สารบัญ

บทที่	หน้า
1 บทนำ	1
ที่มาและความสำคัญของปัญหา	1
จุดมุ่งหมายของการวิจัย	2
ขอบเขตของการวิจัย	2
นิยามศัพท์เฉพาะ	2
2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	4
โลหะหนัก	4
แคดเมียม	5
ความเป็นพิษของแคดเมียม	6
สังกะสี	8
ความเป็นพิษของสังกะสี	9
จุลินทรีย์ในดิน	9
การต้านทานโลหะหนักของแบคทีเรีย	10
สารลดแรงตึงผิว	12
สารลดแรงตึงผิวชีวภาพ	13
สารลดแรงตึงผิวชีวภาพจากจุลินทรีย์	18
สารลดแรงตึงผิวชีวภาพกับการกำจัดโลหะหนัก	22
3 วิธีดำเนินงานวิจัย	25
เครื่องมือ และอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง	25
สารเคมีและอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ในการทดลอง	26
การเก็บตัวอย่างดินเพื่อนำมาวิเคราะห์	28

สารบัญ (ต่อ)

บทที่ **หน้า**

4 **ผลการวิจัย**.....36

การวิเคราะห์คุณสมบัติของดินและปริมาณโลหะหนักที่ปนเปื้อนอยู่ในดิน..... 36

ผลการศึกษาจำนวนแบคทีเรียทั้งหมดที่สามารถเจริญได้ในดินที่ปนเปื้อนโลหะหนักและการคัดแยกเชื้อแบคทีเรีย..... 37

ผลการศึกษาแบคทีเรียสายพันธ์ที่ทนโลหะหนักในระดับค่าความเข้มข้นต่ำสุดของโลหะหนักที่แบคทีเรียเจริญได้.....38

การศึกษาประสิทธิภาพของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตจากเชื้อแบคทีเรียที่ทนโลหะหนัก.....41

วิเคราะห์องค์ประกอบของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ โดยวิธี FT-IR.....47

การจำแนกเชื้อแบคทีเรียที่สามารถผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ.....56

การศึกษาการเจริญเติบโตของแบคทีเรียที่ผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ..... 61

การทดสอบความสามารถในการกำจัดแคดเมียมและสังกะสีของ Biosurfactant ที่ผลิตจากแบคทีเรียที่ทนโลหะหนัก..... 62

5 **อภิปราย สรุปผล และข้อเสนอแนะ**.....70

การวิเคราะห์คุณสมบัติของดินและปริมาณโลหะหนักที่ปนเปื้อนในดิน..... 70

การศึกษาจำนวนแบคทีเรียทั้งหมดที่สามารถเจริญได้ในดินที่ปนเปื้อนสังกะสีและแคดเมียม และทนโลหะหนักในระดับค่าความเข้มข้นต่ำสุดของโลหะหนักที่แบคทีเรียเจริญได้.....71

การศึกษาความเป็นไปได้ในการประยุกต์ใช้สารลดแรงตึงผิวทางชีวภาพเพื่อใช้ในการกำจัดโลหะหนัก..... 72

การจำแนกเชื้อแบคทีเรียที่สามารถผลิตสารลดแรงตึงผิวทางชีวภาพ.....74

การศึกษาวิเคราะห์องค์ประกอบของสารลดแรงตึงผิวทางชีวภาพโดยวิธี FT-IR.....74

สารบัญ (ต่อ)

บทที่ **หน้า**

การศึกษาการเจริญเติบโตของแบคทีเรียที่ผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ.....75

การทดสอบความสามารถในการกำจัดแคดเมียมและสังกะสีของ

สารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตจากแบคทีเรีย ที่ทนโลหะหนัก.....76

สรุปผลการวิจัย..... 78

ข้อเสนอแนะ..... 81

บรรณานุกรม.....83

ภาคผนวก..... 89

ภาคผนวก ก การเตรียมสารเคมี..... 90

ภาคผนวก ข อาหารเลี้ยงเชื้อ และวิธีการเตรียม..... 93

ภาคผนวก ค หลักการ วิธีการตรวจสอบเอกลักษณ์ของเชื้อ..... 98

ภาคผนวก ง การวิเคราะห์คุณสมบัติของตัวอย่างดิน..... 106

ประวัติผู้วิจัย.....109

บัญชีตาราง

ตาราง **หน้า**

1 ชนิดของจุลินทรีย์ในการสร้างสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ.....19

2 คุณสมบัติของดิน นอกพื้นที่เหมืองและในพื้นที่เหมือง.....36

3 การทดสอบการทนต่อแคดเมียมของแบคทีเรียที่คัดแยกจากดินนอกเหมือง.....39

4 การทดสอบการทนต่อสังกะสีของแบคทีเรียที่คัดแยกจากดินนอกเหมือง.....39

5 การทดสอบการทนต่อแคดเมียมของแบคทีเรียที่คัดแยกจากดินในพื้นที่เหมือง.....40

6 การทดสอบการทนต่อสังกะสีของแบคทีเรียที่คัดแยกจากดินนอกพื้นที่เหมือง.....41

7 ไอโซเลทที่สามารถผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ.....42

8 ค่า Emulsifying capacity ของเชื้อแบคทีเรียที่สร้างสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ.....42

9 ค่า Emulsification Activity ของแบคทีเรียที่สร้างสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ.....43

10 ค่า Oil displacement area ของแบคทีเรียที่สร้างสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ.....45

11 ค่าความแตกต่างกันของประสิทธิภาพของสารลดแรงตึงผิวทางชีวภาพ.....46

12 องค์ประกอบของสารลดแรงตึงผิวทางชีวภาพที่ผลิตจาก
Corynebacterium sp. (Cd-M-2).....49

13 องค์ประกอบของสารลดแรงตึงผิวทางชีวภาพที่ผลิตจาก
Aeromonas hydrophila caviae. (Cd-R-46).....49

14 องค์ประกอบของสารลดแรงตึงผิวทางชีวภาพที่ผลิตจาก
Corynebacterium sp. (Zn-M-9).....50

15 องค์ประกอบของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตจาก
Aeromonas hydrophilla caviae (Zn-R-9).....50

16 องค์ประกอบของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตจาก
Agrobacterium radiobacter (Zn-R-15).....50

17 แสดงลักษณะการทดสอบเบื้องต้นของแบคทีเรียจำนวน 5 ไอโซเลท.....56

18 แสดงผลการทดสอบแบคทีเรียไอโซเลท Cd-R-46 ด้วย API ชุด NE..... 58

19 แสดงผลการทดสอบแบคทีเรียไอโซเลท Zn-R-9 ด้วย API ชุด NE.....59

20 แสดงผลการทดสอบแบคทีเรียไอโซเลท Zn-R-15 ด้วย API ชุด NE.....60

บัญชีตาราง (ต่อ)

ตาราง **หน้า**

21 ประสิทธิภาพในการกำจัดแคดเมียมของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพซึ่งผลิตจาก แบคทีเรียจำนวน 5 ไอโซเลท ที่ pH 3.....63
22 ประสิทธิภาพในการกำจัดแคดเมียมของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพซึ่งผลิตจาก แบคทีเรียจำนวน 5 ไอโซเลท ที่ pH 5.....64
23 ประสิทธิภาพในการกำจัดสังกะสีของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพซึ่งผลิตจาก แบคทีเรียจำนวน 5 ไอโซเลท ที่ pH 3..... 66
24 ประสิทธิภาพในการกำจัดสังกะสีของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพซึ่งผลิตจาก แบคทีเรียจำนวน 5 ไอโซเลท ที่ pH 5..... 67

บัญชีภาพ

ภาพ หน้า

1 ลักษณะโครงสร้างของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ.....13

2 โครงสร้างของกรดไมโคลิก.....14

3 โครงสร้างของ rhamnolipids ที่แตกต่างกัน 4 โครงสร้างที่ผลิตจาก *Pseudomonas aeruginosa*.....15

4 โครงสร้างของ sophorode lipids ที่ได้จาก *C. bombicola*.....16

5 โครงสร้างของ surfactin ที่ผลิตได้จาก *Bacillus subtilis*.....16

6 การเตรียมตัวอย่างดิน.....28

7 แสดงการเก็บตัวอย่างดินในพื้นที่เหมือง และดินนอกพื้นที่เหมือง.....28

8 ทดสอบความทนโลหะหนักของแบคทีเรียที่คัดแยกจากดินนอกพื้นที่เหมือง ที่ระดับความเข้มข้น 100 มิลลิกรัม / ลิตร.....41

9 แสดงการทดสอบ Emulsifying capacity (EC) และแสดงการทดสอบ Emulsification Activity (EA).....47

10 องค์ประกอบของสารลดแรงตึงที่สร้างจากแบคทีเรียไอโซเลท *Corynebacterium sp.* (Cd-M-2).....51

11 องค์ประกอบของสารลดแรงตึงที่สร้างจากแบคทีเรียไอโซเลท *Aeromonas hydrophila caviae.* (Cd-R-46).....52

12 องค์ประกอบของสารลดแรงตึงที่สร้างจากแบคทีเรียไอโซเลท *Corynebacterium sp.* (Zn-M-9).....53

13 องค์ประกอบของสารลดแรงตึงที่สร้างจากแบคทีเรียไอโซเลท *Aeromonas hydrophila caviae.* (Zn-R-9).....54

14 องค์ประกอบของสารลดแรงตึงที่สร้างจากแบคทีเรียไอโซเลท *Agrobacterium radiobacter.* (Zn-R-15).....55

15 การเจริญเติบโตของแบคทีเรียที่ผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ.....61

บัญชีภาพ (ต่อ)

ภาพ **หน้า**

16 แผนผังการเลือกใช้ชุดทดสอบทางชีวเคมีมาตรฐาน API
สำหรับแบคทีเรียกลุ่มแกรมลบ, รูปแท่ง.....99
17 แผนผังการจำแนกเชื้อแบคทีเรียที่เป็นชนิดแกรมบวก.....100