

บทคัดย่อภาษาไทย

นอกจากการสังเคราะห์อนุภาคนาโนแม่เหล็กด้วยวิธีทางเคมีและกายภาพแล้ว การสังเคราะห์อนุภาคนาโนแม่เหล็กด้วยวิธีทางชีวภาพโดยอาศัยเซลล์สิ่งมีชีวิตเป็นอีกวิธีหนึ่งที่กำลังได้รับความสนใจในการศึกษาวิจัย ทั้งนี้เซลล์แบคทีเรียบางชนิดสามารถนำอ็อกไซด์ของเหล็กจากสิ่งแวดล้อมมาเปลี่ยนเป็นอนุภาคนาโนแม่เหล็กภายในเซลล์หรือภายนอกเซลล์ได้ แต่ไม่มีการศึกษาดังกล่าวในประเทศไทย ดังนั้นในงานวิจัยนี้มีจุดมุ่งหมายเพื่อคัดเลือก ศึกษาลักษณะ และจำแนกชนิดของแบคทีเรียที่สามารถผลิตอนุภาคนาโนแม่เหล็ก ซึ่งแยกได้จากน้ำเสียที่ปนเปื้อนเหล็กในประเทศไทย ตลอดจนศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญและการผลิตอนุภาคนาโนแม่เหล็กของแบคทีเรียเหล่านี้ ในงานวิจัยนี้สามารถแยกแบคทีเรียได้ 6 ไอโซเลทได้แก่ HER_I HER_II KPI_I L3_5 SRL_I และ TSB_II ซึ่งสามารถระบุว่าเป็นแบคทีเรียที่ผลิตอนุภาคนาโนแม่เหล็ก (magnetic producing bacteria) โดยมีพฤติกรรมการตอบสนองต่อสนามแม่เหล็กแบบอ่อน และมีโครงสร้างของแมกนีโตโซม (magnetosomes) บรรจุอนุภาคออกไซด์ของเหล็กในรูปแมกนีไทท์ (magnetite, Fe_3O_4) ภายในเซลล์ ซึ่งวิเคราะห์จากภาพกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องผ่าน (Transmission Electron Microscope, TEM) การวิเคราะห์ธาตุด้วยเทคนิค TEM-energy dispersive X-ray spectroscopy และการวิเคราะห์การเลี้ยวเบนของอิเล็กตรอนแบบเลือกพื้นที่ด้วยเทคนิค TEM-selected area electron diffraction นอกจากนี้จากการวิเคราะห์ทางชีวเคมีพบว่าแบคทีเรียที่แยกได้จัดเป็นพวกไมโครแอโรฟิลิกและแอนแอโรบิก ทั้งนี้จากลำดับเบสของ 16S rRNA สามารถจำแนกแบคทีเรียดังกล่าวได้ในระดับสกุล (genus) จากแบคทีเรีย 6 ไอโซเลทนี้ได้คัดเลือก *Acinetobacter* sp. สายพันธุ์ HER_I เพื่อใช้ในการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญและการผลิตออกไซด์ของเหล็ก ซึ่งผลการศึกษาพบว่าสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญของแบคทีเรียชนิดนี้ คือการเลี้ยงในอาหารชนิด Modified magnetotactic bacteria (MTB) ที่มีกรดอะซิติก ความเข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์ พีเอช 6.9 และอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส แต่สภาวะดังกล่าวไม่ส่งเสริมการสังเคราะห์อนุภาคนาโน Fe_3O_4 ทั้งนี้การสังเคราะห์อนุภาคนาโน Fe_3O_4 พบเฉพาะการเลี้ยงในอาหารชนิด Modified MTB ที่ไม่มีกรดอะซิติก จากการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค X-ray Absorption Near Edge Structure ที่ใช้แหล่งกำเนิดพลังงานจากแสงซินโครตรอน พบว่าปริมาณของอนุภาคนาโน Fe_3O_4 ที่แบคทีเรียสังเคราะห์ได้เพิ่มขึ้นตามการเจริญของแบคทีเรียจากระยะเพิ่มจำนวนตอนต้น (early log phase) ไปยังระยะเพิ่มจำนวนตอนปลาย (late log phase) ทั้งนี้พบว่าแบคทีเรีย *Acinetobacter* sp. ไอโซเลท HER_I สามารถเจริญในอาหาร Modified MTB ที่มีความเข้มข้นของเหล็กอ็อกไซด์สูงถึง 160 มิลลิกรัมต่อลิตร นอกจากนี้ยังมีความสามารถในการนำอ็อกไซด์ของเหล็กเข้าเซลล์สูงกว่าแบคทีเรีย *Escherichia coli* และ *Staphylococcus aureus* อย่างมีนัยสำคัญ ในขณะที่ความสามารถในการดูดซับอ็อกไซด์ของเหล็กมีความใกล้เคียงกับ *E. coli* แต่สูงกว่า *S. aureus* อย่างมีนัยสำคัญ ผลจากการศึกษานี้แสดงถึงการคัดเลือกแบคทีเรีย *Acinetobacter* sp. ไอโซเลท HER_I ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่ผลิตอนุภาคนาโนแม่เหล็กชนิดในประเทศไทย ซึ่งน่าจะเป็นแบคทีเรียที่มีศักยภาพสำหรับการผลิตอนุภาคนาโนแม่เหล็ก และการชีวบำบัดน้ำที่มีเหล็กปนเปื้อนในปริมาณสูง

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ

In addition to the syntheses of magnetic nanoparticles (MNPs) via chemical and physical approaches, a biosynthesis of MNPs via living cells has gained many research interests. Some bacterial cells were reported to uptake iron ions from an environment and transformed them to MNPs inside or outside the cells. Nevertheless, there is still no study of these bacteria in Thailand. Thus, this research aimed to screen, characterize, and classify the bacteria producing MNPs which were isolated from iron-contaminated wastewater in Thailand, as well as to study the optimized conditions for their growth and production of MNPs. In this work, six isolated bacterial strains, designated as HER_I, HER_II, KPI_I, L3_5, SRL_I and TSB_II, were isolated, which were characterized as the magnetic producing bacteria due to their exhibition of weak magnetotactic behavior and presence of magnetosomes that contained iron oxide particles in a form of magnetite (Fe_3O_4) as determined by images of transmission electron microscope (TEM), the element analysis of TEM-energy dispersive X-ray spectroscopy (EDX), and the analysis of TEM-selected area electron diffraction (SAED). In addition, the biochemical analyses identified these bacteria in the groups of microaerophilic and anaerobic bacteria. The nucleotide sequences of 16S rRNA analysis could identify them at the genus level. Among 6 strains of the isolated bacteria, *Acinetobacter* sp. strain HER_I was chosen for further studies on its optimized growth condition and production of iron oxide particles. Results showed that its optimal growth condition was to use the modified MTB medium with 10 mM acetic acid, pH 6.9 at 25 °C, however, this condition did not support the formation of Fe_3O_4 nanoparticles. Formation of Fe_3O_4 nanoparticles was found only when they were cultured in the modified MTB medium without an acetic acid supplement. The amount of synthesized Fe_3O_4 nanoparticles was increased according to its growth from an early log phase to a late log phase as determined by the fluorescence mode of synchrotron X-ray Absorption Near Edge Structure analysis. *Acinetobacter* sp. strain HER_I could grow in the modified MTB medium supplement with the iron ion solution as high as 160 mg/l. Also, its ability to uptake iron ions was significantly higher than those of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*, while its capability to adsorb iron ions was similar to *E. coli* but significantly greater than *S. aureus*. The results of this work suggested that *Acinetobacter* sp. strain HER_I, the first magnetic producing bacteria isolated in Thailand, could be a potential bacterial strain for a production of magnetic nanoparticles and a bioremediation of high iron-contaminated water.