



**DEGRADATION OF METHYL PARATHION IN AN AQUEOUS MEDIUM  
BY SOIL BACTERIA**

**CHAROENSRI KEPRASERTSUP**



**A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF  
THE REQUIREMENTS FOR THE DEGREE OF  
MASTER OF SCIENCE  
(ENVIRONMENTAL BIOLOGY)**

**IN**

**FACULTY OF GRADUATE STUDIES**

**MAHIDOL UNIVERSITY**

**1995**

**32898**

TH  
Charoensri  
1995

Copyright by Mahidol University

ชื่อวิทยานิพนธ์	การย่อยสลายเมธิลพาราไธออนในอาหารเหลวโดยแบคทีเรียจากดิน
ผู้วิจัย	เจริญศรี กีประเสริฐทรัพย์
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (ชีววิทยาสภาวะแวดล้อม)

#### คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์

สุชาติ อุปลัมภ์, Ph. D.

ไพโรจน์ เปรมปรีดิ์, Ph. D.

เนาวรัตน์ สุขะพันธุ์, ปร.ค.

วันที่สำเร็จการศึกษา 15 พฤษภาคม พ.ศ. 2538

#### บทคัดย่อ

ได้นำดินจากแหล่งเกษตรกรรมมาบ่มในอาหารเหลวที่ประกอบด้วยเกลือแร่เพียงอย่างเดียว (Basal mineral medium , BMM) และใน BMM ที่มีน้ำตาลกลูโคส (0.5 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร) ผสมอยู่ โดยทำการเติมและเพิ่มปริมาณของเมธิลพาราไธออน (methyl parathion, MP) ชนิดรูปแบบการค้ำลงใน BMM เป็นระยะๆตลอดเวลาการบ่ม จุลินทรีย์ผสมทั้งสองชนิดที่ได้จากดินที่บ่มใน BMM ที่มีน้ำตาลกลูโคสและไม่มีน้ำตาลกลูโคสสามารถย่อยสลาย MP (50 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) ใน BMM ได้ เชื้อแบคทีเรียบริสุทธิ์จากจุลินทรีย์ผสมที่ได้จากดินที่บ่มใน BMM ที่มีน้ำตาลกลูโคสและสามารถย่อยสลาย MP (50 ไมโครกรัม/ มิลลิลิตร) ใน BMM ได้ ได้แก่ *Bacillus* sp. และ unknown 2 ชนิด แบคทีเรียทั้งสามชนิดสามารถย่อยสลาย MP ชนิดรูปแบบการค้ำได้ แต่ไม่สามารถย่อยสลาย MP ชนิดบริสุทธิ์ใน BMM ที่ไม่มีน้ำตาลกลูโคสได้ สำหรับ *Pseudomonas stutzeri* เป็นแบคทีเรียจากจุลินทรีย์ผสมที่ได้จากดินที่บ่มใน BMM ที่ไม่มีน้ำตาลกลูโคสและเป็นแบคทีเรียเพียงชนิดเดียวที่สามารถย่อยสลายทั้ง MP ชนิดรูปแบบการค้ำและแบบบริสุทธิ์ได้ นอกจากนั้น *Pseudomonas* sp. ยังเป็นแบคทีเรียที่สามารถย่อยสลาย MP ได้ดีที่สุดในเมื่อเปรียบเทียบกับเชื้อแบคทีเรียทั้งหมดที่แยกได้จากดิน

ดังนั้น *Pseudomonas* sp. จึงถูกนำมาทดสอบศักยภาพในการย่อยสลาย MP ชนิดรูปแบบการค้ำใน BMM ที่มีความแตกต่างทางด้านความเป็นกรด-ด่าง (pH 4, 5, 6, 7, และ 8) ความ

เค็ม (ความเข้มข้นของเกลือโซเดียมคลอไรด์ใน BMM เท่ากับ 0, 0.1, 0.5, 1.0, 2.0 และ 3.5 เปอร์เซ็นต์) BMM ที่มีน้ำตาลกลูโคส (0.5 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร) และไม่มีน้ำตาลกลูโคส ปริมาณของเชื้อแบคทีเรีย ( $\times 10^6$  และ  $\times 10^7$  เซลล์/มิลลิลิตร) และ ความเข้มข้นเริ่มต้นของ MP (50, 100 และ 150 ไมโครกรัม/มิลลิกรัม) จากการทดลองพบว่า *Pseudomonas* sp. สามารถย่อยสลาย MP และเจริญเติบโตใน BMM ได้ทุกช่วงของความเป็นกรด-ด่าง (pH 4 ถึง pH 8) และทุกความเข้มข้นของเกลือโซเดียมคลอไรด์ (0 ถึง 3.5 เปอร์เซ็นต์) การเพิ่มน้ำตาลกลูโคสลงใน BMM ไม่มีผลทำให้การย่อยสลาย MP เพิ่มขึ้น สำหรับ MP ที่มีความเข้มข้นเท่ากับ 50, 100 และ 150 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร สามารถถูก *Pseudomonas* sp. ( $\times 10^7$  เซลล์/มิลลิลิตร) ย่อยสลายได้ในเวลาอันรวดเร็ว โดยพิจารณาจากค่าครึ่งชีวิตของ MP พบว่ามีค่าเท่ากับ 0.55, 0.58 และ 0.87 ชั่วโมงตามลำดับ นอกจากนี้ *Pseudomonas* sp. ยังสามารถย่อยสลาย *p*-nitrophenol (PNP) ได้หมดสมบูรณ์ ซึ่ง PNP นั้นเป็นสารที่เกิดจากการที่ MP ถูกย่อยสลายโดย *Pseudomonas* sp. ด้วยขบวนการไฮโดรไลซิส (hydrolysis) จากการศึกษายังแสดงให้เห็นว่า MP และ PNP สามารถเป็นแหล่งพลังงานคาร์บอนสำหรับการเจริญเติบโตของ *Pseudomonas* sp. ได้ด้วย



from the mixed culture in BMM without glucose, and it was the best MP-degrading bacterium, too.

This culture was tested for MP-degrading ability in BMM at different conditions : pH values (pH4, 5, 6, 7, and 8), salinity levels (0, 0.1, 0.5, 1.0, 2.0 and 3.5% NaCl), inoculum sizes ( $\times 10^6$  and  $\times 10^7$  cells/ml), with and without glucose (0.5 mg/ml), and initial concentrations of MP (50, 100, and 150  $\mu\text{g/ml}$ ). *Pseudomonas* sp. was able to degrade MP and grew in BMM at all pH values and salinity levels. The addition of glucose (0.5 mg/ml) was not effective to increase the MP-degrading ability of *Pseudomonas* sp.. Population of *Pseudomonas* sp. at  $6 \times 10^7$  cells/ml degraded MP at 50, 100, and 150  $\mu\text{g/ml}$  in standard BMM rapidly. Half-life values of MP at 50, 100, and 150  $\mu\text{g/ml}$  in standard BMM, inoculated with *Pseudomonas* sp. ( $6 \times 10^7$  cells/ml), were 0.55, 0.58 and 0.87 hour, respectively. Furthermore, *p*-nitrophenol (PNP), hydrolyzed product of MP, was degraded by *Pseudomonas* sp. completely. Methyl parathion and PNP were used as a sole source of carbon for growth of *Pseudomonas* sp., too.