Thesis Title Biodegradation of Phenol by Free and Immobilized Cells of *Candida tropicalis* CMU 10

Author Miss Montira Intanon

Degree Master of Science (Biotechnology)

Thesis Advisor Dr. Ampin Kuntiya

ABSTRACT

The presence of phenol in wastewaters, as a result of discharges from different industries, causes the environmental pollution. Therefore, it is very important to eliminate this chemical. After the isolation of microorganisms that were able to degrade phenol from soil samples, *Candida tropicalis* CMU 10 showed high phenol-degrading ability. The effect of various factors on phenol degradation by *C. tropicalis* CMU 10 were studied in a series of batch experiments. From the study on effects of physical conditions on phenol degradation, the yeast strain degraded phenol best at initial concentration of 100 mg/l in 8 h at 37 °C. The maximum initial concentration of phenol utilized by *C. tropicalis* CMU 10 was 1,000 mg/l. The optimum pH for phenol degradation was at 8. The effects of glucose, various organic acids (citric, lactic, malic and succinic acids) and metal ions (Co^{2+}, Cu^{2+}, Fe^{2+}, Fe^{3+}, Mn^{2+}, Ni^{2+} and Zn^{2+}) were subsequently investigated. The yeast strain degraded phenol completely in the presence of 0-5 mM glucose, 10 mM organic acids (citric, lactic and succinic) and 0.4 mM of metal ions (Fe^{2+}, Fe^{3+}, Mn^{2+} and Zn^{2+}) after 4-8,

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

4-7 and 4-6 days, respectively. Phenol degradation by free and immobilized cells of the yeast strain was investigated in a repeated batch system. Initial phenol concentration in the medium was 1,000 mg/l. In each batch, after phenol had been completely degraded, 70 % of the fermentation medium volume was exchanged for another round of fresh medium containing 250 mg/l higher phenol concentration. Phenol could be completely degraded for 4, 7 and 5 batches by free, alginate-immobilized and agar-immobilized cells for 246, 432 and 1,578 h, respectively. The maximum phenol degradation rates of free and immobilized cells in alginate and agar matrices were 41.6, 34.9 and 26.0 mg/l-h, respectively, at 1,250 mg/l phenol. Immobilized cells were able to degrade phenol at a higher concentration (2,000 and 2,750 mg/l for agar- and alginate-immobilized cells, respectively) than that of the free cells.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์ การย่อยฟีนอลโดยเชื้อ *Candida tropicalis* CMU 10 ในรูปเซลล์อิสระ และเซลล์ตรึง

ผู้เขียน นางสาวมนทิรา อินต๊ะนอน

ปริญญา วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ดร. อำพิน กันธิยะ

บทคัดย่อ

ฟีนอลที่ปะปนอยู่ในน้ำทิ้งจากแหล่งอุตสาหกรรมต่างๆ ก่อให้เกิดปัญหาต่อสิ่งแวดล้อม ดังนั้นจึงจำเป็นต้องหาวิธีกำจัดสารเคมีดังกล่าว หลังทำการแยกเชื้อจุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการย่อยสลายฟีนอลจากตัวอย่างดิน พบว่า *Candida tropicalis* CMU 10 แสดงความสามารถในการย่อยสลายฟีนอลได้สูง ได้ทำการศึกษาปัจจัยต่าง ๆ ที่มีผลต่อการย่อยฟีนอลโดยเชื้อ *Candida tropicalis* CMU 10 โดยทำการทดลองแบบกะ จากการศึกษาผลของสภาวะทางกายภาพที่มีต่อการย่อยฟีนอล พบว่า เชื้อยีสต์สามารถย่อยฟีนอลได้ดีที่สุดที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ในเวลา 8 ชั่วโมง เมื่อความเข้มข้นฟีนอลเริ่มต้นเท่ากับ 100 มิลลิกรัมต่อลิตร ความเข้มข้นสูงสุดของฟีนอลที่เชื้อสามารถย่อยได้หมดคือ 1000 มิลลิกรัมต่อลิตร พีเอชที่เหมาะสมต่อการย่อยฟีนอลคือ 8 จากนั้นทำการศึกษาผลของ น้ำตาลกลูโคส กรดอินทรีย์ และโลหะหนักชนิดต่างๆ ที่มีต่อการย่อยฟีนอล ซึ่งพบว่า เชื้อสามารถย่อยฟีนอลได้หมดเมื่ออาหารมี กลูโคสเข้มข้น 0-5 มิลลิโมลาร์ กรดอินทรีย์ (ซักซินิก, แลกติก และ ซิตริก) เข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์ และโลหะ (เฟอรัส, เฟอริก,

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

แมงกานีส และ สังกะสี) เข้มข้น 0.4 มิลลิโมลาร์ ในเวลา 4-8, 4-7 และ 4-6 วัน ตามลำดับ ได้ทำการศึกษาการย่อยฟีนอลโดยใช้ยีสต์ในรูปเซลล์อิสระและเซลล์ตรึงในระบบบำบัดแบบกะหมุนเวียน อาหารมีความเข้มข้นเริ่มต้นของฟีนอลเท่ากับ 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร ในแต่ละรอบของการทดลอง เมื่อฟีนอลถูกย่อยจนหมดนำอาหารออก 70 เปอร์เซ็นต์ของปริมาตรแล้วเติมอาหารใหม่ให้มีปริมาตรเท่าเดิมแต่มีความเข้มข้นฟีนอลเพิ่มขึ้นครั้งละ 250 มิลลิกรัมต่อลิตร เซลล์อิสระและเซลล์ที่ตรึงด้วยแอลจิเนตและเซลล์ที่ตรึงด้วยวุ้น สามารถย่อยฟีนอลได้อย่างสมบูรณ์จำนวน 4, 7 และ 5 รอบ โดยใช้เวลา 246, 432 และ 1,578 ชั่วโมง ตามลำดับ อัตราการย่อยฟีนอลสูงสุดของเซลล์อิสระและเซลล์ที่ตรึงด้วยแอลจิเนต และเซลล์ที่ตรึงด้วยวุ้น เท่ากับ 41.6, 34.9 และ 26 มิลลิกรัมต่อลิตร-ชั่วโมง ตามลำดับ เมื่อความเข้มข้นฟีนอลเท่ากับ 1,250 มิลลิกรัมต่อลิตร การตรึงเซลล์ทำให้เชื้อยีสต์สามารถย่อยฟีนอลความเข้มข้นสูงขึ้นจากเดิม 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็น 2,000 และ 2,750 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยเซลล์ที่ตรึงด้วยวุ้น และเซลล์ที่ตรึงด้วยแอลจิเนต ตามลำดับ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved