

การบำบัดน้ำเสียที่มีสีย้อมเบเนฟิก เรด ปนเปื้อนโดยใช้สาหร่ายสีเขียวขนาดเล็ก *Nannochloropsis oculata* ที่ตรึงในอัลจิเนต

Bioremoval of Contaminated in Wastewater by Using Alginate Immobilized Cell of Green Microalga *Nannochloropsis oculata*

ปวีณ์พร จงยิ่งเจริญยศ^{1*}, บุปผา จงพัฒน์¹ และสุนีรัตน์ เรืองสมบุญ¹

Paweeporn Jongyingjaroenyod^{1*}, Buppha jongput¹ and Suneerat Ruangsomboon¹

Received date: 16 ธ.ค. 65 Revised date: 26 พ.ค. 66 Accepted date: 29 พ.ค. 66

DOI: <https://doi.org/10.55003/kmaj.2024.04.29.001>

บทคัดย่อ

การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมและจลนพลศาสตร์การดูดซับสีย้อมเบเนฟิก เรด โดยสาหร่าย *Nannochloropsis oculata* ที่ตรึงเซลล์ในอัลจิเนต พบว่าสาหร่ายดูดซับสีย้อมได้ดีที่พีเอช 2 มีการดูดซับสูงสุด คือ 0.90 ± 0.01 มิลลิกรัมต่อกรัม ระยะเวลาเข้าสู่สมดุลการดูดซับคือ 2 ชั่วโมง มีค่าการดูดซับ 1.80 ± 0.02 มิลลิกรัมต่อกรัม ปริมาณของสาหร่ายที่เหมาะสมคือ 2 กรัมต่อลิตร โดยดูดซับสีย้อมได้ 3.98 ± 0.02 มิลลิกรัมต่อกรัม โดยปริมาณการดูดซับ (q_{eq}) สีย้อมจะลดลงเมื่อปริมาณสาหร่ายเพิ่มขึ้น ไอโซเทอร์มการดูดซับสีย้อมนั้นสอดคล้องกับสมการของ Langmuir โดยมีค่าการดูดซับสีย้อมสูงสุด (Q_{max}) เท่ากับ 106.58 ± 20.22 มิลลิกรัมต่อกรัม และการดูดซับสีย้อมเป็นปฏิกิริยาอันดับปฏิกิริยาหนึ่งเสมือน (pseudo first-order) และมีขึ้นกำหนดอัตราเร็วในการดูดซับคือการแพร่ผ่านชั้นฟิล์มและการแพร่เข้าภายในเซลล์ชั้นที่สอง จากผลการศึกษาแสดงว่าสาหร่าย *N. oculata* ที่ตรึงในอัลจิเนตเป็นตัวเลือกที่มีประสิทธิภาพในการนำไปใช้กำจัดสีย้อมเบเนฟิก เรด ที่ปนเปื้อนในน้ำเสียได้

คำสำคัญ: สาหร่ายขนาดเล็ก การบำบัดน้ำเสีย สีย้อมรีแอคทีฟ นาโนคลอโรพซิส

Abstract

The optimum conditions and adsorption kinetic for bioremoval of benefix red by immobilized cell of *Nannochloropsis oculata* were studied. The results showed that the optimum pH for bioremoval of dye was at 2 with the highest adsorption capacity of 0.90 ± 0.01 mg/g. The equilibrium time of adsorption was 2 h with adsorption capacity of 1.80 ± 0.02 mg/g. The optimum biomass was 2 g/l with adsorption capacity of 3.98 ± 0.02 mg/g. The adsorption capacity (q_{eq}) decreased when the algal biomass increased. The adsorption characteristics fitted well with the Langmuir adsorption isotherm with maximum adsorption capacity (Q_{max}) of 106.58 ± 20.22 mg/g. Dye removal correlated with pseudo first-order, while the adsorption rate was limited by film and intraparticle diffusion at secondary step. It can be concluded that alginate immobilized cell of *N. oculata* may be used as an alternative for removal of benefix red contaminated in wastewater.

Keyword: microalgae, wastewater treatment, reactive dye, *Nannochloropsis oculata*

¹ หลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์และประมง คณะเทคโนโลยีการเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพฯ 10520

¹Program in Fisheries Science. Division of Animal Production Technology and Fishery, School of Agricultural Technology.

King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang, Bangkok. 10520

*Corresponding author, E-mail: 62040339@kmitl.ac.th

คำนำ

กิจกรรมอุตสาหกรรมการผลิตต่าง ๆ เช่น การผลิตพลาสติก เครื่องสำอาง กระดาษ หนังสือ สิ่งทอ ฯลฯ มีการใช้สีสังเคราะห์ในขั้นตอนการผลิตปริมาณมาก เนื่องจากสีสังเคราะห์ช่วยให้ผลิตภัณฑ์มีสีชัดเจน สวยงาม ไม่จืดจาง สีย้อมมีสีที่หลากหลายจึงเป็นที่นิยมในการนำมาพอกย้อมโดยเฉพาะอุตสาหกรรมสิ่งทอ (Kumar et al., 2019) สีย้อมรีแอคทีฟเป็นสีอีกกลุ่มหนึ่งที่ได้รับการนิยมในการนำมาใช้เป็นอย่างมากสำหรับการย้อมสิ่งทอ เนื่องจากโครงสร้างของสีนั้นมีความสามารถในการจับตัวผ่านพันธะโควาเลนต์กับเส้นใยสิ่งทอ มีคุณลักษณะที่ดีมีสีสดใส ละลายน้ำได้ดี และมีวิธีใช้ที่ง่าย ในการใช้สีย้อมนั้นพบว่าประมาณ 10-15 เปอร์เซ็นต์ของสีย้อมจะสูญเสียไปกับน้ำชะล้างระหว่างที่อยู่ในกระบวนการย้อมสิ่งทอ (Celekli et al., 2012) ซึ่งแน่นอนว่าน้ำชะล้างที่มีสีปนเปื้อนเหล่านี้ย่อมถูกปล่อยลงสู่แหล่งน้ำทิ้ง ดังนั้นหากไม่มีการบำบัดน้ำทิ้งก่อนปล่อยลงสู่แหล่งน้ำธรรมชาติหรือแหล่งรับน้ำ สีย้อมย่อมมีการสะสมปริมาณมากขึ้นและส่งผลกระทบต่อแหล่งน้ำเกิดมลพิษทางน้ำได้ โดยอาจส่งผลกระทบต่อสิ่งมีชีวิตที่อาศัยอยู่ในแหล่งน้ำ เช่น สัตว์น้ำ พืชน้ำ รวมถึงประชาชนที่อยู่ใกล้เคียงแหล่งน้ำอาจจะได้รับผลกระทบจากทางอื่น เช่น กลิ่นเหม็นของน้ำเสีย และ ทัศนียภาพที่ไม่น่ามอง เนื่องจากเราสามารถมองเห็นความเปลี่ยนแปลงของสีน้ำได้อย่างชัดเจนไม่เพียงเท่านั้นแต่อาจส่งผลกระทบต่อสุขภาพของมนุษย์ด้วยหากมนุษย์สัมผัสกับน้ำที่เกิดมลพิษเหล่านั้น นอกจากนี้สีย้อมที่ปะปนกับน้ำแล้วยังเป็นผลเสียต่อกิจกรรมการสังเคราะห์แสงของพืชน้ำหรือสาหร่ายเนื่องจากความโปร่งใสของน้ำลดลงแสงส่องลงน้ำได้น้อยลงส่งผลให้สิ่งมีชีวิตที่ต้องการการแสงสังเคราะห์แสงไม่ได้และตายในที่สุดความเป็นพิษของสีย้อมที่เข้มข้นสูงจะมีการสะสมในร่างกายสัตว์น้ำและอาจส่งผลให้สัตว์น้ำมีการตายเพิ่มขึ้นก็จะเป็นการเพิ่มของเสียในแหล่งน้ำ

เนื่องจากสีย้อมรีแอคทีฟมีคุณสมบัติในการละลายน้ำได้ดีโดยมีโครงสร้างของสีย้อม (Figure 1) รวมถึงมีความต้านทานในการซีดจางที่ดีมากจึงทำให้มีการสลายตัวที่ยากดังนั้นการบำบัดน้ำเสียที่มีสีย้อมรีแอคทีฟก่อนระบายสู่แหล่งน้ำนั้นจึงเป็นเรื่องที่ควรทำ โดยการบำบัดนั้นมีมากมายหลายวิธีโดยมีตั้งแต่กระบวนการทางกายภาพ เคมี และฟิสิกส์ แต่ด้วยวิธีการเหล่านี้มักมีค่าใช้จ่ายในกระบวนการค่อนข้างมาก อาจส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมในเชิงอื่นและมีประสิทธิภาพค่อนข้างต่ำ (Celekli et al., 2012; Sani et al., 2021) ด้วยข้อจำกัดข้างต้นจึงมีการศึกษากระบวนการทางชีวภาพเป็นการนำตัวดูดซับทางชีวภาพมาบำบัด เช่น ใช้แบคทีเรีย เชื้อรา พืชบก พืชน้ำ ไคโตซาน และสาหร่าย ซึ่งในกลุ่มตัวดูดซับทางชีวภาพเหล่านี้สาหร่ายขนาดเล็กจัดว่าเป็นสิ่งมีชีวิตที่มีประสิทธิภาพในการกำจัดสีย้อมได้ดี เนื่องจากมีอยู่มากมายตามธรรมชาติ สามารถหาได้ง่าย มีราคาถูกเป็นการลดต้นทุนในการผลิตไปด้วยและอีกปัจจัยหนึ่งคือ สาหร่ายขนาดเล็ก มีศักยภาพในการดูดซับได้สูง ด้วยคุณสมบัติของพื้นผิวบนเซลล์สาหร่ายนั้นเป็นประจุบวกเมื่อเจอกับสีย้อมรีแอคทีฟที่เมื่อละลายน้ำแล้วจะให้ประจุลบจะเกิดแรงดึงดูดจึงทำให้จับกันได้อย่างเสถียร โดยมีการศึกษาในการนำสาหร่ายขนาดเล็กมาบำบัดน้ำเสียที่มีสีย้อมเอซิด เรด 66 ปนเปื้อน โดยสาหร่าย *Acutodesmus obliquus* (Sarwa et al., 2014) ซึ่งพบว่ามีประสิทธิภาพในการกำจัดสีย้อมได้ดีนอกจากนี้ยังพบการกำจัดสีย้อม Orange-G ด้วยสาหร่ายสีเขียวขนาดเล็ก *Chlorella vulgaris* (Kumar et al., 2019) ซึ่งเป็นสาหร่ายที่มีความสามารถในการกำจัดสีย้อมได้ดีเช่นเดียวกันและพบรายงานว่าสาหร่าย *Nannochloropsis* sp. มีความสามารถในการกำจัดสีย้อมกลุ่มแอซิด กลุ่มเอโซ (สีย้อมเมทิล ออเรนจ์) ได้ดี (Buhani et al., 2021a) โดยพบว่าประสิทธิภาพในการดูดซับสีย้อมของสาหร่ายในแต่ละชนิดหรือสายพันธุ์นั้นก็อาจจะแตกต่างกันไปตามของประเภทของสีย้อมและสภาวะแวดล้อมโดยรวมด้วย

สาหร่ายสีเขียวขนาดเล็กชนิด *Nannochloropsis oculata* เป็นสาหร่ายน้ำเค็มที่มีการนำมาใช้ประโยชน์หลากหลาย ทั้งด้านอาหารเสริม อาหารสัตว์น้ำ ใช้ดูดซับคาร์บอนไดออกไซด์ ใช้บำบัดน้ำเสีย เป็นต้น โดยได้มีการใช้สาหร่ายชนิดนี้ในการดูดซับแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ที่ปล่อยจากโรงไฟฟ้า โดยการปล่อยแก๊สที่ระบายจากโรงไฟฟ้าลงบ่อเพาะเลี้ยงสาหร่ายพบว่าสาหร่ายมีประสิทธิภาพการดูดซับคาร์บอนไดออกไซด์ที่สูงและมีผลผลิตสาหร่ายเพิ่มขึ้นปริมาณมาก (Ruangsomboon & Chonudomkul, 2022) จึงได้มีการหาแนวทางในการนำสาหร่ายดังกล่าวไปใช้ประโยชน์ในด้านต่าง ๆ

การศึกษาค้นคว้าครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความเป็นไปได้ในการใช้สาหร่าย *N. oculata* ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงของโรงไฟฟ้าในการดูดซับสีย้อมเบนฟิก เรด ซึ่งเป็นสีรีแอคทีฟ (reactive dye) ซึ่งเป็นกลุ่มสีย้อมที่ได้รับความนิยมในการใช้มาก แต่เนื่องจากสาหร่ายชนิดนี้มีขนาดเล็กจึงยากต่อการแยกสาหร่ายออกจากน้ำเสียหลังการดูดซับสีย้อม จึงประยุกต์ใช้โดยการตรึง

สาหร่ายในอัลจินเตเพื่อเพิ่มขนาดของตัวดูดซับทำให้ง่ายต่อการกำจัดหลังการดูดซับสีด้วยโดยทำการศึกษาหาปัจจัยที่เหมาะสมที่ส่งผลต่อการดูดซับ ได้แก่ ค่าพีเอชของสารละลาย ระยะเวลาในการสัมผัสระหว่างสารละลายสีและสาหร่าย ปริมาณของสาหร่ายที่เหมาะสมและความเข้มข้นเริ่มต้นของสี รวมถึงทำการหาไอโซเทอร์มและจลนพลศาสตร์ของสาหร่ายต่อการดูดซับ เพื่อเป็นข้อมูลสำหรับการกำจัดสีด้วยสาหร่าย *N. oculata* ได้อย่างมีประสิทธิภาพต่อไปในอนาคต

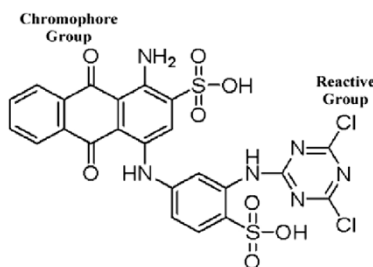


Figure 1 Structure of reactive dye

วิธีการศึกษา

การเตรียมสาหร่าย

นำเซลล์สาหร่าย *N. oculata* แห้งตรึงในเม็ดอัลจินเตซึ่งมีลักษณะเป็นทรงกลมโดยผสมสาหร่ายลงในโซเดียมอัลจินเตที่ละลายน้ำเรียบร้อยแล้ว 1 กรัม/100 มิลลิลิตร คนให้เป็นเนื้อเดียวกันเมื่อเป็นเนื้อเดียวกันเรียบร้อยแล้ว นำหลอดฉีดยาขนาด 10 มิลลิลิตร ทำการดูดอัลจินเตและหยดในสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ 3 กรัม/100 มิลลิลิตร และทิ้งไว้เป็นระยะเวลา 1 ชั่วโมง เมื่อครบเวลาจึงนำสาหร่ายที่ตรึงในเม็ดอัลจินเตเรียบร้อยแล้วไปล้างน้ำให้สะอาดและนำไปทดลองดูดซับสีในขั้นตอนต่อไป ซึ่งสีที่ใช้ในการทดลองคือ สีอะมเบเนฟิก เรด

การศึกษาพีเอช ระยะเวลาและปริมาณของสาหร่ายที่เหมาะสมต่อการดูดซับ

ในการทดลองศึกษาพีเอชที่เหมาะสมต่อการดูดซับนั้นทำการทดลองในช่วงพีเอช 2-8 (ปรับระดับพีเอช โดย HNO_3 0.1 โมลต่อลิตร และ NaOH 0.1 โมลต่อลิตร) และเมื่อได้ผลของค่าพีเอชที่ดีที่สุดจึงนำไปใช้ในการทดลองขั้นต่อไป การศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมหรือเวลาเข้าสู่สมดุลโดยศึกษาในช่วงระยะเวลา 0-360 นาที จากนั้นนำผลระยะเวลาเข้าสู่สมดุลไปใช้ในการทดลอง ขั้นต่อไป การศึกษาปริมาณของสาหร่ายที่เหมาะสมต่อการดูดซับนั้นจะทำการศึกษาในช่วง 2-10 กรัมต่อลิตร โดยการเตรียมสีอะมเบเนฟิก เรด โดยละลายสีอะมเบเนฟิก เรด ในน้ำ Milli-q ให้ได้ความเข้มข้นที่ต้องการ

วิธีการศึกษาการดูดซับคือนำเม็ดอัลจินเตที่ตรึงสาหร่ายไว้ในขวดรูปชมพู่ขนาด 125 มิลลิลิตร ซึ่งบรรจุสีอะมเบเนฟิก เรดที่ระดับพีเอชและความเข้มข้นที่ต้องการ ปริมาตร 10 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปเขย่าที่เครื่องเขย่าที่ความเร็วรอบ 120 รอบต่อนาที เป็นระยะเวลา 180 นาที (สำหรับการศึกษาเรื่องพีเอช) และที่ระยะเวลา 120 นาที (สำหรับการศึกษาปริมาณของสาหร่ายซึ่งเป็นผลของการหาระยะเวลาที่เหมาะสม) เมื่อครบเวลาแล้วทำการแยกเม็ดอัลจินเตออกจากสารละลายสีและนำไปวัดหาปริมาณสีที่เหลือนด้วยเครื่อง spectrophotometer

คำนวณปริมาณสีที่ถูกดูดซับต่อปริมาณสาหร่าย (adsorption capacity), (q มีหน่วยเป็นมิลลิกรัมต่อกรัม)

$$\text{ตั้งสมการ } q = V (C_0 - C_{eq}) / M$$

เมื่อ V คือ ปริมาตรของสารละลายสี (ลิตร)

C_0 คือ ความเข้มข้นตั้งต้นของสี (มิลลิกรัมต่อลิตร)

C_{eq} คือ ความเข้มข้นสุดท้ายของสี (มิลลิกรัมต่อลิตร)

M คือ ปริมาณน้ำหนักแห้งของสาหร่าย (กรัม)

คำนวณเปอร์เซ็นต์การดูดซับ (% removal) ดังสมการ $R (\%) = (C_0 - C_t)/C_0 \times 100$

โดย C_0 คือ ความเข้มข้นของสารปนเปื้อนในน้ำเสียที่จุดเริ่มต้น (มิลลิกรัมต่อลิตร)

C_t คือ ความเข้มข้นของสารปนเปื้อนในน้ำเสียที่ระยะเวลาต่าง ๆ (มิลลิกรัมต่อลิตร)

การหาประสิทธิภาพการดูดซับสีย้อม

ใส่สาหร่ายที่ตรึงในเม็ดอัลจินตปริมาณ 2 กรัมต่อลิตร ในสารละลายสีย้อม 200 มิลลิตร ที่ความเข้มข้นสีย้อม 20-100 มิลลิกรัมต่อลิตร และนำไปวิเคราะห์หาปริมาณสีย้อมที่เหลือที่จุดสมดุลและหาค่าความสามารถสูงสุดในการดูดซับ โดยการหาค่าไอโซเทอร์มการดูดซับทำได้โดยใช้สมการของ Langmuir และ Freundlich ดังนี้

$$\text{สมการ Langmuir } 1/q_{eq} = (1/(K_d Q_{max}))(1/C_{eq}) + (1/Q_{max})$$

เมื่อ q_{eq} คือ ปริมาณสีย้อมที่ถูกดูดซับที่จุดสมดุล (มิลลิกรัมต่อกรัมสาหร่าย)

Q_{max} คือ ปริมาณสีย้อมที่ถูกดูดซับได้สูงที่สุดโดยสาหร่าย (มิลลิกรัมต่อกรัมสาหร่าย)

K_d คือ ค่าคงที่ในการดูดซับสีย้อมของสาหร่ายซึ่งสัมพันธ์ระหว่างความชอบ (สัมพรรคของแรธาตุ)

ระหว่างตัวดูดซับและตัวถูกดูดซับ (ลิตรต่อมิลลิกรัม)

C_{eq} คือ ปริมาณสีย้อมที่เหลือในสารละลายที่จุดสมดุล (มิลลิกรัมต่อลิตร)

$$\text{ส่วนสมการของ Freundlich มีรูปสมการคือ } q_{eq} = K_f C_{eq}^{1/n}$$

เมื่อ K_f และ $1/n$ เป็นค่าคงที่ของการดูดซับ ซึ่งค่า K_f และ $1/n$ เป็นดัชนีของประสิทธิภาพในการดูดซับ (adsorption capacity index) และความหนาแน่นในการดูดซับ (adsorption intensity) ตามลำดับ

การศึกษาจลนพลศาสตร์การดูดซับทำได้โดยนำสาหร่ายที่ตรึงในเม็ดอัลจินตปริมาณ 2 กรัมต่อลิตร ใส่ในสารละลายสีย้อม 200 มิลลิตร ที่ความเข้มข้น 20-100 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยการวิเคราะห์หาปริมาณสีย้อมที่เหลือ จะวิเคราะห์ที่ระยะเวลา 0-120 นาที จากนั้นทำการหาอันดับของปฏิกิริยา (order of reaction) โดยจะใช้ดังสมการดังต่อไปนี้สำหรับคำนวณปฏิกิริยาอันดับที่หนึ่งเสมือน (pseudo first-order)

$$\log (q_e - q_t) = \log (q_e) - (k_1/2.303) t$$

โดยที่ q_e คือ ปริมาณสารปนเปื้อนที่ถูกดูดซับบนเซลล์สาหร่ายที่จุดสมดุล (มิลลิกรัมต่อลิตร)

q_t คือ ปริมาณสารปนเปื้อนที่ถูกดูดซับบนเซลล์สาหร่ายที่เวลาใด ๆ (มิลลิกรัมต่อลิตร)

k_1 คือ ค่าคงที่ของการดูดซับแบบ pseudo first-order (ลิตรต่อนาที)

ส่วนสำหรับการคำนวณหาอันดับปฏิกิริยาสองเสมือน (pseudo second-order) หาได้จากสมการดังต่อไปนี้

$$t/q_t = (1/k_2 q_e^2) + (1/q_e) t$$

โดยที่ q_e คือ ปริมาณสารปนเปื้อนที่ถูกดูดซับบนเซลล์สาหร่ายที่จุดสมดุล (มิลลิกรัมต่อลิตร)

q_t คือ ปริมาณสารปนเปื้อนที่ถูกดูดซับบนเซลล์สาหร่ายที่เวลาใด ๆ (มิลลิกรัมต่อลิตร)

k_2 คือ ค่าคงที่ของการดูดซับแบบ pseudo second-order (กรัมต่อมิลลิกรัมต่อนาที)

และขั้นกำหนดอัตราเร็วของปฏิกิริยา (rate limiting step) สามารถคำนวณได้จากสมการดังต่อไปนี้

$$q = k_1 t^{0.5}$$

โดย q คือ ปริมาณของสารปนเปื้อนที่ถูกดูดซับต่อกรัมของสาหร่ายที่เวลาใด ๆ

t คือ เวลาในการดูดซับที่เวลาใด ๆ

การวัดปริมาณสีย้อมและการวิเคราะห์ข้อมูล

วัดปริมาณสีย้อมด้วยเครื่อง spectrophotometer (Genesys 20 Thermo Spectronic, Thailand) ทำการทดลองแบบสุ่มตลอด (completely randomized design) โดยในทุกชุดการทดลองทำการทดลอง 4 ซ้ำ วิเคราะห์ความแปรปรวนของชุดทดลองแบบทางเดียว (One-way ANOVA) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิเคราะห์ข้อมูลโดย Turkey's Honestly Significant

Different (HSD) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูปสำหรับคอมพิวเตอร์ SPSS For Windows 16.0 (IBM SPSS Statistics, 2023)

ผลการศึกษาและวิจารณ์

ผลของระดับพีเอชที่เหมาะสมต่อการดูดซับสีย้อม

ระดับพีเอชของสารละลายที่เหมาะสมในการดูดซับสีย้อมเบนฟิก เรด โดยสาหร่าย *N. oculata* ที่ตรึงในเม็ดอัลจิเนต โดยพบว่า สาหร่ายดูดซับสีย้อมได้สูงที่สุดที่ระดับพีเอช 2 โดยมีค่าเปอร์เซ็นต์การดูดซับ (removal) เท่ากับ 89.60 ± 0.64 เปอร์เซ็นต์ และมี ปริมาณสีย้อมที่ถูกดูดซับต่อปริมาณสาหร่าย (adsorption capacity) 0.90 ± 0.01 มิลลิกรัมต่อกรัมสาหร่าย โดยมีความแตกต่าง อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับทุกระดับพีเอช (Table 1) ซึ่งมีรายงานการศึกษาลักษณะคล้ายคลึงกันในการใช้สาหร่ายสีเขียวขนาดเล็ก *Chlorella vulgaris* เป็นตัวดูดซับทางชีวภาพในการดูดซับสีย้อมรีแอคทีฟ (Akzu & Tezer, 2005) เนื่องจากสีย้อมเบนฟิก เรด นั้นจัดเป็นสีที่อยู่ในกลุ่มรีแอคทีฟ เมื่อละลายในน้ำจึงให้ประจุลบจึงจับกับหมู่ฟังก์ชันที่เป็นประจุบวก เช่น คาร์บอกซิล ไฮดรอกซิล กรดอะมิโน (Schiewer & Volesky, 2000) บนพื้นผิวของเซลล์สาหร่าย นอกจากนี้ที่พีเอชต่ำสีย้อมสามารถแตกตัวได้ดีส่งผลให้เกิดปฏิสัมพันธ์กันระหว่างประจุบวกที่อยู่บนพื้นผิวของเซลล์สาหร่ายกับประจุลบของสีย้อมกลุ่มรีแอคทีฟได้มาก เมื่อค่าพีเอช เริ่มเพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ จนถึงพีเอชเท่ากับ 8 นั้น จะมีปริมาณของประจุลบที่เพิ่มขึ้น (OH^-) ซึ่งประจุลบนี้สามารถ แย่งจับกับประจุบวก บนผิวเซลล์สาหร่ายทำให้ปริมาณประจุบวกที่อยู่บนพื้นผิวของเซลล์สาหร่ายที่จะจับกับสีย้อมนั้นน้อยลงส่งผลให้การดูดซับสีย้อม ลดลงเมื่อพีเอชสูงขึ้น (Neag & Roman, 2017; Sarwa et al., 2014)

Table 1 Effect of pH on benfix red removal by alginate immobilized cell of *Nannochloropsis oculata* (algae 10 g/L, exposure time 180 min, initial dye concentration 10 mg/L, n=4)

Initial pH	Removal (%)	Adsorption capacity (mg/g)	Final pH
2	89.60 ± 0.64^d	0.90 ± 0.01^e	3.40 ± 0.01
3	40.22 ± 1.52^{bc}	0.40 ± 0.02^{bcd}	5.51 ± 0.02
4	32.30 ± 4.70^{ab}	0.32 ± 0.05^{ab}	5.97 ± 0.05
5	45.19 ± 0.68^c	0.45 ± 0.01^d	6.11 ± 0.02
6	40.60 ± 0.60^{bc}	0.41 ± 0.01^{cd}	6.17 ± 0.01
7	35.69 ± 0.69^b	0.36 ± 0.01^{bc}	6.26 ± 0.02
8	27.42 ± 0.57^a	0.27 ± 0.01^a	6.36 ± 0.06

The different superscript letters (a,b,...) in each column are significantly different ($p < 0.05$).

ผลพบว่า ที่พีเอชเริ่มต้น 2-6 เมื่อสิ้นสุดการทดลองค่าพีเอชของสารละลายมีค่าเพิ่มขึ้นนั้นเป็นเพราะค่าพีเอชนั้นมีความสัมพันธ์กับความเข้มข้นของไฮโดรเจนไอออน (H^+) ที่สารละลายพีเอชต่ำคือมีปริมาณของ H^+ อยู่เป็นจำนวนมากซึ่งผิวเซลล์ของสาหร่ายที่เป็นประจุลบสามารถจับกับ H^+ ของสารละลายจึงทำให้พีเอชเพิ่มขึ้น นอกจากนี้ยังเป็นไปได้ว่าประจุลบของ สีย้อมจับกับ H^+ ในสารละลายจึงยังทำให้พีเอชเพิ่มขึ้นและยังมีรายงานว่าจากการศึกษาการดูดซับสีย้อมรีแอคทีฟ แบล็ค 5 บนผงถ่านกัมมันต์ พบว่าที่ค่าพีเอชต่ำนั้นจะเป็นผลให้มีการดูดซับที่แรงมากขึ้นจากแรงดึงดูดทางไฟฟ้า (Vojnovic et al., 2022) และจากผล การศึกษาค้นคว้าพบว่าในส่วนที่พีเอช 7-8 สารละลายหลังการดูดซับสีย้อมมีค่าลดลงซึ่งอาจเป็นเพราะ OH^- บางส่วนในสารละลาย จับกับประจุบวกที่ผนังเซลล์สาหร่าย (ที่พีเอชต่ำอาจมีการจับเช่นเดียวกันแต่เนื่องจาก OH^- มีปริมาณน้อยจึงไม่แสดงผลชัดเจน)

ผลของระยะเวลาที่เหมาะสมต่อการดูดซับสีย้อม

ระยะเวลาสัมผัสที่เหมาะสมระหว่างสาหร่ายและสารละลายสีย้อมที่ระดับพีเอชที่เหมาะสม (ผลจากข้อ 1) นั้นพบว่าในช่วงแรกหลังจากที่สาหร่าย *N. oculata* สัมผัสกับสารละลายสีย้อมสามารถดูดซับสีย้อมได้อย่างรวดเร็ว จนเมื่อเวลาผ่านไปเป็นเวลา 1 ชั่วโมง พบว่ามีค่าปริมาณสีย้อมที่ถูกดูดซับต่อปริมาณสาหร่ายเท่ากับ 1.74 ± 0.02 มิลลิกรัมต่อกรัมสาหร่าย และที่เวลา 2 ชั่วโมง สาหร่ายสามารถดูดซับสีย้อมได้สูงสุดถึง 1.80 ± 0.02 มิลลิกรัมต่อกรัมสาหร่ายและหลังจากเวลาผ่านไป 2 ชั่วโมง การดูดซับค่อนข้างจะคงที่จนครบเวลา 6 ชั่วโมง ดังนั้นที่ระยะเวลา 2 ชั่วโมง เป็นระยะเวลาที่เข้าสู่สมดุลของการดูดซับสีย้อมเบนฟิก เรด (Figure 2)

จะเห็นได้ว่าระยะเวลาสัมผัสในช่วงแรกมีการดูดซับอย่างรวดเร็วนั้นเป็นเพราะตำแหน่งบนพื้นผิวเซลล์ของสาหร่ายนั้นยังคงว่างอยู่จึงทำให้มีการดูดซับสีย้อมได้อย่างรวดเร็วจนถึงระยะเวลาสัมผัสที่ 2 ชั่วโมง มีปริมาณการดูดซับที่สูงสุดและหลังจาก 2 ชั่วโมง เป็นต้นมานั้นจะพบได้ว่าการดูดซับของสีย้อมเริ่มคงที่เพราะว่าตำแหน่งที่ว่างบนพื้นผิวของเซลล์สาหร่ายนั้นน้อยลง จนสีย้อมเข้าจับเต็มทุกตำแหน่งของพื้นผิวเซลล์สาหร่ายนั้นจนหมดจึงทำให้ไม่มีการดูดซับเพิ่มขึ้นอีกหรือถึงจุดสมดุลนั่นเอง (Buhani et al., 2021a; Sarwa et al., 2014)

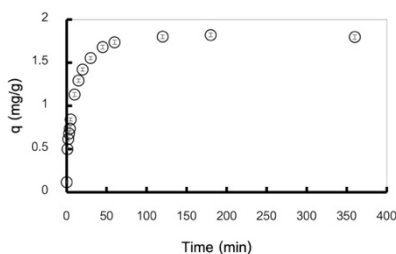


Figure 2 Effect of contact time on benefix red removal by immobilized cell of *Nannochloropsis oculata* (algae 10 g/L, pH 2, initial dye concentration 10 mg/L, n=4)

ผลของปริมาณสาหร่ายที่เหมาะสมต่อการดูดซับสีย้อม

การดูดซับสีย้อมเบนฟิก เรด โดยสาหร่าย *N. oculata* ที่ตรึงในเม็ดอัลจินเตนั้นพบว่าปริมาณของสาหร่ายที่เหมาะสมต่อการดูดซับนั้นเท่ากับ 2 กรัมต่อลิตร โดยมีค่าปริมาณการดูดซับสูงที่สุดเท่ากับ 3.98 ± 0.02 มิลลิกรัมต่อกรัมสาหร่าย โดยมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับทุกชุดการทดลองที่เหลือ (Table 2) และพบว่าเมื่อปริมาณเซลล์สาหร่ายเพิ่มขึ้นจาก 2 กรัมต่อลิตร ไปจนถึง 10 กรัมต่อลิตร นั้นค่าปริมาณการดูดซับลดลงจาก 3.98 ± 0.02 เป็น 0.85 ± 0.01 มิลลิกรัมต่อกรัมสาหร่าย เนื่องจากเมื่อมีจำนวนสาหร่ายที่บรรจุในเม็ดอัลจินเตเป็นปริมาณที่มากขึ้นก็จะส่งผลให้มีการรวมกลุ่มกัน อาจเป็นเพราะระยะห่างระหว่างเซลล์สาหร่ายนั้นน้อยลงจึงทำให้ที่บริเวณผิวเซลล์ของสาหร่ายสัมผัสกับสีย้อมได้อย่างไม่ทั่วถึงจึงทำให้ค่าปริมาณการดูดซับของสีย้อมเบนฟิก เรด นั้นลดลงตามปริมาณของเซลล์สาหร่ายที่เพิ่มขึ้น (Buhani et al., 2021a)

Table 2 Effect of biomass concentration on benefix red removal by alginate immobilized cell of *Nannochloropsis oculata* (pH 2, exposure time 120 min, initial dye concentration 10 mg/L, n=4)

Biomass (g/L)	Removal (%)	Adsorption capacity (mg/g)
2	79.61 $\pm$ 0.34 ^a	3.98 $\pm$ 0.02 ^e
4	86.17 $\pm$ 0.35 ^b	2.15 $\pm$ 0.01 ^d
6	84.40 $\pm$ 1.45 ^b	1.41 $\pm$ 0.02 ^c
8	85.28 $\pm$ 0.61 ^b	1.07 $\pm$ 0.01 ^b
10	85.28 $\pm$ 0.84 ^b	0.85 $\pm$ 0.01 ^a

The different superscript letters (a,b,...) in each column are significantly different ($p < 0.05$).

ผลของความเข้มข้นเริ่มต้นของสารละลายสีย้อมที่เหมาะสมต่อการดูดซับ

จากการทดลองผันแปรความเข้มข้นเริ่มต้นของสีย้อมที่ 20–100 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าความเข้มข้นเริ่มต้นของสีย้อมเท่ากับ 100 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นความเข้มข้นเริ่มต้นที่เหมาะสมต่อการดูดซับสีย้อมเบนฟิก เรด โดยพบว่ามีค่าปริมาณการดูดซับเท่ากับ 36.82 ± 0.54 มิลลิกรัมต่อกรัมสาหร่าย ซึ่งเป็นค่าปริมาณการดูดซับสูงสุด โดยมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับทุกชุดการทดลองที่เหลือ (Table 3) ความเข้มข้นเริ่มต้นของสีย้อมที่เพิ่มขึ้นจาก 20 ถึง 100 มิลลิกรัมต่อลิตร นั้นพบว่าเมื่อความเข้มข้นของสีย้อมเพิ่มขึ้นจะส่งผลให้มีการดูดซับสีย้อมต่อกรัมของสาหร่ายที่เพิ่มขึ้นเนื่องจากเกิดแรงผลัก (repulsive force) ที่เกิดจากความเข้มข้นเริ่มต้นของสีย้อมที่มากจึงทำให้สีย้อมมีแรงผลักกันเองและทำให้สีย้อมเข้าใกล้สาหร่ายได้มากขึ้น ซึ่งจะเป็นการเพิ่มการดูดซับสีย้อมทำให้สาหร่ายสามารถดูดซับสีย้อมจากสารละลายได้ดี (Sarwa et al., 2014)

Table 3 Effect of initial concentration on benefix red removal by immobilized cell of *Nannochloropsis oculata* (algae 2 g/L, pH 2, exposure time 120 min, n=4)

Initial concentration (mg/L)	Removal (%)	Adsorption capacity (mg/g)
20	77.01 ± 0.41^b	7.70 ± 0.04^a
40	73.60 ± 0.50^a	14.72 ± 0.10^b
60	72.97 ± 0.59^a	21.89 ± 0.18^c
80	71.70 ± 0.79^a	28.68 ± 0.31^d
100	73.63 ± 1.09^a	36.82 ± 0.54^e

The different superscript letters (a,b,...) in each column are significantly different ($p < 0.05$).

ไอโซเทอร์มการดูดซับสีย้อม

การศึกษาไอโซเทอร์มการดูดซับสีย้อมเบนฟิก เรด ของสาหร่าย *N. oculata* ที่ผ่านการตรึงในเม็ดอัลจินเตนนั้นพบว่า ค่า r^2 จากสมการของ Langmuir (0.9925) นั้นมีค่าสูงกว่าค่า r^2 จากสมการของ Freundlich (0.9900) (Table 4) ดังนั้นจึงสามารถสันนิษฐานได้ว่าการดูดซับน่าจะสอดคล้องกับสมการการดูดซับของ Langmuir คือมีลักษณะการดูดซับเป็นแบบชั้นเดียว (monomolecular layer) และพื้นที่ผิวในการดูดซับนั้นมีตำแหน่งและกลไก การดูดซับเหมือนกัน (homogeneous surface) รวมถึงพลังงานและตำแหน่งในการดูดซับนั้นจะเหมือนกันทุกตำแหน่งของพื้นที่ผิวสัมผัส ซึ่งเป็นไปตามทฤษฎีของ Langmuir และมีค่าการดูดซับสูงสุด (Q_{max}) ที่ 106.58 ± 20.22 มิลลิกรัมต่อกรัม โดยมีรายงานที่คล้ายคลึงกันในการนำ *Spirogyra majuscula* มาบำบัดสีย้อมรีแอคทีฟ เรด 120 และ รีแอคทีฟ เยลโล่ 81 พบว่าการดูดซับสีย้อมรีแอคทีฟ เรด 120 และ รีแอคทีฟ เยลโล่ 81 นั้นสอดคล้องกับสมการของ Langmuir เช่นเดียวกัน โดยมีค่า Q_{max} เท่ากับ 251.94 และ 254.77 มิลลิกรัมต่อกรัม ตามลำดับ (Celekli et al., 2012) ส่วนการศึกษาเกี่ยวกับความสามารถในการดูดซับสีย้อมเมทิลออเรนจ์ของสาหร่าย *Nannochloropsis* sp. พบว่าตามรูปแบบสมการของ Langmuir นั้นมีค่า Q_{max} เท่ากับ 76.48 มิลลิกรัมต่อกรัม (Aldegs et al., 2008; Buhani et al., 2021a) นอกจากนี้ยังพบการศึกษาที่เกี่ยวกับการใช้สาหร่าย *Chlorella vulgaris* ในการกำจัดสีย้อมรีแอคทีฟที่ปนเปื้อนในน้ำเสียพบว่ามีค่า Q_{max} เท่ากับ 50.89 ± 0.46 (Radwan et al., 2020)

Table 4 Langmuir and Freundlich isotherm parameters for the adsorption of benefix red by immobilized cell of *Nannochloropsis oculata* (algae 2 g/L, pH 2, exposure time 120 min, Temp 25 °C, n=4)

Langmuir			Freundlich		
$Q_{\max}$ (mg/g)	K_a (L/mg)	R^2	K_f	n	R^2
106.58±20.22	0.02±0.00	0.9925±0.00	4.851±0.40	1.15±0.03	0.9900±0.00

จลนพลศาสตร์การดูดซับสีย้อม

จลนพลศาสตร์การดูดซับนั้นเป็นการศึกษาเกี่ยวกับการเปลี่ยนความเข้มข้นของสารต่อหนึ่งหน่วยเวลาหรืออัตราการเกิดปฏิกิริยา (reaction rate) ด้วยการหาอันดับของปฏิกิริยา (order of reaction) ขึ้นกำหนดอัตราเร็วของการดูดซับและค่าคงที่ของอัตราเร็วของการดูดซับ สำหรับจลนพลศาสตร์การดูดซับสีย้อมเบนฟิก เรด จะพิจารณาจากค่าความสัมพันธ์ (r^2) ว่าสาหร่ายนั้นมีอันดับของปฏิกิริยาเป็นแบบใด จากผลการศึกษาจะพบว่าเมื่อพิจารณาจากค่าความสัมพันธ์ (r^2) แล้วนั้นพบว่าจลนพลศาสตร์การดูดซับสีย้อมเบนฟิกเรด โดยสาหร่าย *N. oculata* ที่ตรึงในเม็ดอัลจิเนตนั้นเป็นแบบ pseudo first-order (Table 5) ซึ่งมีการศึกษาการนำสาหร่ายสีเขียวขนาดเล็กดูดซับสีย้อม naphthol green-B เมื่อทำการวิเคราะห์ทางจลนพลศาสตร์แล้วนั้นพบว่าเป็นแบบ pseudo first-order (Celekli et al., 2012; Gunasundari et al., 2020; Ozer et al., 2005) แสดงว่าในการนำไปประยุกต์ใช้ในการบำบัดน้ำเสียจริงการเพิ่มปริมาณสาหร่ายสามารถเพิ่มความเร็วในการดูดซับได้เท่ากับปริมาณสาหร่ายที่เพิ่มขึ้น แต่สำหรับการศึกษาในการนำสาหร่ายสีเขียว *Nannochloropsis* sp. ที่ผ่านการดัดแปลงมาเป็นตัวดูดซับสีย้อมเมทิลีนบลูและไอออนบวกของ Cu(II) นั้นพบว่าจลนพลศาสตร์เป็นแบบ second order (Buhani et al., 2021b)

ขึ้นกำหนดอัตราเร็วของการดูดซับคือการควบคุมอัตราเร็วของขบวนการดูดซับของขบวนการทั้งหมดและจากการทดลองนี้พบว่าขึ้นกำหนดอัตราเร็วของการดูดซับนั้นเป็นทั้งขั้นการแพร่ผ่านของชั้นฟิล์ม (film diffusion) นั่นคือชั้นน้ำ คือชั้นตอนที่สีย้อมเคลื่อนที่ผ่านชั้นฟิล์มน้ำที่เคลือบอยู่บนเม็ดอัลจิเนตและเคลื่อนที่ผ่านเม็ดอัลจิเนตเข้าไปยังเซลล์สาหร่าย และขั้นการแพร่เข้าสู่รูพรุน (Intraparticle diffusion) คือเมื่อสีย้อมสัมผัสเซลล์สาหร่ายแล้วได้แพร่เข้าสู่รูพรุนที่อยู่บนเซลล์สาหร่ายและเกิดการจับกับ binding site ภายในรูพรุน และเมื่อพิจารณาจากสมการขึ้นกำหนดอัตราเร็วในขั้นนี้คือการดูดซับช่วงที่สอง (secondary rate) เนื่องจากมีค่าความเร็วในการดูดซับน้อยกว่าของ initial rate โดยการพิจารณาว่าขั้นใดคือขั้นกำหนดอัตราเร็ว พิจารณาจากขั้นที่มีความเร็วในการดูดซับช้าที่สุดนั่นเอง (Table 6)

Table 5 The order of reaction of benefix red adsorption by immobilized cell of *Nannochloropsis oculata* (algae 2 g/L, pH 2, exposure time 120 min, Temp 25 °C, n=4)

Dye Concentration (mg/L)	Pseudo first-order		Pseudo second-order	
	k (min ⁻¹)	r^2	k (g/mg min)	r^2
20	0.029	0.9940	0.0064	0.9830
40	0.026	0.9896	0.0038	0.9737
60	0.026	0.9907	0.0023	0.9722
80	0.025	0.9900	0.1801	0.9710
100	0.025	0.9910	0.0013	0.9707

ดังนั้นในการนำไปประยุกต์ใช้บำบัดน้ำเสียจริงต้องมีการเพิ่มการหมุนเวียนของน้ำหรือเพิ่มการตักน้ำเพื่อเพิ่มความเร็วในการดูดซับขั้น film diffusion และก่อนการตรึงเซลล์สาหร่ายในอัลจิเนตควรทำการปรับปรุงเซลล์สาหร่ายเพื่อเพิ่มรูพรุนให้มากขึ้น

เช่น การอบลมร้อน การเข้าหม้อนึ่งความดัน การแช่กรด เป็นต้น ซึ่งจะช่วยให้เพิ่มความเร็วในการดูดซับขั้น secondary rate ของ intraparticle diffusion ได้

Table 6 Film diffusion and intraparticle diffusion rate of benefix red adsorption by immobilized cell of *Nannochloropsis oculata*

Dye Concentration (mg/L)	Film diffusion		Intraparticle diffusion			
	Initial rate (min ⁻¹)	-r	Initial rate		Secondary rate	
			(mg/g biomass/min ^{0.5})	-r	(mg/g biomass/min ^{0.5})	r
20	0.0147	0.9267	0.9009	0.9918	0.8084	0.9977
40	0.0131	0.9006	1.6177	0.9982	1.4557	0.9989
60	0.013	0.9102	2.2734	0.9939	2.1881	0.9986
80	0.0126	0.9112	3.0194	0.9991	2.8773	0.9987
100	0.0129	0.9134	4.0410	0.9982	3.7357	0.9991

สรุปผลการศึกษา

สาหร่าย *N. oculata* ที่ผ่านการตรึงเซลล์ในเม็ดอัลจิเนตมีความสามารถในการดูดซับสีย้อมเบนเฟก เรด ได้ดีที่สารละลายสีย้อมพีเอช 2 และมีระยะเวลาเข้าสู่สมดุล 120 นาที ปริมาณสาหร่ายที่เหมาะสมคือ 2 กรัมต่อลิตร และพบว่าเมื่อความเข้มข้นของสีย้อมเพิ่มขึ้น สาหร่ายจะมีค่าปริมาณการดูดซับสีย้อมที่เพิ่มขึ้นและการดูดซับสีย้อมสอดคล้องกับไอโซเทอรั่มการดูดซับของ Langmuir โดยมีอันดับปฏิกิริยาการดูดซับเป็นแบบที่หนึ่งเหมือน (pseudo first-order) และมีขึ้นกำหนดอัตราเร็วคือการแพร่เข้าผ่านชั้นฟิล์มและการแพร่เข้าสู่ภายในเซลล์ชั้นที่สองซึ่งแสดงให้เห็นว่าสาหร่าย *N. oculata* เป็นตัวดูดซับทางชีวภาพตัวเลือกหนึ่งที่สามารถนำมาบำบัดน้ำเสียที่มีสีย้อมปนเปื้อนได้

เอกสารอ้างอิง

- Akzu, Z., & Tezer, S. (2005). Biosorption of reactive dyes on the green alga *Chlorella vulgaris*. **Process Biochemistry**, 40(3-4), 1347-1361. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2004.06.007>
- Aldegs, Y., Elbarghouthi, M., Elsheikh, A., & Walker, G. (2008). Effect of solution pH, ionic strength, and temperature on adsorption behavior of reactive dyes on activated carbon. **Dyes and Pigments**, 77(1), 16-23. <https://doi.org/10.1016/j.dyepig.2007.03.001>
- Buhani, Suharso, Miftahza, N., Permatasari, D., & Sumadi. (2021a). Improved adsorption capacity of *Nannochloropsis* sp. through modification with cetyltrimethylammonium bromide on the removal of methyl orange in solution. **Adsorption Science & Technology**, 2021(9), 1-14. <https://doi.org/10.1155/2021/1641074>
- Buhani, Wijayanti, T. A., Suharso, Sumadi, & Ansori, M. (2021b). Application of modified green algae *Nannochloropsis* sp. as adsorbent in the simultaneous adsorption of methylene blue and Cu(II) cations in solution. **Sustainable Environment Research**, 31(1), 1-12. <https://doi.org/10.1186/s42834-021-00090-y>
- Celekil, A., Yavuzatmaca, M., & Bozkurt, H. (2012). Binary adsorption of reactive red 120 and yellow 81 on *Spirogyra majuscula*. **Middle East Journal of Scientific Research**, 1(2), 29-36. <https://doi.org/10.5829/idosi.mejsr.2013.13.6.2316>
- Gunasundari, E., Kumar, P. S., Rajamohan, N., & Vellaichamy, P. (2020). Feasibility of naphthol green-B dye adsorption using microalgae: thermodynamic and kinetic analysis. **Desalination and Water Treatment**, 192(2020), 358-370. <https://doi.org/10.5004/dwt.2020.25777>
- IBM SPSS Statistics. (2023). **KMITL SPSS Version29**. Retrieved from: https://drive.google.com/file/d/1FDY_FmOy1PgWB3lTARGBA-6XJy84kcBW/view?usp=sharing.
- Kumar, S., Ahluwalia, A. S., & Charaya, M. U. (2019). Adsorption of orange-g dye by the dried powdered biomass of *Chlorella vulgaris* Beijerinck. **Current Science**, 116(4), 604-611. <https://doi.org/10.18520/cs/v116/i4/604-611>
- Neag, E. & Roman, C. (2017). Applications of microalgae in wastewater treatment experimental and equilibrium studies. In **Proceedings of 2017 International Conference on Hydraulics and Pneumatics – HERVEX**, pp.318-324. Institute for Analytical Instrumentation Russian Academy of Sciences.
- Ozer, A., Ozer, D., & Eklz, H. I. (2005). The Equilibrium and Kinetic Modelling of the Biosorption of Copper(II) Ions on *Cladophora crispata*. **Adsorption**, 10(4), 317-326. <https://doi.org/10.1007/s10450-005-4817-y>
- Radwan, E. K., Abdel-Aty, A. M., El-Wakeel, S. T., & Abdel Ghafar, H. H. (2020). Bioremediation of potentially toxic metal and reactive dye-contaminated water by pristine and modified *Chlorella vulgaris*. **Environmental Science and Pollution Research**, 27(17), 21777-21789. <https://doi.org/10.1007/s11356-020-08550-5>
- Ruangsomboon, S., & Chonudomkul, D. (2022). Effect of CO₂ concentration on growth, CO₂ fixation, and biochemical composition of the microalga *Nannochloropsis oculata*. **Chiang Mai Journal of Science**, 49(2), 325-338. <https://doi.org/10.12982/CMJS.2022.035>
- Sani, Z. M., Dalhatu, A. S., Adam, B. S., Mohammed, K., Muhammad, Y. Y., & Ibrahim, S. (2021). Bioremediation of some reactive dyes commonly used in Fabric re-dyeing by *Chlorella vulgaris*. **Asian Journal of Environment & Ecology**, 15(4), 10-19.
- Sarwa, P., Vijayakumar, R., & Verma, S. K. (2014). Adsorption of acid red 66 dye from aqueous solution by green microalgae *Acutodesmus obliquus* strain PSV2 isolated from an industrial polluted site. **Open Access Library Journal**, 1(3), 1-8. <https://doi.org/10.4236/oalib.1100712>
- Schiewer, S., & Volesky, B. (2000). Biosorption Processes for Heavy Metal Removal. In Lovley, D.R. (Ed.) **Environmental Microbe-Metal Interactions**, pp.329-362. American Society for Microbiology.
- Vojnovic, B., Cetina, M., Franjkovic, P., & Sutlovic, A. (2022). Influence of initial pH value on the adsorption of reactive black 5 dye on powdered activated carbon: kinetics, mechanisms, and thermodynamic. **Molecules**, 27(4), 1-12. <https://doi.org/10.3390/molecules27041349>
- Yemendzhiev, H., Alexieva, Z., & Krastanov, A. (2014). Decolorization of Synthetic Dye Reactive Blue 4 by Mycelial Culture of White - Rot Fungi Trametes Versicolor 1. **Biotechnology & Biotechnological Equipment**, 23(3), 1337-1339.