EXOPOLYMER PRODUCED BY COPPER RESISTANT BACTERIA AND ITS INFLUENCE ON COPPER MOBILIZATION IN CONTAMINATED SOIL

RATTANANUCH CHUNPEN

**A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT
OF THE REQUIREMENTS FOR
THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE
(APPROPRIATE TECHNOLOGY FOR RESOURCES
AND ENVIRONMENTAL DEVELOPMENT)
FACULTY OF GRADUATE STUDIES
MAHIDOL UNIVERSITY
2006**

ISBN 974-04-7946-4
COPYRIGHT OF MAHIDOL UNIVERSITY

สารExopolymer ที่ผลิตโดยแบคทีเรียต้านทานทองแดงและอิทธิพลของสารต่อการเคลื่อนที่ของทองแดงในดิน (EXOPOLYMER PRODUCED BY COPPER RESISTANT BACTERIA AND ITS INFLUENCE ON COPPER MOBILIZATION IN CONTAMINATED SOIL)

รัตนนุช จันทร์เพ็ญ 4637139 ENAT/M
วท.ม.(เทคโนโลยีที่เหมาะสมเพื่อการพัฒนาทรัพยากรและสิ่งแวดล้อม)
คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์ : พัฒน ทวีโภค, Ph.D.; เบญจภรณ์ ประภักดี, Ph.D.; อัจฉราพร ขำโสภา, Ph.D., สรวิศ เผ่าทองศุข, Ph.D.

บทคัดย่อ

การศึกษาถึงบทบาทของแบคทีเรียที่อาศัยบริเวณรากพืช ในการช่วยลดความเป็นพิษของโลหะหนักที่ปนเปื้อนในดิน โดยทำการแยกแบคทีเรียจำนวน 6 สายพันธุ์ จากบริเวณรอบรากพืชซึ่งเป็นที่ทราบถึงความสามารถในการดูดสะสมโลหะทองแดงจากสิ่งแวดล้อม ได้แก่ เฟิร์น *Pteris vittata* ที่ขึ้นอยู่ในดินที่มีการปนเปื้อนของทองแดงในปริมาณ 514 มิลลิกรัมทองแดง / กิโลกรัม น้ำหนักแห้ง ทำการศึกษาถึงความสามารถในการต้านทานทองแดง และความสามารถในการผลิตสาร exopolymer ของแบคทีเรียที่แยกมาได้ เลือกสายพันธุ์แบคทีเรียที่มีความสามารถในการผลิตสาร exopolymer สูงสุด เพื่อนำไปศึกษาถึงความสามารถในการผลิตสาร exopolymer ในสภาพที่มีการปนเปื้อนของทองแดงที่ระดับต่าง ๆ อิทธิพลของสารที่มีต่อการเคลื่อนที่ของทองแดงในดิน และความสามารถในการจับตัวของสารกับอิออนทองแดงอิสระ

จากผลการศึกษาพบว่า แบคทีเรียสายพันธุ์ DC1 มีความสามารถในการต้านทานทองแดงสูงสุด ในขณะที่แบคทีเรียสายพันธุ์ NC1 มีความสามารถในการต้านทานทองแดงต่ำสุด สำหรับความสามารถในการผลิตสาร Exopolymer ของแบคทีเรียทั้ง 6 สายพันธุ์ ภายหลังการบ่มเป็นเวลา 48 ชั่วโมง ในอาหาร TSB พบว่าแบคทีเรียสายพันธุ์ NC3 ผลิตสาร Exopolymer ได้ในปริมาณต่ำที่สุดคือ 2.93 กรัม/ ลิตร ในขณะที่แบคทีเรียสายพันธุ์ IC1 มีความสามารถในการผลิตสาร Exopolymer สูงสุด คือ 9.28 กรัม/ ลิตร แบคทีเรียสายพันธุ์ IC1 จึงเป็นแบคทีเรียที่ได้รับการคัดเลือกเพื่อการศึกษาในขั้นต่อไป โดยในสภาวะที่มีการปนเปื้อนของทองแดง 2 มิลลิโมลาร์ พบว่าแบคทีเรียสายพันธุ์ IC1 สามารถเจริญเติบโตไม่แตกต่างจากการเลี้ยงในสภาวะปกติ แต่ปริมาณสาร exopolymer ที่แบคทีเรียผลิตสามารถตรวจวัดได้ว่ามีปริมาณสูงขึ้นกว่าที่สภาวะปกติ โดยปริมาณ exopolymer สูงสุดที่ตรวจวัดได้ ในขณะที่สภาวะปกติ มีปริมาณ exopolymer สูงสุดที่วัดได้คือ 13.80 กรัม/ ลิตร หลังการบ่ม 60 ชั่วโมง ส่วนชุดทดลองที่มีการเติมทองแดง พบว่าปริมาณสูงสุด คือ 15.10 กรัม/ ลิตร ตรวจพบหลังการบ่ม 72 ชั่วโมง

สำหรับการศึกษาคุณสมบัติในการทำให้ทองแดงที่ดูดซับอยู่กับดินละลายในน้ำได้มากขึ้นนั้น ใช้ตัวอย่างดินปนเปื้อนทองแดง (592.5 มิลลิกรัมทองแดง/ กิโลกรัม น้ำหนักแห้ง) ผสมกับน้ำ (1:20, น้ำหนัก:ปริมาตร) และ 10 มิลลิกรัม exopolymer ซึ่งตัวอย่างดินที่ใช้นี้ มีองค์ประกอบเป็นสารอินทรีย์ค่อนข้างสูง ร้อยละ 10.73 และความสามารถในการแลกเปลี่ยนไอออน 22.0 ซีโมล/ กิโลกรัม หลังการบ่มเป็นเวลา 3 5 และ 7 วัน ตรวจพบปริมาณอิอออนทองแดงอิสระที่ละลายน้ำเพิ่มขึ้นจากเดิมในระดับต่ำมาก ส่วนปริมาณสารประกอบทองแดงละลายน้ำ ในสารละลาย exopolymer ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัม/ ลิตร นั้นพบว่า มีแนวโน้มเพิ่มขึ้น เมื่อความเข้มข้นของสารละลายทองแดงอิสระเพิ่มขึ้น โดยสารละลายที่มีทองแดงความเข้มข้น 20 100 200 และ 400 มิลลิกรัม/ ลิตร พบปริมาณความเข้มข้นของสารประกอบทองแดงที่จับตัวกับสารexopolymer ที่ระดับ 0.12 0.44 0.52 และ 0.63 มิลลิกรัมทองแดง/ กรัมของสาร exopolymer และเมื่อทำการศึกษาค่าความสามารถในการดูดซับของ สาร Exopolymer ด้วยสมการ Langmuir พบว่าระดับสูงสุดในการดูดซับทองแดง (Q_m)ของสาร exopolymer คือ 0.78 มิลลิกรัมทองแดง/กรัมของสาร exopolymer โดยมีค่าคงที่ของการเกิดปฏิกิริยา (K) คือ 0.01 ลิตร/กรัม

แม้ว่าความสามารถของสาร exopolymer ในการทำให้ทองแดงที่ดูดซับอยู่กับดิน ละลายในน้ำได้มากขึ้นนั้น จะมีแนวโน้มว่ามีข้อจำกัดขึ้นกับลักษณะองค์ประกอบของดิน และปริมาณอิออนทองแดงอิสระ แต่จากผลการศึกษาแสดงให้เห็นถึงความเป็นไปได้ที่จะใช้สารนี้ ในการลดความเป็นพิษของอิออนทองแดงอิสระในสภาพแวดล้อมที่เป็นดิน ซึ่งคุณสมบัตินี้สามารถจะนำไปสู่การปรับปรุงวิธีการที่ใช้พืชในการบำบัดดินปนเปื้อนทองแดง ให้มีประสิทธิภาพดีขึ้นต่อไป

69 หน้า ISBN 974-04-7946-4

EXOPOLYMER PRODUCED BY COPPER RESISTANT BACTERIA AND ITS INFLUENCE ON COPPER MOBILIZATION IN CONTAMINATED SOIL

RATTANANUCH CHUNPEN 4637139 ENAT/M

M.Sc. (APPROPRIATE TECHNOLOGY FOR RESOURCES AND ENVIRONMENTAL DEVELOPMENT)

THESIS ADVISORS : PATANA THAVIPOKE, Ph.D.; BENJAPHORN PRAPAGDEE, PhD., ACHARAPORN KUMSOPA, Ph.D.; SORAWIT POWTONGSOOK, Ph.D.

ABSTRACT

The rhizosphere bacteria roles on metals detoxification in contaminated soil was studied. From the rhisozphere of fern *Pteris vittata*, a known copper hyperaccumulator plant, grown on a copper contaminated soil containing 514 mg Cu/ kg dry weight, six bacteria strains were isolated. Their copper resistant ability, as well as potent in exopolymer production were observed. The strain with the highest yield of exopolymer was selected for later studies on exopolymer production under varying copper contamination conditions. Effects of the produced exopolymer on copper mobilization in contaminated soil, as well as complexation of free copper ions were also observed.

The results indicated that the bacteria strain DC1 was the most copper resistant strain, while the strain NC1 was the least resistant. From all six strains, the exopolymer production after 48 hrs incubation in TSB medium ranged from the lowest yield 2.93 g/l for the strain NC3 to the highest yield 9.28 g/l for the strain IC1. In the presence of 2 mM copper (127 mg Cu/l), no significant growth inhibition effects after 72 hrs incubation period on the strain IC1 were observed. For the normal culture, the highest yield of the produced exopolymer of 13.80 g/l TSB was observed after 60 hrs incubation. For the culture amended with 2 mM copper (127 mg Cu/l), however, the highest yield of 15.10 g/l TSB was reached after 72 hrs incubation.

For copper mobility enhancement study, 100 ml copper contaminated (592.5 mg Cu/ kg dry weight) soil slurry (1:20, w:v) sample containing 10 mg exopolymer was used. The samples contained relatively high concentration of organic matter as 10.73 %, and 22.0 cmol/ kg of CEC. The results indicated that only the minimum amount of strongly bound copper could be mobilized by the exopolymer after 3, 5 and 7 days incubation. The amount of complexed copper in the 100 mg/ l exopolymer solution, however, seemed to raise with increasing amount of available free copper ions. In the exopolymer solutions containing 20, 100, 200, and 400 mg Cu/ l respectively, the amounts of complexed copper were found to be 0.12, 0.44, 0.52, and 0.63 mg Cu/g exopolymer, respectively. The maximum binding capacity (Q_m) of the exopolymer was 0.78 mg Cu/g exopolymer with the Langmuir adsorption constant (K) of 0.01 l/mg.

Although, the copper mobilization capacity of the produced microbial exopolymer seemed to be limited depending on soil contents and free copper availability, these results indicated the possibility of employing exopolymers to reduced toxicity of free copper ions in the terrestrial environment. This could lead to a potential improvement in phytoremediation techniques specifically for copper contaminated soil.

KEY WORDS : COPPER RESISTANT BACTERIA/ EXOPOLYMER/ COPPER MOBILIZATION

69 pp. ISBN 974-04-7946-4