Thesis Title Continuous Decolorization of Synthetic Wastewater Contaminated with Textile Azo Dye by Immobilized *Coriolus versicolor* RC3 in Packed Bed Bioreactor

Author Mr. Wirut Kitwechkun

Degree Master of Science (Biotechnology)

Thesis Advisor Lecturer Dr. Chartchai Khanongnuch

ABSTRACT

Textile industries are the main sources of dye contamination in water resources and azo dye are the most popular dyes used in textile processes. According to the negative environmental impacts, several methods are developed and used in dye removal including the interested alternative as biological treatments with fungal culture. Orange II was used as azo dye model and white rot fungus *Coriolus versicolor* RC3 immobilized on polyurethane foam was used as an active microorganism. Synthetic liquid medium with 20 ppm of Orange II was used in batch decolorization and the incubation conditions including addition of various nitrogen and carbon sources were studied. Ammonium oxalate at 0.2 g/l was the best ammonium salt for inducing rapid decolorization with the maximum decolorization at 97–98% after 60–72 hours of incubation. However, no addition of any nitrogen salt could also give the same maximum level, but an incubation period was prolonged to 72–84 hours. One g/l of glucose was a minimum level of carbon source for maintaining a high decolorization rate. Optimal initial pH and ambient temperature for decolorization were 6.5 and 30–37°C, respectively. Ligninolytic enzymes produced by *C. versicolor* RC3 during dye treatment process were investigated. It was found that laccase was the main enzyme and the activity increased corresponding with an increasing of decolorization percentage. For fungal cell immobilization, an optimal ratio of 1 cm^3 polyurethane foam (PUF) and malt extract broth was 1:50 (w/v) resulting approximately 200 g of dried cell per kg of PUF when incubation condition was 37°C for 96 hours. In continuous decolorization study, a cylindrical packed bed bioreactor with 201 working

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

volume was designed and used with 2 g of fungal colonized 1 cm^3 PUF and filled with synthetic liquid medium obtained from batch study. After reactor system was incubated at 37°C and 5 vvm of air flow rate without feeding for 5 hours before to obtain more than 90% decolorization, continuous feeding were subsequently performed for hydraulic retention time (HRT) study. It was found that the decolorization duration was increased corresponding with an increasing of HRT. At 8 hours of HRT, more than 90% of decolorization was maintained over 120 hours and decreased lower than 80% after 160 hours. Considering for size of PUF, 1.5 cm^3 PUF with 8 hours of HRT could maintain a high efficiency and decolorization duration increased to 2 weeks. However, when Orange II concentration was increased up to 50 and 100 ppm, the reactor system demonstrated an overloading rate for 8 hours HRT. Finally, *C. versicolor* RC3 exhibited the potential to use in decolorization of real textile wastewater collected from Batik factory in Lamphun. More than 80% decolorization of this wastewater could be obtain in 4 days of batch cultivation.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์ การกำจัดสีแบบต่อเนื่องของน้ำเสียสังเคราะห์ที่ปนเปื้อนด้วยสีย้อมอะโซโดยเซลล์ตรึงของ *Coriolus versicolor* RC3 ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบหอบรรจุตัวกลาง

ผู้เขียน นายวิรุดต์ กิจเวชกุล

ปริญญา วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ อาจารย์ ดร.ชาติชาย โขนงนุช

บทคัดย่อ

อุตสาหกรรมสิ่งทอเป็นสาเหตุหลักแห่งการปนเปื้อนของสีย้อมผ้าในแหล่งน้ำ และสีส่วนใหญ่ที่นิยมใช้ในกระบวนการผลิตสิ่งทอจะเป็นสีในกลุ่มอะโซ จากผลกระทบในด้านลบของน้ำเสียดังกล่าว ทำให้เกิดการพัฒนาวิธีการบำบัดน้ำเสียที่ปนเปื้อนด้วยสีย้อมผ้า โดยเฉพาะวิธีที่ได้รับความสนใจอย่างวิธีทางชีวภาพ ในการศึกษาครั้งนี้ใช้สีออเรนจ์ทูเป็นตัวแทนของสีอะโซ และเซลล์ตรึงของเชื้อรา *Coriolus versicolor* RC3 บนฟองน้ำเป็นตัวกำจัดสี ในการศึกษาการกำจัดสีแบบกะ ใช้อาหารเหลวสังเคราะห์ที่ผสมด้วยสีออเรนจ์ทูเข้มข้น 20 พีพีเอ็ม และทำการแปรผันสภาวะต่างๆ ผลการศึกษาพบว่าแหล่งของเกลือแอมโมเนียมที่ให้ผลการกำจัดสีดีที่สุดคือ แอมโมเนียม-ออกซาเลทที่ความเข้มข้น 0.2 กรัม/ลิตร โดยใช้เวลาในการกำจัดสีเพียง 60–72 ชั่วโมง ก็จะให้ค่าการกำจัดสีสูงสุดที่ร้อยละ 97–98 อย่างไรก็ตามการไม่เติมเกลือไนโตรเจนเลยก็สามารถให้ผลการกำจัดสีสูงสุดเท่ากัน แต่ใช้เวลาเพิ่มขึ้นเป็น 72–84 ชั่วโมง การเติมกลูโคส 1 กรัม/ลิตร เป็นปริมาณของแหล่งคาร์บอนที่น้อยที่สุดที่ยังคงทำให้อัตราเร็วในการกำจัดสีไม่ลดลง ค่าพีเอ็ชเริ่มต้นของอาหารและอุณหภูมิในการกำจัดสีที่เหมาะสมคือ 6.5 และ 30–37 องศาเซลเซียส ตามลำดับ จากการศึกษาปริมาณเอนไซม์ย่อยลิกนินที่เชื้อผลิตขึ้นในระหว่างการกำจัดสีพบแลคเคสเป็นเอนไซม์หลัก และให้ค่ากิจกรรมแปรผันตรงกับค่าร้อยละของการกำจัดสีที่เพิ่มขึ้น ในส่วนของการตรึงเซลล์ *C. versicolor* RC3 บนฟองน้ำ พบว่าอัตราส่วนระหว่างฟองน้ำขนาด 1 ลูกบาศก์เซนติเมตรกับอาหารเหลวมอลท์สกัดที่เหมาะสมคือ 1:50 (กรัม/มิลลิลิตร) โดยให้ค่าความหนาแน่นของเซลล์แห้งประมาณ 200 กรัม/กิโลกรัมของฟองน้ำจากการบ่มที่ 37 องศาเซลเซียส นาน 96 ชั่วโมง การศึกษาการกำจัดสีแบบต่อเนื่อง ได้มีการออกแบบและสร้างถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบหอบรรจุตัวกลางรูปทรงกระบอกที่มีความจุ 201 มิลลิลิตร โดยใช้ตัวกลางเป็นฟองน้ำขนาด 1 ลูกบาศก์เซนติเมตรจำนวน 2 กรัม ที่มีเส้นใย *C. versicolor* RC3 เจริญอยู่ ทำการเติมอาหารเหลว

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

สังเคราะห์สูตรที่ปรับปรุงใหม่จากการศึกษาการกำจัดสีแบบกะ ทำการบ่มก่อน 5 ชั่วโมงที่ 37 องศาเซลเซียส ภายใต้อัตราการให้อากาศ 5 วีวีเอ็ม จนได้ค่าการกำจัดสีมากกว่าร้อยละ 90 หลังจากนั้นทำการแปรผันค่าระยะเวลาที่อาหารเหลวอยู่ในถังปฏิกรณ์ (HRT) จากการป้อนอาหารผสมสีแบบต่อเนื่อง พบว่าการเพิ่มขึ้นของ HRT จะทำให้ระยะเวลาในการกำจัดสีนานขึ้น โดยที่ HRT 8 ชั่วโมง สามารถให้ค่าการกำจัดสีมากกว่าร้อยละ 90 นานกว่า 120 ชั่วโมง และค่าการกำจัดสีจะลดลงต่ำกว่าร้อยละ 80 เมื่อใช้เวลาไป 160 ชั่วโมง เมื่อพิจารณาขนาดของฟองน้ำที่ใช้ พบว่าฟองน้ำขนาด 1.5 ลูกบาศก์เซนติเมตร ใช้กับ HRT 8 ชั่วโมง ยังคงให้ค่าการกำจัดสีที่ดี และทำให้ระยะเวลาการกำจัดสีนานขึ้นถึง 2 สัปดาห์ เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสีออเรนจ์ทูเป็น 50 และ 100 พีพีเอ็ม โดยยังคงใช้ HRT เป็น 8 ชั่วโมง พบว่าเกินกำลังที่ระบบจะรองรับได้ นอกจากนั้น *C. versicolor* RC3 ยังแสดงให้เห็นถึงโอกาสในการพัฒนาไปสู่การบำบัดน้ำเสียจริงจากโรงงานย้อมผ้าบาติกจังหวัดลำพูน เมื่อนำน้ำเสียดังกล่าวมาทดลองการกำจัดสีแบบกะ พบว่าสีถูกกำจัดไปได้มากกว่า 80% ภายใน 4 วัน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved