สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

รายงานวิจัย

เรื่อง

การดูดซับโครเมียมโดยยีสต์

Biosorption of Chromium by Yeast

โดย

นายมงคล เพ็ญสายใจ

นางเหมือนหมาย อภินทนาพงศ์

RCH
TD
795
ม11ก9

T034413

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน 34413
วัน, เดือน, ปี 1 พ.ย. 2542

ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีงบประมาณ 2540

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทคัดย่อ

จากการศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการกำจัดโครเมียม (+6) โดยยีสต์ 4 สายพันธุ์คือ *Candida utilis* TISTR 5046, *C. tropicalis* ATCC 9968, *C. guilliermondii* TISTR 5026 และ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5125 พบว่า *S. cerevisiae* มีประสิทธิภาพในการดูดซับโครเมียม (+6) ได้สูงสุด โดยมีสภาวะที่เหมาะสมคือ ความเข้มข้นเริ่มต้นของโครเมียม (+6) 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ความเร็วรอบการเขย่า 200 รอบต่อนาที โดยสามารถดูดซับโครเมียม (+6) ในสารละลายโครเมียมได้สูงสุด 4.646 มิลลิกรัมต่อลิตร ในเวลา 72 ชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ABSTRACT

Four strains of yeasts : *Candida utilis* TISTR 5046, *C. tropicalis* ATCC 9968, *C. guilliermondii* TISTR 5026 and *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5125 were compared the ability to adsorp chromium (+6) in chromium (+6) solution. *S. cerevisiae* showed the highest adsorption (4.646 mg/l) when this yeast was suspended in the initial concentration 5 mg/l of chromium (+6) solution at shaking rate 200 rpm for 72 hrs.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ข
สารบัญ	ค
บทที่ 1 บทนำ	1
บทที่ 2 การตรวจเอกสาร	4
บทที่ 3 อุปกรณ์ และ วิธีการทดลอง	16
บทที่ 4 ผลการทดลอง และ วิจารณ์	23
บทที่ 5 สรุปผลการทดลอง และข้อเสนอแนะ	29
เอกสารอ้างอิง	30
ภาคผนวก ก สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ	32
ภาคผนวก ข สารเคมี และวิธีการเตรียม	33
ภาคผนวก ค กราฟมาตรฐานแสดงปริมาณโครเมียม (+6) กับค่าการดูดกลืนแสง	34
ภาคผนวก ง ตารางแสดงข้อมูลผลการทดลอง	35
ภาคผนวก จ การวิเคราะห์ทางสถิติ	40

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

ปัจจุบันประเทศไทยได้มีการพัฒนาด้านอุตสาหกรรมอย่างมาก ซึ่งจากการพัฒนาและความเจริญทางด้านอุตสาหกรรมนี้เองก่อให้เกิดผลกระทบทางด้านสิ่งแวดล้อมตามมาอย่างมากมาย ทั้งมลพิษทางน้ำรวมถึงมลพิษทางอากาศด้วย ทำให้ระบบนิเวศน์ตามธรรมชาติสูญเสียไป

โลหะหนักเป็นสารมลพิษที่ตกค้างอยู่ในสิ่งแวดล้อม โดยอาจจะอยู่ในรูปของอนุภาคในอากาศ ละลายอยู่ในแหล่งน้ำหรือสะสมอยู่ในตะกอนดิน โลหะหนัก หมายถึง โลหะที่มีความถ่วงจำเพาะมากกว่าน้ำ 5 เท่าตัวขึ้นไป มีอัตราการละลายตัวค่อนข้างช้า ทำให้สะสมอยู่ในสิ่งแวดล้อมได้นาน เป็นโลหะที่มีเลขอะตอม 23-92 อยู่ในคาบที่ 4-7 ในตารางธาตุ โลหะหนักที่รู้จักกันดีและเป็นพิษ ได้แก่ ปรอท ตะกั่ว แคดเมียม โครเมียม สารหนู สังกะสี เป็นต้น (อู่แก้ว,2531)

โลหะหนักสามารถสะสมอยู่ในเนื้อเยื่อของสิ่งมีชีวิตที่อาศัยอยู่ในน้ำบริเวณนั้นได้ โดยจะสะสมเพิ่มขึ้นตามลำดับขั้นอาหารของห่วงโซ่อาหาร Wong และ Cheung (1984) ได้ศึกษาว่าโลหะหนักที่มีอยู่ในมูลสัตว์และตะกอนจุลินทรีย์ในน้ำทิ้ง (sewage sludges) จะถูกส่งผ่านห่วงโซ่อาหารไปยังสาหร่ายเซลล์เดียว *Chlorella pyrennoidosa* และจะถูกส่งผ่านไปยังกุ้งน้ำจืด *Macrobrachium hainanense* นอกจากนี้ยังพบว่าปลาสามารถสะสมปรอทไว้ในตัวได้ โดยความเข้มข้นของปรอทภายในตัวจะมากกว่าความเข้มข้นของปรอทในแหล่งน้ำถึง 3,000-5,000 เท่า ดังนั้น การปนเปื้อนของโลหะหนักในน้ำจึงไม่เพียงแต่มีผลกระทบต่อคุณภาพน้ำและมีอันตรายต่อสิ่งมีชีวิตในน้ำเท่านั้น แต่ยังเป็นอันตรายต่อคนและสัตว์ที่บริโภคพืชและสัตว์ที่มีโลหะหนักสะสมอยู่ด้วย ดังเช่น การเกิดโรคมินามาตะ ในคนญี่ปุ่นที่บริโภคปลาที่มีเมทิลเมอร์คิวรีอยู่ในระดับสูง และการเกิดโรคอิไตอิไตเนื่องจากการบริโภคปลาที่มีแคดเมียมสูง

โครเมียมก็เป็นโลหะหนักอีกตัวหนึ่งที่มีความเป็นพิษโดยมีการยืนยันจากคณะกรรมการวิจัยโรคมะเร็งระหว่างชาติ (International Agency for Research on Cancer ,IARC) แล้วว่าสารประกอบโครเมียมเป็นสารก่อมะเร็ง โดยทำให้เกิดมะเร็งที่ปอดและโพรงจมูก ซึ่งตามมาตรฐานน้ำทิ้งของกระทรวงอุตสาหกรรมไทยได้กำหนดให้มีโครเมียมในน้ำทิ้งได้ไม่เกิน 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อุตสาหกรรมที่มีการปล่อยโครเมียมลงสู่แหล่งน้ำ ได้แก่ โรงงานอุตสาหกรรมฟอกหนัง โรงงานอุตสาหกรรมชุบโลหะ โรงงานอุตสาหกรรมผลิตเหล็กกล้า เหมืองแร่ต่าง ๆ เป็นต้น ซึ่งการแยกโครเมียมออกจากน้ำทิ้งของโรงงานอุตสาหกรรมดังกล่าวก่อนปล่อยลงสู่แหล่งน้ำธรรมชาติสามารถทำได้หลายวิธี เช่น การแลกเปลี่ยนไอออน (Ion Exchange) ออกซิเดชันหรือรีดักชันทางเคมี (Chemical oxidation or reduction) การตกตะกอน(Precipitation) เป็นต้น โดยทั่ว ๆ ไปที่ใช้กันส่วนใหญ่ คือ เติมสารเคมีลงไปเพื่อรีดิวซ์โครเมียม(+6) ให้เป็น โครเมียม (+3) ซึ่งเป็นพิษน้อยกว่า แล้วตกตะกอนลงมาในรูปโครเมียมไฮดรอกไซด์ ($Cr(OH)_3$) โดยการปรับพีเอชให้เป็นด่าง วิธีนี้จะมีปัญหาตามมาก็คือ ต้องมีการปรับพีเอชหลายครั้ง เนื่องจากปฏิกิริยาการรีดิวซ์โครเมียมเกิดในสภาวะที่เป็นกรด (พีเอช 2-2.5) และการตกตะกอนโครเมียมเกิดในสภาวะที่เป็นด่าง (พีเอช 10) จากนั้นต้องปรับพีเอชให้เป็นกลางเพื่อปล่อยลงสู่แหล่งน้ำธรรมชาติ ซึ่งวิธีการเหล่านี้ยุ่งยากและเสียค่าใช้จ่ายสูง อีกทั้งหากสารเคมีตกค้างอยู่ในน้ำเสียมาก ๆ อาจส่งผลกระทบถึงสิ่งมีชีวิตในแหล่งน้ำธรรมชาติได้ ดังนั้นจึงมีการวิจัยเพื่อที่จะนำเอาจุลินทรีย์มาใช้เป็นตัวดูดซับโครเมียมจากน้ำทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรม

จากรายงานการวิจัยการนำยีสต์มาดูดซับโครเมียม (+6) ในน้ำ พบว่ายีสต์มีความสามารถในการลดโครเมียม (+6) ในน้ำ (Rapaport และ Muter,1995) ดังนั้นโครงงานพิเศษนี้จึงมีวัตถุประสงค์ในการเปรียบเทียบสายพันธุ์ของยีสต์จำนวน 4 สายพันธุ์ ว่าสายพันธุ์ใดจะมีความสามารถลดโครเมียม (+6) ในน้ำได้ดีที่สุด และศึกษาถึงสภาวะที่เหมาะสมต่อการดูดซับโครเมียม (+6) ซึ่งคาดว่าผลจากการศึกษานี้จะเป็นประโยชน์ต่อการกำจัดโครเมียม (+6) ในน้ำเสีย แทนการใช้สารเคมี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วัตถุประสงค์ของโครงการ

1. ศึกษาและคัดเลือกสายพันธุ์ของยีสต์ที่มีความสามารถในการดูดซับโครเมียม (+6) ได้ดี โดยเปรียบเทียบจาก *Candida utilis*, *C. tropicalis*, *C. guilliermondii* และ *Saccharomyces cerevisiae*
2. ศึกษาปัจจัยและสภาวะต่าง ๆ ที่เหมาะสมในการนำเอาเชื้อยีสต์มาดูดซับโครเมียม (+6) โดยปัจจัยที่นำมาศึกษา คือ อัตราการให้อากาศและความเข้มข้นเริ่มต้นของโครเมียม

ขอบเขตของโครงการ

1. เปรียบเทียบความสามารถของเชื้อยีสต์สายพันธุ์ต่าง ๆ ในการดูดซับโครเมียม (+6)
2. ศึกษาผลของความเข้มข้นเริ่มต้นของโครเมียมต่อการดูดซับโครเมียม (+6) โดยเชื้อยีสต์
3. ทดลองเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการดูดซับโครเมียม (+6) ในน้ำของยีสต์ที่ระดับอัตราการให้อากาศต่าง ๆ

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. แนวทางและความเป็นไปได้ในการนำยีสต์มาใช้กำจัดโครเมียม (+6) ในน้ำ แทนการใช้สารเคมี
2. ทราบถึงสภาวะที่เหมาะสมกับเชื้อยีสต์เมื่อนำมาใช้กำจัดโครเมียม (+6) ในน้ำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
การตรวจเอกสาร

2.1 สัณฐานวิทยาของเชื้อยีสต์ที่ใช้ในโครงงานพิเศษฉบับนี้ (Kreger-van ,1984)

2.2.1 ลักษณะทั่วไปของ *Saccharomyces cerevisiae*

การเจริญในอาหาร malt extract : เซลล์อายุ 3 วัน ที่ 25 °ซ เซลล์จะมีลักษณะกลม (globose) หรือค่อนข้างกลม (subglobose) ขนาด (5.0-10.0)* (5.0-12.0) ไมครอน, รีจนเกือบเป็นทรงกระบอก (ellipsoidal to cylindrical) ขนาด (3.0-9.5)*(4.5-21.0) ไมครอน บางครั้งจะพบว่าเป็นท่อนยาวมากกว่า 30 ไมครอน จะพบเป็นเซลล์เดี่ยว ๆ , เป็นคู่, สายสั้น ๆ หรือเป็นกลุ่ม (ดังรูปที่ 2.1) อายุ 1 เดือน ที่ 20 °ซ พบว่าเซลล์จะตกตะกอน บางครั้งจะจับตัวกันเป็นวง (ring) และเป็นฝ้าอยู่ที่ผิวหน้า (film)

รูปที่2.1 แสดงลักษณะของ *S. cerevisiae* ที่มีอายุ 3 วันในอาหาร malt extract

(ที่มา : Kreger-Van,,1984)

การเจริญในอาหาร malt agar : อายุ 1 เดือน ที่ 20°ซ รอยที่ลาก (streak) จะมีลักษณะเป็นครีมสีน้ำตาลอ่อน , นูนเล็กน้อยและผิวเรียบ

โครงสร้างของ ascospore :

1 ascus มีอยู่ 1-4 ascospore มีรูปร่างกลมถึงรี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การหมัก (Fermentation) :

Glucose	+	Maltose	V
Galactose	V	Lactose	-
Sucrose	V		

การใช้สารประกอบคาร์บอน (assimilation of carbon compounds)

Galactose	V	Raffinose	V
Erythritol	-	Sucrose	V
Soluble Starch	V	Ribitol	-
Maltose	V	D-Xylose	-
D-Mannitol	V	Cellobose	-
L-Arabinose	-	Succinic acid	- or +3
Thehalose	V	D-Ribose	-
Citric acid	-	Lactose	-
L-Rhamnose	-	Inositol	-

2.1.2 ลักษณะทั่วไปของ *Candida guilliermondii*

การเจริญในอาหาร glucose-yeast extract-peptone water:

อายุ 3 วัน ที่ 25 °ซ เซลล์จะมีลักษณะเป็นรูปไข่สั้น ๆ (short-ovoid) ขนาด (2-4.5)*(2.5-7) ไมครอน อาจพบเป็นทรงกระบอกเล็ก ๆ ได้ (ดังรูปที่ 2.2)

รูปที่2.2 แสดงลักษณะของ *C. guilliermondii* **ที่เจริญในอาหาร** glucose - yeast extract - peptone water (ที่มา : Kreger-Van,1984)

การเจริญในอาหาร glucose-yeast extract-peptone agar:

อายุ 1 เดือน ที่ 25 °ซ ลักษณะรอยที่ลาก (streak) จะเป็นครีมสีเหลือง,นิ่ม,เป็นมันและเรียบหรือด้านและย่น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การหมัก (fermentation):

Glucose	+	Maltose	-
Galactose	V	Lactose	-
Sucrose	+	Raffinose	+ or W

การใช้สารประกอบคาร์บอน

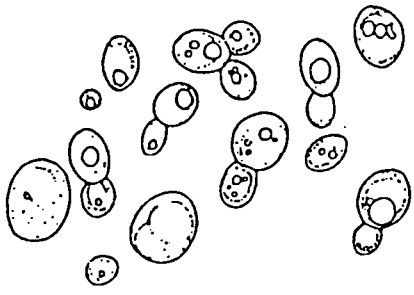
Galactose	+	Melezitose	+
Ribitol	+	L-Sorbose	+S
Soluble Starch	-	Galactitol	+ or S
Sucrose	+	D-Xylose	+
D-Mannitol	-	Maltose	+
L-Arabinose	+	D-Glucitol	+
Cellobiose	+	D-Ribose	V
DL-Lactic acid	V	Lactose	-
L-Rhamnose	V	Succinic acid	+
Melibiose	+	Glyceral	+
Citric acid	+	Raffinose	+
Erythritol	-	Inositol	-

2.1.3 ลักษณะทั่วไปของ *Candida tropicalis*

การเจริญในอาหาร glucose-yeast extract-peptone water:

หลังจาก 3 วัน ที่ 25°ซ เซลล์มีลักษณะกลม,รูปไข่ ขนาด (4.3-7.2)*(5.8-10.8) ไมครอน (ดังรูปที่ 2.3)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่2.3 แสดงลักษณะของ *C. tropicalis* ที่เจริญในอาหาร glucose - yeast extract - peptone water (ที่มา Kreger-Van,1984)

การเจริญในอาหาร glucose-yeast extract-peptone agar:

อายุ 1 เดือน ที่ 25 °ซ รอยที่ลาก (streak) มีลักษณะครีม สีทึม ๆ ถึงเทา,ด้าน, นิ่ม,เรียบและเยิ้มหรือย่น

การหมัก (fermentation):

Glucose	+	Maltose	+
Galactose	+	Lactose	-
Sucrose	V	Trehalose	+ or S

การใช้สารประกอบคาร์บอน

Galactose	+	Melezitose	V
L-Sucrose	V	Soluble Strach	+
Sucrose	V	D-Xylose	+
Maltose	+	L-Arabinose	+ or W or -
Cellobiose	V	D-Arabinose	-
Trehalose	+	D-Ribose	V
Lactose	-	D-Ribose	V
Lactose	-	L-Rhamnose	-
Raffinose	-	Glyceral	V
Melibiose	-	Erythritol	-
Ribitol	V	Galactitol	-
D-Mannitol	+	D-Glucitol	+

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Salicin	V	DL-Lactic acid	V
Succinic acid	+	Citric acid	V
Inositol	-		

2.1.4 ลักษณะทั่วไปของ *C. utilis*

การเจริญในอาหาร glucose-yeast extract-peptone water:

อายุ 3 วัน ที่ 25 °ซ เซลล์เป็นรูปไข่จนถึงทรงกระบอก ขนาด (3.5-4.5)*(7-13) ไมครอน (ดังรูปที่ 2.4)

รูปที่2.4 แสดงลักษณะของ *C. utilis* ที่มีอายุ 3 วัน ในอาหาร glucose - yeast extract - peptone water (ที่มา : Kreger-Van,1984)

การเจริญในอาหาร glucose-yeast extract-peptone agar:

อายุ 1 เดือน ที่ 25 °ซ รอยลาก (streak) มีสีอมเทา (greyish) ผิวมัน,นิ่ม,เรียบ

การหมัก (fermentation):

Glucose	+	Maltose	-
Galactose	-	Lactose	-
Sucrose	+	Raffinose	+

การใช้สารประกอบคาร์บอน :

Galactose	-	Melezitose	+
L-Sorbose	-	Soluble Strarch	-
Sucrose	+	D-Xylose	+ or W
Maltose	+	L-Arabinose	-
Cellobiose	+	D-Arabinose	-
Trehalose	- or W	D-Ribose	-

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Lactose	-	L-Rhamnose	-
Melibose	-	Glyceral	+
Raffinose	+	Erythritol	-
Ribitol	-	Galactitol	-
D-Mannitol	V	D-Glucitol	-
Salicin	+	DL-Lactic acid	+
Succinic acid	+ or W	Citric acid	+
Inositol	-		

หมายเหตุ + เกิดปฏิกิริยา

+W เกิดปฏิกิริยาเล็กน้อย

- ไม่เกิดปฏิกิริยา

V บางสายพันธุ์ก็เกิดปฏิกิริยา

2.2 คุณลักษณะทั่วไปของโครเมียม

โครเมียม (Cr) เป็นธาตุที่มีเลขอะตอมเท่ากับ 24 เกิดตามธรรมชาติในรูปของโครไมต์หรือสินแร่ Chrome iron ($FeOCr_2O_3$) มีอยู่ประมาณ 0.037% ของเปลือกโลก ทั่วทั้งโลกจะมีความเข้มข้นของโครเมียมในดินอยู่ในช่วงตั้งแต่ปริมาณน้อยมาก ๆ จนถึง 2.4% ขณะที่ความเข้มข้นในบรรยากาศจะมีอยู่ในช่วง 0.001-0.007 ไมโครกรัม/ลบ.ม. (Sittig , 1976)

เลขออกซิเดชันของโครเมียมมีตั้งแต่ -2 ถึง +6 (Hamilton และ Wetterhahn , 1988)

- โครเมียม (-2 ถึง 0) พบมากในคาร์บอนิล และสารประกอบโลหะอินทรีย์

- Hexacarbonylchromium (0) ($Cr(CO)_6$) มีลักษณะเป็นของแข็งสีขาว คงตัวในอากาศและไม่ละลายน้ำ

- โครเมียม (+2) เป็นตัวรีดิวซ์ที่แรง และถูกออกซิไดส์เป็นโครเมียม (+3) โดยอากาศ

- โครเมียม (+3) เป็นเวเลนซีที่เสถียร เป็นรูปที่พบมากในธรรมชาติ เมื่อละลายน้ำจะเกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนโดยมีโมเลกุลของน้ำเป็นลิแกนด์ ในสภาวะกรด $[Cr(H_2O)_6]^{3+}$ และในสภาวะด่าง $[Cr(OH)(H_2O)_5]^{2+}$

- โครเมียม (+6) พบมากในธรรมชาติพอ ๆ กับ (+3) แต่พบในรูปของสารประกอบที่มีออกซิเจน (oxo species) ตัวอย่างเช่น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- โครเมียม (+6) ออกไซด์ (กรดโครมิก : CrO_3)
- โครมิลคลอไรด์ (CrO_2Cl_2)
- คลอโรโครเมต (CrO_3Cl^-)
- โครเมต (CrO_4^{2-})
- ไดโครเมต ($Cr_2O_7^{2-}$)

เมื่อ ไดโครเมตละลายน้ำ จะได้โครเมต ดังสมการ

$$Cr_2O_7^{2-} + H_2O \rightleftharpoons 2CrO_4^{2-} + 2H^+$$

โครเมียม (+6) เป็นตัวออกซิไดส์ที่แรงมาก ภายใต้สภาวะกรด (พีเอช 0)

$$Cr_2O_7^{2-} + 14H^+ + 6e^- \rightleftharpoons 2Cr^{3+} + 7H_2O$$

ในอุตสาหกรรมหลายประเภท ได้มีการนำโครเมียมมาใช้อย่างกว้างขวาง เช่น ในอุตสาหกรรมการผลิตเหล็ก , รงควัตถุ , สีทา , สีย้อม , สารยืดอายุไม้ , สารป้องกันการกัดกร่อนของโลหะ, การชุบโครเมียม และ การฟอกหนัง เป็นต้น (Papp , 1985) นอกจากนี้ ยังมีการเติมสารประกอบโครเมียมลงในน้ำหล่อเย็นเพื่อป้องกันการกัดกร่อน อุตสาหกรรมการชุบเพลทโลหะและการประดิษฐ์ส่วนประกอบรถยนต์ เป็นอุตสาหกรรมที่มีการนำโลหะมาชุบโครเมียมมากที่สุด

2.3 <u>ความเป็นพิษ ของโครเมียม</u> (วรรณะ,2531)

โครเมียมหรือสารประกอบของโครเมียม ส่วนใหญ่จะอยู่ในรูปของฝุ่นและควัน ซึ่งจะเข้าสู่ร่างกายได้โดย

(1) ทางจมูก โดยการสูดหายใจเอาผงและควันของกรดโครมิค ซึ่งส่วนใหญ่จะตกค้างบริเวณจมูกและทำอันตรายแก่กระดูกอ่อนที่กั้นระหว่างจมูกและอาจเข้าไปถึงปอด ซึ่งทำให้เกิดมะเร็งขึ้นได้

(2) ทางผิวหนัง คนงานที่ปฏิบัติงานเกี่ยวข้องกับโครเมียมจะได้รับฝุ่นละอองหรือควันของโครเมียม จะเกิดปฏิกิริยาต่อผิวหนังได้

บุคคลที่ทำงานเกี่ยวข้องกับโครเมียมอาจเกิดอันตรายได้ดังนี้

(1) แผลจากโครเมียม เกิดจากการสะสมของฝุ่นละอองของโครเมียม ซึ่งโดยมากจะเริ่มที่รอยถลอกของผิวหนัง และจะพบมากที่สุดที่โคนเล็บมือ ตามข้อที่นิ้วมือหรือหลังเท้า มีลักษณะเป็นแผลวงกลม ขอบค่อนข้างเรียบ บุ๋มลึกลงไป ปกติมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 1 เซนติเมตร หรือเล็กกว่า ซึ่งจะมองคล้ายถูกเจาะด้วยตะปู ถึงแม้ว่าแผลนี้จะไม่เจ็บปวด แต่จะคันมาในเวลากลางคืน ต่อไปแผลนี้อาจเกิดการติดเชื้อขึ้น และอาจทำให้ลุกลามไปถึงข้อต่อใกล้เคียง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ซึ่งอาจทำให้ต้องตัดนิ้วทิ้ง ฝุ่นของเกลือโครเมียมหรือควันของกรดโครมิคอาจตกลงบนหนังตาหรือที่ปลายจมูก ซึ่งอาจจะเกิดแผลขึ้นได้เช่นเดียวกัน

(2) ผิวหนังอักเสบ บริเวณที่อาจเกิดการอักเสบ ได้แก่ มือ แขน ใบหน้า และหน้าอก อาจเกิดขึ้นเมื่อคนงานทำงานมาแล้วประมาณ 6 เดือน ในรายที่รุนแรง ใบหน้าจะมีสีแดงเข้มและบวม ส่วนที่อักเสบจะคันมากและอาจเจ็บแสบด้วย

(3) ผนังกั้นในจมูกถูกเจาะทะลุ คนที่ทำงานเกี่ยวข้องกับโครเมียมจะได้รับควันของกรดโครมิค หรือฝุ่นของโครเมียมเป็นประจำ จะทำให้ผนังกั้นในจมูกถูกทำลายจนเป็นรูทะลุ ซึ่งการทะลุนี้คนงานจะไม่รู้สึกเจ็บปวดแต่อย่างใด จะรู้สึกตัวก็ต่อเมื่อมีเสียงผู้อื้หรือดั้งจมูกแบนลง

(4) มะเร็งของปอด อาจเกิดขึ้นกับคนงานที่สูดเอาโครเมียมเข้าสู่ร่างกายอยู่เป็นประจำและเป็นเวลานาน ซึ่งจะเป็นอันตรายอย่างมากแก่ชีวิต

โครเมียมหรือสารประกอบของโครเมียมที่มีอยู่ในบรรยากาศการทำงานจะต้องไม่เกินมาตรฐานที่กำหนดให้ดังต่อไปนี้ จึงจะเป็นที่ปลอดภัยต่อคนงานที่ทำงานวันละ 7-8 ชม. หรือสัปดาห์ละ 40-42 ชม.

(1) งานที่ต้องทำเกี่ยวข้องกับควันของกรดโครมิค จะต้องมีได้ไม่เกิน 0.1 มิลลิกรัมต่ออากาศ 1 ลูกบาศก์เมตร

(2) งานที่ต้องทำเกี่ยวข้องกับฝุ่นละอองของโครเมียมจะต้องมีได้ไม่เกิน 0.5 มิลลิกรัมต่ออากาศ 1 ลูกบาศก์เมตร

ได้มีการสังเกตพบว่า พนักงานในโรงงานอุตสาหกรรมที่ได้รับสารประกอบโครเมียมจากทางอากาศ และละอองของกรดโครมิกจะเกิดอาการระคายเคืองผิวหนัง และระบบทางเดินหายใจ ซึ่งสารประกอบโครเมียมพวกนี้จะกัดเยื่อโพรงจมูก ทำให้ระบบทางเดินหายใจเกิดเป็นแผลพุพองและนำไปสู่การเป็นมะเร็งในที่สุด (Sittig , 1976)

สารประกอบโครเมียม (+6) มีความเป็นพิษต่อเชื้อราและแบคทีเรียมากกว่าสารประกอบโครเมียม (+3) ซึ่งมีความสามารถในการละลายต่ำกว่า และจากคุณสมบัติของโครเมียม (+6) ซึ่งเป็นสารออกซิไดส์ที่แรง จึงทำให้เกิดความเป็นพิษต่อสิ่งมีชีวิตส่วนใหญ่ จากการศึกษาทางด้านการแพทย์ โครเมียม (+6) หรือ โครเมต สามารถทำให้เกิดการตายของเนื้อเยื่อ (Tissue necrosis) ได้ หากได้รับสารดังกล่าวเป็นเวลานาน (Brinton และคณะ, 1952 และ Royle , 1975) นอกจากนี้ยังสามารถทำให้เกิดมะเร็งในปอดด้วย (Bidstrup และ Case , 1956)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จะเห็นได้ว่าโครเมียม (+6) เป็นอันตรายต่อสิ่งมีชีวิตต่าง ๆ ในระบบนิเวศ ดังนั้นน้ำทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรมที่มีโครเมียม (+6) ปะปนมา ควรจะได้รับการบำบัดก่อนระบายลงสู่แหล่งน้ำต่าง ๆ เพื่อลดผลกระทบที่จะมีต่อระบบนิเวศตามธรรมชาติ

2.4 การกำจัดโครเมียมจากน้ำเสียก่อนจะนำปล่อยลงแหล่งน้ำธรรมชาติ

2.4.1 <u>การกำจัดโครเมียมออกจากน้ำโดยวิธีทางเคมี และ ทางฟิสิกส์</u>

มีหลายเทคนิคที่นำมาประยุกต์เพื่อใช้กำจัดโครเมียมออกจากน้ำ ดังนี้

(1) การรีดักชัน

วิธีนี้เป็นวิธีที่นิยมใช้มากที่สุด ซึ่งเทคนิคการบำบัดโดยวิธีนี้ คือ จะต้องลดพีเอชของน้ำเสียให้เป็น 3.0 หรือต่ำกว่า ด้วยกรดซัลฟิวริก แล้วเปลี่ยนโครเมียม (+6) ไปเป็น โครเมียม (+3) โดยใช้สารเคมี (reducing agent) ยกตัวอย่างเช่น ซัลเฟอร์ไดออกไซด์ , โซเดียมไบซัลไฟต์ หรือเฟอร์รัสซัลเฟต แล้วกำจัดโครเมียม (+3) ออกไปโดยทำให้ตกตะกอนด้วยปูนขาว

การรีดิวซ์โครเมียม (+6) นี้จะไม่ได้ผล 100% โดยจำนวนของโครเมียม (+6) ที่ไม่ถูกรีดิวซ์จะขึ้นกับเวลาที่ทำปฏิกิริยา , พีเอชของของผสม , ความเข้มข้น และชนิดของสารเคมีที่ใช้ ปรกติที่นิยมใช้มากที่สุด คือ ซัลเฟอร์ไดออกไซด์

(2) การแลกเปลี่ยนประจุ

จะใช้การแลกเปลี่ยนประจุบวก (cation exchange) ในการกำจัดโครเมียม (+3) และจะใช้การแลกเปลี่ยนประจุลบ (anion exchange) ในการกำจัดโครเมียม (+6) เพราะน้ำเสียในอุตสาหกรรมมักจะพบโครเมียม (+6) ในรูปของโครเมต เมื่อเรซินที่แลกเปลี่ยนประจุลบอิ่มตัวแล้วก็จะทำการรีเจเนเรท (ปกติใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์) เพื่อชะเอาโครเมตออกมา โซเดียมโครเมตอาจนำไปผ่านกระบวนการทำให้บริสุทธิ์เพื่อนำกรดโครมิกกลับมาใช้ใหม่ หรือไม่ก็นำไปกำจัดโดยรีดิวซ์ให้เป็นโครเมียม (+3) แล้วตกตะกอนด้วยปูนขาว วิธีบำบัดวิธีนี้ทำให้สามารถนำน้ำกลับมาใช้ใหม่ได้ ซึ่งเป็นการลดต้นทุนทางเศรษฐกิจ

(3) การระเหย

นำน้ำที่มีโครเมียมปนเปื้อนมาผ่านกระบวนการระเหยเอาน้ำออก จากนั้นก็นำไอน้ำไปผ่านการหล่อเย็นเพื่อนำไปใช้ได้อีก วิธีนี้นิยมใช้กับการบำบัดน้ำหล่อเย็น

(4) การตกตะกอนด้วยสารเคมี

ตกตะกอนโครเมียม (+3) โดยใช้สารเคมี เช่น แบเรียมคาร์บอเนต , ปูนขาว และโซดาไฟ ตะกอนที่ได้จะถูกนำไปกำจัดโดยวิธีฝังกลบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(5) การสกัดด้วยตัวทำละลาย

นำสารกัดแม่พิมพ์ที่ใช้แล้ว (มีกรดโครมิกเป็นองค์ประกอบ) มาทำการสกัดด้วยตัวทำละลายเพื่อแยกเอากรดโครมิกออกจากสารอื่น และนำกลับไปใช้ได้อีก ตัวทำละลายที่ใช้ ได้แก่ อะซีโตน

(6) รีเวิร์สออสโมซิส

นำน้ำเสียที่มีโครเมียม (+6) มาผ่านกระบวนการทำให้เข้มข้นขึ้นก่อน แล้วไปผ่านกระบวนการรีเวิร์สออสโมซิส ทำให้ได้น้ำอ่อนที่มีอิออนของไดโครเมต ซึ่งสามารถนำไปหมุนเวียนใช้ใหม่ได้

2.4.2 <u>การกำจัดโครเมียมด้วยวิธีทางชีววิทยา</u>

จุลินทรีย์ที่ใช้ในการดูดซับโลหะหนักในน้ำเสียมีหลายประเภท ทั้งแบคทีเรีย , ยีสต์ , รา และ สาหร่าย ซึ่งมีลักษณะการใช้อยู่ 2 แบบ คือ ใช้ในรูป active cell และ inactive cell การใช้ในรูป active cell มักมีปัญหาเรื่องปัจจัยที่ต้องควบคุมตามมาอีก เช่น แหล่งอาหารสำหรับจุลินทรีย์ , การปนเปื้อนโดยจุลินทรีย์อื่น ๆ , ปริมาณของสารพิษที่มีในน้ำเสีย และ ในบางกรณีก็พบว่า inactive cell สามารถดูดซับโลหะหนักในน้ำเสียได้มากกว่า active cell (Volesky , 1990)

ลักษณะการดูดซับโลหะหนักของจุลินทรีย์ จะแบ่งออกเป็น 2 ช่วง โดยช่วงแรกโลหะหนักจะถูกจับไว้ที่ผิวเซลล์ และช่วงที่สองจะเป็นการนำโลหะหนักเข้าสู่เซลล์ เพื่อกำจัด หรือลดความเป็นพิษต่อไป (Rapoport และ Muter , 1995) โดยกลไกในการดูดซับใน active cell และ inactive cell มีความแตกต่างกัน คือ ใน active cell จะดูดซับโลหะหนักโดยอาศัยกลไกการนำสารเข้าสู่เซลล์ และกระบวนการเมตาบอลิซึมภายในเซลล์ ส่วนใน inactive cell จะดูดซับโดยอาศัยปฏิกิริยาเคมีที่เกิดกับหมู่ functional ขององค์ประกอบของผนังเซลล์ (Volesky , 1990)

โดยปรกติแล้วโครเมียม (+3) จะไม่สามารถแพร่ผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ของสิ่งมีชีวิตได้ แต่โครเมียม (+6) สามารถแพร่ผ่านได้ และอาจถูกรีดิวซ์เป็นโครเมียม (+3) ได้ในไมโตคอนเดรีย , นิวเคลียส และ ไซโทพลาส์ซึม โดยทำให้เกิดโครเมียมไฮดรอกไซด์ที่พีเอช 7.5 โครเมียม (+3) ที่เกิดภายในเซลล์สามารถเกิดปฏิกิริยากับโปรตีน และกรดนิวคลีอิก ภายในเซลล์ได้ (Wang และคณะ , 1990 และ Arslan และคณะ , 1987) ดังนั้นปริมาณโครเมียม (+6) ที่แพร่ผ่านเข้ามาภายในเซลล์จะลดต่ำลง ทำให้เกิดการแพร่ของโครเมียม (+6) เข้ามาภายในเซลล์ได้อย่างต่อเนื่อง จากหลักการดังกล่าวนี้เอง จึงมีการวิจัยเพื่อนำจุลินทรีย์บางชนิดมาใช้ช่วยดูดซับโครเมียม (+6) ในน้ำทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรม

จากการวิจัยต่าง ๆ ที่ผ่านมาสนับสนุนว่าจุลินทรีย์ที่ทนต่อความเป็นพิษของโครเมียม (+6) ได้นั้น มีความสามารถในการรีดิวซ์โครเมียม (+6) เป็น โครเมียม (+3) ภายใต้สภาวะไร้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ออกซิเจน ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากการใช้โครเมตเป็นตัวรับอิเลคตรอน เช่น ในจุลินทรีย์พวก *Enterobacter sp.* และ *Pseudomonas sp.* เป็นต้น โดยเกิดกระบวนการรีดักชันที่ผิวเซลล์ทำให้เกิดโครเมียมไฮดรอกไซด์ ซึ่งไม่ละลายน้ำอยู่ในสารละลายภายนอกเซลล์ ทำให้สามารถป้องกันเซลล์จากความเป็นพิษของโครเมียม (+6) ได้ (Fujii และคณะ , 1990 ; Wang และคณะ , 1990 และ Ishibashi และคณะ , 1990) จุลินทรีย์พวกยูคาริโอตชั้นต่ำบางชนิดมีกลไกในการลดความเป็นพิษ และต้านทานความเป็นพิษของโครเมียมได้ โดย (1) เยื่อหุ้มเซลล์จะทำหน้าที่ขัดขวางการแพร่ผ่านของโครเมียม (+6) (2) เกิดกระบวนการรีดักชันเปลี่ยนโครเมียม (+6) เป็นโครเมียม (+3) (Horitsu และคณะ , 1987)

Enterobacter cloacae สายพันธุ์ HO 1 จะมีอัตราการรีดิวซ์ Cr (+6) ลดลงเมื่อมีปริมาณออกซิเจนเพิ่มขึ้น (Komori และคณะ,1989)

โครเมตจะเข้าไปในเซลล์แบคทีเรียโดยผ่านกระบวนการถ่ายทอดซัลเฟต (Ohtake และคณะ,1987) ซึ่งจะทำให้เซลล์ทนต่อความเป็นพิษของโครเมตได้

Arslan และคณะ (1987) ได้ทำการศึกษาเกี่ยวกับกระบวนการรีดักชันของโครเมียมภายในเซลล์ พบว่า ผลการทดลองสนับสนุนว่ามีกลไก 2 ขั้นตอนเกิดขึ้นในกระบวนการดังกล่าว คือ (1) เกิดการแพร่ของโครเมตเข้าสู่เซลล์ (2) เกิดการรีดักชันขึ้นภายในเซลล์เปลี่ยนโครเมียม (+6) เป็น โครเมียม (+3) ทำให้ปริมาณโครเมียม (+6) ลดลง

สำหรับกลไกในการดูดซับโลหะหนักในยีสต์และรา ยังไม่มีคำอธิบายได้ชัดเจน ทั้งนี้เป็นเพราะว่าองค์ประกอบของผนังเซลล์ของยีสต์และรา มีความซับซ้อน และยังมีความแตกต่างกันไปตามชนิดมากกว่าที่พบในแบคทีเรียอีกด้วย (Volesky , 1990)

โครงสร้างทั่วไปของผนังเซลล์ของยีสต์และรา เป็นแบบ multilaminated microfibrillar โครงสร้างหลักมากกว่า 90 % เป็นพอลิแซ็กคาไรด์ สำหรับ *Saccharomyces* spp. และ *Candida* spp. ซึ่งอยู่ในกลุ่ม Hemiascomycetes จะมีโครงสร้างหลักเป็น mannan-β-glucan องค์ประกอบอื่น ๆ นอกจากนี้ก็มี โปรตีน , ไขมัน และ รงควัตถุ การที่มี phosphodiester group และ carbonyl group ในโปรตีนและลิปิด ยังทำให้ผนังเซลล์มีความเป็นประจุ สามารถดึงดูดโมเลกุลที่มีประจุในน้ำได้ (Volesky , 1990)

Rapaport และ Muter (1995) ได้ศึกษาการใช้ยีสต์สายพันธุ์ต่าง ๆ มาใช้ในการดูดซับโครเมียม (+6) ในน้ำ พบว่า *Candida utilis* มีความสามารถในการดูดซับโครเมียม (+6) ได้สูงสุด และจากการเปรียบเทียบระหว่างการใช้ในรูปของเซลล์สด กับ เซลล์แห้ง (dehydrated cell)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

พบว่าเซลล์แห้ง สามารถดูดซับโครเมียม (+6) ได้มากกว่าเซลล์สด ทั้งนี้อาจเนื่องโครงสร้างของผนังเซลล์ที่เปลี่ยนแปลงไปเมื่อนำเซลล์ไปผ่านกระบวนการดึงน้ำออกจากเซลล์ (dehydration)

ได้มีการศึกษาผนังเซลล์ของยีสต์ *S. cerevisiae* ที่ผ่านการ dehydration-rehydration แล้ว พบว่าที่ผนังเซลล์จะมีแขนงของ mannan protein fibril (ซึ่งไม่พบในเซลล์ปรกติ) ทำให้ผนังเซลล์มี electronegativity เพิ่มขึ้น ซึ่งจะช่วยเพิ่มความสามารถในการดูดซับโลหะประจุบวก (Rapoport และ Muter , 1995)

Nakajama และ Sakaguchi (1992) ได้ศึกษาการใช้ยูเรเนียมใน basidiomycetes 46 ชนิด พบว่า *Favolus arcularis ,Inonotus mikadoi* และ *Tricholoma conglobatum* มีความสามารถในการใช้ยูเรเนียมได้ดี โดยสามารถดูดซับยูเรเนียมไว้ได้ 90.5%,91.5% และ 98.4% ตามลำดับ ต่อมาได้มีการศึกษาการดูดซับยูเรเนียมใน *Pseudomonas* สายพันธุ์ EPS 5028 พบว่า ถ้ามีจำนวนเซลล์ของ *Pseudomonas* มากจะทำให้อัตราการดูดซับยูเรเนียมจำเพาะ (specific uptake) ลดลง และถ้ามีความเข้มข้นของยูเรเนียมมากก็จะทำให้การดูดซับยูเรเนียมลดลงด้วย (Pons และ Fuste ,1993)

Anabaena torulosa สามารถใช้เป็นตัวบ่งชี้ (bioindicator) สำหรับโครเมียม(+6)ในน้ำได้ คือ ถ้าพบ *A. torulosa* มากแสดงว่าในน้ำมีโครเมียม(+6)น้อย ส่วน *A. variabilis* ใช้กำจัดโครเมียม(+6) ในน้ำทิ้งโรงงานอุตสาหกรรมได้ (Verra และคณะ, 1993) ได้มีการนำเอาแบคทีเรีย *Enterobacter cloacae* มากำจัดโครเมต (CrO_4^{2-}) โดยเลี้ยงเซลล์ไว้ในถุง dialysis แล้วนำไปไว้ในน้ำที่มี CrO_4^{2-} ซึ่ง CrO_4^{2-} จะแพร่เข้าไปในถุงแล้ว *E. cloacae* จะรีดิวซ์โครเมียม(+6) ในสภาวะที่ไม่มีอากาศได้เป็นโครเมียมไฮดรอกไซด์ซึ่งไม่ละลายน้ำทำให้ไม่สามารถแพร่ออกมานอกถุงได้ โดยถ้าในน้ำมี CrO_4^{2-} น้อยกว่า 4 มิลลิโมลาร์ หรือ 208 พีพีเอ็ม *E. cloacae* สามารถกำจัดโครเมียมได้ 90 เปอร์เซ็นต์ (Komori และคณะ,1989)

อย่างไรก็ดีที่กล่าวมาแล้วนั้นเป็นเพียงข้อสันนิษฐานซึ่งยังไม่มีหลักฐานยืนยันแน่ชัด ทำให้กลไกการดูดซับโลหะหนักในยีสต์ยังเป็นความลับต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3
อุปกรณ์ และ วิธีการทดลอง

3.1 เชื้อจุลินทรีย์

- เชื้อยีสต์ *Candida utilis* TISTR 5046
- เชื้อยีสต์ *C. tropicalis* ATCC 9968
- เชื้อยีสต์ *C. guilliermondii* TISTR 5026
- เชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5125

เชื้อยีสต์ทั้ง 4 สายพันธุ์ ได้มาจากสภาวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย

3.2 เครื่องมือ

- เครื่องแก้ว
- เครื่องเขย่า (shaker)
- เครื่องหมุนเหวี่ยง (centrifuge)
- เครื่องวัดพีเอช (pH meter)
- เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (spectrophotometer)

3.3 การเตรียมเชื้อยีสต์

3.3.1 ถ่ายเชื้อยีสต์จากหลอดอาหารเอียง (slant) ลงในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตรที่บรรจุอาหาร Yeast malt extract broth (ภาคผนวก ก.) จำนวน 100 มิลลิลิตร เลี้ยงที่อุณหภูมิห้องบนเครื่องเขย่า 200 รอบต่อนาที เป็นเวลา 2 วัน

3.3.2 ปิเปตต์เชื้อเริ่มต้นที่ได้จากข้อ 3.3.1 มา 10 มิลลิลิตร ใส่ลงในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตรที่มี อาหาร Yeast malt extract broth จำนวน 50 มิลลิลิตร เลี้ยงที่อุณหภูมิห้องบนเครื่องเขย่า 200 รอบต่อนาที เป็นเวลา 1 วัน

3.3.3 เก็บเกี่ยวเซลล์ยีสต์ที่ได้ โดยนำสารแขวนลอยของเซลล์จากข้อ 3.3.2 มาเหวี่ยงปั่นที่ 7,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นที่ฆ่าเชื้อแล้ว 2-3 ครั้ง เพื่อล้างอาหารออกจากเซลล์ให้หมด ตักเซลล์ส่วนที่ตกตะกอนรวบรวมใส่ไว้ในเพลทที่รองก้นด้านในด้วย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

กระดาษกรอง ตั้งทิ้งไว้ประมาณครึ่งชั่วโมง เพื่อกำจัดน้ำส่วนเกินออกก่อน จึงนำเซลล์ที่ได้ไปใช้ในการดูดซับโครเมียม (+6) ในน้ำ

3.4 การทดสอบการดูดซับโครเมียม

3.4.1 การทดสอบเปรียบเทียบความสามารถในการดูดซับโครเมียมของยีสต์ทั้ง 4 สายพันธุ์

(1) นำน้ำตัวอย่าง คือ สารละลายโครเมียม (+6) ในน้ำ deionized ที่มีความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร มาใส่ในฟลาสก์ ขนาด 250 มิลลิลิตร จำนวน 50 มิลลิลิตร

(2) นำเซลล์ยีสต์มาใส่ในน้ำตัวอย่างที่เตรียมไว้ฟลาสก์ละ 0.5 กรัมน้ำหนักแห้ง (เซลล์สด 4.5 กรัม = 1 กรัมน้ำหนักแห้ง) แล้วนำไปวางบนเครื่องเขย่า 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง ซึ่งจะได้ความเข้มข้นของเซลล์เท่ากับ 1 กรัมน้ำหนักแห้ง ต่อ 100 มิลลิลิตรของสารละลายโครเมียม

(3) ทำการเก็บตัวอย่างประมาณ 7 มิลลิลิตร ที่เวลาต่าง ๆ โดยที่เวลา 0 จะเก็บน้ำตัวอย่างที่ยังไม่ได้ใส่เซลล์ลงไป นำตัวอย่างไปเหวี่ยงปั่นที่ความเร็ว 7,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที แล้วนำส่วนใสไปทำการวิเคราะห์หาปริมาณโครเมียม (+6) ต่อไป

หมายเหตุ ส่วนใสที่ได้ควรทำการวิเคราะห์ทันที หรือเก็บไว้ในตู้เย็น

3.4.2 การทดสอบเปรียบเทียบความเข้มข้นเริ่มต้นของโครเมียม (+6)

(1) นำเชื้อยีสต์ที่ทดสอบตามข้อ 3.4.1 แล้วว่ามีประสิทธิภาพในการดูดซับโครเมียม (+6) ได้ดีที่สุด มา 0.5 กรัมน้ำหนักแห้ง ใส่ลงในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตรที่บรรจุสารละลายโครเมียม (+6) ที่มีความเข้มข้นเป็น 5,10 และ 20 มิลลิกรัมต่อลิตร จำนวน 50 มิลลิลิตร แล้วนำไปวางบนเครื่องเขย่า 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง

(2) ทำการเก็บตัวอย่างประมาณ 7 มิลลิลิตรที่เวลาต่าง ๆ กัน โดยที่เวลา 0 จะเก็บน้ำตัวอย่างที่ยังไม่ได้ใส่เซลล์ลงไป นำตัวอย่างไปเหวี่ยงปั่นที่ความเร็ว 7,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที แล้วนำส่วนใสไปทำการวิเคราะห์หาปริมาณโครเมียม (+6) ต่อไป

3.4.3 การทดสอบเปรียบเทียบอัตราการให้อากาศ

(1) นำเชื้อยีสต์ที่ทดสอบตามข้อ 3.4.1 แล้วว่ามีประสิทธิภาพในการดูดซับโครเมียม (+6) ได้ดีที่สุดมา 0.5 กรัมน้ำหนักแห้ง ในลงในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตรที่บรรจุสารละลายโครเมียม (+6) ที่มีความเข้มข้นตามผลการทดสอบที่ได้จากข้อ 3.4.2 จำนวน 50 มิลลิลิตร แล้วนำไปวางบนเครื่องเขย่า 100,200 และ 250 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

34413

(2) ทำการเก็บตัวอย่างประมาณ 7 มิลลิลิตร ที่เวลาต่าง ๆ กัน โดยที่เวลา 0 จะเก็บน้ำตัวอย่างที่ยังไม่ได้ใส่เซลล์ลงไป นำตัวอย่างไปเหวี่ยงปั่นที่ความเร็ว 7,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที แล้วนำส่วนใสไปทำการวิเคราะห์หาปริมาณโครเมียม (+6) ต่อไป

3.5 การวิเคราะห์หาปริมาณโครเมียม (+6)

- สารเคมีและวิธีการเตรียมแสดงดังภาคผนวก ข.

3.5.1 การทำกราฟมาตรฐานระหว่างปริมาณของโครเมียม (+6) กับค่าการดูดกลืนแสง

(1) ปิเปตต์สารละลายโครเมียมมาตรฐาน (ความเข้มข้นของโครเมียม (+6)=5 มิลลิกรัมต่อลิตร) ในปริมาตร 2,4,6,...,20 มิลลิลิตร ใส่ลงในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร

(2) ปรับพีเอชให้เป็น 1±0.3 ด้วยสารละลายกรดซัลฟิวริก 2.0 นอร์มอล แล้วปรับปริมาตรให้เป็น 100 มิลลิลิตร ด้วยน้ำ deionized ทำให้สารละลายมีความเข้มข้นของโครเมียม (+6) เป็น 0.1,0.2,0.3,...,1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ

(3) เติมสารละลาย Diphenylcarbarzide 2 มิลลิลิตร

(4) ตั้งทิ้งไว้ 5-10 นาที แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร

(5) นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้มาเขียนเป็นกราฟมาตรฐาน

หมายเหตุ ใช้น้ำกลั่นเป็นแบลงค์ แต่ถ้ากรณีที่สารละลายขุ่นหลังจากปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร ให้นำมาเป็นแบลงค์ก่อนจะเติมสารละลาย Diphenylcarbazide

3.5.2 การวิเคราะห์ปริมาณโครเมียม (+6)

(1) ปิเปตต์ตัวอย่างมาประมาณ 7 มิลลิลิตร นำไปเหวี่ยงปั่นที่ 7,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที

(2) ปิเปตต์ส่วนใสมา 5 มิลลิลิตรใส่ลงในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร แล้วปรับพีเอชเป็น 1±0.3 ด้วยกรดซัลฟูริก 2.0 นอร์มอล ก่อนจะปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร

(3) เติมสารละลาย Diphenylcarbazide 2 มิลลิลิตร

(4) ตั้งทิ้งไว้ 5-10 นาที แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร

(5) นำค่าที่ได้ไปเทียบหาปริมาณโครเมียม (+6) โดยใช้กราฟมาตรฐานแล้วนำค่าโครเมียมที่ได้ คูณด้วยค่าการเจือจาง (20 เท่า) ก็จะได้ปริมาณโครเมียมที่แท้จริง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

<u>หมายเหตุ</u> ใช้น้ำกลั่นเป็นแบลงค์ แต่ถ้ากรณีที่สารละลายขุ่น หลังจากปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร ให้นำมาเป็นแบลงค์ก่อนจะเติมสารละลาย Diphenylcarbazide

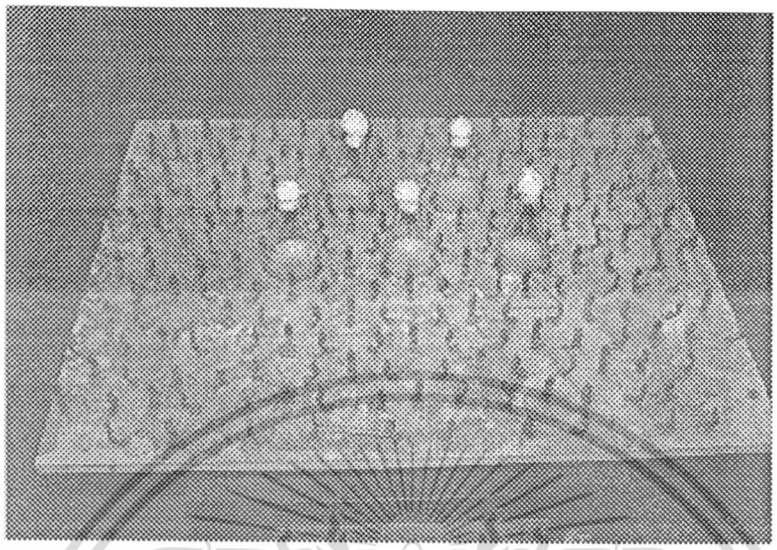
3.6 การวิเคราะห์ผลการทดลองทางสถิติ

โดยใช้แผนการทดลองแบบสุ่มในบล็อกสมบูรณ์ (Randomized Complete Block Design,RBD) โดยใช้สายพันธุ์ หรือ ความเข้มข้นเริ่มต้นของโครเมียม (+6) หรือ ความเร็วในการเขย่า เป็นทรีทเมนต์และให้เวลา (ชั่วโมง) เป็นบล็อก ที่ระดับความเชื่อมั่น 0.05

เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยทรีทเมนต์โดยวิธี Duncan ที่ระดับความเชื่อมั่น 0.05

รูปที่ 3.1 ยีสต์สายพันธุ์ต่าง ๆ ที่ใช้ในการทดลอง

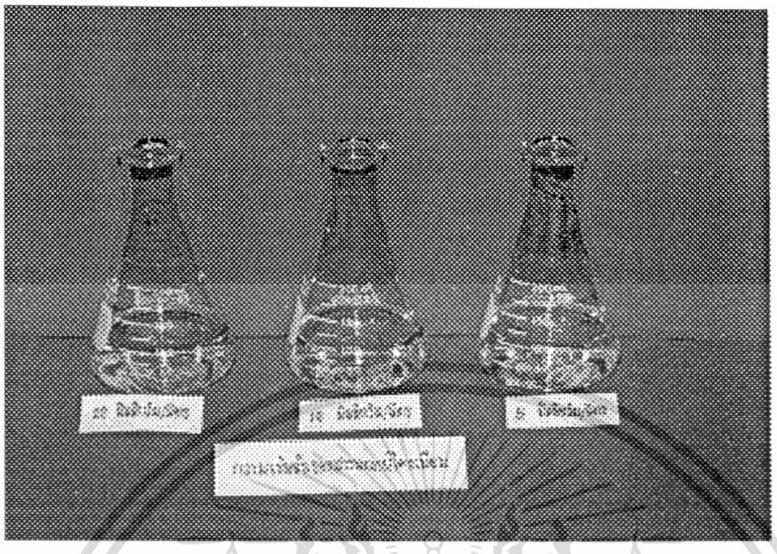
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



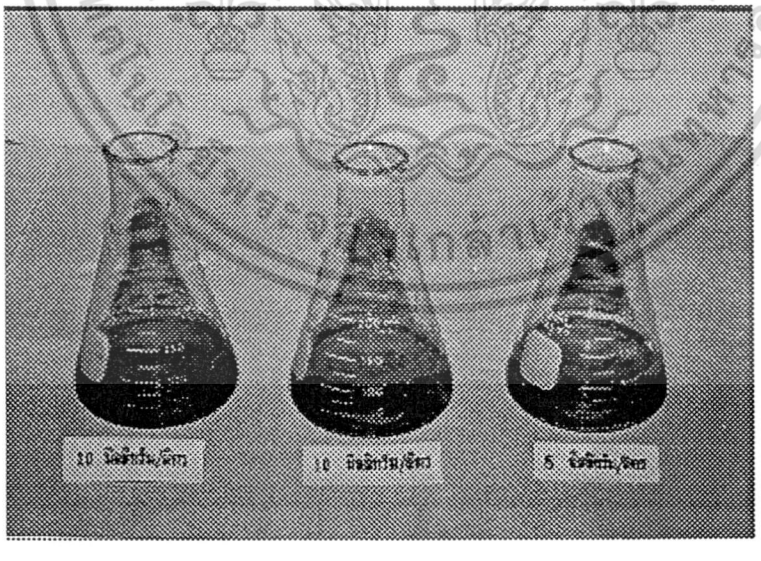
รูปที่ 3.2 การเลี้ยงเชื้อบนเครื่องเขย่า

รูปที่ 3.3 เครื่องหมุนเหวี่ยงที่ใช้ในการแยกส่วนใสที่ได้จากการเก็บตัวอย่าง ก่อนจะนำไปวิเคราะห์หาปริมาณโครเมียม (+6)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

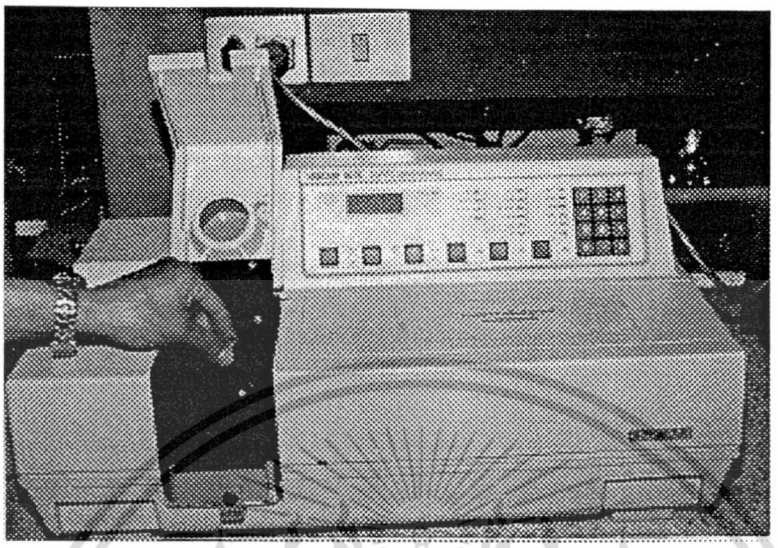


รูปที่ 3.4 ความเข้มข้นของสารละลายโครเมียม(+6) ที่ระดับต่าง ๆ ก่อนนำไปวิเคราะห์



รูปที่ 3.5 ผลการวิเคราะห์ปริมาณโครเมียม (+6) ในตัวอย่าง ที่ระดับความเข้มข้นของสารละลายโครเมียม (+6) ต่าง ๆ กัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 3.6 เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง ซึ่งใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณโครเมียม (+6)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4
ผลการทดลองและวิจารณ์

4.1 การทดสอบเปรียบเทียบประสิทธิภาพการดูดซับโครเมียม (+6) ของยีสต์สายพันธุ์ต่าง ๆ

ในการทดลองนี้ต้องการจะเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการดูดซับโครเมียม (+6) ของยีสต์ในน้ำตัวอย่าง โดยใช้ยีสต์สายพันธุ์ *Candida utilis,C.tropicalis, C.guilliermondii* และ *Saccharomyces cerevisiae*

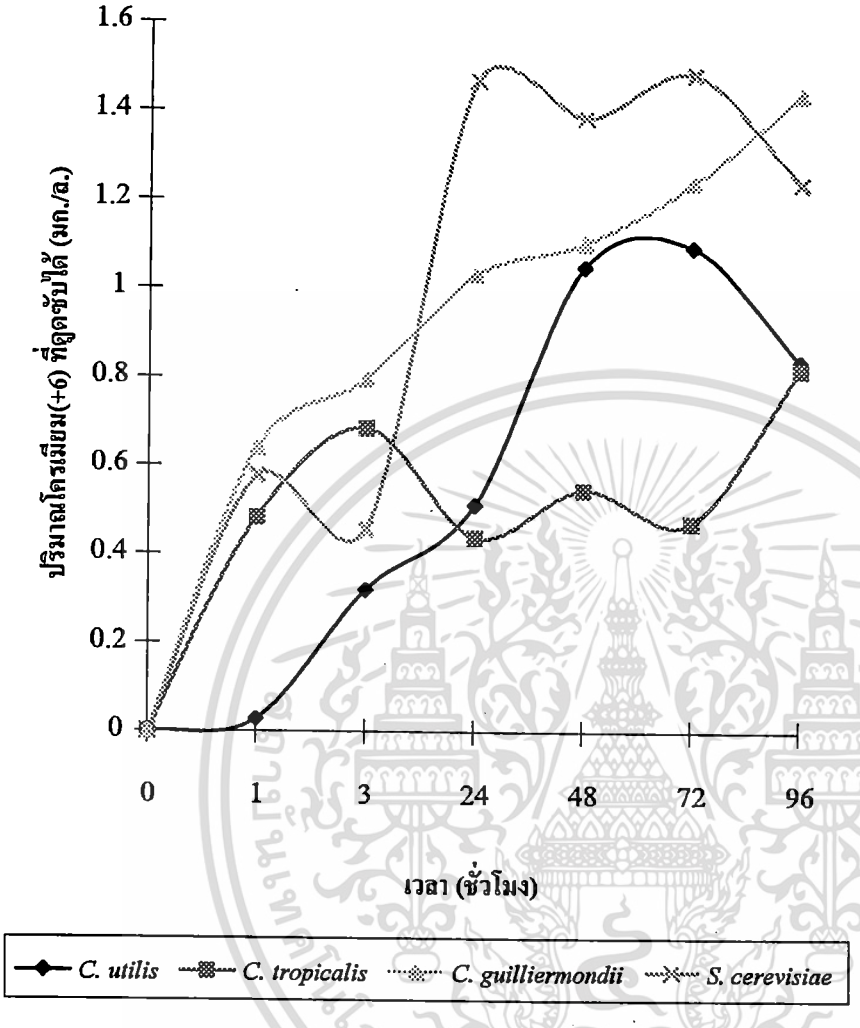
จากการทดลองในน้ำสารละลายโครเมียมซึ่งมีความเข้มข้นของโครเมียม (+6) 3 มิลลิกรัมต่อลิตร แล้วเปรียบเทียบปริมาณโครเมียม (+6) เฉลี่ยที่ลดลง ได้ผลดังตารางที่ 4.1 และรูปที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 แสดงปริมาณโครเมียม (+6) ที่ถูกดูดซับโดยยีสต์สายพันธุ์ต่าง ๆ

เวลา	ปริมาณโครเมียม (+6) ที่ถูกดูดซับไป (มก./ล.) ในสารละลายโครเมียม			
	C. utilis	*C. tropicalis*	*C. guilliermondii*	*S. cerevisiae*
1 ชั่วโมง	0.027 ^{bce}	0.484 ^{ade}	0.640 ^{a}	0.576 ^{acd}
3 ชั่วโมง	0.320 ^{a}	0.686 ^{a}	0.795 ^{a}	0.457 ^{a}
24 ชั่วโมง	0.512 ^{cef}	0.439 ^{bdf}	1.033 ^{ade}	1.472 ^{a}
48 ชั่วโมง	1.052 ^{ade}	0.548 ^{bce}	1.106 ^{acd}	1.390 ^{a}
72 ชั่วโมง	1.097 ^{aef}	0.475 ^{bdg}	1.243 ^{ace}	1.491 ^{a}
96 ชั่วโมง	0.841 ^{cef}	0.823 ^{bdf}	1.445 ^{a}	1.244 ^{ade}

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่มีอักษร (a,b,c,d,...) แตกต่างกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 0.05 (ผลทางสถิติดูได้ในตารางที่ จ1 ของภาคผนวก จ)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.1 กราฟแสดงปริมาณโครเมียม (+6) ที่ดูดซับได้โดยยีสต์สายพันธุ์ต่างๆ

จากผลการทดลองในตาราง 4.1 จะเห็นได้ว่า โดยเฉลี่ยแล้วเชื้อยีสต์จะดูดซับโครเมียม (+6) ได้สูงสุดที่ชั่วโมงที่ 72 ยกเว้น *C.tropicalis* ที่สามารถดูดซับโครเมียม (+6) ได้สูงสุดที่ชั่วโมงที่ 96 และจากการเปรียบเทียบเชื้อยีสต์ทั้ง 4 สายพันธุ์ที่ชั่วโมงที่ 72 พบว่า *Saccharomyces cerevisiae* สามารถดูดซับโครเมียม (+6) ได้สูงที่สุด คือ 1.491 มิลลิกรัมต่อลิตร

เมื่อนำค่าการดูดซับโครเมียม (+6) มาวิเคราะห์ทางสถิติ ได้ว่ายีสต์ทั้ง 4 สายพันธุ์มีความสามารถในการดูดซับโครเมียม (+6) ได้แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 0.05 ดังนั้นจึงใช้ *S. cerevisiae* ทดสอบในขั้นตอนต่อไป ซึ่งเป็นการทดสอบหาสภาวะที่เหมาะสมต่อการดูดซับโครเมียม (+6) โดยยีสต์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2 <u>การทดสอบเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการดูดซับโครเมียม (+6) โดย *S. cerevisiae* เมื่อมีความเข้มข้นเริ่มต้นของโครเมียม (+6) ต่าง ๆ กัน</u>

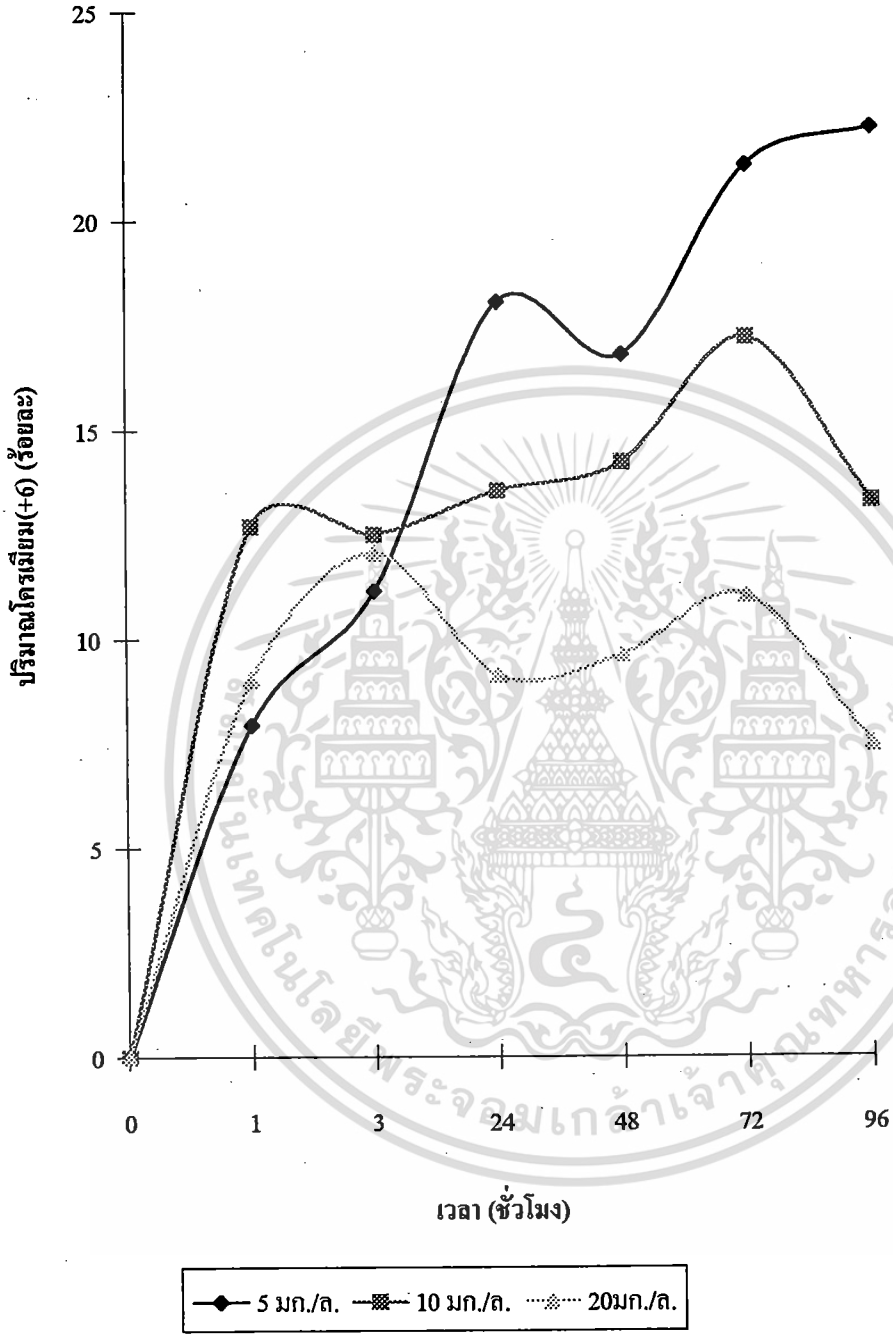
นำเซลล์ยีสต์ *S. cerevisiae* มาใช้ในการดูดซับโครเมียม (+6) ในสารละลายโครเมียมที่มีความเข้มข้น 5,10 และ 20 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งได้ผลดังแสดงในตารางที่ 4.2 และรูปที่ 4.2

ตารางที่ 4.2 แสดงปริมาณโครเมียม (+6) ที่ *S. cerevisiae* ดูดซับได้ที่ความเข้มข้นเริ่มต้นของสารละลายโครเมียมต่าง ๆ กัน

เวลา	ปริมาณโครเมียม (+6) ที่ถูกดูดซับไป (ร้อยละ)		
	สารละลายโครเมียม 5 มก./ล	โครเมียมสารละลาย 10มก./ล	โครเมียมสารละลาย 20มก./ล
1 ชั่วโมง	7.940 [a]	12.710 [a]	9.055 [a]
3 ชั่วโมง	11.160 [a]	12.520 [a]	12.075 [a]
24 ชั่วโมง	18.100 [a]	13.570 [ab]	9.145 [b]
48 ชั่วโมง	16.840 [a]	14.270 [a]	9.645 [a]
72 ชั่วโมง	21.400 [a]	17.280 [ab]	11.065 [b]
96 ชั่วโมง	22.320 [a]	13.350 [bc]	7.500 [b]

<u>หมายเหตุ</u> ค่าเฉลี่ยที่มีอักษร (a,b,c,d,...) แตกต่างกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 0.05 (ผลทางสถิติดูได้ในตารางที่ จ2 ของภาคผนวก จ)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.2 กราฟแสดงปริมาณโครเมียม (+6) ที่ดูดซับได้เมื่อใช้ความเข้มข้นเริ่มต้นของสารละลายโครเมียมต่างกัน

จากผลการทดลองในตารางที่ 4.2 และรูปที่ 4.2 จะเห็นได้ว่า ที่ความเข้มข้นเริ่มต้นของสารละลายโครเมียม (+6) เป็น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร *S. cerevisiae* สามารถดูดซับโครเมียม (+6) ได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สูงสุด คือ ดูดซับได้ 18.10%, 16.84%, 21.40% และ 22.32% ณ ชั่วโมงที่ 24, 48, 72 และ 96 ตามลำดับ แต่จากการทดสอบทางสถิติพบว่า ประสิทธิภาพของการดูดซับโครเมียม (+6) ไม่ขึ้นกับเวลาที่ใช้ในการดูดซับ ส่วนความเข้มข้นเริ่มต้นของสารละลายโครเมียม (+6) ที่ 5, 10 และ 20 มิลลิกรัมต่อลิตร *S. cerevisiae* มีความสามารถในการดูดซับโครเมียม (+6) ได้แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 0.05

4.3 การทดสอบเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการดูดซับโครเมียม (+6) โดย *S. cerevisiae* เมื่อมีความเข้มข้นของสารละลายโครเมียมเป็น 20 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่อัตราการให้อากาศต่าง ๆ กัน

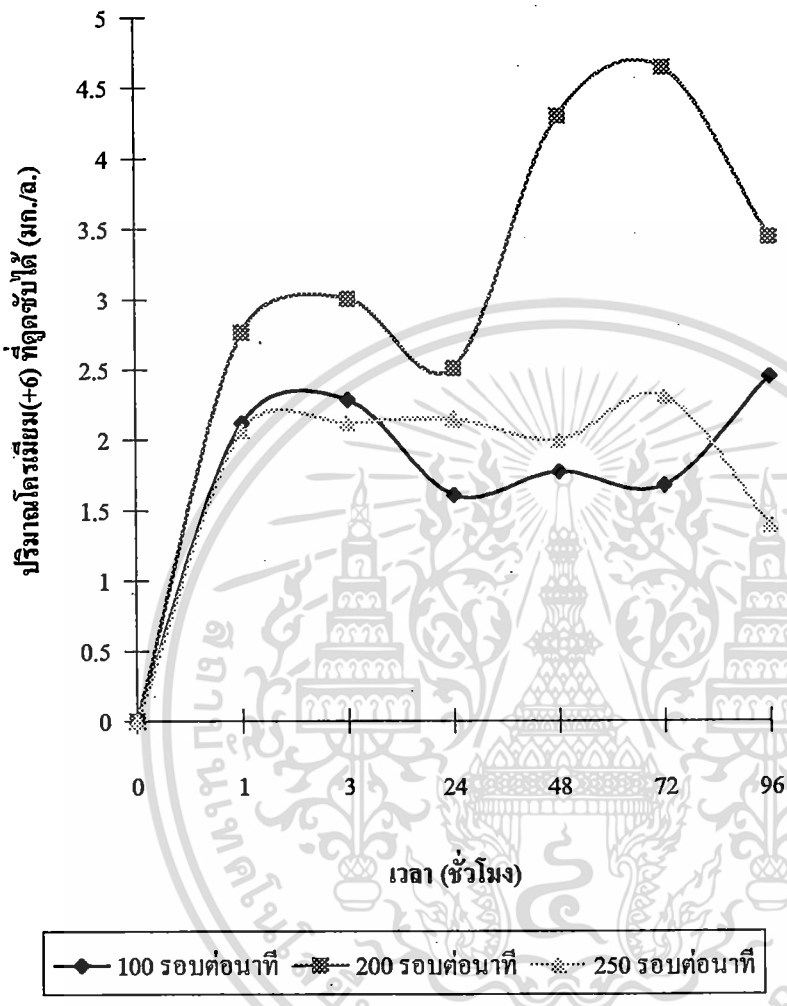
นำเอาเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* มาทดสอบดูดซับโครเมียม (+6) ในสารละลายโครเมียมเข้มข้น 20 มิลลิกรัมต่อลิตร แล้วนำไปวางไว้บนเครื่องเขย่า 100,200 และ 250 รอบต่อนาที ซึ่งได้ผลดังแสดงในตารางที่ 4.3 และรูปที่ 4.3

ตารางที่ 4.3 แสดงปริมาณโครเมียม (+6) ที่ถูกดูดซับได้โดย *S. cerevisiae* เมื่อมีอัตราการให้อากาศต่าง ๆ กัน

เวลา	ปริมาณโครเมียม (+6) ที่ถูกดูดซับได้ไป (มก./ล.)		
	เขย่า100 รอบต่อนาที	เขย่า 200 รอบต่อนาที	เขย่า 250 รอบต่อนาที
1 ชั่วโมง	2.121 ^{a}	2.771 ^{a}	2.067 ^{a}
3 ชั่วโมง	2.286 ^{a}	3.009 ^{a}	2.122 ^{a}
24 ชั่วโมง	1.609 ^{a}	2.515 ^{a}	2.149 ^{a}
48 ชั่วโมง	1.774 ^{bd}	4.307 ^{a}	2.002 ^{cd}
72 ชั่วโมง	1.676 ^{bd}	4.646 ^{a}	2.314 ^{cd}
96 ชั่วโมง	2.451 ^{ac}	3.448 ^{ac}	1.390 ^{b}

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่มีอักษร (a,b,c,d,...) แตกต่างกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 0.05 (ผลทางสถิติดูได้ในตารางที่ จ3 ของภาคผนวก จ)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.3 กราฟแสดงปริมาณโครเมียมที่ดูดซับได้โดย *S. cerevisiae* เมื่อมีอัตราการให้อากาศต่างกัน

ผลการทดลองจากตารางที่ 4.3 และรูปที่ 4.3 จะเห็นได้ว่า ที่เวลาเท่ากัน เขย่าที่ 200 รอบต่อนาทีจะทำให้เชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* สามารถดูดซับโครเมียม (+6) ได้มากกว่า โดยในชั่วโมงที่ 24 อัตราการดูดซับโครเมียม (+6) จะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วจนถึงชั่วโมงที่ 72 ซึ่งเป็นปริมาณโครเมียม (+6) ที่ *S. cerevisiae* ดูดซับได้สูงสุด คือ 4.646 มิลลิกรัมต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5
สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

จากผลการทดลองที่ได้เปรียบเทียบการกำจัดโครเมียม (+6) ในน้ำระหว่าง *Candida utilis, C. tropicalis, C. guilliermondii* และ *Saccharomyces cerevisiae* ได้ว่า *S. cerevisiae* ให้ประสิทธิภาพในการดูดซับโครเมียม (+6) ได้ดีที่สุด โดยสามารถดูดซับโครเมียม (+6) ในสารละลายโครเมียม 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ได้ประมาณ 1.491 มิลลิกรัมต่อลิตร ในเวลา 72 ชั่วโมง ในขณะที่ *C. utilis , C. tropicalis, C. guilliermondii* สามารถดูดซับไปได้เพียง 1.097, 0.475 และ 1.243 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ และเมื่อทำการทดลองหาสภาวะที่เหมาะสมต่อการดูดซับโครเมียม (+6) ของ *S. cerevisiae* พบว่าสภาวะที่เหมาะสม คือ ที่ความเข้มข้นเริ่มต้นของสารละลายโครเมียม (+6) 5 มิลลิกรัมต่อลิตร และเขย่าที่ความเร็ว 200 รอบต่อนาที อย่างไรก็ตามผลที่ได้ออกมานี้ จะเห็นได้ว่าปริมาณโครเมียม (+6) ที่ยังเหลืออยู่ยังมีปริมาณสูงกว่าเกณฑ์มาตรฐานน้ำทิ้งอุตสาหกรรมมาก

จากผลการทดลองที่ได้แสดงให้เห็นถึงความเป็นไปได้ในการนำเซลล์ยีสต์มาใช้ในการกำจัดโครเมียม (+6) ในน้ำ ถึงแม้ว่าจะดูดซับได้น้อย ปริมาณโครเมียม (+6) ที่เหลืออยู่ยังไม่ผ่านเกณฑ์มาตรฐานน้ำทิ้ง ซึ่งอาจเป็นผลเนื่องมาจากปัจจัยอื่น ๆ ดังนั้นจึงสมควรที่จะมีการศึกษาคัดเลือกยีสต์หรือจุลินทรีย์ชนิดอื่น ๆ เพื่อพัฒนาไปสู่การกำจัดโลหะหนักออกจากน้ำทิ้งทางชีวภาพได้อย่างมีประสิทธิภาพต่อไปในอนาคต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

วรรณะ อารีสินพิทักษ์,**ปัญหาสิ่งแวดล้อม**; ภาควิชาภาษาสังคม คณะครุศาสตร์อุตสาหกรรม และวิทยาศาสตร์ 2531, หน้า 27-79.

อู่แก้ว ประกอบไวทยกิจ. **มนุษย์-ระบบนิเวศ และสภาพนิเวศในประเทศไทย**, ไทยวัฒนาพานิช, 2531, หน้า 116.

Arslan, P., Beltrame, M. and Tomashe, A. "Intracellular chromium reduction" Biochem. Biophys. Acta 931 (1987) : 10-15.

Bidstrup, P.L. and Case, R.A.M. "Carcinoma of the lung in workmen in the bichromates-producing industry in Great Britain" Br. J. Ind. Med. 13 (1956) : 260-264.

Brinton, H.P., Frasier, E.S. and Koven, A.L. "Morbidity and mortality experience among chromate workers" Public Health Rep. 67 (1952) : 835-847.

Fujii, E., Toda, K. and Ohtake, H. "Bacterial reduction of toxic hexavalent chromium rsing a fed-batch culture of *Enterobacter cloacae* strain HO1" J. Ferment. Bioeng. 69 (6). (1990) : 365-367.

Hamilton, J.W. and Wetterhahn, K.E. **Chromium**, Handbook on toxicity of inorganic compounds (Seiler, H.G. and Sigel, H. eds.) pp. 240-241, Macel Dekker Inc., U.S.A., 1988.

Horitsu, H., Futo, S., Miyazawa, Y., Ogai, S. and Kawai, K. "Enzymatic reduction of hexavalent chromium by hexavalent chromium tolerant *Pseudomonas ambigua* G-1" Agric. Biol. Chem. 51(9). (1987) : 2417-2420.

Ishibashi, Y., Cervantes, C. and Silver, S. "Chromium reduction in *Pseudomonas putida*" Appl. Environ. Microbiol. 56(7). (1990) : 2268-2270.

Komori, K., Wang, P., and Ohtaki, H. " Factors affecting chromate reduction in *Enterobacter cloacae* strain HO1" Appl Microbiol Biotechnol (1989) 31 : 567-570.

Kreger-van, Rij. **The yeast - ataxnonic study**, 3rd edition, Groningen, The Netherland, 1984, pp. 383-384, 692-693, 819-820, 822-823.

เอกสารนี้ ... ท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Papp, J.F. "Bureau of Mines Bulletin 675" , US Government Printing Office (1985), pp. 139 -155 .

Rapaport, A.I. and Muter, O.A. "Biosorption of hexavalent chromium by yeasts" Proc. Biochem. 30(2). (1995) : 145-149.

Royle, H. "Toxicity of chromic acid in the chromium plating industry" II. Redfearn National Glass Ltd, New York. Environ. Res. 10 (1975) : 141-163.

Sittig, M. Toxic metals pollution control and worker protection. pp. 97-98, 101-102, 116-124, Noyes Data Corporation, U.S.A., 1976.

Volesky, B. (ed.). Biosorption of heavy metals pp. 83-92, CRC Press Inc., U.S.A., 1990.

Volesky, B., May, H.,and Holan, Z.R. " Communications to the Editor Cadmium Biosorption by *Saccharomyces cerevisiae*" Biotech & Bioengineer. (1993) 41 : 826-829.

Wang, P.C., Mori, T., Toda, K. and Ohtake, H. "Membrane-associated chromate reductase activity from *Enterobacter cloace*" J. Bacteriol. 172(3). (1990) : 1670-1672.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก
สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ

1. Yeast malt extract agar (YMA)

สูตรอาหาร	กรัม/ลิตร
Peptone	5
Yeast extract	3
Malt extract	3
Glucose	10
Agar	15
ปรับพีเอช 6-7	

2. Yeast malt extract broth (YMB)

สูตรอาหาร	กรัม/ลิตร
Peptone	5
Yeast extract	3
Malt extract	3
Glucose	10
ปรับพีเอช 6-7	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข
สารเคมี และ วิธีการเตรียม

<u>สารเคมี และ วิธีการเตรียม สำหรับการวิเคราะห์โครเมียม (+6)</u>

1. สารละลายสต็อกโครเมียม (ความเข้มข้นของโครเมียม(+6) = 500 มก./ล.)

   - อบ $K_2Cr_2O_7$ 0.707 กรัม ในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรเป็น 500 มล.

2. สารละลายมาตรฐานโครเมียม (ความเข้มข้นของโครเมียม (+6) = 5 มก./ล.)

   - ปิเปตสารละลายสต็อกโครเมียม 2 มล. ปรับปริมาตรเป็น 200 มล. ด้วยน้ำกลั่น

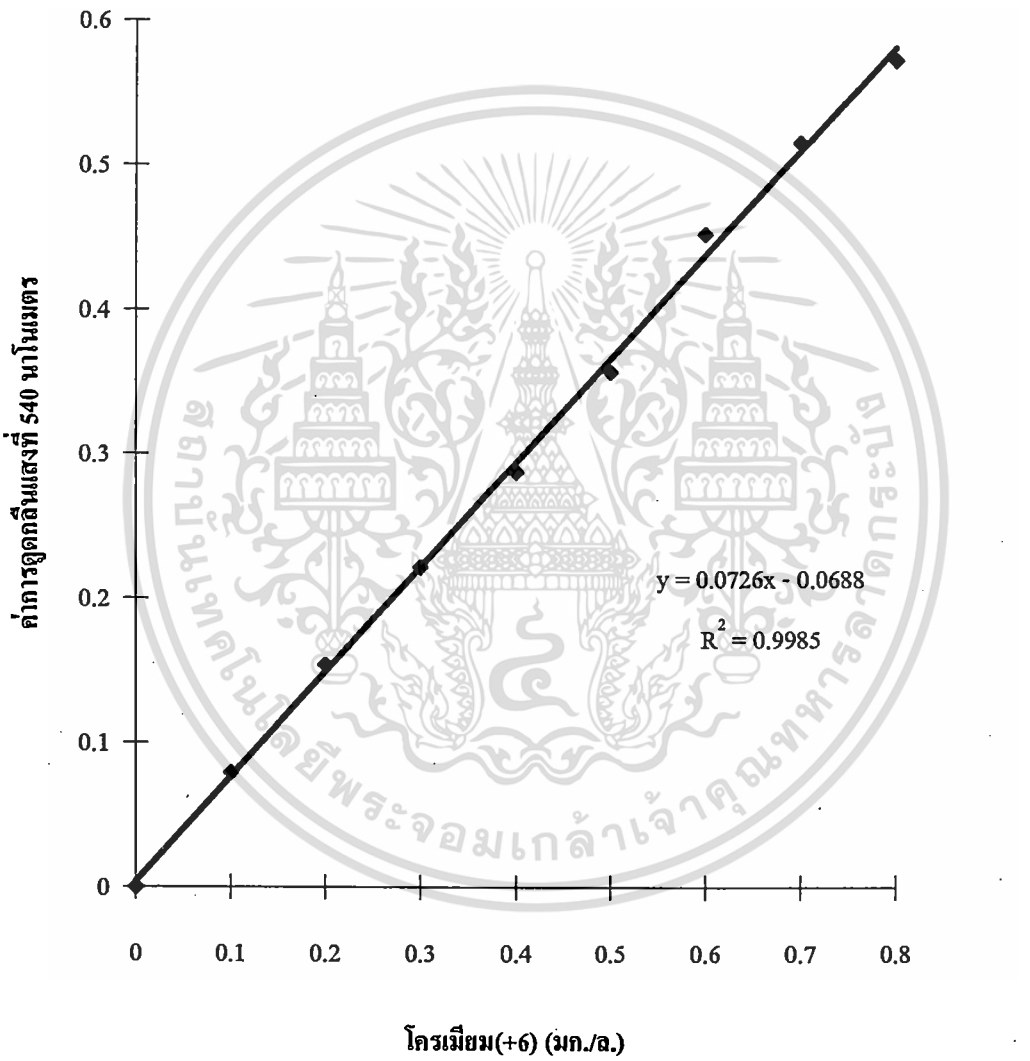
3. สารละลาย Diphenylcarbazide

   - ละลาย 1,5-diphenylcarbazide 0.250 กรัม ในอะซีโตน 50 มล. เก็บในขวดสีชา
     (ควรเตรียมตอนจะใช้)

4. สารละลายกรดซัลฟิวริก 2.0 นอร์มอล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค
กราฟมาตรฐานแสดงปริมาณโครเมียม (+6) กันค่าการดูดกลืนแสง



รูปที่ ค1 กราฟมาตรฐานแสดงปริมาณโครเมียม (+6) กับค่าการดูดกลืนแสง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ง
ตารางแสดงข้อมูลผลการทดลอง

ตารางที่ ง1 แสดงโครเมียม (+6) ที่เหลือในน้ำ เมื่อใช้ความเข้มข้นเริ่มต้นของโครเมียม (+6) เป็น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยใช้เชื้อ *Candida guilliermondii*

เวลา (ชม.)	ปริมาณโครเมียม (+6) ที่เหลือ (มิลลิกรัม/ลิตร)				
	ชุดที่ 1	ชุดที่ 2	ชุดที่ 3	ชุดที่ 4	เฉลี่ย
1	2.167	2.304	2.579	-	2.350
3	-	2.112	2.195	2.277	2.195
24	1.866	-	1.811	2.195	1.957
48	1.783	2.003	-	1.866	1.884
72	-	1.427	1.756	2.058	1.747
96	1.536	1.399	-	1.701	1.545

หมายเหตุ - คือ ไม่ได้เก็บตัวอย่างในชั่วโมงนั้น

ตารางที่ ง2 แสดงโครเมียม (+6) ที่เหลือในน้ำ เมื่อใช้ความเข้มข้นเริ่มต้นของโครเมียม (+6) เป็น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยใช้เชื้อ *Candida tropicalis*

เวลา (ชม.)	ปริมาณโครเมียม (+6) ที่เหลือ (มิลลิกรัม/ลิตร)				
	ชุดที่ 1	ชุดที่ 2	ชุดที่ 3	ชุดที่ 4	เฉลี่ย
1	2.442	2.634	2.442	-	2.506
3	-	2.304	2.167	2.442	2.304
24	2.798	-	2.634	2.222	2.551
48	2.332	2.634	-	2.359	2.442
72	-	2.414	2.112	3.018	2.515
96	2.030	2.112	-	2.359	2.167

หมายเหตุ - คือ ไม่ได้เก็บตัวอย่างในชั่วโมงนั้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง3 แสดงโครเมียม (+6) ที่เหลือในน้ำ เมื่อใช้ความเข้มข้นเริ่มต้นของโครเมียม (+6) เป็น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยใช้เชื้อ *Candida utilis*

เวลา (ชม.)	ปริมาณโครเมียม(+6) ที่เหลือ (มิลลิกรัมต่อลิตร)			
	ชุดที่ 1	ชุดที่ 2	ชุดที่ 3	เฉลี่ย
1	2.881	2.881	3.000	2.963
3	2.634	2.661	2.916	2.670
24	2.387	2.579	2.469	2.478
48	1.673	2.414	1.728	1.938
72	1.728	2.442	1.509	1.893
96	2.195	2.414	1.838	2.149

หมายเหตุ - คือ ไม่ได้เก็บตัวอย่างในชั่วโมงนั้น

ตารางที่ ง4 แสดงโครเมียม (+6) ที่เหลือในน้ำ เมื่อใช้ความเข้มข้นเริ่มต้นของโครเมียม (+6) เป็น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยใช้เชื้อ *Saccharomyces cerevisiae*

เวลา (ชม.)	ปริมาณโครเมียม(+6) ที่เหลือ (มิลลิกรัมต่อลิตร)			
	ชุดที่ 1	ชุดที่ 2	ชุดที่ 3	เฉลี่ย
1	2.195	2.442	2.606	2.414
3	2.743	2.496	2.359	2.533
24	1.372	1.728	1.454	1.518
48	1.394	1.536	1.866	1.600
72	1.207	1.536	1.728	1.490
96	1.536	1.975	1.728	1.746

หมายเหตุ - คือ ไม่ได้เก็บตัวอย่างในชั่วโมงนั้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง5 แสดงปริมาณโครเมียม (+6) ที่เหลือหลังจากดูดซับโดย *S. cerevisiae* เมื่อใช้ความเข้มข้นเริ่มต้นของโครเมียม (+6) เป็น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร

เวลา (ชม.)	ปริมาณโครเมียม (+6) ที่เหลือ (มิลลิกรัม/ลิตร)				
	ชุดที่ 1	ชุดที่ 2	ชุดที่ 3	ชุดที่ 4	เฉลี่ย
0	5.405	5.487	5.377	-	5.423
1	5.130	5.130	4.829	-	5.030
3	-	4.883	4.774	4.938	4.865
24	4.554	-	4.664	4.335	4.518
48	4.746	4.389	-	4.609	4.581
72	4.417	4.170	4.472	-	4.353
96	-	4.252	4.225	4.444	4.307

หมายเหตุ - คือ ไม่ได้เก็บตัวอย่างในชั่วโมงนั้น

ตารางที่ ง6 แสดงปริมาณโครเมียม (+6) ที่เหลือหลังจากดูดซับโดย *S. cerevisiae* เมื่อใช้ความเข้มข้นเริ่มต้นของโครเมียม (+6) เป็น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร

เวลา (ชม.)	ปริมาณโครเมียม (+6) ที่เหลือ (มิลลิกรัม/ลิตร)				
	ชุดที่ 1	ชุดที่ 2	ชุดที่ 3	ชุดที่ 4	เฉลี่ย
0	11.139	11.248	11.193	-	11.193
1	9.877	9.986	9.904	-	9.922
3	-	9.712	9.877	10.233	9.941
24	9.383	-	9.739	9.847	9.656
48	9.847	9.712	-	9.739	9.766
72	9.438	9.355	9.602	-	9.465
96	-	9.657	9.822	10.096	9.858

หมายเหตุ - คือ ไม่ได้เก็บตัวอย่างในชั่วโมงนั้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง7 แสดงปริมาณโครเมียม (+6) ที่เหลือหลังจากดูดซับโดย *S. cerevisiae* เมื่อใช้ความเข้มข้นเริ่มต้นของโครเมียม (+6) เป็น 20 มิลลิกรัมต่อลิตร

เวลา (ชม.)	ปริมาณโครเมียม (+6) ที่เหลือ (มิลลิกรัม/ลิตร)				
	ชุดที่ 1	ชุดที่ 2	ชุดที่ 3	ชุดที่ 4	เฉลี่ย
0	21.674	21.399	21.454	-	21.509
1	19.534	19.643	19.918	-	19.698
3	-	19.204	19.396	18.683	19.094
24	19.534	-	19.726	19.781	19.680
48	19.588	19.506	-	19.616	19.570
72	19.067	19.506	19.314	-	19.296
96		19.543	20.329	20.165	20.009

หมายเหตุ - คือ ไม่ได้เก็บตัวอย่างในชั่วโมงนั้น

ตารางที่ ง8 แสดงปริมาณโครเมียม (+6) ที่เหลือหลังจากดูดซับโดย *S. cerevisiae* เมื่อใช้ความเข้มข้นเริ่มต้นของโครเมียม (+6) เป็น 100 รอบต่อนาที

เวลา (ชม.)	ปริมาณโครเมียม (+6) ที่เหลือ (มิลลิกรัม/ลิตร)				
	ชุดที่ 1	ชุดที่ 2	ชุดที่ 3	ชุดที่ 4	เฉลี่ย
0	21.180	21.344	21.674	-	21.399
1	19.616	19.287	18.930	-	19.278
3	-	18.738	19.012	19.588	19.113
24	20.329	-	19.040	20.000	19.790
48	19.726	18.601	-	20.549	19.625
72	19.204	16.818	17.147	-	17.723
96	20.000	16.982	-	19.863	18.948

หมายเหตุ - คือ ไม่ได้เก็บตัวอย่างในชั่วโมงนั้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง9 แสดงปริมาณโครเมียม (+6) ที่เหลือหลังจากดูดซับโดย *S. cerevisiae* เมื่อใช้ความเข้มข้นเริ่มต้นของโครเมียม (+6) เป็น 200 รอบต่อนาที

เวลา (ชม.)	ปริมาณโครเมียม (+6) ที่เหลือ (มิลลิกรัม/ลิตร)				
	ชุดที่ 1	ชุดที่ 2	ชุดที่ 3	ชุดที่ 4	เฉลี่ย
0	21.182	21.344	21.674	-	21.399
1	18.848	18.711	18.326	-	18.628
3	-	18.573	18.272	18.326	18.390
24	18.875	-	18.107	19.671	18.884
48	16.488	17.339	-	17.449	17.092
72	17.476	17.311	15.473	-	16.753
96	16.845	17.613	-	19.396	17.951

หมายเหตุ - คือ ไม่ได้เก็บตัวอย่างในชั่วโมงนั้น

ตารางที่ ง10 แสดงปริมาณโครเมียม (+6) ที่เหลือหลังจากดูดซับโดย *S. cerevisiae* เมื่อใช้ความเข้มข้นเริ่มต้นของโครเมียม (+6) เป็น 250 รอบต่อนาที

เวลา (ชม.)	ปริมาณโครเมียม (+6) ที่เหลือ (มิลลิกรัม/ลิตร)				
	ชุดที่ 1	ชุดที่ 2	ชุดที่ 3	ชุดที่ 4	เฉลี่ย
0	21.180	21.344	21.674	-	21.399
1	19.561	18.957	19.479	-	19.332
3	-	18.738	19.588	19.506	19.277
24	19.781	-	19.561	18.409	19.250
48	20.302	18.217	-	19.671	19.397
72	19.232	16.872	21.152	-	19.085
96	17.229	21.344	-	21.454	20.009

หมายเหตุ - คือ ไม่ได้เก็บตัวอย่างในชั่วโมงนั้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก จ.
การวิเคราะห์ทางสถิติ

ใช้แผนการทดลองแบบสุ่มในบล็อกสมบูรณ์ (Randomized Complete Block Design,RBD) โดยใช้สายพันธุ์ หรือ ความเข้มข้นเริ่มต้นของโครเมียม (+6) หรือ ความเร็วในการเขย่า เป็นทรีทเมนต์และให้เวลา (ชั่วโมง) เป็นบล็อก แล้วใช้การวิเคราะห์ความแปรปรวนของการจำแนกแบบสองทาง (Two-way Analysis of Variance) มาทดสอบถึงความแตกต่างทางสถิติเป็นดังนี้

ตารางที่ จ1 แสดงการวิเคราะห์ทางสถิติของการคัดเลือกสายพันธุ์

SOV	ANOVA			
	d.f.	SS	MS	F
สายพันธุ์	3	1.325	0.442	6.906*
เวลา	5	1.578	0.316	4.938*
error	15	0.961	0.064	
รวม	23	3.864		

หมายเหตุ * แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 0.05

∴ ยีสต์สายพันธุ์ทั้ง 4 สายพันธุ์มีความสามารถในการดูดซับโครเมียม(+6)ได้แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ จ2 แสดงการวิเคราะห์ทางสถิติของความเข้มข้นเริ่มต้นของโครเมียม(+6)

SOV	ANOVA			
	d.f.	SS	MS	F
ความเข้มข้น	2	131.999	65.999	6.184*
เวลา	5	76.751	15.350	1.438ns
error	10	106.733	10.673	
รวม	17	315.483		

หมายเหตุ * แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 0.05

ns ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 0.05

∴ ความเข้มข้นเริ่มต้นของโครเมียม(+6)ทั้ง 3 ระดับมีผลต่อความสามารถในการดูดซับโครเมียม(+6)ของยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* ได้แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ตารางที่ จ3 แสดงการวิเคราะห์ทางสถิติของอัตราการให้อากาศ (ความเร็วรอบในการเขย่า)

SOV	ANOVA			
	d.f.	SS	MS	F
ความเร็ว	2	8.441	4.221	11.533*
เวลา	5	1.153	0.231	0.631ns
error	10	3.661	0.366	
รวม	17	13.255		

หมายเหตุ * แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 0.05

ns ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 0.05

∴ ความเร็วในการเขย่าทั้ง 3 อัตราเร็วมีผลต่อความสามารถในการดูดซับโครเมียมของยีสต์ *S. cerevisiae* ที่มีความเข้มข้นเริ่มต้นของโครเมียม(+6)เป็น 20 มก./ล. ได้แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้