

12 JUL 2000



**SCREENING AND CHARACTERIZATION OF BACTERIA  
CAPABLE OF BIOTRANSFORMATION OF TOXIC  
ARSENIC COMPOUND IN SOIL**

**PAWEENA UPPANAN**

อธิปัทนนาถ

จาก

มีศกักรักรทตด้วย น.ม.เนถก

**A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT  
OF THE REQUIREMENTS FOR  
THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE (ENVIRONMENTAL BIOLOGY)  
FACULTY OF GRADUATE STUDIES  
MAHIDOL UNIVERSITY**

**2000**

**ISBN 974-664-056-9**

**COPYRIGHT OF MAHIDOL UNIVERSITY**

TH

P339s

2000

C.2

44667 e.1

4037171 SCEB/M : MAJOR : ENVIRONMENTAL BIOLOGY ;  
M.Sc (ENVIRONMENTAL BIOLOGY)

KEY WORDS : ARSENATE, ARSENITE, BACTERIA, OXIDATION,  
HYDRIDE GENERATION

PAWEENA UPPANAN : SCREENING AND CHARACTERIZATION OF  
BACTERIA CAPABLE OF BIOTRANSFORMATION OF TOXIC ARSENIC  
COMPOUND IN SOIL. THESIS ADVISORS : PORNSAWAN  
VISOOTTIVISETH, Ph.D., AMARET BHUMIRATANA, Ph.D., JUWADEE  
SHIOWATANA, Ph.D., VIROTE BOONAMNUAYVITTAYA, Ph.D. 92p.  
ISBN 974-664-056-9

Out of 188 bacterial strains isolated from soil and mine-tailing samples collected from the arsenic contaminated area in Ron Phibun District, Nakhon Si Thammarat Province, southern Thailand. 113 bacterial strains are resistant to 700 mg l<sup>-1</sup> arsenic compounds. Within these groups, two of them are found to be highly capable of oxidizing arsenite to arsenate, and were identified as *Alcaligenes xylosoxidans* subsp. *xylosoxidans* and designated as strain no.2/6 and strain no.3/18. Bacterial oxidation occurred in the range of 65% to 90% of added sodium arsenite (NaAsO<sub>2</sub>) in medium at concentrations 10, 100, and 1,000 mg l<sup>-1</sup>. At the concentration of 1,000 mg l<sup>-1</sup> of sodium arsenite, there was some inhibitory effect in bacterial oxidation. Optimum arsenite oxidation occurred under aerobic conditions at a pH between 4.0 and 9.0 and at temperature 27 °c and 37 °c. Under this optimum condition the strain no.2/6 and strain no.3/18 reached the stationary phase in 24 and 8 hours, respectively. *Alcaligenes* strains were likely to utilize toxic arsenite as an electron donor aerobically because (I) during experiment, while the concentration of arsenite was decreased, the concentration of arsenate was increased and (II) the growth of *Alcaligenes xylosoxidans* accompanied the decrease of toxic arsenite in mineral medium.

These results suggest that the oxidation of arsenite to arsenate at the contaminated area by the isolated bacteria can play an important role in controlling the overall mobility of arsenite and in detoxifying the more toxic arsenite to less toxic arsenic.

4037171 SCEB/M : สาขาวิชา : ชีววิทยาศาสตร์ภาวะแวดล้อม ; วท.ม. (ชีววิทยาศาสตร์ภาวะแวดล้อม)  
ปรีญา อุปนันต์ : การคัดเลือกแบคทีเรียที่มีความสามารถในการลดพิษของสารหนู  
(SCREENING AND CHARACTERIZATION OF BACTERIA CAPABLE OF BIOTRANSFORMATION OF TOXIC ARSENIC COMPOUND IN SOIL.) คณะกรรมการ  
ควบคุมวิทยานิพนธ์ : พรสวรรค์ วิสุทธิวิเศษ Ph.D., อมเรศ ภูมิรัตน์ Ph.D., ยุวดี เชี่ยววัฒนา  
Ph.D., วิโรจน์ บุญอำนวยวิทยา Ph.D. 92 หน้า ISBN 974-664-056-9

งานวิจัยนี้ได้ทำการแยกเชื้อแบคทีเรียจากตัวอย่างดินและกากขี้แร่จากพื้นที่ ซึ่งมีการปนเปื้อนด้วยสารหนู ในอำเภอรัตนพิบูลย์ จังหวัดนครศรีธรรมราช จากการทดลองสามารถคัดแยกเชื้อแบคทีเรียได้ทั้งหมด 188 สายพันธุ์ จำนวนแบคทีเรียทั้ง 188 สายพันธุ์ที่แยกได้นี้มี 2 สายพันธุ์ที่พบว่า มีประสิทธิภาพดีในการออกซิไดซ์สารประกอบสารหนูที่มีความเป็นพิษสูง (arsenite) ให้เป็นสารประกอบสารหนูที่มีความเป็นพิษน้อยลง (arsenate) แบคทีเรียที่คัดได้ทั้ง 2 สายพันธุ์ ได้วินิจฉัยพบว่าเป็นแบคทีเรียประเภท *Alcaligenes xylosoxidans* subsp. *xylosoxidans* ตั้งชื่อเป็นสายพันธุ์ 2/6 และสายพันธุ์ 3/18 กระบวนการออกซิเดชันของแบคทีเรียที่คัดเลือกไว้ทั้งสองสายพันธุ์นี้ พบว่าสามารถออกซิไดซ์อาร์ซีไนต์ ได้ 65-90 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีความเข้มข้นของโซเดียมอาร์ซีไนต์ 10-1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร ความเข้มข้นของโซเดียมอาร์ซีไนต์ที่ 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตรมีผลยับยั้งกระบวนการออกซิเดชันเป็นบางส่วน กระบวนการออกซิไดซ์สารประกอบอาร์ซีไนต์ที่มีประสิทธิภาพสามารถเกิดขึ้นได้ภายใต้สภาพความเป็นกรดค่าระหว่าง 4-9 และที่อุณหภูมิ 27-37 องศาเซลเซียส ภายใต้สภาวะนี้แบคทีเรียสายพันธุ์ 2/6 และสายพันธุ์ 3/18 เข้าสู่ระยะ stationary phase ที่ 24 และ 8 ชั่วโมง ตามลำดับ จากการศึกษพบว่าแบคทีเรียทั้ง 2 สายพันธุ์อาจจะใช้สารประกอบอาร์ซีไนต์เป็นแหล่งให้อิเลคตรอนภายใต้สภาวะแอโรบิก เนื่องจากในระหว่างการทดลองในขณะที่ความเข้มข้นของสารประกอบอาร์ซีไนต์ลดลงพบว่า ความเข้มข้นของสารประกอบอาร์ซีไนต์เพิ่มขึ้นและยังพบว่าการเจริญเติบโตของแบคทีเรียทั้งสองสายพันธุ์นี้เจริญไปพร้อมกับการลดลงของสารประกอบอาร์ซีไนต์ในอาหารเลี้ยงเชื้อ

จากผลการทดลองการออกซิเดชันของสารประกอบอาร์ซีไนต์ให้เป็นสารประกอบอะซิเนต โดยแบคทีเรียที่คัดเลือกไว้สามารถลดความเป็นพิษของสารหนูให้อยู่ในรูปที่เป็นพิษน้อยลง และช่วยลดการกระจายสารหนูไม่ให้เข้าสู่สิ่งแวดล้อม