

การใช้สำหรับรายสี่ เขียวแถมน้ำเงินในการกำจัดโลหะหนักบางชนิดออกจากน้ำเสีย



นางสาว พิศโรสภา กิจจาหาญ

ศูนย์วิทยทรัพยากร

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

หลักสูตรเทคโนโลยีชีวภาพ

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

พ.ศ. 2534


ISBN 974-578-366-8

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

017747

i17836554

UTILIZATION OF BLUE GREEN ALGAE FOR THE REMOVAL OF
SOME HEAVY METALS FROM WASTE WATER



Miss Pissopa Kitjaharn

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science

Programme of Biotechnology

Graduate School

Chulalongkorn University

1991

ISBN 974-578-366-8



Thesis Title Utilization of Blue Green Algae for the
Removal of Some Heavy Metals from Waste Water
By Miss Pissopa Kitjaharn
Department Biotechnology
Thesis Advisor Assistant Professor Aran Incharoensakdi, Ph.D.

Accepted by the Graduate School, Chulalongkorn University in
Partial Fulfillment of the Requirements for the Master's Degree/

Thavorn Vajrabhaya

..... Dean of Graduate School

(Professor Thavorn Vajrabhaya, Ph.D.)

Thesis Committee

Suthep Thaniyavarn..... Chairman

(Assistant Professor Suthep Thaniyavarn, Ph.D.)

Aran Incharoensakdi..... Thesis Advisor

(Assistant Professor Aran Incharoensakdi, Ph.D.)

Sanha Panichajakul..... Member

(Associate Professor Sanha Panichajakul, Ph.D.)

D. Kummongkol..... Member

(Associate Professor Damrong Kummongkol, Ph.D.)



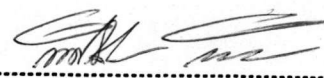
พิมพ์ต้นฉบับบทคัดย่อ วิทยานิพนธ์ภายในกรอบสี่เหลี่ยมนี้เพียงแผ่นเดียว


ทิศโสภกา กิจจาหาญ : การกำจัดสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินในการกำจัดโลหะหนักบางชนิดออกจากน้ำเสีย (UTILIZATION OF BLUE GREEN ALGAE FOR THE REMOVAL OF SOME HEAVY METALS FROM WASTE WATER) อ. ที่ปรึกษา : ผศ. ดร. อรัญ อินเจริญศักดิ์, 94 หน้า.

ISBN 974-578-366-8

Aphanothece halophytica และ Spirulina platensis สามารถสะสมตะกั่วและสังกะสีได้อย่างรวดเร็ว โดย A. halophytica สามารถสะสมตะกั่วได้สูงสุด 90 ug/mg น้ำหนักแห้ง ภายใต้น 1 ชั่วโมง และสะสมสังกะสีได้อย่างรวดเร็วใน 10 นาทีแรก หลังจากนั้นการสะสมจะเพิ่มขึ้นช้าลง โดยมีอัตราการสะสม 7.8 ug/hr.mg น้ำหนักแห้ง การสะสมตะกั่วและสังกะสีนี้เป็นการดูดซับไว้ที่ผิวเซลล์โดยไม่ต้องการพลังงาน โดยที่การสะสมตะกั่วจะสูงสุดเมื่อ pH เท่ากับ 6.5 และการสะสมสังกะสีจะเพิ่มขึ้นเมื่อ pH มากกว่า 6.0 S. platensis สามารถสะสมตะกั่วได้อย่างรวดเร็วใน 10 นาทีแรก หลังจากนั้นการสะสมจะเพิ่มขึ้นช้าลง โดยมีอัตราการสะสม 15.6 ug/hr.mg น้ำหนักแห้ง โดยที่ประมาณ 50-70 % ไม่สามารถล้างออกด้วย EDTA อาจเป็นไปได้อันจะถูกล้างเสียเข้าไปในเซลล์และสามารถสะสมสังกะสีไว้ที่ผิวเซลล์ในอัตรา 15.6 ug/hr.mg น้ำหนักแห้งและสะสมได้สูงสุด 19 ug/mg น้ำหนักแห้ง ภายใต้น 5 ชั่วโมงการสะสมสังกะสีโดย S. platensis บางส่วนต้องการพลังงานจากกระบวนการเมตาบอลิซึมและจะเพิ่มขึ้นเมื่อ pH มากกว่า 6.0 การสะสมตะกั่วและสังกะสีโดยสาหร่ายทั้งสองชนิดจะถูกบวกรับด้วยประจุบวกชนิดอื่นแตกต่างกัน ยกเว้นการสะสมตะกั่วโดย A. halophytica ซึ่งจะไม่ถูกบวกรับเลย อัตราการสะสมตะกั่วและสังกะสีจะขึ้นกับความเข้มข้นโลหะในสารละลายเมื่อความเข้มข้นของสารละลายไม่มากเกินไป ปริมาณตะกั่วและสังกะสีสะสมทั้งหมดจะเพิ่มขึ้นเมื่อความหนาแน่นของเซลล์เพิ่มขึ้น แต่ประสิทธิภาพของ A. halophytica ในการสะสมตะกั่วจะคงที่ ในขณะที่ประสิทธิภาพในการสะสมสังกะสีจะลดลงจนกระทั่งความหนาแน่นของเซลล์มากกว่า 0.5 mg น้ำหนักแห้ง ต่อ ml และประสิทธิภาพของ S. platensis จะลดลงจนกระทั่งความหนาแน่นของเซลล์มากกว่า 1 และ 0.6 mg น้ำหนักแห้งต่อ ml สำหรับการสะสมตะกั่วและสังกะสีตามลำดับ อายุของเซลล์มีผลเล็กน้อยต่อการสะสมตะกั่วและสังกะสี จากการทดลองในน้ำเสียจากโรงงานพบว่าประสิทธิภาพในการกำจัดตะกั่วและสังกะสีโดยสาหร่ายทั้งสองชนิดออกจากน้ำเสียที่เป็นกรดจะต่ำ ในขณะที่ประสิทธิภาพในการกำจัดสังกะสีออกจากน้ำเสียที่เป็นด่างสูงถึง 85 % เมื่อใช้ปริมาณเซลล์ A. halophytica ที่มีความหนาแน่น 0.87 mg น้ำหนักแห้งต่อ ml เซลล์ที่ใช้ในการกำจัดสังกะสีออกจากน้ำเสียแล้วไม่สามารถนำมาใช้ใหม่ได้หลังจากที่ผ่านการล้างด้วย EDTA

ภาควิชา เทคโนโลยีชีวภาพ
สาขาวิชา เทคโนโลยีชีวภาพ
ปีการศึกษา 2533

ลายมือชื่อนิสิต 

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา 

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

PISSOPA KITJAHARN : UTILIZATION OF BLUE GREEN ALGAE FOR THE REMOVAL OF SOME HEAVY METALS FROM WASTE WATER. THESIS ADVISOR : ASST. PROF. ARAN INCHAROENSAKDI, Ph.D. 94 pp.


Aphanothece halophytica was able to accumulate lead rapidly and became saturated at 90 ug/mg dry weight within 1 hour. For zinc accumulation, it still increased at a slower rate of 7.8 ug/hr.mg dry weight after a rapid rate in the first 10 minutes. The lead and zinc accumulation by A. halophytica were passive adsorption which were highest at pH 6.5 and increased above 6.0 respectively. Spirulina platensis was able to accumulate lead at a rapid rate in the first 10 minutes and slow down at 15.6 ug/hr.mg dry weight. About 50-70 % of accumulated lead was EDTA non-extractable and was likely to be transported into the cell. Zinc accumulation by S. platensis occurred at the cell surface with the rate of 15.6 ug/hr.mg dry weight and became saturated at 19 ug/mg dry weight within 5 hours. A part of zinc accumulation by S. platensis required energy from metabolic process but not from external glucose. The lead and zinc accumulation increased at pH above 6.5 and 6.0 respectively. Cations affected lead and zinc accumulation differently for the two algae except in the case of lead accumulation by A. halophytica which was not affected by cations. The rates of lead and zinc accumulation by both algae depended on metal concentration in solution but were saturated when the metals were in excess. The total lead and zinc accumulation by both algae increased with increasing cell density but efficiency of the cell did not. Lead accumulation per hr per mg dry weight of A. halophytica was stable and zinc accumulation per hr per mg dry weight decreased with increasing cell density up to 0.5 mg dry weight/ml. The efficiency of S. platensis to accumulate lead and zinc decreased with increasing cell density up to 1 and 0.6 mg dry weight/ml respectively. The age of cells had little effect on lead and zinc accumulation of both algae. Aphanothece halophytica and S. platensis had low efficiency for lead and zinc removal from acid waste water but higher efficiency of 85% was observed for zinc removal from alkaline waste water using A. halophytica at 0.87 mg dry weight/ml. The cell was not available for repeated use by EDTA washing after the removal of zinc from waste water.

ภาควิชา เทคโนโลยีชีวภาพ

สาขาวิชา เทคโนโลยีชีวภาพ

ปีการศึกษา 2533

ลายมือชื่อนิสิต 

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา 

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม



ACKNOWLEDGEMENT

I would like to express my deepest appreciation to my supervisor, Dr. Aran Incharoensakdi, for his valuable advice, encouragement, kindness and understanding throughout this thesis.

My appreciation is also expressed to Dr. Sanha Panichajakul, Dr. Suthep Thaniyavarn and Dr. Damrong Kummongkol for serving as thesis committee, for their constructive comments and also for valuable suggestions.

I am very grateful to Dr. Varaporn Netr-orn and Mrs. Sopa Jirawongaram for their suggestions and giving facilities in operating Atomic Absorption Spectrophotometer.

I am most thankful to the Battery Organization, Thai Battery Industrial Co. Ltd., Samart Engineering Co. Ltd. and Waste Water Eradication Service for the donation of the waste water for this research.

I would like to thank the National Center for Genetic Engineering and Biotechnology for the financial support of this research.

Finally, I wish to thank all staff members of the Biochemistry and Chemistry Department for their help in the laboratory.

My thank is extended to the students of the Biochemistry Department for their sincerity and friendship.

CONTENTS

	Page
THAI ABSTRACT.	iv
ENGLISH ABSTRACT.	v
ACKNOWLEDGMENT.	vi
CONTENTS.	vii
LIST OF TABLE.	x
LIST OF FIGURES.	xi
ABBREVIATION.	xv
CHAPTER I INTRODUCTION	1
CHAPTER II MATERIALS AND METHODS	10
1. Cultivation of <u>Aphanothece halophytica</u> .	11
1.1 Preparation of Turk Island Salt Solution	11
1.2 Composition of BG11+NO ₃ Solution .	11
2. Cultivation of <u>Spirulina platensis</u> . . .	12
3. Determination of Biomass	14
4. Metal Accumulation by <u>A. halophytica</u> and <u>S. platensis</u>	14
4.1 Metal Accumulation by <u>A. halophytica</u>	14
4.2 Metal Accumulation by <u>S. platensis</u>	15
4.3 EDTA Washing	16
4.4 Effect of Metabolic Inhibitors . .	16
4.5 Effect of pH	16
4.6 Effect of Cation	16
4.7 Effect of Metal Concentration . . .	17

4.8	Effect of Cells Density	17
4.9	Aging Effect	17
5.	Determination of Cell Motality	17
6.	Removal of Lead and Zinc from Waste Water	18
6.1	Removal of Lead and Zinc by <u>A. halophytica</u>	18
6.2	Removal of Lead and Zinc by <u>S. platensis</u>	19
7.	Reutilization of Cells	19
7.1	Reutilization of <u>A. halophytica</u>	19
7.2	Reutilization of <u>S. platensis</u>	20
8.	Preparation of sample for atomic absorption analysis	20
8.1	Algae Cell Sample	20
8.2	Waste Water Sample	20
9.	Sedimentation of <u>A. halophytica</u> and <u>S. platensis</u>	21
CHAPTER III RESULTS		22
1.	Growth of <u>A. halophytica</u> and <u>S. platensis</u>	22
2.	Relationship between Optical Density at 650 nm and Dry Weight	22
3.	Accumulation of Lead	22
3.1	Rate of Accumulation	22
3.2	Effect of Metabolic Inhibitor	27
3.3	Effect of pH	27

3.4	Effect of Cation	27
3.5	Effect of Lead Concentration	36
3.6	Effect of Density of Cells	36
3.7	Aging Effect	36
4.	Accumulation of Zinc	45
4.1	Rate of Accumulation	45
4.2	Effect of Metabolic Inhibitor	45
4.3	Effect of pH	45
4.4	Effect of Cation	45
4.5	Effect of Zinc Concentration	46
4.6	Effect of Density of Cells	46
4.7	Aging Effect	46
5.	Determination of Cell Mortality	63
6.	Removal of Lead and Zinc from Waste Water	63
6.1	Removal of Lead from Waste Water	63
6.2	Removal of Zinc from Waste Water	63
7.	Sedimentation of Cells in Waste Water	68
7.1	Sedimentation of <u>A. halophytica</u>	68
7.2	Sedimentation of <u>S. platensis</u>	69
CHAPTER IV DISCUSSION		72
CHAPTER V SUMMARY		82
1.	Metal Accumulation by <u>A. halophytica</u>	82

1.1	Lead Accumulation	82
1.2	Zinc Accumulation	82
2.	Metal Accumulation by <u>S. platensis</u>	83
2.1	Lead Accumulation	83
2.2	Zinc Accumulation	84
3.	Removal of Lead and Zinc from Waste Water	85
	REFERENCES	86
	APPENDIX.	93
	BIOGRAPHY	94

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

LIST OF TABLE

	Page
Table 1 Percent efficiency of zinc ion removal from waste water by <u>A. halophytica</u> and <u>S. platensis</u>	65



ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

LIST OF FIGURES

	Page
Figure 1 Cadmium uptake and efflux in <u>Staphylococcus aureus</u> 17810R.	7
Figure 2 Growth of <u>A. halophytica</u> in Turk Island Salt Solution supplemented with BG 11 medium.	23
Figure 3 Growth of <u>S. platensis</u> in Zarrouk's medium.	24
Figure 4 Relationship between OD ₆₅₀ and dry weight of <u>A. halophytica</u>	25
Figure 5 Relationship between OD ₆₅₀ and dry weight of <u>S. platensis</u>	26
Figure 6 Accumulation of lead by <u>A. halophytica</u>	28
Figure 7 Accumulation of lead by <u>S. platensis</u>	29
Figure 8 Effect of metabolic inhibitor on the accumulation of lead by <u>A. halophytica</u>	30
Figure 9 Effect of metabolic inhibitor on the accumulation of lead by <u>S. platensis</u>	31
Figure 10 Effect of pH on the accumulation of lead by <u>A. halophytica</u>	32
Figure 11 Effect of pH on the accumulation of lead by <u>S. platensis</u>	33
Figure 12 Effect of cations on the accumulation of lead by <u>A. halophytica</u>	34

Figure 13 Effect of cations on the accumulation of lead by <u>S. platensis</u>	35
Figure 14 Effect of external lead concentration on the accumulation of lead by <u>A. halophytica</u>	37
Figure 15 Effect of external lead concentration on the accumulation of lead by <u>S. platensis</u>	38
Figure 16 Effect of cell density on the accumulation of lead by <u>A. halophytica</u>	39
Figure 17 Capacity of <u>A. halophytica</u> in the accumulation of lead at increased levels of cell density.	40
Figure 18 Effect of cell density on the accumulation of lead by <u>S. platensis</u>	41
Figure 19 Capacity of <u>S. platensis</u> in the accumulation of lead at increased levels of cell density.	42
Figure 20 Effect of cell aging on the accumulation of lead by <u>A. halophytica</u>	43
Figure 21 Effect of cell aging on the accumulation of lead by <u>S. platensis</u>	44
Figure 22 Accumulation of zinc by <u>A. halophytica</u>	47
Figure 23 Accumulation of zinc by <u>S. platensis</u>	48
Figure 24 Effect of metabolic inhibitor on the accumulation of zinc by <u>A. halophytica</u>	49

Figure 25	Effect of metabolic inhibitor on the accumulation of zinc by <u>S. platensis</u>	50
Figure 26	Effect of pH on the accumulation of zinc by <u>A. halophytica</u>	51
Figure 27	Effect of pH on the accumulation of zinc by <u>S. platensis</u>	52
Figure 28	Effect of cations on the accumulation of zinc by <u>A. halophytica</u>	53
Figure 29	Effect of cations on the accumulation of zinc by <u>S. platensis</u>	54
Figure 30	Effect of external zinc concentration on the accumulation of zinc by <u>A. halophytica</u>	55
Figure 31	Effect of external zinc concentration on the accumulation of zinc by <u>S. platensis</u>	56
Figure 32	Effect of cell density on the accumulation of zinc by <u>A. halophytica</u> . .	57
Figure 33	Capacity of <u>A. halophytica</u> in the accumulation of zinc at increased levels of cell density.	58
Figure 34	Effect of cell density on the accumulation of zinc by <u>S. platensis</u>	59
Figure 35	Capacity of <u>S. platensis</u> in the accumulation of zinc at increased levels of cell density.	60

Figure 36 Effect of cell aging on the accumulation of zinc by <u>A. halophytica</u>	61
Figure 37 Effect of cell aging on the accumulation of zinc by <u>S. platensis</u>	62
Figure 38 Percent efficiency of zinc removal at various pH from Samart Engineering Co. Ltd.	66
Figure 39 Percent efficiency of zinc removal from Samart Engineering Co. Ltd. (pH 12.5) by <u>A. halophytica</u> at various cell densities.	67
Figure 40 Sedimentation of <u>A. halophytica</u> at various standing times in light and dark conditions	70
Figure 41 Sedimentation of <u>S. platensis</u> at various standing times in light and dark conditions	71
Figure 42 Aggregation of <u>A. halophytica</u>	93

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ABBREVIATION

DCCD	N,N,- dicyclohexylcarbodiimide
DNP	dinitrophenol
°C	degree celcius
hr	hour
i.e.	example
in ²	inch square
l	litre
lb	pound
M	Molar
mg	milligram (10^{-3} gram)
min	minute
ml	millilitre (10^{-3} litre)
mM	millimolar (10^{-3} molar)
nm	nanometre
ug	microgram (10^{-6} gram)
OD	optical density
ppm	part per million
rpm	revolution per minute
wt	weight