนิกในดินและในพืช เพื่อเป็นแนวทางในการพัฒนาชีวภัณฑ์ที่มีประสิทธิภาพและเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม

## อุปกรณ์และวิธีการ

จากผลการวิจัยของ Shutsrirung (2016) ได้แยกและคัดกรองจุลินทรีย์กลุ่มแบคทีเรียและเชื้อราจากพื้นที่ที่มีการปนเปื้อนของโลหะหนัก และได้นำมาทดสอบความต้านทานโลหะหนักโดยใช้ โซเดียมอาซิไนท์ ($NaAsO_2$) ผลการวิจัยสรุปว่า แบคทีเรียไอโซเลท 17 (BPAs17) และเชื้อราไอโซเลท 24 (FPAs24) (Figure 1) สามารถเจริญได้ในอาหารแข็งที่มีความเข้มข้นสูงสุดของ $NaAsO_2$ ที่ 500 และ 1,000 mg/L ตามลำดับ ในการทดลองนี้จึงได้นำเชื้อ

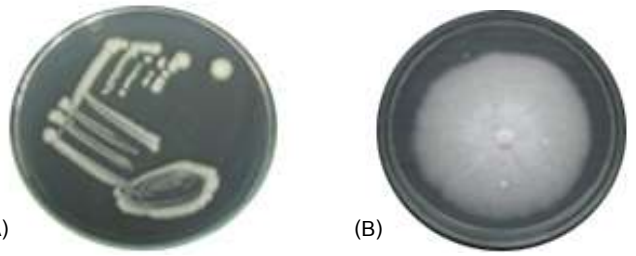


Figure 1. Culture appearance on nutrient agar plate of BPAs17 (A) and FPAs24 (B)

ทั้งสองไอโซเลทมาทำการทดสอบประสิทธิภาพในการลดความเป็นพิษของอาร์เซนิกในดิน

**การเตรียมตัวอย่างดิน**

ทำการเก็บตัวอย่างดินลึกประมาณ 15 cm จากแปลงเกษตรกรจากพื้นที่ ที่มีรายงานการปนเปื้อนโลหะหนัก อาร์เซนิก >3.9 mg/kg (Shutsrirung, 2012) มาผึ่งในที่ร่มให้แห้ง แล้วร่อนผ่านตะแกรง 2.0 และ 0.5 mm นำดินไปวิเคราะห์สมบัติทางเคมีบางประการของตัวอย่างดิน ได้แก่ ค่าความเป็นกรดด่าง (pH) ปริมาณความต้องการปูน (lime requirement)(woodruff, 1948) อินทรียวัตถุ (%OM) ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ (available P) โพแทสเซียม แคลเซียมและแมกนีเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ (exchangeable K, Ca และ Mg) (Land Development Department, 2010) ดินที่ใช้ในการทดลอง มีค่าความเป็นกรดด่าง (pH) 5.02 ทำการปรับ pH ของดินโดยใส่ปูนโดโลไมท์ตามค่าปริมาณความต้องการปูน เพื่อให้ได้ค่า pH ที่เหมาะสมมากขึ้น นอกจากสมบัติของดินแล้วทำการวิเคราะห์ปริมาณอาร์เซนิกทั้งหมดในดิน โดยส่งวิเคราะห์ที่บริษัทห้องปฏิบัติการกลาง (ประเทศไทย) จำกัด ซึ่งได้ทำการวิเคราะห์โดยใช้เครื่องมือ Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometer (ICP-OES) ยี่ห้อ Perkin Elmer รุ่น optima 4300 DV โดยใช้วิธีการ EPA method 3052

**การทดสอบประสิทธิภาพหัวเชื้อจุลินทรีย์ในการลดอาร์เซนิกในดิน**

นำไอโซเลทต้านทานอาร์เซนิกสูง คือ BPAs17 และ FPAs24 มาเพิ่มปริมาณก่อนการทำการทดลองโดยนำมาเลี้ยงในอาหารเหลว nutrient broth (NB) จนได้ปริมาณเชื้อสูงสุด ($\cong 10^9$ CFU/mL) เพื่อใช้เป็นหัวเชื้อเหลวในการทดสอบ โดยนำสารละลายหัวเชื้อผสมดินให้มีความชื้นที่ 60% ของ maximum water holding capacity (MWHC)) ของดินเมื่อผสมหัวเชื้อแล้วทำการบ่มตัวอย่างดินที่อุณหภูมิห้อง หลังการบ่มดิน 7 และ 30 วัน นำตัวอย่างดินมาวิเคราะห์สมบัติดินเพื่อหาค่า pH และปริมาณอาร์เซนิกทั้งหมดในดิน โดยการทดสอบประสิทธิภาพหัวเชื้อจุลินทรีย์นี้ มีทั้งหมด 6 กรรมวิธี ได้แก่ 1) ไม่ปรับ pH ดิน ไม่ใส่เชื้อ 2) ไม่ปรับ pH ดิน ผสม BPAs17 3) ไม่ปรับ pH ดิน ผสม FPAs24 4) ปรับ pH ดิน ไม่ใส่เชื้อ 5) ปรับ pH ดิน ผสม BPAs17 และ 6) ปรับ pH ดิน ผสม FPAs24 โดยที่แต่ละกรรมวิธีมี 3 ซ้ำ วิธีการปรับ pH ทำโดยการใช้ดิน 1 kg ผสมโดโลไมท์ 1.17 g เมื่อทำการปรับ pH แล้ว ค่า pH ดิน เท่ากับ 6.0

**การคัดกรองวัสดุรองรับที่เหมาะสมสำหรับจุลินทรีย์คัดเลือกเพื่อผลิตเป็นชีวภัณฑ์ลดอาร์เซนิก**

วัสดุที่นำมาทดสอบครั้งนี้มี 3 ชนิด ได้แก่ 1) ไบโอชาร์ (biochar) + ลีโอนาร์ไดท์ (leaonardite) (อัตราส่วน 1:1 โดยปริมาตร) (BLC) 2) เพอร์ไลท์ (perlite) (PC) และ 3) วัสดุผสม (mixed media: ปุ๋ยหมักขุยมะพร้าว + พีทมอส 1:1 โดยปริมาตร แล้วทำการเติม ลีโอนาร์ไดท์ และโดโลไมท์ อย่างละ 5% ใน mixed media) (MMC) ก่อนการผสมกับหัวเชื้อจุลินทรีย์เหลว ได้ทำการวิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมีของวัสดุรองรับหัวเชื้อก่อนนำวัสดุรองรับหัวเชื้อไปทดสอบร่วมกับเชื้อจุลินทรีย์ โดยทำการวิเคราะห์ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) อินทรียวัตถุ (%OM) ไนโตรเจนทั้งหมด (% Total N)ฟอสฟอรัสทั้งหมด (% $P_2O_5$) โพแทสเซียมทั้งหมด (% $K_2O$) แคลเซียมทั้งหมด

(%Ca) และแมกนีเซียมทั้งหมด (% Mg) (Land Development Department, 2010)

คัดเลือกเฉพาะเชื้อที่มีประสิทธิภาพสูงสุดในการลดอาร์เซนิกในดินจากการทดสอบประสิทธิภาพในดินข้างต้นมาเพียง 1 ไอโซเลท มาเลี้ยงในอาหารเหลว NB เพื่อใช้เป็นหัวเชื้อเริ่มต้นในการผสมกับวัสดุทดสอบ ตามวิธีการของ Shutsrirung (2015) นำหัวเชื้อจุลินทรีย์คัดเลือกมาผสมวัสดุแต่ละชนิด (3 ชนิด) ซึ่งได้ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว คือ BLC, PC และ MMC หลังการผสมเชื้อในวัสดุรองรับแล้วจึงทำการบ่มตัวอย่างที่อุณหภูมิห้อง และทำการนับปริมาณเชื้อที่ 15, 30 และ 90 วันหลังการบ่มเชื้อ โดยมีปริมาณเชื้อเริ่มต้นในวัสดุรองรับหัวเชื้อ $\cong 10^6$ CFU/g วิธีการนึ่งฆ่าเชื้อ (sterile) ทำโดยการนำวัสดุรองรับแต่ละชนิดมาผ่านอุณหภูมิ 121°C ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 40 นาที โดยให้มีความชื้นเหมาะสม (60% ของ MWHC)

ทำการคัดเลือกวัสดุรองรับหัวเชื้อจุลินทรีย์ที่ให้ปริมาณเชื้อสูงสุดจากการทดลองบ่มเชื้อทั้งหมด 90 วัน ข้างต้น เพียง 1 ชนิด เพื่อทดลองพัฒนาเป็นชีวภัณฑ์ และดำเนินการผลิตต้นแบบชีวภัณฑ์ (วัสดุรองรับคัดเลือกผสมจุลินทรีย์) ด้วยวิธีการเช่นเดียวกับที่กล่าวมาข้างต้น แล้วจึงนำชีวภัณฑ์มาทำการทดสอบประสิทธิภาพในการลดอาร์เซนิกในดินที่คัดเลือกไว้ โดยนำตัวอย่างดินมาเพิ่มปริมาณอาร์เซนิกให้มีความเข้มข้นในดินเริ่มต้นที่ 50 mg/kg ด้วยสารละลาย $NaAsO_2$ นำชีวภัณฑ์มาผสมดินโดยใช้อัตราส่วน ชีวภัณฑ์ : ดิน 1:5 โดยน้ำหนัก หลังการบ่มดิน 7 และ 30 วัน แล้วนำตัวอย่างดินมาวิเคราะห์ค่า pH และปริมาณอาร์เซนิกทั้งหมดในดิน โดยมีทั้งหมด 4 กรรมวิธี กำหนดให้มีกรรมวิธีละ 3 ซ้ำ ดังนี้ 1) ไม่ปรับ pH ดิน ผสมชีวภัณฑ์ปราศจากเชื้อ 2) ไม่ปรับ pH ดิน ผสมชีวภัณฑ์ 3) ปรับ pH ดิน ผสมชีวภัณฑ์ปราศจากเชื้อ และ 4) ปรับ pH ดิน ผสมชีวภัณฑ์ (กรรมวิธีปรับ pH ดิน เมื่อทำการปรับ pH แล้ว ค่า pH ดิน เท่ากับ 6.5)

การวิเคราะห์โลหะหนักอาร์เซนิกทั้งหมดในดิน ได้ทำการส่งตัวอย่างไปวิเคราะห์ ณ บริษัทห้องปฏิบัติการกลาง (ประเทศไทย) จำกัด โดยมีวิธีการโดยย่อดังนี้ ทำการย่อยตัวอย่างดินแห้ง 0.5 g ในกรด nitric เข้มข้น ($HNO_3$) 9 ml ผสม hydrofluoric (HF) 3 ml เป็นเวลา 15 นาที โดยใช้ microwave ตามวิธีการ EPA Method 3052 หลังจากเย็นแล้ว กรองสารแล้วเทสารที่เจือจางออกจนได้ปริมาตรที่กำหนดไว้ และ นำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่องมือ Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometer (ICP-OES) ยี่ห้อ Perkin Elmer รุ่น optima 4300 DV ผลลัพธ์ที่ได้เป็นค่าเฉลี่ยจากการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ แสดงผลเป็นหน่วยน้ำหนักแห้ง mg/kg

## ผลการทดลอง

### ประสิทธิภาพของเชื้อจุลินทรีย์ในการลดปริมาณอาร์เซนิกในดิน

ดินที่ใช้ในการทดลอง ก่อนทำการทดลองเมื่อทำการวิเคราะห์สมบัติบางประการของดิน พบว่า ความเป็นกรดด่าง (pH) ก่อนการทดลองมีค่า 5.02 ปริมาณ OM 4.54% มีค่าสูง ส่วนปริมาณธาตุอาหารในดินมีค่าสูง คือ ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด (total N) มีค่า 0.23% สำหรับฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ (available P) และโพแทสเซียม แคลเซียม และแมกนีเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ (exchangeable K, Ca และ Mg) มีค่า 310.8, 1288.5 และ 149.3 mg/kg ตามลำดับ มีค่าปริมาณอาร์เซนิกในดิน 3.48 mg/kg ซึ่งตามมาตรฐานโลหะหนักของคุณภาพดิน (soil guideline value) เพื่อการเพาะปลูกของประเทศไทย กำหนดให้ค่าอาร์เซนิกไม่เกิน 3.9 mg/kg ต่อน้ำหนักดินแห้ง (Center of Excellence on Hazardous Substance Management, 2007) ถึงแม้ว่าดินในพื้นที่เก็บตัวอย่างเคยมีรายงานว่ามีปริมาณอาร์เซนิกเกินค่ามาตรฐาน (>5.0 mg/kg) อย่างไรก็ตามตัวอย่างดินแปลงเกษตรกรที่เลือกเก็บมีค่าอาร์เซนิกที่ไม่เกินมาตรฐาน สำหรับผลของการปรับค่า pH ของดินโดยปูนโดโลไมท์ พบว่ามีค่า pH 6.0

เมื่อนำจุลินทรีย์สองไอโซเลทคือ BPAs17 และ FPAs24 บ่มกับดินทดสอบที่มีความเข้มข้นของ As เริ่มต้นที่ 3.48 mg/kg เป็นเวลา 30 วัน พบว่า โดยเฉลี่ยแล้ว กรรมวิธีที่ไม่มีการปรับ pH ดินทำให้ค่า As ในดินสูงขึ้น โดยกรรมวิธีไม่ปรับ pH ดิน ผสมเชื้อ BPAs17 มีค่า As สูงที่สุดคือ 3.70 mg/kg รองลงมาได้แก่ กรรมวิธีไม่ปรับ pH ดิน ผสมเชื้อ FPAs24 (3.56 mg/kg) และกรรมวิธีที่ไม่ปรับ pH ดิน ไม่ใส่เชื้อ มีค่า As ต่ำสุด (3.52 mg/kg) คิดเป็น

เปอร์เซ็นต์การเพิ่มขึ้น +6.3%, +2.3% และ +1.2% ตามลำดับ (Figure 2) ส่วนในดินที่มีการปรับ pH ดิน ส่งผลดีกว่าการไม่ปรับ pH โดยทำให้ค่า As ลดลง โดยที่การปรับ pH ดินผสมเชื้อ BPAs17 ทำให้ค่า As ลดลงจากค่าเริ่มต้นมากที่สุด รองลงมาได้แก่ การปรับ pH ดินผสมเชื้อ FPAs24 และการปรับ pH ดิน โดยไม่มีการใส่เชื้อ โดยค่าที่ลดลง คือ 3.12, 3.34 และ 3.43 mg/kg คิดเป็นเปอร์เซ็นต์การลดลง -0.40%, -4.02% และ -1.40% ตามลำดับ โดยทุกกรรมวิธีแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ จากผลการทดลองนี้จึงได้คัดเลือกแบคทีเรีย BPAs17 มาทำการทดสอบขั้นต่อไป

## การคัดเลือกวัสดุรองรับที่เหมาะสมสำหรับจุลินทรีย์คัดเลือก

ผลการวิเคราะห์คุณสมบัติเคมีบางประการของวัสดุรองรับหัวเชื้อ 3 ชนิด ได้แก่ BLC, PC และ MMC พบว่า มีสมบัติแตกต่างกันมาก โดยที่ BLC มีค่า pH ต่ำที่สุดคือ 5.69 ในขณะที่ pH ของ perlite มีค่ามากที่สุด คือ 8.22 อย่างไรก็ตาม BLC มีค่า OM สูงกว่าวัสดุอื่น คือ 24.81% ส่วนธาตุอาหารในวัสดุนั้น PC มีปริมาณธาตุต่ำมากเกือบทุกธาตุยกเว้นโพแทสเซียม (%$K_2O$) (Table 1) ส่วนวัสดุที่มีปริมาณเกือบธาตุอาหารโดยเฉลี่ยแล้วสูงกว่าวัสดุอื่นคือ MMC โดยมีค่าเปอร์เซ็นต์ N, $P_2O_5$, $K_2O$, Ca และ Mg เท่ากับ 0.75, 0.47 1.56, 2.79 และ 0.86% ตามลำดับ

เมื่อนำแบคทีเรียคัดเลือก BPAs17 มาผสมกับวัสดุแยกแต่ละชนิดแล้วบ่มไว้ ผลการทดลองพบว่า วัสดุ MMC ให้การเพิ่มประชากรเชื้อสูงสุดทุกระยะเวลาการบ่ม ในทางตรงข้าม PC เป็นวัสดุที่ให้ประชากรเชื้อน้อยที่สุด โดยที่หลังการบ่ม 15 วัน MMC ให้จำนวนประชากร BPAs17 เท่ากับ $1.65\times10^8$ ส่วน BLC และ PC มีประชากร $9.00\times10^7$ และ $1.05\times10^7$ CFU/g ตามลำดับ (Table 2) หลังการบ่ม 30 วัน MMC ให้จำนวนประชากร BPAs17 เท่ากับ $2.62\times10^7$ ส่วน BLC และ PC มี

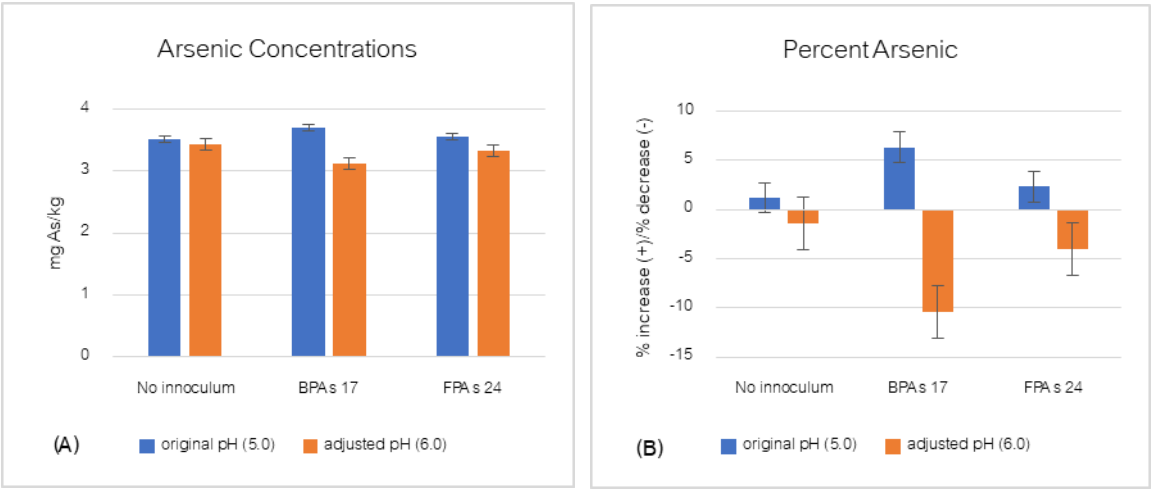


Figure 2. Efficiency of BPAs17 and FPAs24 in reduction of arsenic concentration (A) and percent reduction in soils after 30 days of incubation (B)

Table 1. Chemical properties of microbial carriers

| Carriers | pH (1:10) | OM | N | $P_2O_5$ | $K_2O$ | Ca | Mg |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | (%) | | | | | |
| BLC[1] | 5.69 | 24.81 | 0.75 | 0.07 | 1.56 | 2.79 | 0.86 |
| PC[2] | 8.22 | 0.88 | 0.07 | 0.00 | 0.29 | 0.01 | 0.00 |
| MMC[3] | 6.85 | 8.51 | 0.64 | 0.47 | 0.36 | 2.76 | 0.60 |

[1]biochar + leonardite (1:1 V/V); [2]perlite; [3]mixed media: coconut husk compost: peat moss 1:1 V/V plus 5% dolomite

ประชากร $1.82\times10^7$ และ $0.35\times10^7$ CFU /g ตามลำดับ ส่วนที่ระยะ 90 วันหลังการบ่ม MMC ให้จำนวนประชากร BPAs17 เท่ากับ $2.10\times10^7$ CFU /g ส่วน BLC และ PC มีประชากร $9.00\times10^5$ และ $0.26\times10^5$ CFU /g ตามลำดับ โดยจำนวนประชากรหลังการบ่มทุกระยะของทุกกรรมวิธีแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (Table 2)

ประชากรทั้งหมดของ BPAs17 ในทุกวัสดุคือ BLC, PC และ MMC มีค่าสูงสุดหลังการบ่ม 15 วัน (8.22, 7.95 และ 7.02 log CFU/g ตามลำดับ) เมื่อบ่มระยะเวลานานกว่า 15 วัน ประชากรของเชื้อ BPAs17 ในทุกวัสดุมีแนวโน้มลดลง (Figure 3) โดยที่ PC เป็นวัสดุที่ทำให้ประชากร BPAs17 ลดลงมากกว่าวัสดุอื่น (4.41 log CFU/g) วัสดุ BLC ให้ประชากรแบคทีเรียสูงกว่า PC แต่มีอัตราการลดลงของประชากรใกล้เคียงกัน ส่วนวัสดุที่คงจำนวนประชากรได้ดีที่สุดคือ MMC ถึงแม้ว่าปริมาณเชื้อจะมีแนวโน้มลดลงแต่ MMC เป็นวัสดุที่ทำให้เชื้อมีความอยู่รอดได้นานและสูงที่สุด โดยจำนวนประชากรที่ระยะการบ่มที่ 30 และ 90 วัน ไม่มีความแตกต่างกันมากนัก (7.42 และ 7.32 log CFU/g ตามลำดับ) ดังนั้นจึงได้คัดเลือกวัสดุ MMC เพื่อนำไปผลิตเป็นต้นแบบชีวภัณฑ์ของ BPAs17 แล้วนำไปทดสอบประสิทธิภาพในการลดอาร์เซนิกในดินสำหรับการทดลองขั้นต่อไป

## ประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์ต้นแบบในการลดปริมาณอาร์เซนิกในดิน

จากการทดลองข้างต้น ได้คัดเลือกแบคทีเรีย BPAs17 และวัสดุ MMC มาผลิตเป็นต้นแบบชีวภัณฑ์ แล้วนำชีวภัณฑ์ไปทดสอบประสิทธิภาพในการลดอาร์เซนิกในดิน ตัวอย่างดินที่ทดสอบได้นำมาเพิ่มปริมาณอาร์เซนิกให้มีความเข้มข้นในดินเริ่มต้นที่ 50 mg/kg ด้วยสารละลาย $NaAsO_2$ ทำการบ่มดินเป็นระยะเวลา 30 วัน ผลการทดสอบ พบว่า ที่ระยะเวลาการบ่ม 7 วัน กรรมวิธีที่ปรับ pH ดินและผสมเชื้อบ่มทำให้ค่า As ลดลงได้มากที่สุดเหลือเพียง 24.7 mg/kg (ลดลง -50.6%) (Figure 4) ส่วนอีกสามกรรมวิธีนั้น คือการไม่ปรับ pH ไม่ใส่เชื้อ, ไม่ปรับ pH ใส่เชื้อ BPAs17 และ ปรับ pH ไม่ใส่เชื้อ BPAs17

Table 2. Population of BPAs17 in 3 types of carriers after 15, 30 and 90 days of incubation

| Carriers | BPAs 17 population (CFU/g) | | |
|---|---|---|---|
| | 15 days | 30 days | 90 days |
| BLC[1] | $9.00\times10^7$b | $1.82\times10^7$b | $9.00\times10^5$b |
| PC[2] | $1.05\times10^7$c | $0.35\times10^7$c | $0.26\times10^5$c |
| MMC[3] | $1.65\times10^8$a | $2.62\times10^7$a | $2.10\times10^7$a |
| CV (%) | 0.74 | 0.22 | 0.30 |

[1]biochar + leonardite (1:1 V/V); [2]perlite; [3]mixed media: coconut husk compost: peat moss 1:1 V/V plus 5% dolomite

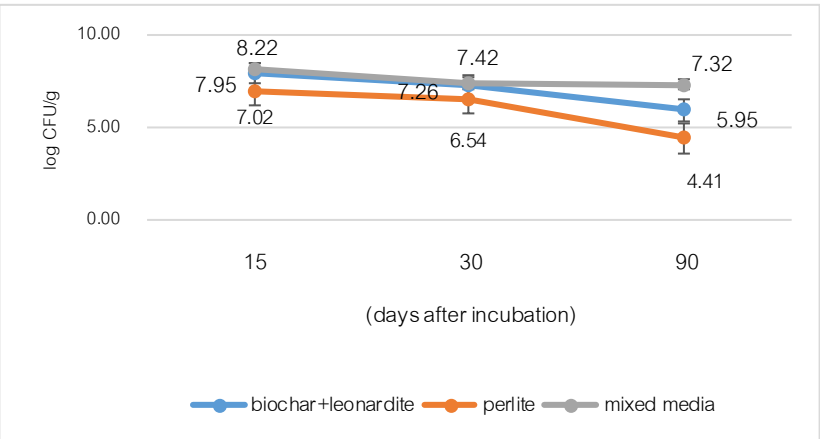


Figure 3. Population of BPAs17 (log CFU/g) in 3 types of carriers after 15, 30 and 90 days of incubation

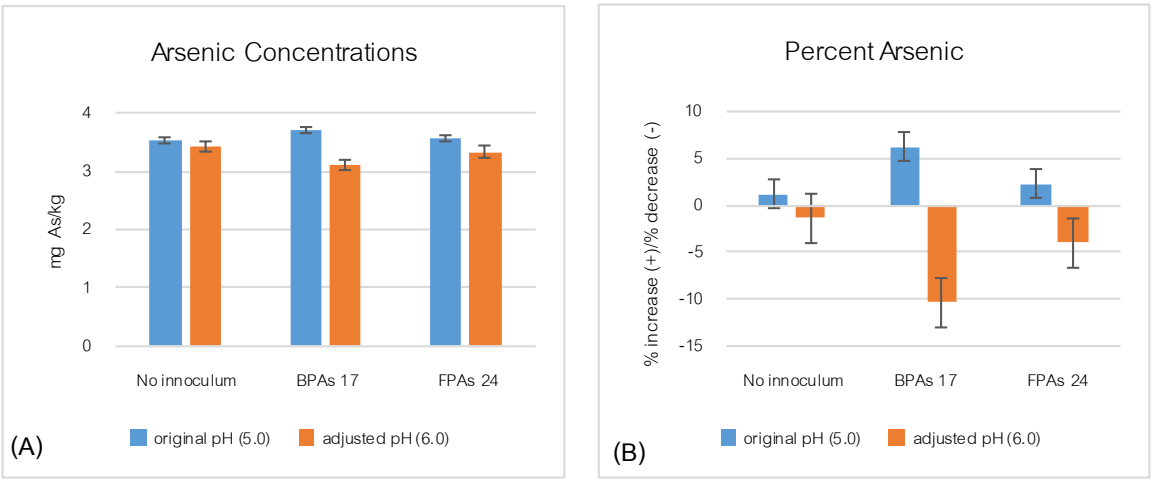


Figure 4. Efficiency of bio-product prototype using BPAs17 in reduction of arsenic concentration (A) and percent reduction in soils after 30 days of incubation (B)

ให้ค่าลดลงที่ใกล้เคียงกัน คือ 26.7, 26.9 และ 26.62 mg/kg คิดเป็นเปอร์เซ็นต์การลดลง เท่ากับ -46.6, -46.2, และ -46.7 ตามลำดับ (Figure 4) ผลการทดลองที่ระยะ 30 วัน เป็นไปในทำนองเดียวกับที่ระยะ 7 วัน โดยพบว่าการไม่ปรับ pH ไม่ใส่เชื้อ ทำให้ As ลดลงน้อยที่สุดคือเหลือ 25.6 mg/kg (-48.9%) กรรมวิธีปรับ pH ใส่เชื้อ BPAs17 ทำให้ As ในดินเหลือเพียง 20.8 mg/kg (-58.5%) ส่วนอีกสองกรรมวิธี คือ การปรับ pH ไม่ใส่เชื้อ และไม่ปรับ pH ใส่เชื้อ BPAs17 ทำให้ค่า As ในดินเหลือ 21.9 และ 21.1 mg/kg คิดเป็นค่าที่ลดลงเท่ากับ -56.1 และ -57.8% ตามลำดับ

## วิจารณ์

จากผลการวิเคราะห์ดินที่ทำเกษตรกรรมในเขตพื้นที่สูงทางภาคเหนือของประเทศไทย พบว่าอาร์เซนิกเป็นโลหะหนักที่พบว่ามีการปนเปื้อนสูงและพบมากกว่าโลหะหนักชนิดอื่น และมีความเสี่ยงสูงในการปนเปื้อนในพืชที่ปลูกในพื้นที่ดังกล่าว (Shutsrirung, 2012) ดังนั้นการบำบัดสารอาร์เซนิกที่ปนเปื้อนจึงมีความจำเป็นเร่งด่วนเพื่อไม่ให้มีผลกระทบต่อสุขภาพของมนุษย์ การใช้จุลินทรีย์เป็นทางเลือกที่ได้รับความสนใจอย่างกว้างขวางในวิธีการบำบัดมลพิษทางชีวภาพ เนื่องจากมีค่าใช้จ่ายที่ต่ำกว่าวิธีการอื่นและไม่ก่อให้เกิดสารมลพิษทุติยภูมิ ในการทดลองครั้งนี้ได้นำ แบคทีเรีย BPAs17 และ เชื้อรา FPAs24 ที่มีความสามารถต้านทานอาร์เซนิกสูงมาทดสอบประสิทธิภาพในการลดความเป็นพิษของอาร์เซนิกในดิน การลดความเป็นพิษของอาร์เซนิกในดินเกี่ยวข้องกับปฏิกิริยา oxidations และ reduction ของจุลินทรีย์ดิน ซึ่งมีงานวิจัยพบว่า ทั้งเชื้อราและแบคทีเรีย ที่ทนอาร์เซนิกได้สูงมีศักยภาพในการลดสารพิษและโลหะหนักได้ (Bučková *et al.*, 2007; Katsoyiannis *et al.*, 2002) ถึงแม้ว่าอาร์เซนิก จะไม่สามารถถูกกำจัดออกจากแหล่งปนเปื้อนได้ง่ายนัก แต่สามารถถูกตรึง และ/หรือ เปลี่ยนให้อยู่ในรูปที่มีความเป็นพิษน้อยลงได้ อย่างไรก็ตามอาร์เซนิกยังสามารถถูกรีดิวซ์ให้เป็น สารประกอบระเหย (volatile compounds) คือ arsine ($AsH_3$) และ methyl-arsines (Naher *et al.*, 2015) และอาจส่งผลให้ลดความเข้มข้นของอาร์เซนิกในดินได้

ปฏิกิริยารีดอกซ์ของอาร์เซนิกในดินโดยจุลินทรีย์เกิดขึ้นเพื่อลดความเป็นพิษ และ/หรือ สร้างพลังงานเพื่อการเจริญเติบโตของเซลล์ กลไกลดความเป็นพิษของอาร์เซนิกในดินกลไกหนึ่งก็คือ การเปลี่ยนรูป As (III) ให้เป็น As (V) เพื่อให้มีความเป็นพิษน้อยลง (Naher *et al.*, 2015) ดังนั้นอาจเป็นไปได้ว่าในการทดลองนี้เมื่อมีการใส่จุลินทรีย์ในดินทำให้มีกิจกรรมการเปลี่ยนรูปอาร์เซนิกมากขึ้น เมื่อประกอบกับค่า pH ของดินที่ต่ำ (5.0) ซึ่งเป็นปัจจัยหนึ่งที่ทำให้ค่าการละลายของโลหะหนักเพิ่มขึ้น

(Wisawapipat, 2012) และอาจเป็นปัจจัยร่วมกันที่ส่งผลให้อาร์เซนิกมีค่าเพิ่มขึ้นเล็กน้อย (6.3%) (Figure 2) อย่างไรก็ตามในการทดลองครั้งนี้พบว่า การใช้ MMC ซึ่งเป็นวัสดุอินทรีย์ผลิตชีวภัณฑ์ ทำให้จุลินทรีย์มีแหล่งคาร์บอนและมีธาตุอาหารที่เหมาะสม ส่งผลให้เชื้อสามารถเจริญได้ดีกว่าวัสดุอื่น ๆ (Figure 3) การปรับ pH ของดินเพียงอย่างเดียวผสมชีวภัณฑ์ไม่ใส่เชื้อ (pH 6.0) สามารถลดปริมาณอาร์เซนิกได้มากถึง -46.7% (Figure 4) แสดงให้เห็นว่าชีวภัณฑ์ที่ใส่ในอัตรา 1:5 มีแนวโน้มทำให้อาร์เซนิกในดินเจือจางลงได้มาก ดังนั้นควรมีการวิเคราะห์ความเข้มข้นของอาร์เซนิกในชีวภัณฑ์ก่อนทำการทดลองด้วย นอกจากนี้ชีวภัณฑ์ที่ใช้เป็นวัสดุอินทรีย์จึงอาจมีผลในการดูดซับอาร์เซนิกได้ จากผลการทดลองของ Feng *et al.* (2013) แสดงให้เห็นว่า ตัวแปรของการดูดซับอาร์เซนิกมีความสัมพันธ์เชิงเส้นตรง (linear relationship ) กับอินทรียวัตถุในดิน และ เขาสรุปว่าอินทรียวัตถุมีอิทธิพลสูงสุดต่อการดูดซับอาร์เซนิกเมื่อเทียบกับสมบัติของดินด้านอื่น ๆ นอกจากอินทรียวัตถุในดินแล้วความเข้มข้นและชนิดของสารประกอบอาร์เซนิก (arsenic species) ได้รับอิทธิพลจากค่า pH (Mandal and Suzuki, 2002) และค่าการละลายของอาร์เซนิกจะลดลงเมื่อค่า pH เพิ่มขึ้น ส่งผลให้มีพิษต่อแบคทีเรียน้อยลงด้วย Shutsrirung (2003) สรุปว่าแบคทีเรียไรโซเบียมในกลุ่ม Bj-A มีกลไกปลดปล่อยสารประกอบด่างในจานอาหาร (สังเกตจากการเปลี่ยนแปลงสีของ indicator ที่ผสมในอาหาร) เพื่อเพิ่มค่า pH ของสภาพแวดล้อมให้มีความเป็นพิษน้อยลงและทำให้ไรโซเบียมกลุ่มนี้เจริญเติบโตได้ดีกว่ากลุ่มที่ไม่สามารถผลิตสารประกอบด่างได้ Wisawapipat (2012) กล่าวว่า pH ของดินเป็นปัจจัยที่สำคัญในการควบคุมการเคลื่อนที่ของธาตุอาหารหรือสารมลพิษในดิน เมื่อดินอยู่ในสภาพที่เป็นกรดไฮโดรเจนไอออน ($H^+$) ในดินจะมีการแข่งขันกับโลหะหนักในดิน ส่งผลให้ดินดูดซับโลหะหนักได้ต่ำลง และทำให้โลหะหนักละลายมากขึ้น ดังนั้นการใช้วัสดุปูนเพื่อเพิ่มค่า pH ของดินจึงเป็นกลไกหนึ่งในการตรึงโลหะหนักในดิน โดยการทำให้โลหะดังกล่าวตกตะกอนกับสารจำพวกคาร์บอเนตหรือหมู่ไฮดรอกซิล การใส่ปูนเพื่อยกระดับ pH จึงเป็นการบำบัดอาร์เซนิกในดินที่ง่าย สะดวกและมีต้นทุนต่ำ อย่างไรก็ตามในการทดลองนี้ พบว่า การใช้ชีวภัณฑ์ที่มีการผสมเชื้อแบคทีเรีย BPAs17 ร่วมกับการใส่ปูนช่วยเพิ่มประสิทธิภาพของการลดความเป็นพิษของอาร์เซนิกได้มากขึ้น โดยทำให้อาร์เซนิกในดินลดลงถึง -58.5% หลังการบ่ม 30 วัน นอกจากนี้ค่า pH ที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของแบคทีเรียจะมีกิจกรรมสูงหรือทำงานเต็มประสิทธิภาพเมื่อดินมี pH ค่อนข้างเป็นกลางและไม่เป็นกรดจัด (Vidali, 2001) จากการรายงานของ Ojuederie and Babalola (2017) ได้กล่าวว่ามีการประยุกต์ใช้จุลินทรีย์ทั้งแบคทีเรีย รา และสาหร่าย ในการบำบัดการปนเปื้อนของโลหะหนัก (อาร์เซนิก โครเมียม และแคดเมียม) ได้ผลดีทั้งในดินและในน้ำ ผลการทดลองของ Pinter et al. (2017) พบว่า นอกจากจุลินทรีย์สายพันธุ์ *Bacillus licheniformis*, *Micrococcus luteus* และ *Pseudomonas fluorescens* จะสามารถต้านทานและลดความเป็นพิษของอาร์เซนิกแล้ว ยังมีความสามารถในการตรึงไนโตรเจน ละลายฟอสเฟต และสารส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชอื่น ๆ และยังสามารถเพิ่มชีวมวลของต้นอ่อนในสภาพที่มีความเข้มข้นของอาร์เซนิกสูงได้อีกด้วย จากผลการทดลองครั้งนี้แสดงให้เห็นว่า ดินที่ปนเปื้อนอาร์เซนิกและมีปัญหาดินกรดควรมีการใส่ปูนเพื่อยกระดับ pH ให้เหมาะสมและควรใช้ชีวภัณฑ์ผสมจุลินทรีย์ต้านทานอาร์เซนิกเสริมเพื่อรับประกันความเสี่ยงในการปนเปื้อนของอาร์เซนิกในผลผลิตพืช อย่างไรก็ตามควรมีการนำชีวภัณฑ์ไปทดสอบในภาคสนามเพื่อยืนยันประสิทธิภาพในการลดความเข้มข้นของอาร์เซนิกในดินและในพืชด้วย

## สรุป

การทดสอบประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ต้านทานอาร์เซนิกสูงที่แยกได้จากดิน 2 ไอโซเลท คือ แบคทีเรีย BPAs17 และ เชื้อรา FPAs24 พบว่า การปรับ pH ดินผสมเชื้อ BPAs17 ทำให้ค่า As ลดลงจากค่าเริ่มต้นมากที่สุด จึงได้เลือก BPAs 17 มาบ่มในวัสดุรองรับสามชนิด สามารถคัดเลือกวัสดุ MMC ซึ่งให้จำนวนประชากรที่คงอยู่ของ BPAs17 ได้มากที่สุด จึงได้นำไปผลิตเป็นต้นแบบชีวภัณฑ์ (MMC + BPAs17) แล้วนำชีวภัณฑ์ไปทดสอบประสิทธิภาพในการลดอาร์เซนิกในดินผลการทดสอบ

แสดงให้เห็นชัดเจนว่า กรรมวิธีปรับ pH ใส่ชีวภัณฑ์ BPAs17 ทำให้ As ในดินเหลือเพียง 20.8 mg/kg (-58.5%) ดังนั้นชีวภัณฑ์ต้นแบบนี้จึงมีศักยภาพสูงในการนำไปประยุกต์ใช้ในภาคสนามต่อไป

## กิตติกรรมประกาศ

การศึกษาวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากสถาบันวิจัยและพัฒนาพื้นที่สูง (องค์การมหาชน) คณะผู้วิจัยจึงขอขอบคุณอย่างสูงมา ณ โอกาสนี้

## เอกสารอ้างอิง

Bučková, M., J. Godočíková and B. Polek. 2007. Responses in the mycelial growth of *Aspergillus niger* isolates to arsenic contaminated environments and their resistance to exogenic metal stress. Journal of Basic Microbioly 47(4): 295-300.

Center of Excellence on Hazardous Substance Management. 2007. Study of heavy metals contents in soil and sugarcane grown in central, northern and north-eastern. Final report. Chulalongkorn University, Bangkok. 98 p. (in Thai)

Duangpatra, P. 2010. Soil Conditioners. Kasetsart University Press, Bangkok. 256 p. (in Thai)

Feng, Q., Z. Zhang, Y. Chen, L. Liu, Z. Zhang and C. Chen. 2013. Adsorption and desorption characteristics of arsenic on soils: kinetics, equilibrium, and effect of $Fe(OH)_3$ colloid, $H_2SiO_3$ colloid and phosphate. Procedia Environmental Sciences 18: 26-36.

Katsoyiannis, I., A. Zouboulis, H. Althoff and H. Bartel. 2002. As(III) removal from groundwaters using fixed-bed upflow bioreactors. Chemosphere 47(3): 325-332.

Khummalai, N., S. Jarudilokkul and V. Boonamnuayvitaya. 2000. Bioremediation of arsenic contaminated soil in the southern of Thailand. Pp. 349-360. *In:* Proceedings of the 10th Thai Institute of Chemical Engineering and Applied Chemistry. BITEC, Bangkok. (in Thai)

Kremer, R.J. and H.L. Peterson. 1983. Effects of carrier and temperature on survival of *Rhizobium* spp. in legume inocula: development of an improved type of inoculant. Applied and Environmental Microbiology 45(6): 1790-1794.

Land Development Department. 2010. Handbook of Soil Chemical Analysis. Document No. OSD-03. Land Development Department, Bangkok. 51 p. (in Thai)

Mandal, B.K. and K.T. Suzuki. 2002. Arsenic round the world: a review. Talanta 58(1): 201-235.

Matschullat, J. 2000. Arsenic in the geosphere - a review. Science of the Total Environment 249: 297-312.

Naher, U.A., F. Rahman, S.M.M. Islam, M.I.U. Sarkar and J.C. Biswas. 2015. Isolation of arsenic oxidizing-reducing bacteria and reclamation of As(III) in *in vitro* condition. Bangladesh Rice Journal 19(2): 99-101.

Nateewattana, J. 2012. Technology used for environmental arsenic remediation. Naresuan Phayao Journal: Health Science, Science and Tachnology 5(3): 258-270. (in Thai)

Ojuederie, O.B. and O.O. Babalola. 2017. Microbial and plant-assisted bioremediation of heavy metal polluted environments: A review. International Journal of Environmental Research and Public Health 14(12): 1504, doi:10.3390/ijerph14121504.

Pollution Control Department. 1998. Arsenic. Integrated Promotion Technology Company, Bangkok. 52 p. (in Thai)

Pinter I.F., M.V. Salomon, F. Berli, R. Bottini and P. Piccoli. 2017. Characterization of the As(III) tolerance conferred by plant growth promoting rhizobacteria to *in vitro*-grown grapevine. Applied Soil Ecology 109: 60-68.

Sharma, V.K. and M. Sohn. 2009. Aquatic arsenic: toxicity, speciation, transformations, and remediation. Environmental International 35(4): 743-759.

Shutsrirung, A. 2003. Characterization of native bradyrhizobia in soybean-growing areas of northern Thailand. Ph.D. Thesis. Mie University, Mie, Japan. 150 p.

Shutsrirung, A. 2012. Selection of microorganism in highland for soil quality improvement in acid and high arsenic soils. Final report. Highland Research and Development Institute (Public Organization), Chiang Mai. 56 p. (in Thai)

Shutsrirung, A. 2015. Research and development of bio-substances for reducing toxicity of residue substances in soils. Final report. Highland Research and Development Institute (Public Organization), Chiang Mai. 60 p. (in Thai)

Shutsrirung, A. 2016. Research and development of bio-substances for reducing toxicity of residue substances in soils. Final report. Highland Research and Development Institute (Public Organization), Chiang Mai. 70 p. (in Thai)

Toxicology Information Center. 2002. Danger and toxicity of arsenic. (Online). Available: http://webdb.dmsc.moph.go.th/ifc_toxic/a_txR_search.asp?info_id=121 (April 8, 2017). (in Thai)

Vidali, M. 2001. Bioremediation: an overview. Pure and Applied Chemistry 73(7): 1163-1172.

Wisawapipat, W. 2012. Remediation technologies of heavy contaminated soils using phosphate materials. Khon Kaen Agriculture Journal 40(4): 373-378. (in Thai)

Woodruff, C.M. 1948. Determination of the exchangeable hydrogen and lime requirement of the soil by means of the glass electrode and a buffer solution. Soil Science Society of America Proceedings 12: 141-142.