ห้องสมุดงานวิจัย สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ
E42158

INVESTIGATION ON MICROBIAL AUGMENTATION IN ANAEROBIC DECHLORINATION OF HEXACHLOROBENZENE

MR. PIPAT KASAMECHAICHUTIPAN

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT
OF THE REQUIREMENTS FOR
THE DEGREE OF MASTER OF ENGINEERING (ENVIRONMENTAL ENGINEERING)
FACULTY OF ENGINEERING
KING MONGKUT'S UNIVERSITY OF TECHNOLOGY THONBURI
2011

b00256826

ห้องสมุดงานวิจัย สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ
E42158

Investigation on Microbial Augmentation in Anaerobic Dechlorination of Hexachlorobenzene

Mr. Pipat Kasamechaichutipan B.Eng (Industrial Engineering)

THE NATIONAL RESEARCH COUNCIL OF THAILAND
RESEARCH LIBRARY

A Thesis Submited in Partial Fulfillment
of the Requirement for
the Degree of Master of Engineering (Environmental Engineering)
Faculty of Engineering
King Mongkut's University of Technology Thonburi
2011

Thesis Committee

..... Chairman of Thesis Committee

(Assoc. Prof. Chalermraj Wantawin, D.Eng.)

..... Member and Thesis Advisor

(Assoc. Prof. Jin Anotai, Ph.D.)

..... Member and Thesis Co-Advisor

(Assoc. Prof. I-Ming Chen, Ph.D.)

..... Member

(Asst. Prof. Jarurat Voranisarakul)

Wichidtra Sudjarid ..... Member

(Wichidtra Sudjarid, Ph.D.)

Copyright reserved

Thesis Title	Investigation on Microbial Augmentation in Anaerobic Dechlorination of Hexachlorobenzene
Thesis Credits	12
Candidate	Mr. Pipat Kasamechaichutipan
Thesis Advisors	Assoc. Prof. Dr. Jin Anotai
	Assoc. Prof. Dr. I-Ming Chen
Program	Master of Engineering
Field of Study	Environmental Engineering
Department	Environmental Engineering
Faculty	Engineering
B.E.	2554

Abstract

E 42158

This research aimed to investigate the capability of indigenous anaerobic consortia in HCB dechlorination by using the sediments from Erh-Jen River, in Tainan County of southern Taiwan, and four stream sediments in Samut Prakarn Province of Thailand. Effects of bioaugmentation and biostimulation were also studied. The experiments were conducted in serum bottles under anaerobic condition at room temperature and in the dark. The effect of mixing consortia between non-active HCB-dechlorinating consortia (sediments from Taiwan) and active HCB-dechlorinating consortia (sediments from Thailand) was studied. Bioaugmentation experiments were carried out in two scenarios: a) stored sediments from Thailand at 6°C for 10 months mixed with sediments from Taiwan; and b) fresh sediments from Thailand mixed with sediments from Taiwan. For biostimulation study, the sterilized sediments from Thailand were mixed with sediments from Taiwan. The results showed that extensively stored sediments could not enhance the microbial activity in HCB dechlorination even with yeast extract supplement. Supplement with essential substrates/nutrients through sterilized active sediments could effectively promote the HCB dechlorination rate in the non-active sediments. Addition of actively HCB-dechlorinating consortia to non-active consortia could not enhance the performance of HCB dechlorination, indicating that sufficient substrates/nutrients was a key factor affecting the HCB dechlorination rate.

Keywords: Bioaugmentation / Bioremediation / Biostimulation / Sediment

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การศึกษาหาการเพิ่มพูนทางจุลชีพต่อการลดคลอรีนภายใต้สภาวะไร้ออกซิเจนของสารเฮกซะคลอโรเบนซีน
หน่วยกิต	12
ผู้เขียน	นายพิพัฒน์ เกษมชัยชุติพันธ์
อาจารย์ที่ปรึกษา	รศ. ดร.จินต์ อโณทัย Assoc. Prof. Dr. I-Ming Chen
หลักสูตร	วิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชา	วิศวกรรมสิ่งแวดล้อม
ภาควิชา	วิศวกรรมสิ่งแวดล้อม
คณะ	วิศวกรรมศาสตร์
พ.ศ.	2554

บทคัดย่อ

E 42158

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความสามารถของจุลชีพแบบไร้อากาศที่มีอยู่ตามธรรมชาติในการลดคลอรีนของเอชซีบีโดยใช้ตะกอนจากแม่น้ำเออร์เจนที่ไหลผ่านเมืองไทหนานในทางตอนใต้ของประเทศไต้หวัน และตะกอนลำน้ำจาก 4 พื้นที่ในเขตจังหวัดสมุทรปราการในประเทศไทย นอกจากนี้ยังได้ศึกษาผลกระทบของการเพิ่มพูนทางจุลชีพและการกระตุ้นชีวภาพ การทดลองกระทำในขวดซีรั่มภายใต้สภาวะไร้อากาศที่อุณหภูมิห้องและในที่มืด ปัจจัยที่ทำการศึกษาคือ การผสมกันระหว่างตะกอนที่มีความสามารถย่อยสลายสารเอชซีบีต่ำ (ตะกอนจากประเทศไต้หวัน) และตะกอนที่มีความสามารถย่อยสลายเอชซีบีสูง (ตะกอนจากประเทศไทย) การทดลองการเพิ่มพูนทางจุลชีพกระทำภายใต้ 2 สภาวะ คือ ก) ใช้ตะกอนจากประเทศไทยที่เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 6 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 10 เดือนผสมกับตะกอนจากประเทศไต้หวัน และ ข) ตะกอนที่เก็บใหม่ในประเทศไทยผสมกับตะกอนจากประเทศไต้หวัน ส่วนการทดลองการกระตุ้นชีวภาพนั้นใช้ตะกอนจากประเทศไทยที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วไปผสมกับตะกอนจากประเทศไต้หวัน ผลการทดลองพบว่าตะกอนที่เก็บรักษาไว้ในที่เย็นเป็นเวลานานไม่สามารถกระตุ้นแอคทิวิตี้ในการย่อยสลายเอชซีบีแม้จะมีการเติมสารสกัดจากยีสต์ก็ตาม การเติมสารอาหาร/ธาตุอาหารที่จำเป็นผ่านตะกอนที่มีความสามารถในการย่อยสลายเอชซีบีสูง

E 42158

ที่ฆ่าเชื้อแล้วสามารถช่วยเพิ่มอัตราการย่อยสลายเอชซีบีในตะกอนที่มีความสามารถต่ำได้อย่างมีประสิทธิภาพ การเพิ่มจุลชีพจากตะกอนที่มีแอกทิวิตี้ในการย่อยสลายเอชซีบีสูงลงในตะกอนที่มีแอกทิวิตี้ต่ำไม่สามารถเพิ่มประสิทธิผลในการย่อยสลายเอชซีบีได้ ชี้ให้เห็นว่าสารอาหาร/ธาตุอาหารที่เพียงพอมีส่วนสำคัญต่ออัตราการย่อยสลายเอชซีบี

คำสำคัญ : การกระตุ้นชีวภาพ / การเพิ่มพูนชีวภาพ / การฟื้นฟูสภาพชีวภาพ / ตะกอน

ACKNOWLEDGEMENTS

I would like to express my sincere gratitude to my thesis advisor, Assoc. Prof. Dr. Jin Anotai and Assoc. Prof. Dr. I-Ming Chen, my co-advisor for their encouragement, invaluable support, and kindness guidance throughout my work. The comments and suggestion not merely provide valuable knowledge but broaden perspective in practical applications as well. I am grateful to Asst. Prof. Jarurat Woranisarakul, Assoc. Prof. Dr. Chalermraj Wantawin and Dr. Wichidtra Sudjarid members of thesis committee for valuable comments that very useful to my study.

A great deal of appreciation also goes to all faculty staffs of the Department of Environmental Engineering including Mrs. Jongkolnee Majchaphan, Ms. Pirada Wongkatsada, Mrs. Denjai Phothong and Ms. Nualchan Laohasirichaikul for their valuable assistances. Moreover, I wish to acknowledge gratefully the financial support under a grant given by the Department of Environmental Engineering, King Mongkut's University of Technology Thonburi. Additionally, I would like to thank all of my friends, student in the Department of Environmental Engineering, King Mongkut's University of Teachnology Thonburi and Miss Chayanee Arunsomboon my best friend, who support and gave me spirit all time for their warm-heartily friendship. Finally I feel pound to dedicated this thesis with due respect to my beloved family for their wholehearted understanding, encouragement, and patient throughout my entire study.

CONTENTS

	PAGE
ENGLISH ABSTRACT	ii
THAI ABSTRACT	iii
ACKNOWLEDGEMENTS	v
CONTENTS	vi
LIST OF TABLES	viii
LIST OF FIGURES	x
LIST OF TERMINOLOGY AND ABBREVIATIONS	xi
CHAPTER	
1. INTRODUCTION	**1**
1.1 Motivations	1
1.2 Objectives	2
1.3 Scopes of work	3
2. BACKGROUNDS AND LITERATURE REVIEWS	**4**
2.1 Background	4
2.1.1 History of Hexachlorobenzene	4
2.1.2 Chemical and Physical Properties	5
2.1.3 Uses of HCB	7
2.1.4 Environmental Fate	7
2.1.5 Exposure	10
2.1.6 Impact of HCB	10
2.1.7 Toxicity	11
2.1.8 Contamination of HCB in Thailand	14
2.1.9 Overview of Microbial Mediated Reductive Dechlorination of Dechlorinated Aromatics by Sediment Slurry	15
2.1.10 Pathways of HCB Dechlorination	16
2.1.11 Environmental Loss Processes	18
2.1.12 Anaerobic Degradation Process	21
2.2 Literature Reviews	22
3. EXPERIMENTS AND METHODOLOGY	**27**
3.1 Materials and Apparatus	27
3.2 Solution and Medium Preparation	30
3.3 Experimental Design	31
3.4 Experimental Plan	37

4. RESULTS AND DISCUSSIONS **38**

4.1 Characteristics of Sediment Slurries 38

4.2 Phase 1: Bioaugmentation of Active Consortia onto Historical Less-Potential Dechlorinated Sediment Slurries 40

4.3 Phase 2: Study on Biostimulation of Historical Less-Potential Dechlorinating Consortia by Using Sterilized Active Sediment Slurry as Cultural Medium 49

4.4 Phase 3: Comprehensive Survey of HCB Dechlorination by a Fusion of Various Active Sediment Slurries 57

5. CONCLUSIONS **62**

5.1 Conclusions 62

5.2 Further Works 62

REFFERENCE **63**

APPENDIX **71**

A. Experimental Data (Table and Figure) 71

B. Sediment and River Water Sampling Sites 82

CURRICULUM VITAE **87**

LIST OF TABLES

TABLE		PAGE
2.1	Properties of hexachlorobenzene	6
2.2	Factors involved in reductive dechlorination of chlorinated aromatics in sediment slurry	15
3.1	Preparation of various sediment slurries with supplement	31
3.2	Mixed sediment slurries from different sites at 45:5 ratio	32
3.3	Mixed sediment slurries from different sites at 25:25 ratio	32
3.4	Preparation of sediment slurries for Part 3.3.2	33
3.5	Bioaugmentation of non-sterilized sediment slurry to sterilized sediment slurry at 48:2 ratio	34
3.6	Bioaugmentation of non-sterilized sediment slurry to sterilized sediment slurry at 40:10 ratio	35
3.7	Preparation of various sediment slurries	36
3.8	Experimental timeframe	37
4.1	Characteristics of the sediment slurries prepared from the samples collected in Thailand	39
4.2	Characteristics of the sediment slurries prepared from the samples collected in Taiwan	39
4.3	HCB dechlorination ability of single sediment slurry microbes in stream sediment	42
4.4	Comparison of the HCB dechlorination ability between the stored and fresh sediments collected from the Hua Lum Poo Canal Site H3	43
4.5	HCB dechlorination by single sediment slurry from Erh-Jen River	43
4.6	Fusion of sediment slurries by blended sediment slurry microbes in canal sediments at 45:5 ratio	44
4.7	Fusion of sediment slurries by blended sediment slurry microbes in canal sediments at 25:25 ratio	46
4.8	HCB dechlorination of single sediment slurry under sterilized and non-sterilized treatments	52
4.9	Biostimulation of blending non-sterilized Taiwan sediment slurry with sterilized Thailand sediment slurry at 48:2 ratio	53
4.10	Biostimulation of blending non-sterilized Taiwan sediment slurry with sterilized Thailand sediment slurry at 40:10 ratio	55
4.11	HCB dechlorination by a fusion of various active sediment slurries	59
4.12	Fusion of blended sediment microorganism in active sediment slurry at 20:10 ratio	60
A.1	Concentration of Hexachlorobenzene in sediment slurry with and without yeast extract	72
A.2	Concentration of Hexachlorobenzene from fusion of sediment slurries at 45:5 ratio	72

A.3	Concentration of Hexachlorobenzene from fusion of sediment slurries at 25:25 ratio	73
A.4	Concentration of HCB in control series with sterilized and non-sterilized	75
A.5	Concentration of Hexachlorobenzene from biostimulation of non-sterilized Taiwan sediment slurry to sterilized Thailand sediment slurry at 48:2 ratio	76
A.6	Concentration of Hexachlorobenzene from biostimulation of non-sterilized Taiwan sediment slurry to sterilized Thailand sediment slurry at 40:10 ratio	78
A.7	Concentration of Hexachlorobenzene by a fusion of various active sediment slurries	80
A.8	Concentration of Hexachlorobenzene by a fusion of untamed sediment microorganism in active sediment slurry at 20:10 ratio	80

LIST OF FIGURES

FIGURE		PAGE
2.1	The structure of hexachlorobenzene	5
2.2	Proposed pathway for HCB dechlorination by an anaerobic microbial community	17
2.3	Schematic diagram of the patterns of carbon flow in anaerobic digestion	22
3.1	Sampling sites around Samuth Prakarn Province of Thailand	28
3.2	Sampling points at the Hua Lum Poo Canal in Samuth Prakarn Province	28
3.3	Sampling sites of the Erh-Jen River in Taiwan	29
3.4	GC 6890N Gas Chromatograph	30
A.1	Chromatogram of HCB and its intermediates from GC 6890N	81
B.1	Sediment and river water sampling site 3	83
B.2	Sediment and river water sampling site 6	83
B.3	Sediment and river water sampling site 1	84
B.4	Discharge Creek	84
B.5	Soil near disposed transformer 30 cm in depth	85
B.6	Wet land near small material recovery facilities	85
B.7	Upstream of Kingkaew Canal (in font of small material recovery facilities)	86

LIST OF TERMINOLOGY AND ABBREVIATIONS

CAs	=	Chlorinated Aromatics
CBp	=	Chlorobiphenyls
CBs	=	Chlorobenzene
COD	=	Chemical Oxygen Demand
°C	=	Degree of Celsius
ECD	=	Electron Capture Detector
GC	=	Gas Chromatography
HCB	=	Hexachlorobenzene
LD_{50}	=	Lethal dose 50 Percent
mg/l	=	Milligram per Liter
µg/g	=	Microgram per Gram
mg/kg-day	=	Milligram per Kilogram per Day
ng/g	=	Nanogram per Gram
PCBs	=	Polychlorinated Biphenyls
POPs	=	Persistent Organic Pollutants
ppm	=	Part Per Million
SS	=	Sediment Slurry
TCDD	=	Tetrachlorodibenzo-p-dioxin
umole/l	=	Micromole per Liter
v/v	=	volume by volume