

# สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

สถานะที่เหมาะสมต่อการดูฉบับตะกั่ว (+2)

โดยเชื้อแบคทีเรีย *Zoogloea ramigera* และเชื้อรา *Rhizopus arrhizus*



นางสาว ประภาศรี ชีวะเกรียงไกร

นางสาว วิลารรณ บุญเจือ

โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต

ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์

คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ปีการศึกษา 2540

ป/ท.

๒๓๔๔

เลขหมู่ ๒๕๔๐

เลขทะเบียน 30620

วัน, เดือน, ปี 20 ก.ค. 2541

เอกสารนี้เป็นทรัพย์สินของสถาบันฯ ใช้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**Optimization of Biosorption of Lead (II) Ion by *Zoogloea ramigera* and *Rhizopus arrhizus***



**Miss Prapasri Cheewakringkrai**

**Miss Wilawan Bunchua**

**A Special Project Submitted in Partial Fulfillment of the  
Requirement for the Degree of the Bachelor of Science**

**Department of Applied Biology**

**Faculty of Science**

**King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang**

**1997**

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



หัวข้อโครงการพิเศษ	สถานะที่เหมาะสมต่อการดูดซับตะกั่ว(+2) โดยเชื้อแบคทีเรีย <i>Zoogloea ramigera</i> และเชื้อรา <i>Rhizopus arrhizus</i>	
โดย	นางสาว ประภาศรี	จีระเกรียงไกร
	นางสาว วิลาวรรณ	บุญเจือ
อาจารย์ที่ปรึกษา	อาจารย์ มาริสรา	จาดุพรพิพัฒน์
ภาควิชา	ชีววิทยาประยุกต์	
ปีการศึกษา	2540	

### บทคัดย่อ

ตะกั่วเป็นโลหะหนักซึ่งเป็นสารพิษที่สำคัญชนิดหนึ่ง ตะกั่วได้ถูกนำไปใช้ในโรงงานอุตสาหกรรมต่างๆ ซึ่งน้ำเสียในโรงงานดังกล่าวมีความเข้มข้นของตะกั่ว(+2) โดยเฉลี่ย 200-250 มิลลิกรัมต่อลิตรแต่ค่าความเข้มข้นของตะกั่ว(+2) ในน้ำเสียตามปกติควรจะมีความเข้มข้นประมาณ 0.10-0.05 มิลลิกรัมต่อลิตร ดังนั้นจึงต้องมีการกำจัดตะกั่ว(+2) ออกจากน้ำทิ้งก่อนที่จะปล่อยสู่แหล่งน้ำตามธรรมชาติ โดยสามารถทำได้หลายวิธี เช่น วิธีทางกายภาพ วิธีทางเคมีและวิธีทางชีวภาพ และจากการศึกษาหาสถานะแวดล้อมที่เหมาะสมของการดูดซับตะกั่ว(+2) โดยเชื้อแบคทีเรีย *Zoogloea ramigera* และเชื้อรา *Rhizopus arrhizus* พบว่าสถานะที่เหมาะสมต่อ *Zoogloea ramigera* ต่อการดูดซับตะกั่ว(+2) คือ พีเอช 4.5 อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส ความเข้มข้นเริ่มต้นของตะกั่ว(+2) เป็น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยสามารถดูดซับตะกั่ว(+2) ได้ร้อยละ 79 และสถานะที่เหมาะสมต่อ *Rhizopus arrhizus* ในการดูดซับตะกั่ว(+2) คือ พีเอช 5 อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส ความเข้มข้นเริ่มต้นของตะกั่ว(+2) เป็น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยสามารถดูดซับตะกั่ว(+2) ได้ร้อยละ 76

<b>Special Project Title</b>	Optimization of Biosorption of Lead (II) Ion by <i>Zoogloea ramigera</i> and <i>Rhizopus arrhizus</i> .		
<b>Name</b>	Miss Prapasri	Cheewakringkrai	
	Miss Wilawan	Bunchua	
<b>Special Project Advisor</b>	Miss Marisa	Jatupornphiphat	
<b>Department</b>	Applied Biology		
<b>Academic Year</b>	1997		

### ABSTRACT

Lead is a heavy metal which is toxic. It has been used in various industries and wastewater from these industries contain lead with an average of 200-250 mg/l which is higher than the standard provided (0.10-0.05 mg/l). Thus, lead should be removed from wastewater before releasing to natural water resource. Removal can be done by various ways such as physical, chemical and biological method. Biosorption of lead (II) ion by *Zoogloea ramigera* and *Rhizopus arrhizus* have been studied for the removal of lead by biological method. The result showed that, the optimization of *Zoogloea ramigera* at pH 4.5, 35°C with initial concentration of lead (II) 50 mg/l, gave maximum absorption of 79%. Whereas the optimization of *Rhizopus arrhizus* at pH 5, 35°C with initial concentration of lead (II) ion 50 mg/l, gave maximum absorption of 76%.

## กิตติกรรมประกาศ

โครงการพิเศษนี้ได้จัดทำขึ้นตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ ซึ่งสำเร็จได้ด้วยความช่วยเหลือจากบุคคลหลายท่าน ทางคณะผู้จัดทำขอขอบพระคุณ อาจารย์มารีสา จาดุพรพิพัฒน์ อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการพิเศษนี้ได้ให้ความรู้ ข้อเสนอแนะรวมทั้งได้กรุณาตรวจทานภาษาที่ใช้ รศ.ดร.คุณฉวี ชนะบริพัฒน์ ประธานกรรมการและอาจารย์มงคล เพ็ญสายใจ กรรมการสอบโครงการพิเศษ ซึ่งท่านได้ให้คำแนะนำในโครงการพิเศษนี้อย่างดียิ่งเสมอมา ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ทุกท่านที่เอื้อเฟื้ออุปกรณ์และสารเคมีต่างๆ ที่ใช้สำหรับการทดลอง สุดท้ายนี้ขอขอบคุณพี่ๆเพื่อนๆน้องๆทุกคนที่ช่วยเหลือและให้กำลังใจในการจัดทำโครงการพิเศษนี้

คณะผู้จัดทำ

มีนาคม 2541

## สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ โครงการพิเศษภาษาไทย	ก
บทคัดย่อ โครงการพิเศษภาษาอังกฤษ	ข
กิตติกรรมประกาศ	ค
สารบัญตาราง	ง
สารบัญรูป	ฉ
บทที่1 บทนำ	1
วัตถุประสงค์	3
ขอบเขต	3
ประโยชน์ ที่คาดว่าจะได้รับ	3
บทที่2 การตรวจเอกสาร	4
2.1 ลัทธิฐานวิทยาของเชื้อแบคทีเรีย และเชื้อรา	4
2.2 คุณลักษณะทั่วไปของตะกั่ว	4
2.3 ความเป็นพิษของตะกั่ว	5
2.4 การกำจัดตะกั่วจากน้ำเสียก่อนจะปล่อยสู่แหล่งน้ำตามธรรมชาติ	5
บทที่3 อุปกรณ์และวิธีการทดลอง	16
3.1 เชื้อจุลินทรีย์	16
3.2 เครื่องมือ และอุปกรณ์	16
3.3 การเตรียมเชื้อแบคทีเรีย <i>Zoogloea. ramigera</i>	16
3.4 การเตรียมเชื้อรา <i>Rhizozus. arrhizus</i>	17
3.5 การทดสอบการดูดซับตะกั่ว	17
3.6 การวิเคราะห์ผลการทดลองทางสถิติ	19
บทที่4 ผลการทดลองและวิจารณ์	23
4.1 ผลของพีเอช	23
4.2 ผลของอุณหภูมิ	24
4.3 ผลของความเข้มข้นเริ่มต้นของตะกั่ว(+2)ในสารละลาย	26

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สารบัญ(ต่อ)

บทที่ 5 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ	31
ภาคผนวก ก สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ	36
ภาคผนวก ข สารเคมีและวิธีการเตรียม	37
ภาคผนวก ค กราฟมาตรฐานแสดงปริมาณตะกั่ว (+2) กับค่าการดูดกลืนแสง	38
ภาคผนวก ง ตารางแสดงข้อมูลผลการทดลอง	41
ภาคผนวก จ การวิเคราะห์ทางสถิติ	44



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
4.1	ผลของพีเอชที่มีต่อการดูดซับตะกั่ว(+2)โดยเชื้อแบคทีเรีย <i>Z. Ramigera</i> TISTR 1329 และเชื้อรา <i>R. arrhizus</i> TISTR 3129	24
4.2	ผลของอุณหภูมิที่มีต่อการดูดซับของตะกั่ว(+2)โดยเชื้อแบคทีเรีย <i>Z. ramigera</i> TISTR 1329 และเชื้อรา <i>R. arrhizus</i> TISTR 3129	25
4.3	ผลของความเข้มข้นเริ่มต้นของตะกั่ว(+2)ในสารละลายที่มีต่อการดูด ซับตะกั่ว(+2)โดยเชื้อแบคทีเรีย <i>Z. ramigera</i> TISTR 1329 และเชื้อรา <i>R. arrhizus</i> TISTR 3129	26
ง1	ผลของพีเอชที่มีต่อการดูดซับตะกั่ว(+2)โดยใช้เชื้อแบคทีเรีย <i>Z. ramigera</i> TISTR 1329	41
ง2	ผลของพีเอชที่มีต่อการดูดซับตะกั่ว(+2)โดยใช้เชื้อรา <i>R. arrhizus</i> TISTR 3129	41
ง3	ผลของอุณหภูมิที่มีต่อการดูดซับตะกั่ว(+2)โดยใช้เชื้อแบคทีเรีย <i>Z. ramigera</i> TISTR 1329	42
ง4	ผลของอุณหภูมิที่มีต่อการดูดซับตะกั่ว(+2)โดยใช้เชื้อรา <i>R. arrhizus</i> TISTR 3129	42
ง5	ผลของความเข้มข้นเริ่มต้นของตะกั่ว(+2)ในสารละลายที่มีต่อการดูดซับ ตะกั่ว(+2)โดยใช้เชื้อแบคทีเรีย <i>Z. ramigera</i> TISTR 1329	43
ง6	ผลของความเข้มข้นเริ่มต้นของตะกั่ว(+2)ในสารละลายที่มีต่อการดูดซับ ตะกั่ว(+2)โดยใช้เชื้อรา <i>R. Arrhizus</i> TISTR 3129	43
จ1	ผลการวิเคราะห์ทางสถิติของพีเอชที่มีต่อการดูดซับตะกั่ว(+2)โดยเชื้อ แบคทีเรีย <i>Z. ramigera</i> TISTR 1329 และเชื้อรา <i>R. arrhizus</i> TISTR 3129	44
จ2	ผลการวิเคราะห์ทางสถิติของอุณหภูมิที่มีต่อการดูดซับตะกั่ว(+2)โดย เชื้อแบคทีเรีย <i>Z. Ramigera</i> TISTR 1329 และเชื้อรา <i>R. arrhizus</i> TISTR 3129	45

## สารบัญตาราง(ต่อ)

ตารางที่		หน้า
จ3	ผลการวิเคราะห์ทางสถิติของความเข้มข้นเริ่มต้นของตะกั่ว(+2)ที่มีต่อการดูดซับตะกั่ว(+2)โดยเชื้อแบคทีเรีย <i>Z. ramigera</i> TISTR 1329 และเชื้อรา <i>R. arrhizus</i> TISTR 3129	46



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**สารบัญรูป**

<b>รูปที่</b>		<b>หน้า</b>
2.1	แสดงโครงสร้างของโคคิน	12
3.1	เชื้อ <i>Zoogloea ramigera</i> ที่เก็บอยู่ในรูปแข็งแห้ง (Lyophilize)	19
3.2	เชื้อแบคทีเรีย <i>Z. ramigera</i> TISTR 1329 และเชื้อรา <i>R. arrhizus</i> TISTR 3129	20
3.3	เซลล์แห้งของเชื้อแบคทีเรีย <i>Z. Ramigera</i> TISTR 1329 และเชื้อรา <i>R. arrhizus</i> TISTR 3129	20
3.4	เครื่องเขย่าแบบควบคุมอุณหภูมิได้ (incubator shaker)	21
3.5	เครื่องมือหึ่งที่ใช้ในการแยกส่วนโลหะที่ได้จากการเก็บตัวอย่าง	21
3.6	เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (Atomic-absorption spectrophotometer AA) ที่ใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณตะกั่ว(+2)	22
4.1	ปริมาณตะกั่ว(+2) ที่ถูกดูดซับได้โดยเชื้อแบคทีเรีย <i>Z.ramigera</i> และเชื้อรา <i>R. arrhizus</i> ที่พีเอชต่างกัน	28
4.2	ปริมาณตะกั่ว(+2) ที่ถูกดูดซับได้โดยเชื้อแบคทีเรีย <i>Z.ramigera</i> และเชื้อรา <i>R. arrhizus</i> ที่อุณหภูมิต่างกัน	29
4.3	ปริมาณตะกั่ว(+2) ที่ถูกดูดซับได้โดยเชื้อแบคทีเรีย <i>Z.ramigera</i> และเชื้อรา <i>R. arrhizus</i> ที่ความเข้มข้นเริ่มต้นของตะกั่ว(+2) ในสารละลายต่างๆกัน	30
ค1-ค5	กราฟมาตรฐานแสดงปริมาณตะกั่ว(+2) กับค่าการดูดกลืนแสง	38

## บทที่ 1

### บทนำ

ปัจจุบันประเทศไทยได้มีการพัฒนาด้านอุตสาหกรรมอย่างมาก ซึ่งจากการพัฒนาทางด้านอุตสาหกรรมนี้เองที่ก่อให้เกิดผลกระทบทางด้านสิ่งแวดล้อมตามมาอย่างมากมาย ทำให้ระบบนิเวศน์ตามธรรมชาติสูญเสียไป

โลหะหนักเป็นสารมลพิษที่ตกค้างอยู่ในสิ่งแวดล้อม โดยอาจอยู่ในรูปของอนุภาคในอากาศ ละลายอยู่ในแหล่งน้ำหรือสะสมอยู่ในตะกอนดิน โลหะหนักที่รู้จักกันดีและเป็นพิษ ได้แก่ปรอท ตะกั่ว แคดเมียม โครเมียม สารหนู สังกะสี เป็นต้น

โลหะหนักสามารถสะสมอยู่ในเนื้อเยื่อของสิ่งมีชีวิตที่อาศัยอยู่ในแหล่งน้ำที่มีการปนเปื้อนของโลหะหนักได้ โดยความเข้มข้นจะเพิ่มขึ้นตามลำดับชั้นอาหารของห่วงโซ่อาหาร ดังนั้นการปนเปื้อนของโลหะหนักในน้ำจึงไม่เพียงแต่มีผลกระทบต่อคุณภาพน้ำ สิ่งมีชีวิตที่อาศัยในแหล่งน้ำแต่ยังเป็นอันตรายต่อคนและสัตว์ที่บริโภคสิ่งมีชีวิตดังกล่าว ตัวอย่าง การเกิดโรคมินามาตะ ในคนญี่ปุ่นที่บริโภคปลาที่มีเมทิลเมอร์คิวรีอยู่ในระดับสูง และการเกิดโรคอิตาลีเนื่องจากปลาที่มีแคดเมียมสูง เป็นต้น

ตะกั่วจัดเป็นโลหะหนักที่เป็นพิษตัวหนึ่งต่อสิ่งมีชีวิต ในปัจจุบันพบว่ามีการปล่อยตะกั่วสู่สิ่งแวดล้อมปริมาณมาก โดยเฉพาะตามเขตอุตสาหกรรมที่มีการใช้ตะกั่วในกระบวนการผลิตและในเมืองตามเขตพาณิชย์กรรมที่มีประชากรหนาแน่น การจราจรติดขัด แหล่งที่มาของตะกั่วเหล่านี้ก่อให้เกิดการปนเปื้อนของตะกั่วในสิ่งแวดล้อมและอาจเข้าไปสะสมในสิ่งมีชีวิตต่างๆ สัตว์และพืชสามารถรับตะกั่วจากแหล่งกำเนิดหรือจากสิ่งแวดล้อมโดยตรง (นภวิศ บัวสุวรรณ, 2537) เมื่อตะกั่วเข้าสู่ร่างกายมนุษย์ก็จะทำให้เกิดปัญหาด้านสุขภาพและด้านสติปัญญา เช่น ในเด็กถ้าระดับตะกั่วในเลือดมีเพียง 10 ไมโครกรัมต่อเดซิลิตร มีผลทำให้ระดับสติปัญญาลดลงได้ โดยเฉพาะในกรุงเทพฯ กำลังประสบปัญหาเหล่านี้ ดังนั้นจึงควรลดการปลดปล่อยตะกั่วสู่สิ่งแวดล้อมด้วยวิธีต่างๆ เช่น การทำให้ตกตะกอนด้วยสารเคมี การสกัดด้วยตัวทำละลาย วิธีการเหล่านี้สามารถกำจัดโลหะหนักออกได้ค่อนข้างสูงจนมีปริมาณตกค้างน้อยมากแต่ยุ่งยาก เสียค่าใช้จ่ายสูง และอาจมีผลต่อเนื่องกับสิ่งแวดล้อมได้ ดังนั้นจึงมีการพัฒนาการกำจัดโลหะหนักออกจากน้ำเสียโดยวิธีทางชีวภาพ ซึ่งก่อให้เกิดความสะดวกและลดค่าใช้จ่ายในการกำจัดโลหะหนักออกจากน้ำทิ้งของโรงงานอุตสาหกรรมต่างๆ โดยใช้จุลินทรีย์หรืออาจนำเอาโครงสร้างบางส่วนของจุลินทรีย์ที่ตายแล้ว หรือผลิตภัณฑ์ที่

จุลินทรีย์สร้างขึ้นซึ่งมีคุณสมบัติในการดูดซับโลหะหนัก วิธีการดังกล่าวมีจุดมุ่งหมายสำคัญในการบำบัดคือการกำจัดโลหะออกจากน้ำเสีย การป้องกันการปนเปื้อนของโลหะในดิน การเก็บเกี่ยวแร่ที่มีค่าออกจากแร่เกรดต่ำของอุตสาหกรรมการทำเหมืองแร่ (David,1993)

ดังนั้นโครงการพิเศษนี้จึงมีวัตถุประสงค์ในการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการดูดซับตะกั่ว(+2)โดยใช้เชื้อแบคทีเรีย *Zoogloea ramigera* และเชื้อรา *Rhizopus arrhizus* ซึ่งคาดว่าผลที่ได้จากการทดลองนี้จะเป็นประโยชน์ต่อการบำบัดและกำจัดตะกั่ว(+2)ในน้ำเสียแทนวิธีการใช้สารเคมี



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### วัตถุประสงค์

1. ศึกษาความสามารถในการดูดซับตะกั่วของเชื้อแบคทีเรีย *Zoogloea ramigera* และเชื้อรา *Rhizopus arrhizus*
2. ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการดูดซับตะกั่วของเชื้อแบคทีเรีย *Zoogloea ramigera* และเชื้อรา *Rhizopus arrhizus* ได้แก่ พีเอช อุณหภูมิและความเข้มข้นเริ่มต้นของโลหะ
3. เพื่อใช้เป็นข้อมูลเบื้องต้นสำหรับการบำบัดน้ำเสียจากโรงงานอุตสาหกรรมโดยวิธีทางชีวภาพ

### ขอบเขต

1. ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการดูดซับตะกั่วของเชื้อแบคทีเรีย *Zoogloea ramigera* และเชื้อรา *Rhizopus arrhizus* โดยศึกษา พีเอช อุณหภูมิและความเข้มข้นเริ่มต้นของโลหะ

### ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. เป็นแนวทางในการบำบัดน้ำเสียที่มีการปนเปื้อนด้วยสารพิษตะกั่ว โดยวิธีทางชีวภาพ ซึ่งน่าจะมีผลดีต่อสภาพแวดล้อมมากกว่าการใช้วิธีทางเคมี
2. เป็นแนวทางในการนำจุลินทรีย์ดังกล่าวซึ่งพบได้โดยทั่วไปในระบบบำบัดน้ำเสียมาใช้ประโยชน์

## บทที่ 2

### การตรวจเอกสาร

#### 2.1 ลักษณะทั่วไปของเชื้อแบคทีเรีย และเชื้อรา

##### 2.1.1 ลักษณะทั่วไปของ *Zoogloea ramigera*

เป็นแบคทีเรียที่อยู่ในกลุ่ม gram-negative aerobic microaerophilic rods and cocci ซึ่งเป็นแบคทีเรียแกรมลบ รูปร่างเป็นแท่ง มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางเซลล์ 1.0-1.3 ไมโครเมตร ไม่สร้างสปอร์ เคลื่อนที่ได้โดยใช้แฟลกเจลลัม (polar หรือ subpolar) ต้องการออกซิเจน (สามารถเจริญในสภาวะที่ไม่มีออกซิเจนแต่มีไนเตรต) สภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญคือ อุณหภูมิ 28-37 องศาเซลเซียส พีเอช 7.0-7.5 มักรวมกันอยู่ในลักษณะเยื่อหุ้มที่เป็นเมือกคล้ายนิ้วมือที่กางแผ่ออกไป (finger-like) หรือคล้ายต้นไม้แผ่กิ่ง (tree-like) สามารถผลิตสารโพลีแซคคาไรด์ที่มีประจุลบ ออกมานอกเซลล์เซลล์ทำให้สามารถจับกับไอออนบวกของโลหะได้ พบโดยทั่วไปในระบบบำบัดน้ำเสียแบบตะกอนเร่ง (activated sludge)

##### 2.1.2 ลักษณะทั่วไปของ *Rhizopus arrhizus*

เป็นเชื้อราที่จัดอยู่ในดิวิชัน Amastigomycota ชั้น Zygomycetes อันดับ Mucorales วงศ์ Mucoraceae ที่ผนังเซลล์ประกอบด้วยอะมิโนโพลีแซคคาไรด์ (amino-polysaccharide) หรือนอนอะมิโนโพลีแซคคาไรด์ (nonamino-polysaccharide) โดยความสามารถในการจับโลหะหนัก ขึ้นอยู่กับปริมาณไนโตรเจนในสายโพลีเมอร์ นอกจากนี้ยังประกอบด้วยโคคินที่สูง (สามารถจับกับโลหะเกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อน) ส่วนปริมาณโปรตีนมีน้อย

#### 2.2 คุณลักษณะทั่วไปของตะกั่ว

ตะกั่วเป็นโลหะหนักสีน้ำเงินปนเทา มีเลขอะตอม 82 มีมวลอะตอม 207.2 กลายเป็นไอได้ที่อุณหภูมิสูงๆ ทำให้อ่อนและดัดแปลงให้มีลักษณะต่างๆ ได้ตามต้องการ ตะกั่วที่ใช้ในอุตสาหกรรมมักจะอยู่ในรูปสารประกอบอนินทรีย์ของตะกั่วซึ่งมีทั้งในรูปแบบของโลหะผสมและสารเคมี เช่น บล๊อคตัวพิมพ์ ยาฆ่าแมลง หรืออาจอยู่ในรูปสารประกอบอินทรีย์ของตะกั่ว ได้แก่ เตตระเอทิลเลด ซึ่งใช้เติมในน้ำมันเบนซินเพื่อให้เครื่องยนต์เดินเรียบ (นภวิศ บัณฑิต, 2537) ตะกั่วได้ถูกนำมาใช้ในอุตสาหกรรมต่างๆ เป็นจำนวนมาก เช่น การผลิตลูกปืน สีทาบ้าน แบตเตอรี่ กระจก โรงงานถลุงแร่ตะกั่ว โรงงานถลุงตะกั่วจากแบตเตอรี่ การหลอมโลหะ ตะกั่วบัดกรี อุตสาหกรรม

เคมีและเกลือบางชนิดในผา อุตสาหกรรมปิโตรเคมี ใช้ในด้านการแพทย์ ด้านเกษตรกรรมโดยผสมในยาปราบศัตรูพืช

### 2.3 ความเป็นพิษของตะกั่ว

โรงงานอุตสาหกรรมส่วนใหญ่ที่ใช้ตะกั่วในกระบวนการผลิตมักจะปล่อยตะกั่วออกมาในรูปตะกั่ว(+2) เมื่อตะกั่วปนเปื้อนในสถานะแวดล้อมแล้ว ตะกั่วก็สามารถเข้าสู่ร่างกายได้โดยผ่านทางระบบต่างๆของร่างกาย ดังนี้

1. ระบบทางเดินอาหาร โดยรับประทานเข้าไปในรูปของอาหารและเครื่องดื่มที่มีตะกั่วปนเปื้อนอยู่หรือการรับประทานสิ่งที่ไม่ใช่อาหารโดยบังเอิญ และพบว่าในเด็กจะมีการดูดซึมสารตะกั่วจากทางเดินอาหารมากกว่าผู้ใหญ่

2. ระบบทางเดินหายใจ โดยการหายใจเอาอากาศที่มีการปนเปื้อนของสารตะกั่วเข้าไปซึ่งมักเกิดจากความไม่รู้เท่าไม่ถึงการณ์ เช่นการเผาวัสดุที่มีสารตะกั่วเป็นส่วนประกอบ การสูดดมน้ำมันเบนซินที่มีตะกั่วปน และการอาศัยอยู่ในสถานะแวดล้อมที่มีตะกั่วสูง

3. ผิวหนัง ตะกั่วสามารถถูกดูดซึมผ่านทางผิวหนังแล้วเข้าสู่ระบบหมุนเวียนโลหิตในร่างกาย โดยเฉพาะอย่างยิ่งสารตะกั่วอินทรีย์ สำหรับพวกตะกั่วอนินทรีย์จะถูกดูดซึมได้น้อยทางผิวหนังยกเว้นในกรณีหนังถลอกหรือมีบาดแผล (ศรีอโศก ,2533)

เมื่อตะกั่วเข้าสู่ร่างกายแล้วจะทำให้เกิดอาการแพ้ 2 ลักษณะ คือ ชนิดเฉียบพลันและเรื้อรัง หากเป็นชนิดเฉียบพลัน คนไข้จะรู้สึกมีรสโลหะหนักในปาก คอแห้ง ปวดแสบปวดร้อน ปวดท้องรุนแรง คลื่นไส้ อาเจียน ท้องร่วง มีอาการทางประสาท กล้ามเนื้ออ่อนเพลีย ปวดและเป็นตะคริว โดยเฉพาะที่ขา เชื่องซึม หมดความรู้สึกและอาจตายได้ภายใน 1 หรือ 2 วัน และอาการของชนิดเรื้อรัง ผู้ป่วยได้รับสารตะกั่วที่ละลายโดยบริโภคอาหารที่ทำจากสัตว์ที่มีโลหะหนักสะสมอยู่และค่อยๆสะสมในร่างกาย มีอาการอ่อนเพลีย เบื่ออาหาร น้ำหนักลด ท้องผูก ซึม อาเจียนเป็นครั้งคราว ปวดศีรษะ พบเส้นตะกั่วสีม่วงคล้ำที่เหงือก โลหิตจาง ในรายที่เป็นมากๆ จะเกิดอาการมือและเท้าตก เป็นอัมพาต

จะเห็นได้ว่าตะกั่ว(+2) เป็นอันตรายต่อสิ่งมีชีวิตต่างๆในระบบนิเวศน์ ดังนั้นน้ำทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรมที่มีตะกั่ว(+2)ปะปนมาควรจะได้รับการบำบัดก่อนระบายลงสู่แหล่งน้ำต่างๆ เพื่อลดผลกระทบที่จะมีต่อระบบนิเวศน์ตามธรรมชาติ

### 2.4 การกำจัดตะกั่วจากน้ำเสียก่อนจะปล่อยสู่แหล่งน้ำตามธรรมชาติ

#### 2.4.1 การกำจัดตะกั่วออกจากน้ำโดยวิธีทางเคมีและทางฟิสิกส์ (กุลยา จงศิริวัฒน์)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4.1.1 ไอออนเอกเชนจ์ (Ion exchange) เทคนิคนี้อาศัยเรซิน (resin) เป็นตัวแยกโลหะหนักออกจากสารละลาย โดยให้เกิดการแลกเปลี่ยนไอออนในสารละลายกับไอออนบนผิวเรซิน เรซินที่ใช้เป็นแคทไอออนเอกเชนจ์ เรซิน (cation exchange resin) เป็นพวกอินโซลูเบิล-ออร์แกนิก แอสิก (insoluble organic acid) ซึ่งอาจเป็นซัลโฟนิก แอซิก หรือคาร์บอกไซลิก แอซิก (sulfonic or carboxylic acid) จากรายงานของ Nazaki and Hatotami (1967) อ้างโดยกฤษยา จงศิริวัฒน์ ทดลองกำจัดตะกั่วที่มีอยู่ในรูปของเตตราเอทิลเลด (tetraethyl lead) โดยการใช้แคทไอออนเอกเชนจ์ เรซินพวกคาร์บอกไซลิก แอสิก พบว่า สามารถลดปริมาณตะกั่วจาก 126.7 ลงเหลือ 0.02 มิลลิกรัมต่อลูกบาศก์เดซิเมตร นอกจากนี้วิธีนี้ยังสามารถใช้กำจัดโลหะหนักแคดเมียม แต่เนื่องจากการกำจัดต้องใช้เรซิน ที่มีความจำเพาะเจาะจงจึงไม่ค่อยนิยมใช้นัก และวิธีนี้จะเหมาะสำหรับการกำจัดโลหะหนักที่มีปริมาณน้อย และให้ประสิทธิภาพในการกำจัดสูง นิยมใช้ในการกำจัดน้ำเสียจากโรงงานชุบไฟฟ้า เนื่องจากวิธีนี้มีข้อจำกัดกับชนิดของน้ำเสีย กล่าวคือ ถ้ามีสารปนเปื้อนชนิดอื่นอยู่จะต้องทำการกำจัดออกก่อนที่จะนำมาผ่านเรซิน เพื่อให้เกิดประสิทธิภาพในการทำงานสูงสุด เช่น น้ำเสียมีสารอินทรีย์ปนอยู่ก็จะต้องมีการกำจัดออกก่อน โดยการนำไปผ่านเข้าแอกติเวทเตด คาร์บอนคอลัมน์ (activated carbon column) ก่อนที่จะนำน้ำเสียเข้าสู่ไอออนเอกเชนจ์ต่อไป

2.4.1.2 การระเหย (Evaporation) เป็นวิธีต่างๆ ที่มีการใช้กันมากอีกวิธีหนึ่ง โดยใช้วิธีการกำจัดน้ำออกจากน้ำเสีย แต่จะใช้ได้ผลดีกรณีที่มีปริมาณโลหะหนักในน้ำเสียในปริมาณมากเท่านั้น และวิธีนี้มีปัญหาเกี่ยวกับราคาลงทุนสูง

2.4.1.3 รีเวิร์ส ออสโมซิส (Reverse osmosis) วิธีนี้ใช้กำจัดโลหะโดยใช้ความดันสูงผ่าน เซมิ-เพอร์มิเอเบิล เมมเบรน (semi-permeable membrane) ซึ่งจะยอมให้อิออนบางชนิดเท่านั้นที่แพร่ผ่านได้ แต่จะต้องใช้ความดันสูงกว่า 100 บรรยากาศ (atmosphere) และจะต้องเสียค่าใช้จ่ายในเรื่องของเมมเบรนที่จะต้องให้ทนต่อความดัน ความเป็นกรด-ด่าง ตัวอย่าง เมมเบรน (membrane) ที่ใช้ได้แก่ เซลลูโลส อะซิเตท (cellulose acetate) โพลีเอมีน (polyamide) โพลีฟูแรน (polyfuran) วิธีนี้ใช้กำจัดโลหะหนักในน้ำเสียจากโรงงานอุตสาหกรรมชุบไฟฟ้า (electroplating wastewater) น้ำเสียจากกระบวนการล้างภาพ (photographic processing effluents)

2.4.1.4 การสกัดด้วยตัวทำละลาย (Solvent extraction) เป็นวิธีการแยกโลหะหนักออกจากสารละลาย โดยการเติมตัวทำละลายซึ่งสามารถละลายโลหะหนักได้ดีกว่า แต่วิธีนี้มีข้อเสียคือค่าใช้จ่ายของ ตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดค่อนข้างสูง

2.4.1.5 อิเล็กโตรไดอะลิซิส (Electrodialysis) วิธีนี้จะแยกโลหะหนักโดยจะให้ผ่านเพอร์มิเอเบิล เมมเบรน (permeable membrane) โดยใช้กระแสไฟ ข้อเสียของวิธีการนี้คือราคาแพงฉะนั้นจึงไม่นิยมใช้

2.4.1.6 การทำให้ตกตะกอน (Precipitation) วิธีนี้เป็นวิธีที่นิยมใช้กันมาเป็นเวลานานแล้ว โดยมีสารเคมีลงไปในน้ำทิ้งเพื่อไปทำปฏิกิริยากับโลหะหนักที่ละลายอยู่ทำให้เกิดตะกอนแยกออกจากน้ำได้ โดยทั่วไปนิยมตกตะกอนโลหะหนักให้อยู่ในรูปตะกอนไฮดรอกไซด์โดยเติมแคลเซียมไฮดรอกไซด์ (calcium hydroxide) หรือโซเดียมไฮดรอกไซด์ (sodium hydroxide) แต่เนื่องจากแคลเซียมไฮดรอกไซด์มีราคาถูกกว่าจึงนิยมใช้มากกว่า สารเคมีชนิดอื่นๆ ที่นิยมใช้ถัดมาคือ โซเดียมคาร์บอเนต (sodium carbonate) ซึ่งความสามารถในการตกตะกอนโลหะหนักแต่ละชนิดจะแตกต่างกันออกไป เช่น แคลเซียม พบว่าสามารถตกตะกอนไฮดรอกไซด์ได้ดีที่พีเอชระหว่าง 9.5-12.5 ตะกั่วตกตะกอนไฮดรอกไซด์ได้ดีที่ พีเอชระหว่าง 9.2-9.5 ในกรณีของตะกั่วและสังกะสี (zinc) พบว่าถ้าปรับพีเอชให้สูงมากเกินไปจะทำให้เกิดพลัมเบท (plumbate) หรือซิงเคท (zincate) ซึ่งสามารถกลับไปละลายน้ำได้อีก การตกตะกอนไฮดรอกไซด์จึงต้องเลือกปรับพีเอชให้เหมาะสมสำหรับการตกตะกอนโลหะแต่ละชนิดในน้ำเสีย

2.4.1.7 ออกซิเดชัน-รีดักชัน (Oxidation-Reduction) ใช้มากในโรงงานชุบโลหะ ซึ่งมีสารประกอบโลหะหนักต่างๆ เจือปนอยู่ ในการกำจัดต้องทำการเติมสารเคมีลงไปเพื่อทำปฏิกิริยา ออกซิเดชัน-รีดักชัน กับโลหะหนักที่ต้องการกำจัด ทำให้โลหะหนักเปลี่ยนรูปไปเป็นสารประกอบอื่นๆ ที่ไม่เป็นพิษหรือตกตะกอนได้ สารเคมีตัวที่นิยมใช้เป็นตัวทำให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน เช่น ไฮโปคลอไรท์ (hypochlorite) เปอร์แมงกาเนต (permanganate) ส่วนสารเคมีที่ทำให้เกิดปฏิกิริยารีดักชัน ได้แก่ เฟอร์รัสซัลเฟต (ferrous sulfate) โซเดียมเมตาไบซัลไฟท์ (sodium metabisulfite) ซัลเฟอร์ไดออกไซด์ เป็นต้น

#### 2.4.2 การกำจัดตะกั่วด้วยวิธีทางชีววิทยา

จุลินทรีย์ที่ใช้ในการดูดซับโลหะหนักในน้ำเสียมียหลายประเภท ทั้งแบคทีเรีย ยีสต์ รา และสาหร่าย ซึ่งจะมีลักษณะการใช้อยู่ 2 แบบ คือการใช้ในรูปแบบของ active cell และ inactive cell ซึ่งการในรูปแบบ active cell มักมีปัญหาเรื่องปัจจัยที่ต้องควบคุมตามมามาก เช่น แหล่งอาหารสำหรับจุลินทรีย์ การปนเปื้อนโดยเชื้อจุลินทรีย์อื่นๆ ปริมาณสารพิษในน้ำเสีย และในบางกรณีก็พบว่า inactive cell สามารถดูดซับน้ำเสียได้มากกว่า active cell (Volesky, 1990)

ลักษณะการดูดซับโลหะหนักโดยจุลินทรีย์ จะแบ่งออกเป็น 2 ช่วง โดยช่วงแรกโลหะหนักจะถูกจับไว้ที่ผิวเซลล์ และช่วงที่สองจะเป็นการนำโลหะหนักเข้าสู่เซลล์ เพื่อกำจัดหรือลดความเป็นพิษต่อไป (Rapoport และ Muter, 1995) โดยกลไกในการดูดซับใน active cell และ inactive cell มีความแตกต่างกันคือ ใน active cell จะดูดซับโลหะหนักโดยอาศัยกลไกการนำสารเข้าสู่เซลล์ และกระบวนการเมตาบอลิซึมภายในเซลล์ ในส่วน inactive cell จะทำการดูดซับโดยอาศัยปฏิกิริยาทางเคมีที่เกิดกับหมู่ functional ขององค์ประกอบของผนังเซลล์ (Volesky, 1990)

2.4.2.1 หลักเกณฑ์ในการเลือกจุลินทรีย์ดูดซับโลหะหนัก(Volesky ,1987; McEidowney,1990 ; David,1993)

1. สามารถเพิ่มปริมาณชีวมวลได้ง่ายและรวดเร็ว โดยใช้ค่าใช้จ่ายต่ำ
2. สามารถดูดซับโลหะหนักได้หลายชนิด ไม่เฉพาะเจาะจงต่อโลหะชนิดใดชนิดหนึ่งเท่านั้นเพราะโลหะหนักในน้ำทิ้งส่วนใหญ่จะเป็นสารละลายโลหะผสม
3. สามารถดูดซับโลหะออกจากสารละลายได้อย่างรวดเร็วและมีประสิทธิภาพสูง
4. การแยกจุลินทรีย์ดูดซับจากสารละลาย ควรจะแยกได้ง่าย รวดเร็วและมีประสิทธิภาพสูงค่าใช้จ่ายต่ำ
5. วิธีการในการทำให้จุลินทรีย์ดูดซับปลดปล่อยโลหะหนักออกมานั้นควรทำได้ง่าย รวดเร็วและมีประสิทธิภาพสูง
6. สารเคมีที่ใช้ในการทำให้ปลดปล่อยโลหะออกมาควรมีราคาถูก หาได้ง่าย
7. การสูญเสียจุลินทรีย์ดูดซับเนื่องจากการทำให้จุลินทรีย์ดูดซับปลดปล่อยโลหะหนักออกมานั้นควรจะน้อยมาก
8. สามารถนำจุลินทรีย์กลับมาใช้ดูดซับโลหะหนักใหม่ได้

2.4.2.2 วิธีการดูดซับโลหะหนักโดยจุลินทรีย์ (David,1993)

1. จุลินทรีย์ดูดซับจะดูดซับโลหะหนักจากสารละลายโดยการดูดซับโลหะหนักมาไว้ที่ผนังเซลล์(การสะสมภายนอกเซลล์) โลหะหนักสามารถสะสมและตกตะกอนได้บริเวณผิวเซลล์ การดูดซับโลหะหนักโดยจุลินทรีย์หรือเซลล์ของสาหร่ายเกี่ยวข้องกับกลไกทางเคมีและทางโครงสร้างของเซลล์ซึ่งไม่เกี่ยวข้องกับขบวนการสร้างพลังงาน มีการเชื่อมกันบางส่วนของโลหะกับบริเวณผิวที่ถูกดูดซับและสะสมตกตะกอนอยู่สามารถนำออกจากของเสียได้ ขบวนการดูดซับที่ผิวเซลล์สามารถเกิดได้ทั้งในเซลล์ที่ตายแล้ว หรือในเซลล์ที่มีชีวิตอยู่ ความสามารถที่ใช้เซลล์จุลินทรีย์ที่ตายแล้วในระบบการดูดซับจะมีความสามารถในการกำจัดสาร ได้มากกว่าเซลล์ที่มีชีวิต (Volesky,1990) กลไกต่างๆ ที่ผิวเซลล์มีการดูดซับซึ่งสามารถทำการวิเคราะห์ และพบว่ามีการกลไกต่างๆคือ cation exchange , complexation หรือ co-ordination , chelation และการตกตะกอน ขบวนการเหล่านี้จะเกิดขึ้นขบวนการเดียวหรือหลายๆขบวนการ ขึ้นอยู่กับชนิดของโลหะ ชนิดของจุลินทรีย์ โดยแบคทีเรียและสาหร่ายมี โครงสร้าง ลักษณะของผนังเซลล์ต่างกัน (McEidowney,1990;David,1993) ผนังเซลล์แบคทีเรีย รา และสาหร่าย จะประกอบด้วยโมเลกุลขนาดใหญ่ มีความซับซ้อน ผนังเซลล์ของพวกยีสต์และรา จะประกอบด้วยแมนแนน โพลีแซกคาไรด์ กาแลคโตซามีน ไคติน โปรตีนและไขมัน ส่วนผนังเซลล์ของพวกสาหร่ายจะประกอบด้วย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เซลล์โลส และสารพวกเจลลาติน โครงสร้างโมเลกุลและส่วนประกอบของโมเลกุลของผนังเซลล์แตกต่างกันขึ้นอยู่กับกลุ่มของเชื้อรา แต่มีเซลล์โลสเป็นส่วนประกอบพื้นฐาน ลักษณะของผิวเซลล์ของสาหร่ายหลากหลายขึ้นอยู่กับส่วนประกอบทางชีวเคมี แบคทีเรียส่วนใหญ่เป็นแกรมลบ เช่น *Pseudomonas* หรือเป็นแกรมบวก เช่น ความ *Bacillus* ซึ่งเปลี่ยนแปลงไปตามส่วนสำคัญของโครงสร้าง และส่วนประกอบของผนังเซลล์ของแบคทีเรีย แบคทีเรียจะมีมิวโคโพลีแซ็กคาไรด์เปปติโดไกลแคนเป็นส่วนประกอบที่สำคัญ โดยจะมีปริมาณมากในพวกแกรมบวก แบคทีเรียแกรมบวกส่วนมาก จะมี ไทโคอิก แอซิด (teichoic acid) ซึ่งเกี่ยวข้องกับ เปปติโดไกลแคน ส่วนแบคทีเรียแกรมลบจะมี โกลิโปลิแซ็กคาไรด์ ไขมัน และ โปรตีนเป็นส่วนประกอบหลักของผนังเซลล์ ซึ่งส่วนประกอบหลักเหล่านี้ จะเรียงตัวอยู่เหนือชั้นเปปติโดไกลแคนอีกทีหนึ่ง ผนังเซลล์จะแสดงลักษณะไอออนลบกับสถานะแวดล้อมโดยรอบ ซึ่งเกิดเนื่องจากการมี หมู่คาร์บอกซิล ไฮดรอกซิล ซัลฟิเลและฟอสฟิเลนั่นเอง โดยหมู่ที่มี ไอออนเหล่านี้มีความสำคัญเฉพาะกับ การจับคู่กับพวก ไอออนบวกส่วนพวกที่ไม่มีประจุในผนังเซลล์ก็อาจจะทำหน้าที่เป็นลิแกนด์ เพื่อความสมบูรณ์ของ จำนวนเลขโคออดิเนชันของ ไอออนบวกของ โลหะ เช่น อะตอมของ ไนโตรเจน ในพันธะเปปไทด์

ด้วยเหตุที่ส่วนประกอบในรายละเอียด และการจัดเรียงภายในโมเลกุลของผนังเซลล์ จะเป็นผลมาจาก ชนิดของหมู่ที่มีขั้ว และทำให้การกระจายของประจุภายในผนังเซลล์ขึ้นอยู่กับชนิดของจุลินทรีย์ด้วย ความแตกต่างของการดูดซับโลหะระหว่างชนิดและสายพันธุ์ของจุลินทรีย์ พบว่าสภาพการเจริญ ภูมิ ผลดี ลักษณะของผนังเซลล์ โดยเฉพาะผนังเซลล์ ของแบคทีเรีย (McEldowney, 1990; David, 1993) ประจุที่ผิวของเซลล์และลักษณะของโมเลกุลสามารถดัดแปลงได้ด้วยวิธีทางเคมี เช่นการใช้แอลกอฮอล์หรือ โปแตสเซียมไฮดรอกไซด์ หรือโดยวิธีทางกายภาพ เช่น การให้ความร้อนซึ่งจะทำให้เกิดการเสียดสภาพหรือเกิดการละลายได้

ดังนั้นจึงมีความจำเป็นที่จะต้องควบคุม โลหะหนักหรือสายพันธุ์ของจุลินทรีย์ให้มีความเหมาะสมที่จะดูดซับ โดยการควบคุมสถานะการเจริญของจุลินทรีย์โดยเลือกชีวมวลที่เหมาะสม โดยทำให้ผิวเซลล์ของจุลินทรีย์มีลักษณะตามที่ต้องการ ปรับปรุงชีวมวลโดยวิธีทางเคมี หรือทางกายภาพตลอดจนควบคุมพันธุกรรมของจุลินทรีย์ ที่ถูกเลือกในการปรับปรุงผิวเซลล์ให้สามารถจับกับโลหะหนักได้ดีขึ้น

กลไกที่โลหะหนักจะเกิดพันธะหรือการดูดซับกับผิวเซลล์ขึ้นกับชนิดของชีวมวล และปฏิกิริยาเคมีของการดูดซับที่เกิดขึ้นกับโลหะ เช่น ปฏิกิริยาการดูดซับยูเรเนียมกับผิวเซลล์จุลินทรีย์อธิบายถึงความเหมาะสมของลักษณะ และความซับซ้อนของปฏิกิริยาที่เกี่ยวข้องได้และ ยังสามารถประยุกต์ใช้กับการดูดซับโลหะหนักตัวอื่นได้อีกด้วย

เกี่ยวข้องกับปฏิกิริยาคิว โดยบริเวณแอกทีฟต่างๆและหมู่ลิแกนด์จะเกี่ยวข้องกับไอออนของยูเรนิลบางบริเวณอย่างเช่น หมู่คาร์บอกซิล และฟอสฟิเลสสร้างพันธะปรุณภูมิกับยูเรเนียม ในขณะที่พันธะอย่างอ่อน (พันธะทุติยภูมิ) จะถูกสร้างขึ้นที่บริเวณผิวกับหมู่พวกไฮดรอกซิล และเอมิลเป็นต้น บริเวณทุติยภูมิ ซึ่งจะทำให้เกิดลักษณะที่ซับซ้อนขึ้นกับบริเวณปรุณภูมิ (Tobin, *et al.*, 1984; David, 1993) ซึ่งความซับซ้อน (แบบที่ไม่เป็นstoichiometric) ของไอออนยูเรเนียม และระดับของการสะสมทำให้มีความเป็นไปได้ว่าบริเวณที่ไม่เป็นไอออนของผิวเซลล์อาจเกี่ยวข้องกับ การตกผลึกของโลหะที่เพิ่มขึ้นของบริเวณยูเรเนียมที่ซับซ้อนนั่นเอง ซึ่งโลหะที่มาเชื่อมก่อนหน้า นี้ จะทำหน้าที่เสมือนบริเวณนิวเคลียส (nucleation) เพื่อลดจำนวนโลหะตัวอื่นๆ กระบวนการนี้ สามารถเกิดขึ้นเองโดยลำพังที่จุดเชื่อมด้วยกลไกการดูดซับที่ผิวกลไกต่างๆไปของการดูดซับซึ่งเป็นเพียงปฏิกิริยาการตกตะกอน (Beveridge, 1978; David, 1993) เช่นปฏิกิริยาการตกตะกอนโดยเชื้อ *Citrobacter sp.* ซึ่งดูดซับยูเรเนียมในรูปของยูเรเนียมฟอสเฟตที่ไม่ละลายไว้ที่ผนังเซลล์ โดย เอนไซม์ ฟอสฟาเตส ซึ่งถูกสร้างโดยแบคทีเรียจะตกตะกอนยูเรเนียมไว้ที่ผิวเซลล์ (Macaskie, 1990; David, 1993)

กระบวนการแลกเปลี่ยนไอออนบวก และปฏิกิริยาการตกตะกอน สามารถเกิดโดยลำพัง หรือเกิดพร้อมกัน หรืออาจเกิดร่วมกันแบบต่อเนื่องด้วยปฏิกิริยานิวเคลียสก็ได้ ความหลากหลายนี้เกิดกับสิ่งมีชีวิต และโลหะภายใต้สิ่งที่ควรพิจารณา เช่น *Rhizopus arrhizus* ประกอบด้วยกลไกการสะสมยูเรเนียมถึงสามกลไก ซึ่งกลไกทั้งสามเหล่านี้มีความสัมพันธ์กันอย่างใกล้ชิด ในขั้นแรก ยูเรเนียมไอออนจะรวมกับไนโตรเจนในหมู่อะมิโนของไคติน ภายในผนังเซลล์ และบริเวณที่เกิดปฏิกิริยาร่วมนี้ จะทำหน้าที่เสมือนบริเวณที่เกิดนิวเคลียสสำหรับการตกผลึกและการลดจำนวนยูเรเนียมในครั้งต่อไปด้วย ส่วนกระบวนการสุดท้ายจะเกี่ยวข้องกับกระบวนการตกตะกอนยูเรนิลไฮดรอกไซด์ ภายในไคตินของผนังเซลล์กระบวนการหลังนี้จะเกิดขึ้นซ้ำ (Tsezos and Volesky, 1982; David, 1993)

กลไกเหล่านี้ น่าจะเกิดขึ้นได้ในผนังเซลล์ของสาหร่ายด้วย ในผนังเซลล์ของสาหร่ายมีหมู่คาร์บอกซิล เอมิล ไฮดรอกซิล ฟอสฟิเลส เอไมด์ อิมิดาโซล ไซออล และไซโออีเธอร์ สาหร่ายจำนวนมากมีความสำคัญในการดูดซับโลหะซึ่งรวมทั้ง *Chlorella* และ *Ulothrix* (Gadd, 1992; David, 1993)

2. จุลินทรีย์ที่ดูดซับจะดูดซับโลหะหนักจากสารละลายโดยการดูดซับโลหะหนักเข้าไป สะสมไว้ในเซลล์

กลไกการขนส่งสารรวมทั้งโลหะที่ศึกษามีอยู่ 3 กระบวนการ ทั้งในโปรคาริโอต และยูคาริโอตมีดังนี้ ได้แก่ การแพร่ (diffusion) แบบธรรมดา การแพร่แบบ facilitated diffusion และกระบวนการ active transport (Levi and Linkletter, 1989; Brierley, *et al.*, 1989; David, 1993)

### การแพร่ (diffusion)

การแพร่แบบธรรมดา ของไอออนเกิดจากการตอบสนองทางเคมีไฟฟ้าของเซลล์เมมเบรน หรือ ความแตกต่างของความเข้มข้นระหว่างเมมเบรน พบว่า ระดับความแตกต่างของความเข้มข้นจะค่อยๆลดลง เมื่อ มีการแพร่จาก ความเข้มข้นสูงสู่จุดที่มีความเข้มข้นต่ำ จนในที่สุด ความเข้มข้น

โลหะหนักสามารถสะสมในจุลินทรีย์ ได้จากขบวนการแพร่และขบวนการแอกทีฟทรานสปอร์ต โดยเฉพาะในระบบชั้นทุติยภูมิของแบคทีเรีย การสะสมสารเหล่านี้ภายในเซลล์ค่อนข้างเป็นไปได้ยากเพราะต้องขึ้นกับปัจจัยต่างๆ เช่น สภาพแวดล้อมของจุลินทรีย์ ความจำเพาะของสารที่จะส่งผ่านเมมเบรนของเซลล์ สภาพสรีระวิทยาของจุลินทรีย์ อัตราเมตาบอลิซึมของเซลล์ ซึ่งถ้าอยู่ในระดับต่ำเซลล์จะมีพลังงานไม่พอที่จะใช้ขบวนการแอกทีฟทรานสปอร์ต นำสารเข้าสู่เซลล์ ซึ่งขบวนการนี้เป็นขบวนการหลักในการบำบัดของเสียโดยวิธีทางชีวภาพให้ได้มีประสิทธิภาพ

3. จุลินทรีย์จะดูดซับโลหะหนักจากสารละลาย โดยการผลิตสารเมตาบอไลต์ แล้วขับออกนอกเซลล์เพื่อสร้างสารประกอบเชิงซ้อนกับโลหะหนัก ซึ่งจะทำให้โลหะหนักในสารละลายลดลงได้

ความหลากหลายของโพลิเมอร์ชีวภาพสามารถใช้เป็นตัวจับโลหะได้ โพลิเมอร์ชีวภาพเหล่านี้ได้แก่ โพลีแซคคาไรด์ โปรตีนและโพลิฟีนอลิครวมทั้งโพลิเมอร์อื่นๆ ที่มีความสัมพันธ์กัน (Hunt,1986;David,1986) โลหะที่จับโพลิเมอร์ชีวภาพนั้นจะผ่านกระบวนการทางชีวภาพต่อไปนี้

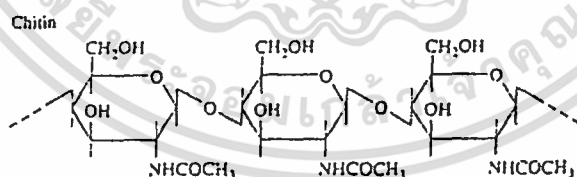
1. ปฏิกิริยาของประจุลบ โพลิเมอร์ชีวภาพจำนวนมากมักจะมีประจุลบ โดยความหนาแน่นของประจุจะแปรเปลี่ยนไปตามชนิดของโพลิเมอร์

2. หมู่ที่ทำหน้าที่ของโพลิเมอร์ชีวภาพที่อาจจะเข้าทำปฏิกิริยากับโลหะเช่น หมู่ไธออล (-SH) โดยซัลเฟอร์จะทำตัวเป็นอะตอมของผู้ให้ ความสามารถในการละลายของโพลิเมอร์ชีวภาพจะแปรผันตามน้ำหนักโมเลกุลของโพลิเมอร์ ชนิดของโพลิเมอร์ และสภาวะแวดล้อม (Ashley and Roach,1990;David,1993) โพลีแซคคาไรด์ประกอบไปด้วยโมโนเมอร์เบต้า 1-4 กลูโคสซึ่งเรียกว่า โมโนแซคคาไรด์พบได้ทั้งในพืช สัตว์รวมทั้งจุลินทรีย์ ความแตกต่างที่สำคัญของโพลีแซคคาไรด์ที่ถูกสร้างโดยจุลินทรีย์ คือ แบคทีเรียอาจสร้างโพลิเมอร์ออกมามากมายนอกอย่างไม่แน่น โดยเกี่ยวข้องกับผนังเซลล์หรืออาจสร้างชั้นเจลลาตินหรือแคปซูลขึ้นมาล้อมผนังเซลล์ก็ได้ ซึ่งโพลิเมอร์ที่มีสภาพเป็นกรดที่จุลินทรีย์สร้างขึ้นมาเหล่านี้จะมีลักษณะเป็นไฮโดรฟิลิกและมีขั้วรวมทั้งจับกับโลหะได้ดีมากโดยโพลิเมอร์เหล่านี้จะประกอบด้วย เพนโตส เฮกโซส เฮปโตส น้ำตาลอะมิโน และกรดเฮกซูโรอิกซึ่งขึ้นอยู่กับสปีชีส์ของแบคทีเรีย ในการผลิตโพลิเมอร์ขึ้นมาไว้ภายนอกเซลล์นั้นทั้งปริมาณและโครงสร้างโมเลกุลอาจได้รับผลจากสภาพการเจริญได้ เช่นอัตรา

ส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนสูงจะทำให้มีการสร้างโพลิเมอร์ดังกล่าว ในแบคทีเรียหลายพวกการเพิ่มปริมาณโพลิเมอร์จะขึ้นกับการใช้ไปในการจับโลหะด้วย โพลิเมอร์ไม่เพียงแต่จับไอออนของโลหะหนักเท่านั้นแต่ยัง entrap อนุภาคโลหะที่ไม่ละลายน้ำด้วย

การกำจัดตะกอนและแคดเมียมในระบบตะกอนเร่งสามารถใช้แบคทีเรีย *Zoogloea ramigera* กำจัดได้โดยเชื้อจะสร้างโพลิเมอร์ออกมาภายนอก ซึ่งเป็นโพลิเมอร์ที่ประกอบด้วย กลูโคส กาแลกโตสและไฟรูเวทโดยสร้างที่อัตราส่วนของคาร์บอนต่อไนโตรเจนเท่ากับ 10 ต่อ 1 และเซลล์สามารถจับโลหะได้ 0.30-0.10 กรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง (Hunt,1986;David,1993) สัตว์ก็สามารถสร้างโพลิแซคคาไรด์ซึ่งมีความสามารถในการดูดซับโลหะ ได้อย่างเช่น ไคตินซึ่งเป็นส่วนสำคัญของผนังเซลล์ของพวกราและยังเป็นโครงสร้างหลักของพวกกุ้งและปู โดยไคตินจะประกอบด้วยเบต้า 1-4 ต่อกับ N-acetyl glucosamine โมโนเมอร์ซึ่งต่อกันเป็นสายยาวจัดเป็นโพลิเมอร์ที่มีลักษณะเป็น crystalline และไม่ละลายน้ำ ไคตินมีคุณสมบัติในการดูดซับโลหะหนักได้ (Macaskie and Dean,1990;David,1993)

สำหรับโพลิเมอร์จากธรรมชาติอื่นๆเช่น อัลจินตและคาราจีแนนซึ่งได้จากสาหร่ายทะเล เป็นทั้งโพลิเมอร์ที่มีสภาพเป็นกลางและโพลิเมอร์ที่มีประจุลบซึ่งเป็น ชั้นมูซิเลต (mucilage layer) รอบๆที่ได้จากพวกสาหร่ายทะเล ในส่วนมูซิเลตของสาหร่ายจะมีคุณสมบัติที่จับกับไอออนบวกกับหมู่คาร์บอกซิลและเอสเทอร์ซัลเฟต



รูปที่ 2.1 แสดงโครงสร้างไคติน

#### 2.4.2.3 ปัจจัยที่มีผลกระทบต่อปริมาณการดูดซับโลหะหนัก

กระบวนการดูดซับโลหะหนักขึ้นอยู่กับลักษณะทางเคมีของไอออนโลหะหนัก คุณสมบัติที่จำเพาะเจาะจงของผิวเซลล์จุลินทรีย์ ลักษณะทางกายภาพของเซลล์

และลักษณะทางเคมีกายภาพของสิ่งแวดล้อม เช่น พีเอช (pH) อุณหภูมิ (temperature) สายพันธุ์ของเชื้อจุลินทรีย์ และระดับความเข้มข้นของโลหะหนัก (Sag, et al., 1995)

#### ผลกระทบของพีเอช (pH)

การดูดซับตะกั่วโดยใช้จุลินทรีย์ค่าของพีเอช ที่ใช้จะต้องมีค่าเหนือจุดสมดุลย์ของความเข้มข้นไอออนระหว่างสารละลายโลหะหนักกับผิวเซลล์จุลินทรีย์ (Isoelectric point) ซึ่งมันจะมีผลทำให้ผิวเซลล์มีประจุสุทธิเป็นลบ ทำให้เกิดการดูดซับตะกั่วได้ดียิ่งขึ้น แต่ในทางกลับกัน ถ้าพีเอชที่ใช้มีค่าต่ำกว่าจุดสมดุลย์ (Isoelectric point) ดังกล่าวแล้ว จะทำให้ประจุสุทธิที่อยู่หน้าเซลล์เป็นบวก ทำให้เกิดการขัดขวางการจับกันระหว่าง เซลล์จุลินทรีย์กับไอออนบวกของตะกั่ว การดูดซับโลหะหนักจึงเกิดขึ้นได้น้อยลง (Sag, et al., 1995) และพีเอชที่ต่ำกว่า 4.5 มีผลให้การดูดซับโลหะหนักลดลง เนื่องจากความเป็นกรดที่เกิดขึ้นจะไปสลายสารโพลีแซกคาไรด์ที่อยู่ตรงบริเวณผนังเซลล์เกิดการสลายพันธะระหว่างไอออนบวกของโลหะกับผนังเซลล์ของแบคทีเรียและความเป็นกรดที่เพิ่มขึ้นส่งผลให้ความเข้มข้นของไฮโดรเจนไอออนสูงเข้าไปแย่งจับบริเวณผนังเซลล์ของจุลินทรีย์ทำให้เกิดการดูดซับโลหะหนักได้น้อยลง ตามไปด้วย (Anders and Hans, 1983) ผลกระทบที่เกิดขึ้นบริเวณผิวเซลล์มี 2 ลักษณะ คือกลไกการดูดซับโลหะหนักที่ผิวหน้าของเซลล์จุลินทรีย์และ สภาพทางเคมีกายภาพที่จะทำปฏิกิริยาต่อไอออนของสารละลายและพื้นผิวของเซลล์ที่ใช้ในการดูดซับ

Ayla Ozer และคณะ (1997) ได้ทำการศึกษาการดูดซับตะกั่วโดยใช้ เซลล์แห้งของเชื้อรา *Rhizopus arrhizus* ที่พีเอชในช่วง 4-5 พบว่าพีเอชที่เหมาะสมต่อการดูดซับสารตะกั่ว คือ 4-4.5 สามารถดูดซับสารตะกั่วได้ถึง ร้อยละ 56

Anders และ Norberg และ Hans Persson (1983) ใช้เชื้อแบคทีเรีย *Zoogloea ramigera* ดูดซับโลหะหนัก ยูเรเนียม คอปเปอร์ แคดเมียม พบว่า พีเอชที่เหมาะสมต่อการดูดซับคือ 3.5 5.5 6.5 เท่ากับ 0.37 0.323 และ 0.171 มิลลิกรัมต่อกรัม ตามลำดับ

Sag และคณะ (1995) ทำการศึกษาการดูดซับสารตะกั่วโดยใช้เชื้อแบคทีเรีย *Zoogloea ramigera* และ เชื้อรา *Rhizopus arrhizus* ภายใต้สภาวะการเลี้ยงที่มีความเข้มข้นของจุลินทรีย์ที่ 1.0 กรัมต่อลิตร ความเข้มข้นของโลหะเริ่มต้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าช่วงพีเอชที่เหมาะสมต่อการดูดซับสารตะกั่วของเชื้อทั้งสองเท่ากับ 4.5-5 สามารถดูดซับได้ 7.0 และ 5.4 มิลลิกรัมต่อกรัมเซลล์แห้งต่อนาที่ ตามลำดับ

Eric Fourest and Jean-Claude Roux (1992) ได้ทำการศึกษาโดยการใช้เชื้อรา *Rhizopus arrhizus* ที่เป็นผลพลอยได้จากอุตสาหกรรมการหมัก เพื่อผลิตเอนไซม์ไลเปส เพื่อทำการดูดซับ

โลหะหนัก โดยศึกษาถึงอิทธิพลของพีเอช แล้วพบว่าพีเอชที่เหมาะสมในการดูดซับสารตะกั่ว เท่ากับ 5 โดยสามารถดูดซับได้ 55.6 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้งของเชื้อรา

Jian Hua Wang และคณะ (1993) ศึกษาการดูดซับสารตะกั่วโดยใช้เชื้อรา *Penicillium sp.* ที่ไม่มีชีวิต พบว่า พีเอชที่เหมาะสมต่อการดูดซับสารตะกั่วมีค่าเท่ากับ 4.5 โดยสามารถดูดซับได้เท่ากับ 116 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง

#### ผลกระทบของอุณหภูมิ (temperature)

อุณหภูมิ จะมีอิทธิพลต่อประสิทธิภาพการดูดซับโลหะหนักคือเมื่อเพิ่มอุณหภูมิพบว่าจะมีการดูดซับโลหะหนักได้มากขึ้น (Sag *et al.*,1995) ในเชื้อจุลินทรีย์บางชนิดเช่น ยีสต์ ที่อุณหภูมิ ต่ำกว่า 25 องศาเซลเซียส จะทำให้ ขบวนการเมตาโบลิค ของเซลล์เกิดขึ้นได้น้อยหรือไม่เกิดขึ้นเลยซึ่งมีผลทำให้การดูดซับโลหะหนักลดต่ำลง โดยทั่วไปแล้วการทดลองส่วนใหญ่จะนิยมใช้อุณหภูมิในช่วง 25-35 องศาเซลเซียส ซึ่งถือว่าเป็นช่วงอุณหภูมิ ที่จะทำให้เกิดการดูดซับโลหะหนักได้สูงสุด (Brady and Duncan, 1994)

Sag และ คณะ (1992) ทำการเปรียบเทียบความสามารถของตัวดูดซับในการดูดซับโครเมียม(+6) โดยใช้เชื้อแบคทีเรีย *Zoogloea ramigera* และ เชื้อรา *Rhizopus arrhizus* ภายใต้สภาวะที่เหมาะสมคือความเข้มข้นของโลหะหนักเริ่มต้น เท่ากับ 75 และ 125 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าช่วงอุณหภูมิที่เหมาะสมของการดูดซับของเชื้อทั้งสองชนิด อยู่ในช่วง 25 และ 35 องศาเซลเซียส ตามลำดับ และสามารถดูดซับโครเมียม(+6)ได้ 3.40 และ 8.40 มิลลิกรัมต่อกรัมเซลล์แห้งต่อนาที่ตามลำดับ

Sag และคณะ (1995) ทำการศึกษาผลของอุณหภูมิต่อการดูดซับสารตะกั่วโดยใช้เชื้อแบคทีเรีย *Zoogloea ramigera* และ เชื้อรา *Rhizopus arrhizus* ภายใต้สภาวะที่มีความเข้มข้นของโลหะหนักเริ่มต้น เท่ากับ 100 มิลลิกรัมต่อลิตร การเขย่า 150 รอบต่อนาที่ ความเข้มข้นของเชื้อ 1.0 กรัมต่อลิตร พบว่าช่วงอุณหภูมิที่เหมาะสมของการดูดซับของเชื้อทั้งสองชนิดอยู่ในช่วง 35-45 องศาเซลเซียส สามารถดูดซับได้ 12.8 และ 13.4 มิลลิกรัมต่อ กรัมเซลล์แห้งต่อนาที่ ตามลำดับ

#### ผลกระทบของความเข้มข้นของโลหะหนัก

ความเข้มข้นของโลหะหนักเริ่มต้นในสารละลายมีผลกระทบต่อประสิทธิภาพในการดูดซับโลหะหนัก พบว่าเมื่อเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ในสภาวะที่มีค่าพีเอช และอุณหภูมิ ที่เหมาะสม เมื่อทำการเพิ่มความเข้มข้นเริ่มต้นของโลหะหนักลงไป ในสารละลาย จะทำให้การดูดซับโลหะหนักของจุลินทรีย์สูงตามขึ้นไปด้วยจนกระทั่งถึงจุดสมดุลของการดูดซับ หลังจากนั้นการเพิ่มความเข้มข้นเริ่มต้นของโลหะหนักต่อไปอีก จะมีผลทำให้การดูดซับโลหะหนักลดต่ำลง เนื่องจากพื้นที่ผิวของจุลินทรีย์บริเวณที่ใช้ในการดูดซับต่ำลง ทำให้การดูดซับลดต่ำ

ลงในที่สุด (Ayla Ozer, et al., 1997) ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ความเข้มข้นของโลหะหนักที่ จุลินทรีย์ สามารถดูดซับได้ มีความสัมพันธ์กับความเข้มข้นของโลหะหนักในแหล่งน้ำเสียต่างๆ นั่นคือ ถ้าความเข้มข้นของโลหะหนักในแหล่งน้ำเสียมีค่าสูงกว่าความสามารถสูงสุดในการดูดซับ โลหะหนักของเชื้อจุลินทรีย์แล้วจำเป็นต้องเจือจางน้ำเสียด้วยน้ำปะปา ให้มีความเข้มข้นของโลหะ หนักในระดับที่จุลินทรีย์จะสามารถทำการดูดซับได้ (Sag, et al., 1995)

Sag และคณะ (1995) ทำการศึกษาผลของความเข้มข้นเริ่มต้นต่อการดูดซับสารตะกั่วโดยใช้เชื้อแบคทีเรีย *Zoogloea ramigera* และ เชื้อรา *Rhizopus arrhizus* ภายใต้สภาวะที่มีความเข้มข้น ของโลหะหนักเริ่มต้นในช่วง 200 -300 มิลลิกรัมต่อลิตร ช่วงพีเอช 4.5 -5 อัตราการเขย่า 150 รอบ ต่อนาที ความเข้มข้นของเชื้อ 1.0 กรัมต่อลิตร พบว่า ช่วงอุณหภูมิที่เหมาะสมของการดูดซับสาร ตะกั่วของเชื้อทั้งสองชนิด อยู่ในช่วง 35-45 องศาเซลเซียส สามารถดูดซับได้ 10.4 และ 13.4 มิลลิกรัมต่อกรัมเซลล์แห้งต่อนาที ตามลำดับ



### บทที่ 3

#### อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

##### 3.1 เชื้อจุลินทรีย์

เชื้อแบคทีเรีย *Zoogloea ramigera* TISTR 1329

เชื้อรา *Rhizopus arrhizus* TISTR 3129

ได้มาจากภาควิชาจุลชีววิทยาและเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย

##### 3.2 เครื่องมือ และอุปกรณ์

เครื่องแก้ว

เครื่องเขย่า (shaker)

เครื่องหมุนเหวี่ยง (centrifuge)

เครื่องวัดพีเอช (pH meter)

เครื่องชั่ง (balance)

ตู้อบ (hot air oven)

เครื่องปั่น (blender)

เครื่องกรอง (filter)

AAS (atomic-absorption spectrophotometer)

##### 3.3 การเตรียมเชื้อแบคทีเรีย *Zoogloea ramigera*

3.3.1 ถ่ายเชื้อแบคทีเรีย *Zoogloea ramigera* จากหลอดอาหารเอียงลงในพลาสติก ขนาด 250 มิลลิลิตร ที่บรรจุอาหารเหลวสำหรับเลี้ยงแบคทีเรีย *Z. ramigera* (ภาคผนวก ก) จำนวน 100 มิลลิลิตร เลี้ยงที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส บนเครื่องเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที เป็นเวลา 132 ชั่วโมง

3.3.2 เก็บเกี่ยวเซลล์โดยนำสารแขวนลอยมาปั่นเหวี่ยงที่ 7000 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 3 นาที

3.3.3 ล้างเซลล์ด้วยน้ำกลั่น 2 ครั้ง

3.3.4 นำไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมงแล้วเก็บไว้ในตู้แช่แข็ง

3.3.5 นำเซลล์แห้งที่ได้ไปดูดซับสารละลายตะกั่ว

### 3.4 การเตรียมเชื้อรา *Rhizopus arrhizus*

3.4.1 ถ่ายเชื้อรา *Rhizopus arrhizus* จากหลอดอาหารเอียงลงในพลาสติกขนาด 250 มิลลิลิตร ที่บรรจุอาหารเหลวสำหรับเลี้ยง *R. arrhizus* (ภาคผนวก ก) จำนวน 100 มิลลิลิตร เลี้ยงที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส บนเครื่องเขย่า 150 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 วัน โดยต้องปรับพีเอชของอาหารให้เป็น 5.5 โดยใช้ 1 โมลต่อลิตรของกรดซัลฟิวริกและโซเดียมไฮดรอกไซด์

3.4.2 เก็บเกี่ยวเซลล์เชื้อรา โดยนำสารแขวนลอยของเซลล์มากรองโดยใช้กระดาษกรองเบอร์ 1

3.4.3 ล้างเซลล์เชื้อราที่แยกได้โดยใช้น้ำกลั่น 2 ครั้ง

3.4.4 นำไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมงแล้วเก็บในตู้แช่แข็ง

3.4.5 นำเซลล์แห้งที่ได้ไปดูดซับสารละลายตะกั่ว

### 3.5 การทดสอบการดูดซับตะกั่ว

#### 3.5.1 พีเอช

(1) เตรียมสารละลายตะกั่ว(+2)ที่มีความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร ในพลาสติกขนาด 250 มิลลิลิตร ปริมาตร 50 มิลลิลิตร

(2) ปรับพีเอชให้เป็น 4.0 4.5 5.0 5.5 ตามลำดับ (ทำพีเอชละ 3 ข้าง) โดยใช้ 1 โมลต่อ ลิตรของกรดไนตริกและโซเดียมไฮดรอกไซด์

(3) ใส่เซลล์แห้งของเชื้อแบคทีเรีย *Z. ramigera* (ข้อ3.3) และเชื้อรา *R. arrhizus* (ข้อ3.4) ที่ใช้ในการทดสอบลงในสารละลายตะกั่วที่เตรียมไว้พลาสติกละ 0.05 กรัม (ความเข้มข้นของเซลล์เท่ากับ 1 กรัมน้ำหนักแห้งต่อ 1 ลิตรของสารละลายตะกั่ว)

(4) นำไปวางบนเครื่องเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง (31 องศาเซลเซียส)

(5) เก็บตัวอย่างไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 7000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 3นาที

(6) นำสารละลายส่วนใสไปวิเคราะห์หาปริมาณตะกั่ว(+2) โดยใช้เครื่อง AAS (atomic-absorption spectrophotometer) ที่ความยาวคลื่น 217 นาโนเมตร

(7) นำค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างที่พีเอชต่างๆ ไปเทียบหาปริมาณตะกั่ว(+2) เทียบกับกราฟมาตรฐาน

### 3.5.2 อูมทงุมิ

(1) เตรียมสารละลายตะกั่ว(+2) ที่มีความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตรในพลาสติกขนาด 250 มิลลิลิตร ปริมาตร 50 มิลลิลิตร

(2) ปรับพีเอชให้เท่ากับ พีเอชเหมาะสมที่ได้จากข้อ 3.5.1 โดยใช้ 1 โมลต่อลิตร ของกรดไนตริกและโซเดียมไฮดรอกไซด์

(3) ใส่เซลล์แห่งของเชื้อแบคทีเรีย *Z. ramigera* (ข้อ3.3) และเชื้อรา *R. arrhizus* (ข้อ3.4) ที่ต้องการทดสอบลงในสารละลายตะกั่วที่เตรียมไว้ พลาสติกละ 0.05 กรัม (ความเข้มข้นของเซลล์เท่ากับ 1 กรัมน้ำหนักแห้งต่อ 1 ลิตรของสารละลายตะกั่ว)

(4) นำไปวางบนเครื่องเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส

(5) เก็บตัวอย่างไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 7000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 3 นาที

(6) นำสารละลายส่วนใสไปวิเคราะห์หาปริมาณตะกั่ว(+2) โดยใช้เครื่อง AAS (atomic-absorption spectrophotometer) ที่ความยาวคลื่น 217 นาโนเมตร

(7) นำค่า การดูดกลืนแสงของตัวอย่างที่อุณหภูมิต่างๆ ไปเทียบหาปริมาณตะกั่ว(+2) เทียบกับกราฟมาตรฐาน

### 3.5.3 ความเข้มข้นเริ่มต้นของตะกั่ว(+2)

(1) เตรียมสารละลายตะกั่ว(+2) ที่มีความเข้มข้น 50 100 150 200 300 มิลลิกรัมต่อลิตร ในพลาสติกขนาด 250 มิลลิลิตร ปริมาตร 50 มิลลิลิตร

(2) ปรับพีเอชให้เท่ากับพีเอชเหมาะสมที่ได้จากข้อ 3.5.1 โดยใช้ 1 โมลต่อลิตร ของกรดไนตริกและโซเดียมไฮดรอกไซด์

(3) ใส่ เซลล์แห่งของเชื้อแบคทีเรีย *Z. ramigera* (ข้อ3.3) และเชื้อรา *R. arrhizus* (ข้อ3.4) ที่ต้องการทดสอบลงในสารละลายตะกั่วที่เตรียมไว้ พลาสติกละ 0.05 กรัม (ความเข้มข้นของเซลล์เท่ากับ 1 กรัมน้ำหนักแห้งต่อ 1 ลิตร ของสารละลายตะกั่ว)

(4) นำไปวางบนเครื่องเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ เหมาะสมซึ่งได้จากข้อ 3.5.2

(5) เก็บตัวอย่างไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 7000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 3 นาที

(6) นำสารละลายส่วนใสไปวิเคราะห์หาปริมาณตะกั่ว(+2) โดยใช้เครื่อง AAS (atomic-absorption spectrophotometer) ที่ความยาวคลื่น 217 นาโนเมตร (ใช้เมื่อ ความเข้มข้นมีค่า 0-30 มิลลิกรัมต่อลิตร) และที่ความยาวคลื่น 261.4 นาโนเมตร ( ใช้เมื่อความเข้มข้นมีค่ามากกว่า 30 มิลลิกรัมต่อลิตร)

(7) นำค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างที่ความเข้มข้นต่างๆ ไปเทียบหาปริมาณตะกั่ว(+2) เทียบกับกราฟมาตรฐาน

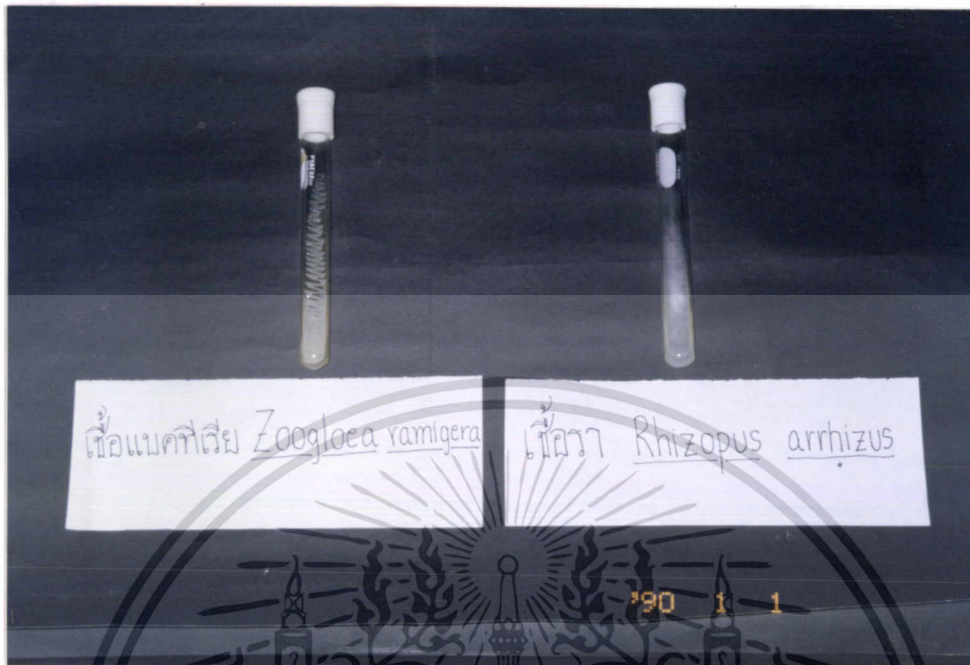
### 3.6 การวิเคราะห์ผลการทดลองทางสถิติ

วางแผนการทดลองแบบ factorial ในแบบแผนการทดลองที่ใช้สำหรับการทดลองปัจจัยเดียวแบบสุ่มตลอด(Completely Randomized Design ; CRD) ทำการวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติ(เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของแต่ละชุดการทดลอง)โดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์ Irristate Version 90-1(1990)

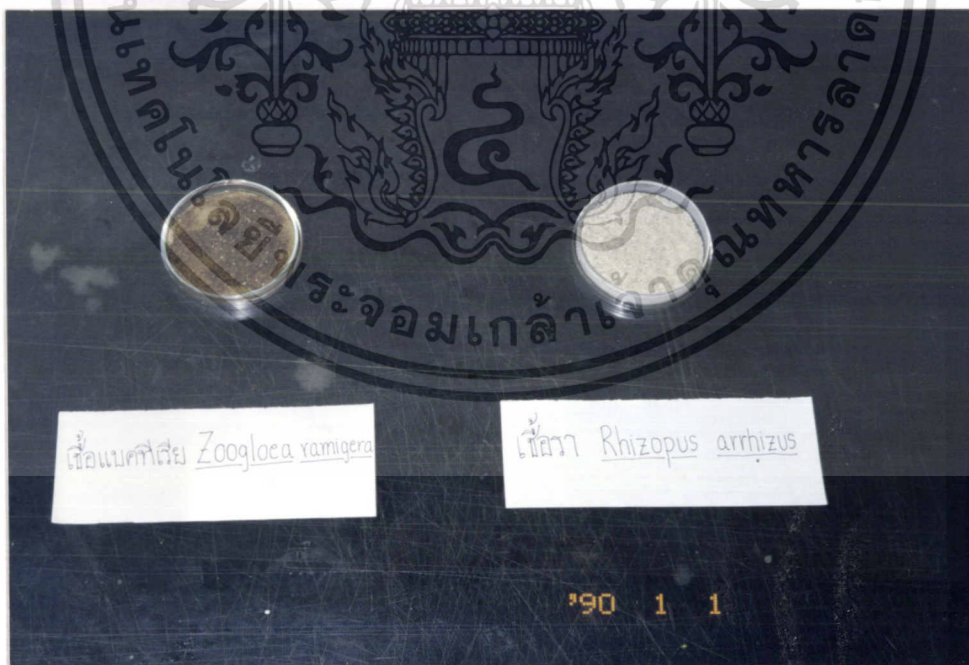


รูปที่ 3.1 เชื้อ *Z. ramigera* ที่เก็บอยู่ในรูปแช่แข็ง (Lyophilize )

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 3.2 เชื้อแบคทีเรีย *Z. ramigera* TISTR 1329 และเชื้อรา *R. arrhizus* TISTR 3129



รูปที่ 3.3 เซลล์แห้งของเชื้อแบคทีเรีย *Z. ramigera* TISTR 1329 และ  
เชื้อรา *R. arrhizus* TISTR 3129

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

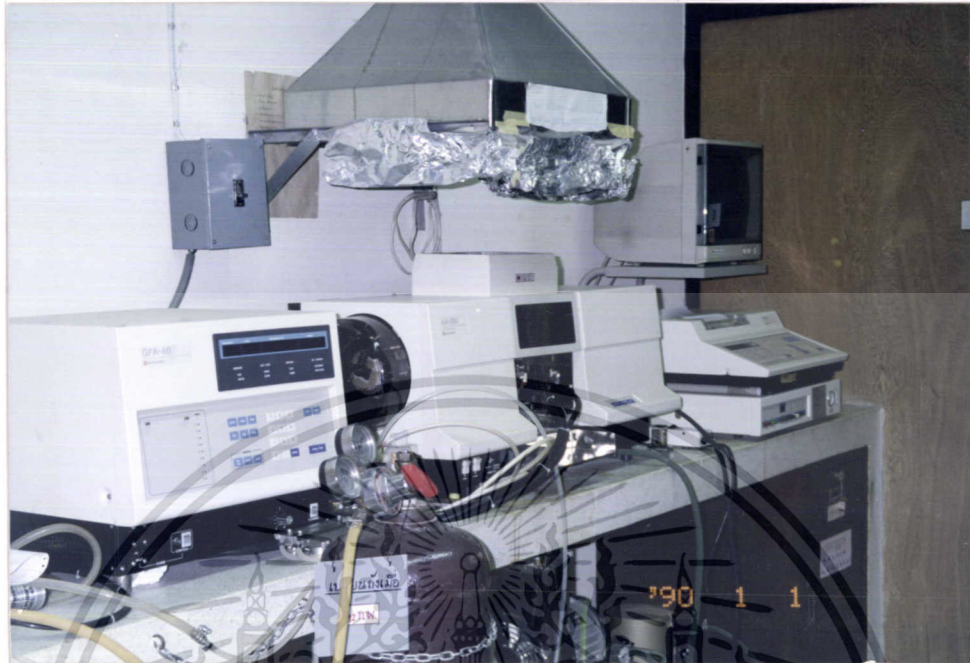


รูปที่ 3.4 เครื่องเขย่าแบบควบคุมอุณหภูมิได้ (incubator shaker)



รูปที่ 3.5 เครื่องหมุนเหวี่ยงที่ใช้ในการแยกส่วนไลต์ที่ได้จากการเก็บตัวอย่าง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 3.6 เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง ( Atomic-absorption spectrophotometer )

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## บทที่ 4

### ผลการทดลอง และวิจารณ์

การศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมต่อการดูดซับตะกั่ว(+2) ของเชื้อแบคทีเรีย *Zoogloea ramigera* และเชื้อรา *Rhizopus arrhizus*

4.1 ผลของพีเอช ที่มีต่อการดูดซับตะกั่ว(+2) โดยเชื้อแบคทีเรีย *Z. ramigera* TISTR 1329 และเชื้อรา *R. arrhizus* TISTR 3129 แสดงดัง (ตารางที่ 4.1 และรูปที่ 4.1)

จากการทดสอบเปรียบเทียบ การดูดซับสารละลายตะกั่ว(+2) จำนวน 3 ครั้งทีพีเอช 4.0 4.5 5.0 และ 5.5 ความเข้มข้นเริ่มต้นของสารละลายตะกั่ว(+2)เท่ากับ 50 มิลลิกรัมต่อลิตร ความเข้มข้นของเชื้อเท่ากับ 1.0 กรัมต่อลิตร บนเครื่องเขย่าความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง (31 องศาเซลเซียส) โดยเชื้อแบคทีเรีย *Z. ramigera* และเชื้อรา *R. arrhizus* พบว่าเชื้อแบคทีเรีย *Z. ramigera* สามารถดูดซับตะกั่ว(+2) ได้สูงสุด (ตารางที่ 4.1 และรูปที่ 4.1) ทีพีเอช 4.5 (49.83 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้งของเซลล์) ซึ่งเป็นค่าที่แตกต่างจากค่าที่ได้จากพีเอชที่ 4.0 และ 5.5 (ได้ปริมาณ 48.98 และ 49.35 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้งของเซลล์ ตามลำดับ) อย่างมีนัยสำคัญ ( $P < 0.05$ ) แต่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ กับการใช้พีเอช 5.0 (49.46 มิลลิกรัมต่อกรัม น้ำหนักแห้งของเซลล์) (ภาคผนวก จ1) ส่วนเชื้อรา *R. arrhizus* สามารถดูดซับตะกั่ว(+2) ได้สูงสุด (ตารางที่ 4.1 และรูปที่ 4.1) ทีพีเอช 5.0 (49.66 มิลลิกรัมต่อกรัม น้ำหนักแห้งของเซลล์) ซึ่งเป็นค่าที่สูงกว่าค่าที่ได้จากพีเอช 4.0 4.5 5.5 (48.90 49.22 49.08 มิลลิกรัมต่อกรัม น้ำหนักแห้งของเซลล์ ตามลำดับ) อย่างมีนัยสำคัญ ( $P < 0.05$ ) (ภาคผนวก จ1) ซึ่งผลที่ได้ในขั้นต้นสอดคล้องกับ ค่าพีเอชที่เหมาะสมกับการดูดซับตะกั่ว(+2) ของเชื้อแบคทีเรีย *Z. ramigera* และเชื้อรา *R. arrhizus* ของ (Sag และคณะ, 1995) ซึ่งมีค่าเท่ากับ 4.5-5.0 และ 5.0 ตามลำดับ เช่นเดียวกับ Ayla Ozer และคณะ (1997) พบว่าพีเอช ที่เหมาะสมต่อการดูดซับสารตะกั่วของเชื้อรา *R. arrhizus* คือ 4-4.5 ส่วน Eric และ Jean (1992) ใช้เชื้อรา *R. arrhizus* เพื่อทำการดูดซับโลหะหนัก พบว่าพีเอชที่เหมาะสมในการดูดซับสารตะกั่ว เท่ากับ 5 และนอกจากนี้ Anders และคณะ (1983) ได้ใช้เชื้อแบคทีเรีย *Z. ramigera* ดูดซับ ยูเรเนียม คอปเปอร์ แคดเมียม พบว่า พีเอชที่เหมาะสมต่อการดูดซับคือ 3.5 5.5 6.5 ตามลำดับ

**ตารางที่ 4.1** ผลของพีเอช ที่มีต่อการดูดซับตะกั่ว(+2) โดยเชื้อแบคทีเรีย *Z. ramigera* TISTR 1329 และเชื้อรา *R. arrhizus* TISTR 3129 ภายใต้สภาวะความเข้มข้นของ ตะกั่ว(+2) 50 มิลลิกรัมต่อลิตร ความเข้มข้นของเชื้อ 1.0 กรัมต่อลิตร ที่อุณหภูมิห้อง บนเครื่องเขย่าความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที เป็นเวลา 2 ชั่วโมง

พีเอช	การดูดซับตะกั่ว(+2) (มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้งของเซลล์)	
	<i>Z. ramigera</i>	<i>R. arrhizus</i>
4.0	48.98 ± 0.16	48.90 ± 0.44
4.5	49.83 ± 0.05	49.22 ± 0.37
5.0	49.46 ± 0.10	49.66 ± 0.05
5.5	49.35 ± 0.31	49.08 ± 0.12

**หมายเหตุ** อุณหภูมิห้อง คือ 31 องศาเซลเซียส

การใช้พีเอชระหว่าง 4.5-5.0 สำหรับเชื้อแบคทีเรีย *Z. ramigera* มีผลให้ปริมาณการดูดซับตะกั่ว(+2) สูงกว่าระดับพีเอชที่สูงกว่า 5.0 เพราะค่าพีเอชของสารละลายตะกั่ว(+2) ที่สูงกว่าพีเอช 5.0 จะทำให้เกิดการตกตะกอนของตะกั่ว(+2) เนื่องจากมีไอออนของไฮดรอกไซด์อิสระเกิดขึ้นในสารละลายตะกั่ว(+2) ก่อนที่จะนำไปทำการดูดซับ (Sag, et al., 1995) ส่วนการดูดซับตะกั่ว(+2) ของเชื้อรา *R. arrhizus* ได้ค่าพีเอชที่เหมาะสมคือ 5.0 ซึ่งจะทำให้เกิด การดูดซับตะกั่ว(+2) ได้สูงสุดและแตกต่างจากค่าพีเอชอื่นๆ อาจเนื่องจากที่พีเอช 5.0 เป็นจุดที่สูงกว่าจุดไอโซอิเล็กทริกของ ไอออนของตะกั่ว(+2) ในสารละลาย กับ ไอออนที่ผิวเซลล์ของเชื้อรา ซึ่งมีผลทำให้ผนังเซลล์ ของเชื้อรามี ประสิทธิภาพ เป็นลบจึงช่วยทำให้เกิดปฏิกิริยาการดูดซับไอออนบวกของตะกั่ว(+2) ได้มากขึ้น (Sag, et al., 1995) ดังนั้นในการทดลองครั้งต่อไปจะใช้ค่าพีเอชสำหรับเชื้อแบคทีเรีย *Z. ramigera* และเชื้อรา *R. arrhizus* เท่ากับ 4.5 และ 5.0 ตามลำดับ

**4.2 ผลของอุณหภูมิ** ที่มีต่อการดูดซับตะกั่ว(+2) โดยเชื้อแบคทีเรีย *Z. ramigera* TISTR 1329 และเชื้อรา *R. arrhizus* TISTR 3129 แสดงดัง (ตารางที่ 4.2 และรูปที่ 4.2)

จากการทดสอบเปรียบเทียบการดูดซับสารละลายตะกั่ว(+2) จำนวน 3 ครั้ง ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส 35 องศาเซลเซียส 45 องศาเซลเซียส ความเข้มข้นเริ่มต้นของสารละลายตะกั่ว(+2) เท่ากับ 50

มิลลิลิตรต่อลิตร ความเข้มข้นของเชื้อเท่ากับ 1.0 กรัมต่อลิตร บนเครื่องเขย่าความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที เป็นเวลา 2 ชั่วโมง โดยเชื้อแบคทีเรีย *Z. ramigera* และเชื้อรา *R. arrhizus* ที่พีเอช 4.5 และ 5.0 ตามลำดับ พบว่าที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียสเชื้อจุลินทรีย์ทั้งสองสายพันธุ์สามารถดูดซับ ตะกั่ว(+2) ได้สูงสุด (49.44 และ 48.77 มิลลิลิตรต่อกรัมน้ำหนักแห้งของเซลล์ ตามลำดับ) ( ตารางที่ 4.2 และรูปที่ 4.2 ) สำหรับเชื้อ *Z. ramigera* ค่าที่ได้นี้แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ( $P < 0.05$ ) (ภาคผนวก จ2) กับค่าที่ได้จากอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส (47.68 48.18 48.65 มิลลิลิตรต่อกรัมน้ำหนักแห้งของเซลล์ ตามลำดับ) ส่วนเชื้อรา *R. arrhizus* ค่าที่ได้นี้ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ( $P < 0.05$ ) (ภาคผนวก จ2) กับค่าที่ได้จากอุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส (48.64 มิลลิลิตรต่อกรัม น้ำหนักแห้งของเซลล์) แต่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ กับค่าที่ได้จากอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส (47.51 47.80 มิลลิลิตรต่อกรัม น้ำหนักแห้งของเซลล์ ตามลำดับ) ซึ่งผลที่ได้นี้สอดคล้องกับ Sag และคณะ (1995) ที่พบว่าอุณหภูมิ ที่เหมาะสมต่อการดูดซับตะกั่ว(+2) ของเชื้อแบคทีเรีย *Z. ramigera* และเชื้อรา *R. arrhizus* มีค่าเท่ากับ 35-45 องศาเซลเซียส และยังพบอีกว่า ในปี(1992)ได้ใช้เชื้อแบคทีเรีย *Z. ramigera* และเชื้อรา *R. arrhizus* ทำการดูดซับ โครเมียม(+6)จากน้ำทิ้งของโรงงานอุตสาหกรรม ซึ่ง อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการดูดซับคือ 35 องศาเซลเซียส ส่วน Ayla Ozer และคณะ(1996) ใช้เซลล์ แห้งของเชื้อรา *R. arrhizus* ทำการดูดซับตะกั่ว(+2) พบว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมในการดูดซับ คือ 30 องศาเซลเซียส ดังนั้นในการทดลองครั้งต่อไปจะใช้อุณหภูมิในการดูดซับตะกั่ว(+2)เท่ากับ 35 องศาเซลเซียส

**ตารางที่ 4.2** ผลของอุณหภูมิที่มีต่อการดูดซับตะกั่ว(+2)โดยเชื้อแบคทีเรีย *Z. ramigera* TISTR 1329 และเชื้อรา *R. arrhizus* TISTR 3129 ภายใต้สภาวะความเข้มข้นของตะกั่ว(+2) 50 มิลลิลิตรต่อลิตร ความเข้มข้นของเชื้อ 1.0 กรัมต่อลิตร โดยใช้พีเอชที่ 4.5 และ 5.0 ตามลำดับ บนเครื่องเขย่าความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที เป็นเวลา 2 ชั่วโมง

อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	การดูดซับตะกั่ว(+2) (มิลลิลิตรต่อกรัม น้ำหนักแห้งของเซลล์)	
	<i>Z. ramigera</i>	<i>R. arrhizus</i>
25	47.68 ± 0.19	47.51 ± 0.07
ห้อง	48.18 ± 1.16	47.80 ± 0.08
35	49.44 ± 0.34	48.77 ± 0.05
45	48.65 ± 0.06	48.64 ± 0.06

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**หมายเหตุ** อุณหภูมิห้อง คือ 31 องศาเซลเซียส

**4.3 ผลของความเข้มข้นเริ่มต้นของตะกั่ว(+2)ในสารละลาย** ที่มีการดูดซับตะกั่ว(+2) โดยเชื้อแบคทีเรีย *Z. ramigera* TISTR 1329 และเชื้อรา *R. arrhizus* TISTR 3129

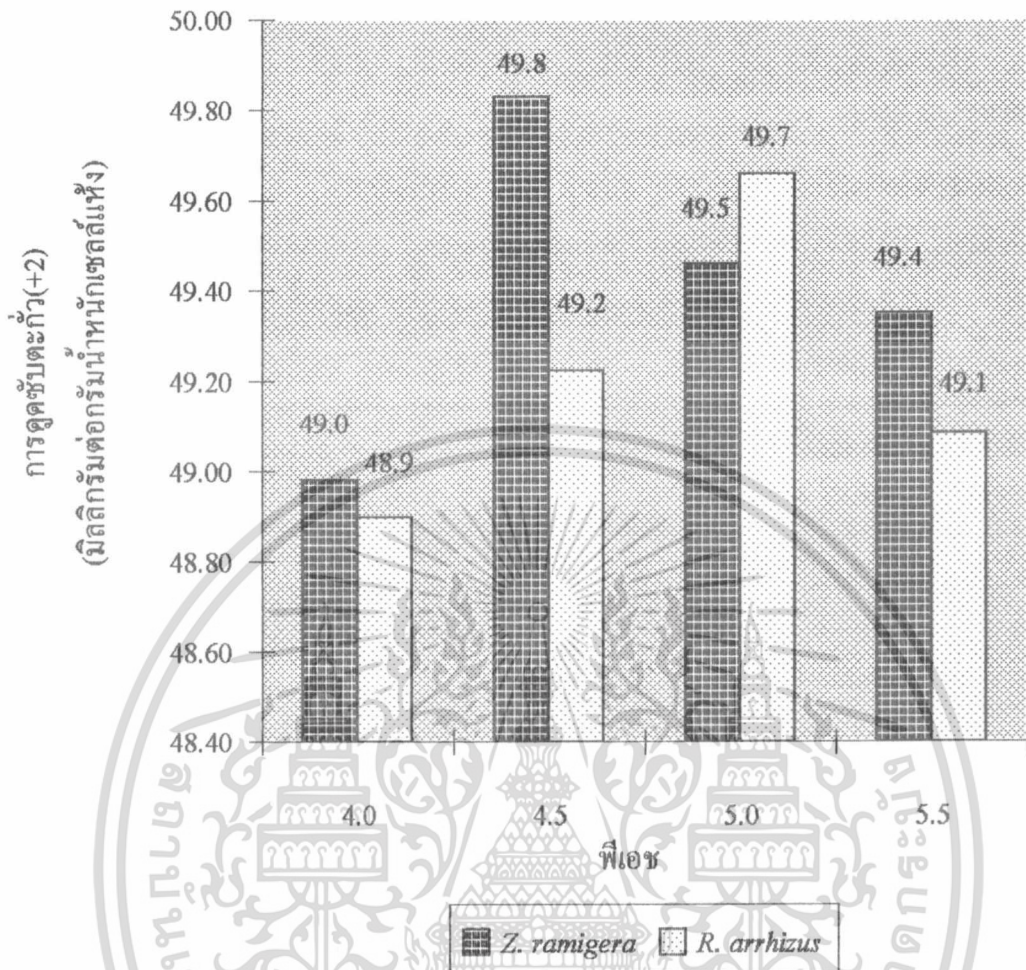
จากการทดสอบเปรียบเทียบการดูดซับสารละลายตะกั่ว(+2) จำนวน 3 ครั้ง ที่ความเข้มข้นเริ่มต้นของตะกั่ว(+2) 50 100 150 200 300 มิลลิกรัมต่อลิตร ความเข้มข้นของเชื้อเท่ากับ 1.0 กรัมต่อลิตร บนเครื่องเขย่าความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส โดยเชื้อแบคทีเรีย *Z. ramigera* และเชื้อรา *R. arrhizus* ที่พีเอช 4.5 และ 5.0 ตามลำดับ พบว่าที่ความเข้มข้นเริ่มต้นของตะกั่ว(+2) 50 มิลลิกรัมต่อลิตร เชื้อจุลินทรีย์ทั้งสองสายพันธุ์สามารถดูดซับตะกั่ว(+2) ได้สูงสุด (ร้อยละ 79 และ 76 ตามลำดับ) (ตารางที่ 4.3) สำหรับเชื้อ *Z. ramigera* ค่าที่ได้นี้แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ( $P < 0.05$ ) (ภาคผนวก จ3) กับค่าที่ได้จากความเข้มข้นเริ่มต้นของตะกั่ว(+2) 100 150 200 300 มิลลิกรัมต่อลิตร (ร้อยละ 76 63 47 31 ตามลำดับ) ส่วนเชื้อรา *R. arrhizus* ค่าที่ได้นี้ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ( $P < 0.05$ ) (ภาคผนวก จ3) กับค่าความเข้มข้นเริ่มต้นที่ 100 มิลลิกรัมต่อลิตร (ร้อยละ 75) และแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ กับค่าความเข้มข้นเริ่มต้นที่ 150 200 300 มิลลิกรัมต่อลิตร (ร้อยละ 67 53 36 ตามลำดับ)

**ตารางที่ 4.3** ผลของความเข้มข้นเริ่มต้นของตะกั่ว(+2)ในสารละลาย ที่มีต่อการดูดซับตะกั่ว(+2)โดยเชื้อแบคทีเรีย *Z. ramigera* TISTR 1329 และเชื้อรา *R. arrhizus* TISTR 3129 ภายใต้สภาวะความเข้มข้นของเชื้อ 1.0 กรัมต่อลิตร โดยใช้พีเอชที่ 4.5 และ 5.0 ตามลำดับ ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส บนเครื่องเขย่าความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที เป็นเวลา 2 ชั่วโมง

ความเข้มข้นเริ่มต้น ของ ตะกั่ว(+2) (มิลลิกรัมต่อลิตร)	การดูดซับตะกั่ว(+2) (มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้งของเซลล์)		ร้อยละของการดูดซับ ตะกั่ว(+2)	
	<i>Z. ramigera</i>	<i>R. arrhizus</i>	<i>Z. ramigera</i>	<i>R. arrhizus</i>
50	45.43 ± 0.53	43.75 ± 0.92	79	76
100	79.15 ± 0.49	77.89 ± 0.24	76	75
150	92.34 ± 1.01	97.95 ± 0.81	63	67
200	93.15 ± 1.25	104.36 ± 1.06	47	53
300	91.35 ± 3.54	106.01 ± 2.49	31	36

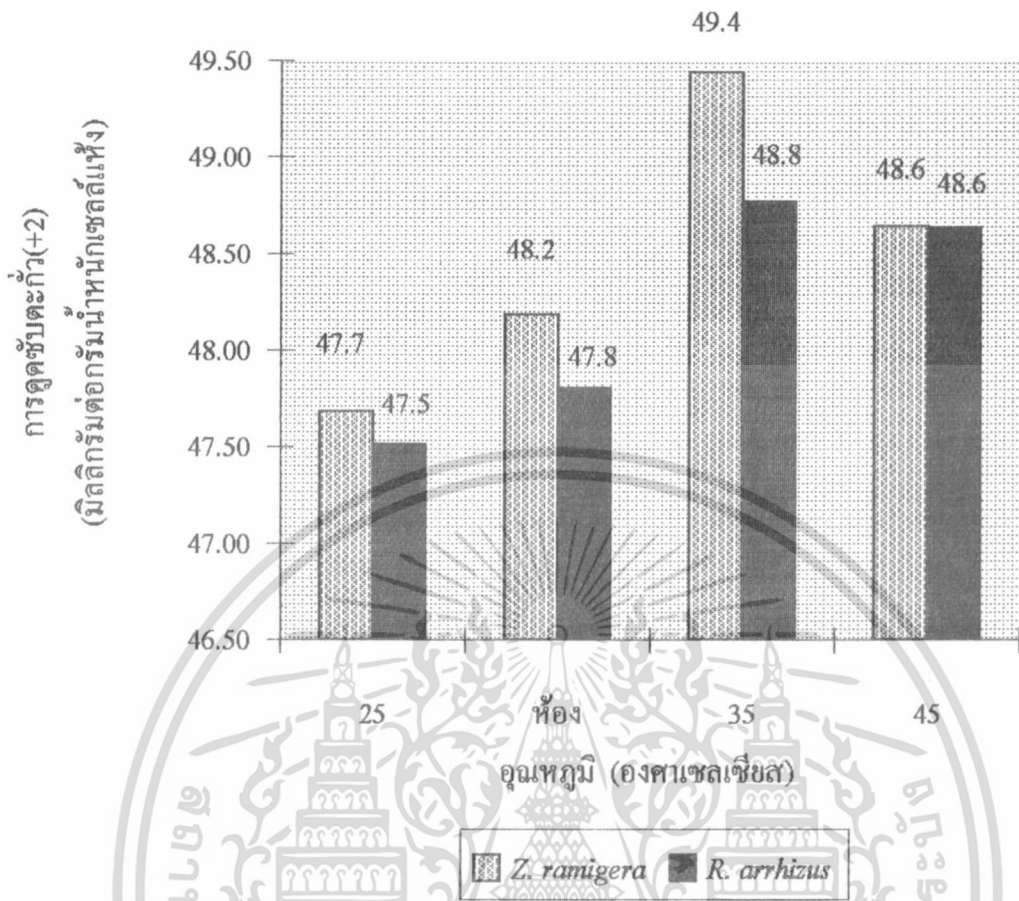
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ซึ่งผลการทดลองนี้สอดคล้องกับ รายงานการวิจัยของ Sag และคณะ (1995) ที่พบว่า ประสิทธิภาพในการดูดซับตะกั่ว(+2) ที่ความเข้มข้นเริ่มต้นของตะกั่ว(+2)ที่ 50 มิลลิกรัมต่อลิตร จะให้ร้อยละของการดูดซับที่สูงกว่า ที่ความเข้มข้นเริ่มต้นของตะกั่ว(+2)ที่ 200 และ300 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งอาจเกิดจากความสามารถในการดูดซับตะกั่ว(+2)สูงสุด ของเชื้อแบคทีเรีย *Z. ramigera* และ เชื้อรา *R. arrhizus* คือ 200 และ 300 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ แต่ที่ความเข้มข้นเริ่มต้นของตะกั่ว(+2)เท่ากับ 50 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งเป็นค่าที่ต่ำมากเมื่อเปรียบเทียบกับความสามารถสูงสุดในการดูดซับตะกั่ว(+2) ของเชื้อทั้งสองสายพันธุ์ แต่ Sag และOzerและคณะ(1992) ใช้เชื้อแบคทีเรีย *Z. ramigera* และเชื้อรา *R. arrhizus* ทำการดูดซับโครเมียม(+6)จากน้ำทิ้งของโรงงานอุตสาหกรรม พบว่าอัตราการดูดซับโครเมียมที่สูงสุดของเชื้อแบคทีเรีย *Z. ramigera* และเชื้อรา *R. arrhizus* คือที่ความเข้มข้นเริ่มต้น 75และ125 มิลลิกรัมต่อลิตรตามดับ จึงสรุปได้ว่าความเข้มข้นเริ่มต้นของตะกั่ว(+2)ที่ 50 มิลลิกรัมต่อลิตรมีประสิทธิภาพสูงกว่าและมีร้อยละของการดูดซับสูงสุด สำหรับเชื้อแบคทีเรีย *Z. ramigera* TISTR 1329 และเชื้อรา *R. arrhizus* TISTR 3129 จะให้ปริมาณการดูดซับตะกั่ว(+2)ที่เหมาะสมที่สุด



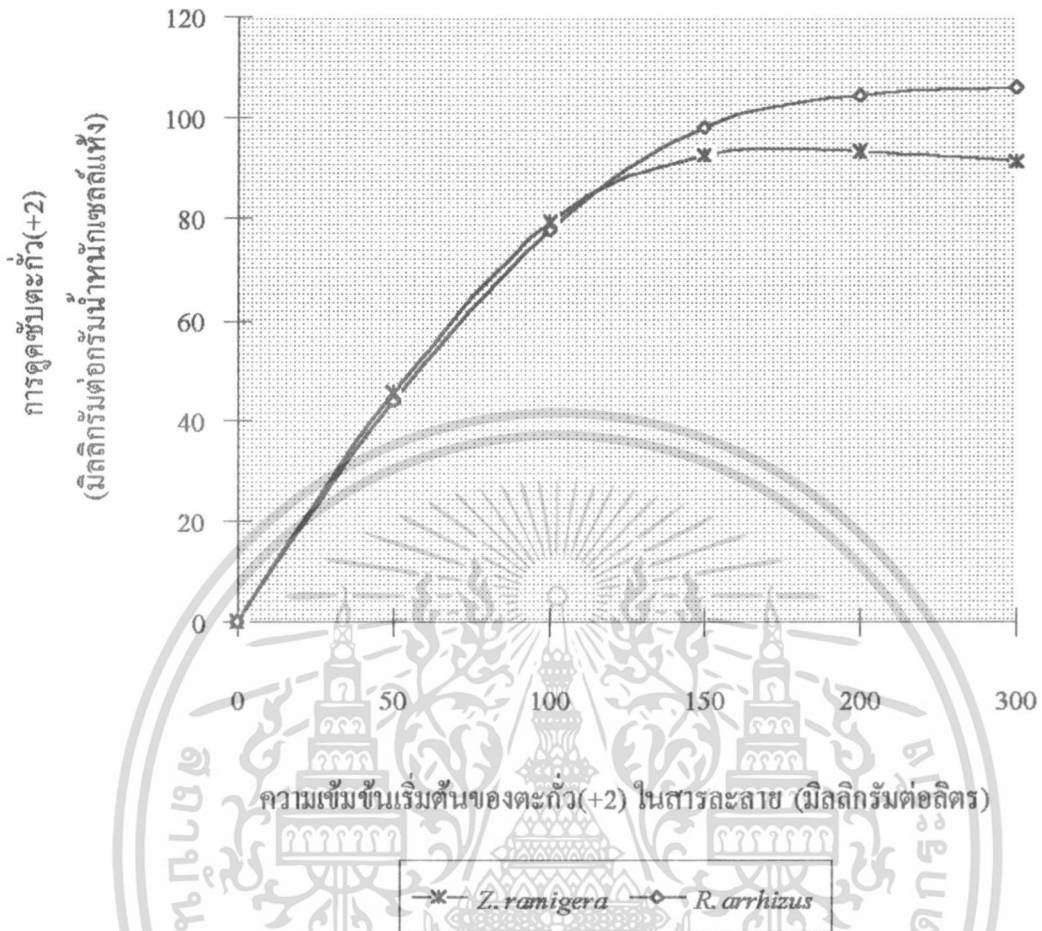
รูปที่ 4.1 ปริมาณตะกั่ว(+2)ที่ถูกดูดซับโดยเชลล์ที่เรียบ *Z. ramigera* TISTR 1329 และเชลล์ *R. arrhizus* TISTR 3129 ที่พีเอช 4.0 4.5 5.0 5.5 ภายใต้สถานะความเข้มข้นของ ตะกั่ว(+2) 50 มิลลิกรัมต่อลิตร ความเข้มข้นของเชื้อ 1.0 กรัมต่อลิตร อุณหภูมิห้อง บน เครื่องเขย่าความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที เป็นเวลา 2 ชั่วโมง

หมายเหตุ อุณหภูมิห้อง คือ 31 องศาเซลเซียส



รูปที่ 4.2 ปริมาณตะกั่ว(+2)ที่ถูกดูดซับ โดยเชื้อแบคทีเรีย *Z. ramigera* TISTR 1329 และเชื้อรา *R. arrhizus* TISTR 3129 ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส 35 องศาเซลเซียส และ 45 องศาเซลเซียส ภายใต้สภาวะความเข้มข้นของตะกั่ว(+2) 50 มิลลิกรัมต่อลิตร ความเข้มข้นของเชื้อ 1.0 กรัมต่อลิตร โดยใช้พีเอชที่ 4.5 และ 5.0 ตามลำดับ บนเครื่องเขย่าความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 2 ชั่วโมง

หมายเหตุ อุณหภูมิห้อง คือ 31 องศาเซลเซียส



รูปที่ 4.3 ปริมาณตะกั่ว(+2)ที่ถูกดูดซับโดยเชื้อแบคทีเรีย *Z. ramigera* TISTR 1329 และเชื้อรา *R. arrhizus* TISTR 3129 ที่ความเข้มข้นเริ่มต้นของตะกั่ว(+2)ในสารละลาย 50 100 150 200 300 มิลลิกรัมต่อลิตร ภายใต้สภาวะความเข้มข้นของเชื้อ 1.0 กรัมต่อลิตร โดยใช้พีเอชที่ 4.5 และ 5.0 ตามลำดับ ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส บนเครื่องเขย่าความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที เป็นเวลา 2 ชั่วโมง

## บทที่ 5

### สรุปผลการทดลอง และ ข้อเสนอแนะ

จากการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมของการดูดซับตะกั่ว(+2) ของเชื้อแบคทีเรีย *Zoogloea .ramigera* TISTR 1329 และเชื้อรา *Rhizopus arrhizus* TISTR 3129 พบว่า สภาวะที่เหมาะสมของการดูดซับตะกั่ว(+2) ของเชื้อแบคทีเรีย *Z..ramigera* คือที่พีเอช 4.5 และอุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส และความเข้มข้นเริ่มต้นของตะกั่ว 50 มิลลิกรัมต่อลิตร จะสามารถดูดซับตะกั่วได้ร้อยละ 79 และความเข้มข้นของตะกั่ว(+2)ในสารละลายสูงสุดที่จะสามารถทำการดูดซับได้เท่ากับ 200 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาณตะกั่ว(+2)ที่ถูกดูดซับได้คือ 93 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้งของเซลล์ และสภาวะที่เหมาะสมของการดูดซับตะกั่ว(+2) ของเชื้อรา *R. arrhizus* คือที่พีเอช 5.0 และอุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส และความเข้มข้นเริ่มต้นของตะกั่ว 50 มิลลิกรัมต่อลิตร จะสามารถดูดซับตะกั่วได้ร้อยละ 76 และความเข้มข้นของตะกั่ว(+2)ในสารละลายสูงสุดที่จะสามารถทำการดูดซับได้เท่ากับ 300 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาณตะกั่ว(+2)ที่ถูกดูดซับได้คือ 106 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้งของเซลล์

#### ข้อเสนอแนะ

1. เมื่อทราบสภาวะที่เหมาะสมต่อการดูดซับตะกั่ว(+2) ของเชื้อจุลินทรีย์ทั้งสองสายพันธุ์นี้ ดังนั้นในครั้งต่อไปควรทำการศึกษา การปลดปล่อยโลหะหนักออกจากมวลชีวภาพ
2. ในการศึกษาครั้งต่อไปควรควบคุมพีเอชแบบต่อเนื่องโดยใช้ระบบควบคุมแบบอัตโนมัติตลอดระยะเวลาการดูดซับ เพื่อให้มวลชีวภาพสามารถดูดซับตะกั่ว(+2) ในปริมาณสูงสุด

### เอกสารอ้างอิง

กิตติ เอกอำพน. 2524. การเจือปนของตะกั่วเข้าสู่พืชผักที่ใช้เป็นอาหาร. แก่นเกษตร. หน้า 90 - 95.

กุลยา จงศิริรัตน์. โครงการงานพิเศษเรื่องการกำจัดตะกั่วและแคดเมียมในน้ำเสียโดยวิธีเฟอไรท์. หน้า 1 - 11.

นภวิศ บัวยรวง. 2537. การปนเปื้อนของตะกั่ว ในพืชบางชนิดจากอุตสาหกรรมในจังหวัดสมุทรปราการ. วารสารสภาวะแวดล้อม. พฤษภาคม - มิถุนายน 2537 หน้า 1 - 23.

ศรีอโศก กังวาลไกล. 2533. โครงการงานพิเศษเรื่องตะกั่วในหนุขาว.

สมพูล กฤตลักษณ์. 2532. ผลกระทบของตะกั่วต่อสุขภาพอนามัยของมนุษย์. จุลสารสภาวะแวดล้อม (8): 12 - 19.

สุวรรณมา เรื่องกาญจนเศรษฐ์. 2538. ตะกั่ว. หนังสือพิมพ์กรุงเทพธุรกิจ. มีนาคม 2538 หน้า 3.

Andreas Lensch , Zdenek R. Holan and Bohumil Volesky. 1995. Biosorption of Heavy Metal (Cd, Cu, Ni, Pb, Zn ) by Chemically Reinforced Biomass of Marine Algae. J. Chem. Tech. Biotechnol. 62 : 279 - 288.

Ashley,N.V. and Roach,D.J. 1990. Review of biotectnology application to nuclear waste treatment. J.Chem .technol.Biotechnol. 49 : 381 - 394.

Ayla Ozer, H. Ibrahim Ekiz and Dursun Ozer. 1997. A staged purification process to remove heavy metal ions from wastewater using *Rhizopus arrhizus*. Process Biochemistry. 32(4) : 319 - 326.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Beate Mattuschka and Gunhild Straube. 1993. Biosorption of Metal by a Waste Biomass. *J.Chem.Tech. Biotechnol.* 58 : 57 - 63.
- Beveridge, T.J. 1978. The response of cell walls of *Bacillus Subtilis* to metal and to electron microscopic stains. *Can.j.Microbial.* 24 : 89 - 104.
- Brierley, C.L., Brierley, J.A. and Davidson, M.S. 1989. Applied microbial processes for metals recovery and removal from wastewater. *Metal Ions and Bacteria.* pp. 359 - 382.
- David J. Hardman, Sharran MCELdowney and Stephen waite. 1993. Metal and radiom chloride biotreatment. pp. 269 - 285.
- Eric Fourest and Lean-Claude Roux. 1992. Heavy metal biosorption by fungal mycelial by-product mechanisms and influence of pH. *Appl. Microbiol Biotechnol.* 37: 399 - 403.
- Hui Niu, Xue Shu Xu and Jian Hua Wang. 1993. Communication to the Editor Remove of Lead form Aqueous Solution by *Penicillium* Biomass. *Biotechnology and Bioengineering.* 42 : 785 - 787.
- Hunt ,S. 1986. Diversity of biopolymer structure and its potential for ion binding application. *Immobilisation of Ions by Biosorption.* pp. 15 - 46.
- Hughes, M.N. and Poole, R.K. 1989. Metal mimicry and metal limitation in studies of metal-microbe interaction s. *Metal-Microbe Interactions.* pp. 1 - 17.
- Gadd, G.M. 1992. Microbial Control of heavy metal pollution. *Microbial Control of Pollution.* pp. 59 - 88.
- Levi, P. and Linkletter, A. 1989. Metals, microorganism and biotechnology. *Metal and Microorganism.* pp. 303 - 358.

- M.Nourbakhsh, Y.Sag and D.Ozer. 1994. A Comparative Study of Various Biosorbents for Removal of Chromium(VI)Ions from Industrial Waste Waters. *Process Biochemistry*. 29 : 1 - 5.
- Macaskie,L.E. and Dean ,A.C.R. 1990. Metal-sequestering biochemical. *Biosorption of Heavy metals*. pp. 199 - 248.
- Macaskie,L.E. 1990. An immobilized cell bioprocess for the removal of heavy metals from aqueous flows. *J.Chem.Technol.Biotechnol*. 49: 357-381.
- Norberg, A. and Persson, H. 1984. Accumulation of heavy metal ions by *Zoogloea ramigera*. *Biotech. Bioengineering*. 34: 2253 - 2262.
- Norberg, A. and Rydin, S. 1984. Development of a continuous process for metal accumulation by *Zoogloea ramigera* . *Biotech. Bioeng*. 26: 265 - 268.
- Patterson, J. W. 1977. *Waste Water Treatment*. pp.129 - 137.
- Rapaport,A.I. and Muter,O.A. 1995. Biosorption of hexavalent chromium by yeast. *Proc.Biochem*. 30(2): 145 - 149
- Sag, Y.and Kutsal, T. 1995. A comparative study of the biosorption of lead(II) ions to *Zoogloea ramigera* and *Rhizopus arrhizus* . *Process Biochem*. 30(2): 169 - 174.
- Tobin ,J.M.,Cooper,D.G. and Nellfeld ,R.J. 1984. Uptake of metal ions by *Rhizopus arrhizus* biomass. *Appl. Environ.Microbial*. 47: 821 - 824.
- Tsezos,M. And Volesky, B. 1982. The mechanisms of uranium biosorption by *Rhizopus arrhizas*. *Biochemical. Bioen*. 24: 385 - 401.

Volesky, B. 1987. Biosorbents in metal recovery. *Trends Biotechnol.* 5 : 95 - 101.

Z.R. Holan and B. Volesky. 1994. Biosorption of Lead and Nickel by Biomass of Marine Algae. *Biotechnology and Bioengineering*, 43: 1001 - 1009.



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ภาคผนวก



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ภาคผนวก ก**  
**อาหารเพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์**

**1. *Zoogloea ramigera***

<u>สูตรอาหารเหลว</u>	<u>กรัมต่อลิตร</u>
กลูโคส	30.0
ยีสต์สกัด	1.0
Bacteriological peptone	1.0
$K_2HPO_4$	1.0
$KH_2PO_4$	0.5
$NH_4Cl$	0.5
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	0.5

**2. *Rhizopus arrhizus***

<u>สูตรอาหารเหลว</u>	<u>กรัมต่อลิตร</u>
ซูโครส	30.0
ยีสต์สกัด	2.0
$KH_2PO_4$	0.5
$K_2HPO_4$	0.5
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	0.2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

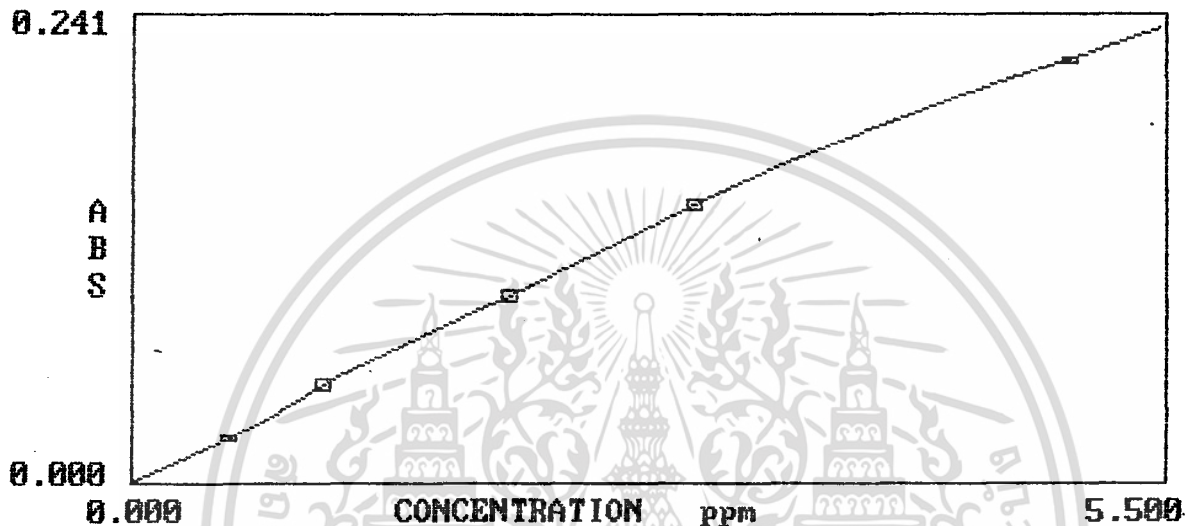
**ภาคผนวก ข**  
**สารเคมี และ วิธีการเตรียม**

1. สารละลายสต็อกตะกั่ว (ความเข้มข้นของตะกั่ว(+2) เท่ากับ 1 กรัมต่อลิตร)  
เตรียมโดยละลาย $Pb(NO_3)_2$  1.60 กรัมในน้ำกลั่นแล้วปรับปริมาตรเป็น 1000 มิลลิลิตร
2. สารละลายตะกั่ว(+2)  
เจือจาง 1 กรัมต่อลิตรของสารละลายตะกั่ว(+2)



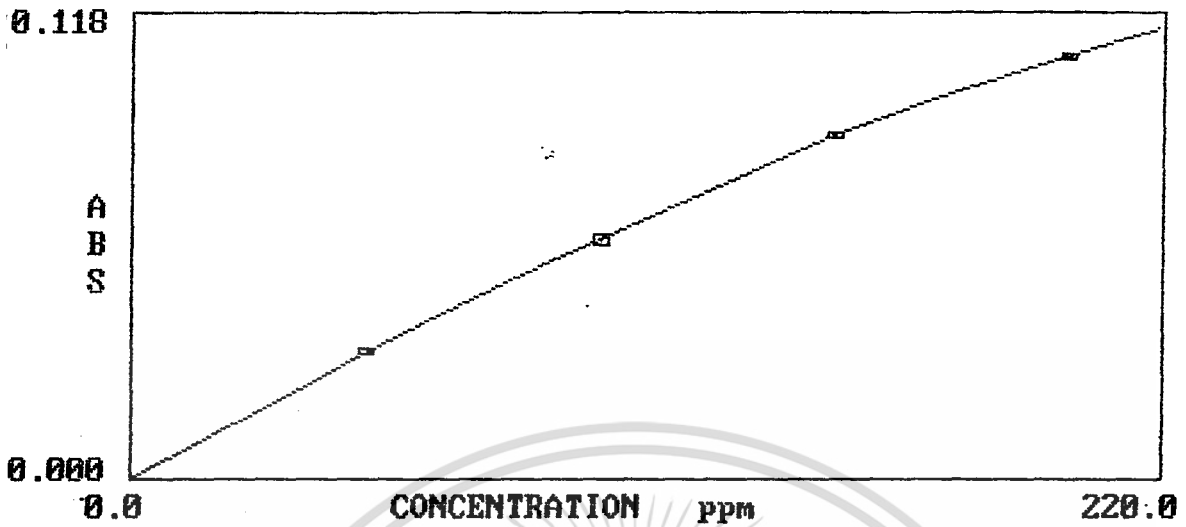
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค  
 กราฟมาตรฐานแสดงปริมาณตะกั่ว(+2) กับค่าการดูดกลืนแสง



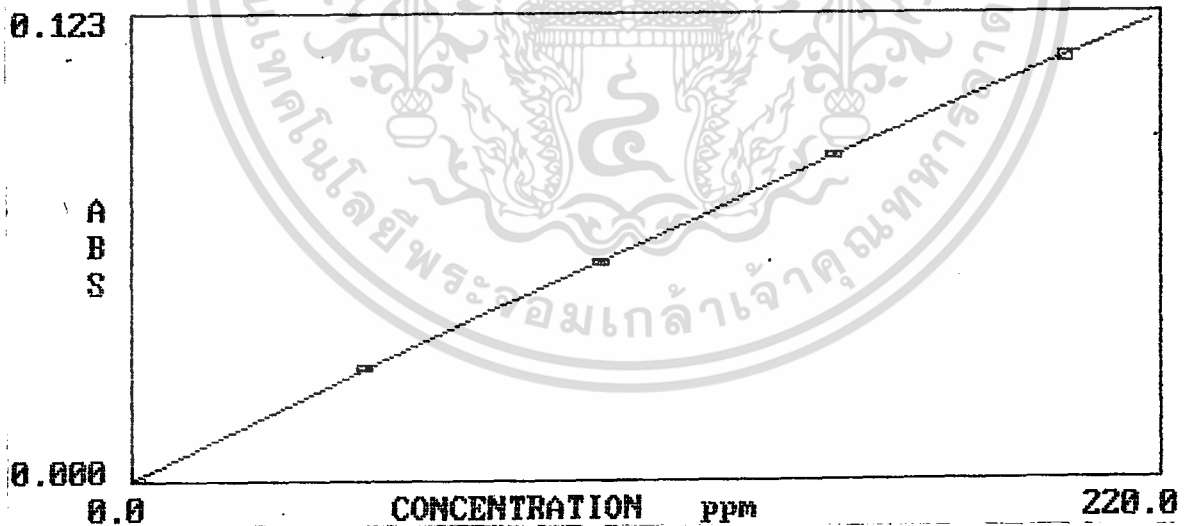
รูปที่ ค1 กราฟมาตรฐานแสดงปริมาณตะกั่ว(+2) (Concentration) กับค่าการดูดกลืนแสง (ABS)

หมายเหตุ ความเข้มข้นของตะกั่ว(+2)ระหว่าง 0.00 - 5.50 มิลลิกรัมต่อลิตร  
 ความยาวคลื่นที่ 217 นาโนเมตร



**รูปที่ ค2** กราฟมาตรฐานแสดงปริมาณตะกั่ว(+2) (Concentration) กับค่าการดูดกลืนแสง (ABS)

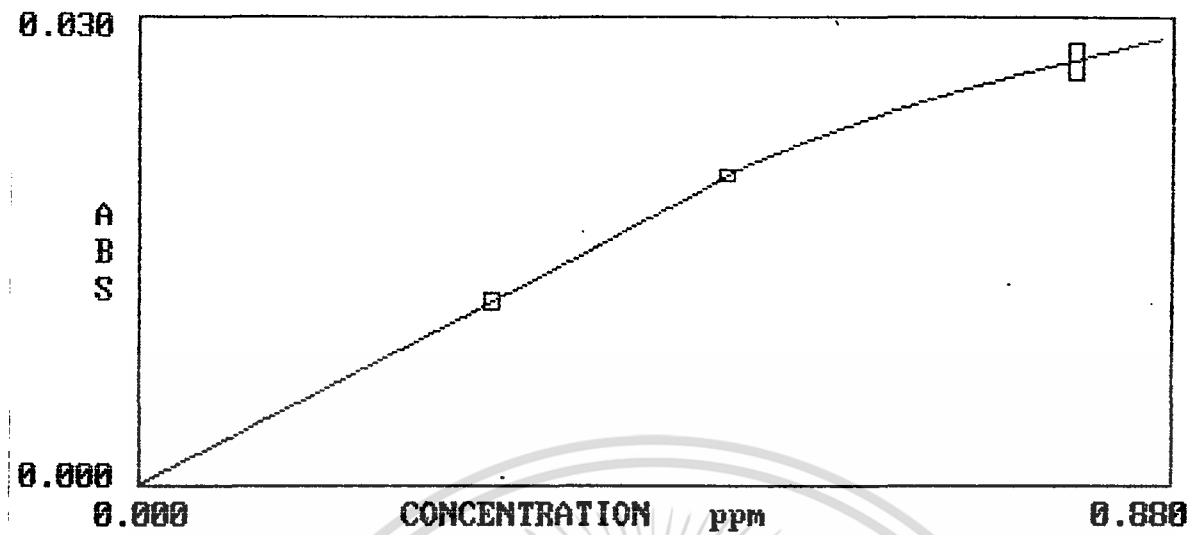
**หมายเหตุ** ความเข้มข้นของตะกั่ว(+2)ระหว่าง 0.00 - 220.00 มิลลิกรัมต่อลิตร  
ความยาวคลื่นที่ 261.4 นาโนเมตร



**รูปที่ ค3** กราฟมาตรฐานแสดงปริมาณตะกั่ว(+2) (Concentration) กับค่าการดูดกลืนแสง (ABS)

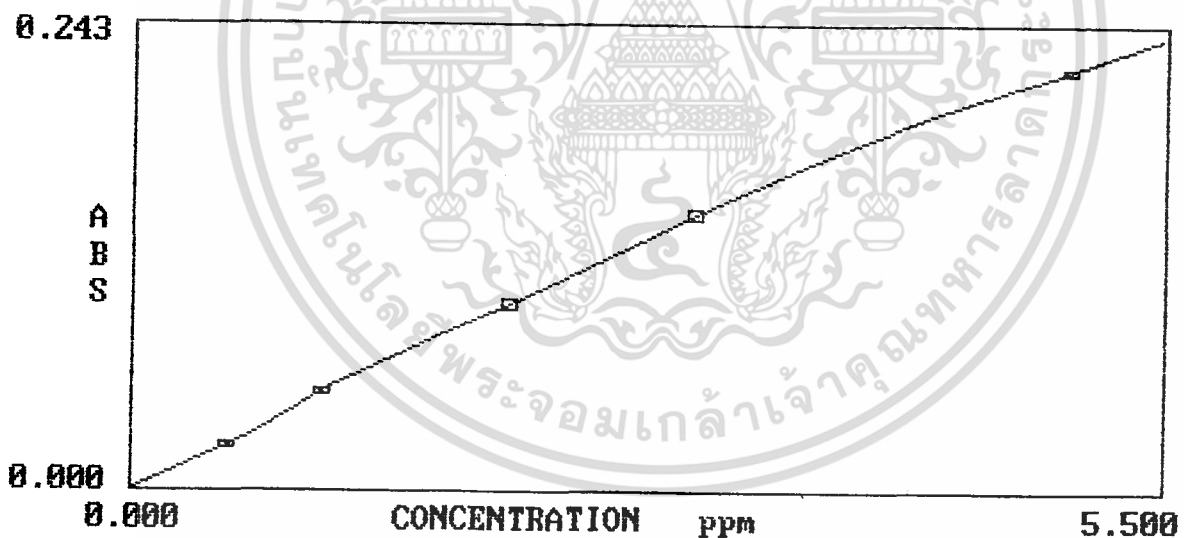
**หมายเหตุ** ความเข้มข้นของตะกั่ว(+2)ระหว่าง 0.00 - 220.00 มิลลิกรัมต่อลิตร  
ความยาวคลื่นที่ 2261.4 นาโนเมตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



**รูปที่ ค4** กราฟมาตรฐานแสดงปริมาณตะกั่ว(+2) (Concentration) กับค่าการดูดกลืนแสง (ABS)

**หมายเหตุ** ความเข้มข้นของตะกั่ว(+2)ระหว่าง 0.00 - 0.88 มิลลิกรัมต่อลิตร  
ความยาวคลื่นที่ 217 นาโนเมตร



**รูปที่ ค5** กราฟมาตรฐานแสดงปริมาณตะกั่ว(+2) (Concentration) กับค่าการดูดกลืนแสง (ABS)

**หมายเหตุ** ความเข้มข้นของตะกั่ว(+2)ระหว่าง 0.00 - 5.50 มิลลิกรัมต่อลิตร  
ความยาวคลื่นที่ 217 นาโนเมตร

**ภาคผนวก ง**  
**ตารางแสดงข้อมูลผลการทดลอง**

**ตารางที่ ง1** ผลของพีเอชที่มีต่อการดูดซับตะกั่ว(+2) โดยเชื้อแบคทีเรีย *Z. ramigera* TISTR 1329 ที่ความเข้มข้นเริ่มต้นของตะกั่ว(+2) 50 มิลลิกรัมต่อลิตร ความเข้มข้นของเชื้อ 1.0 กรัมต่อลิตร อุณหภูมิห้อง (31 องศาเซลเซียส) อัตราการเขย่า 150 รอบต่อนาที

พีเอช	การดูดซับตะกั่ว(+2) (มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง)			
	ชุดที่ 1	ชุดที่ 2	ชุดที่ 3	เฉลี่ย
4.0	48.82	49.13	49.00	48.98
4.5	49.88	49.83	49.79	49.83
5.0	49.39	49.42	49.58	49.46
5.5	49.03	49.39	49.64	49.35

**ตารางที่ ง2** ผลของพีเอชที่มีต่อการดูดซับตะกั่ว(+2) โดยเชื้อรา *R. arrhizus* TISTR 3129 ที่ความเข้มข้นเริ่มต้นของตะกั่ว(+2) 50 มิลลิกรัมต่อลิตร ความเข้มข้นของเชื้อ 1.0 กรัมต่อลิตร อุณหภูมิห้อง อัตราการเขย่า 150 รอบต่อ นาที

พีเอช	การดูดซับตะกั่ว(+2) (มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง)			
	ชุดที่ 1	ชุดที่ 2	ชุดที่ 3	เฉลี่ย
4.0	48.55	48.76	49.39	48.90
4.5	49.48	49.39	48.80	49.22
5.0	49.66	49.71	49.61	49.66
5.5	49.05	48.98	49.22	49.08

**ตารางที่ ๓** ผลของอุณหภูมิที่มีต่อการดูดซับตะกั่ว(+2) โดยเชื้อแบคทีเรีย *Z. ramigera* TISTR 1329 ที่ความเข้มข้นเริ่มต้นของตะกั่ว(+2) 50 มิลลิกรัมต่อลิตร ความเข้มข้นเริ่มต้นของเชื้อ 1.0 กรัมต่อลิตร พีเอชที่ 4.5 อัตราการเขย่า 150 รอบต่อ นาที

อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	การดูดซับตะกั่ว(+2) (มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง)			
	ชุดที่ 1	ชุดที่ 2	ชุดที่ 3	เฉลี่ย
25	47.75	47.47	47.83	47.68
ห้อง	48.20	49.33	47.02	48.18
35	49.56	49.70	49.05	49.44
45	48.59	48.64	48.71	48.65

**ตารางที่ ๔** ผลของอุณหภูมิที่มีต่อการดูดซับตะกั่ว(+2) โดยเชื้อรา *R. arrhizus* TISTR 3129 ที่ความเข้มข้นเริ่มต้นของตะกั่ว(+2) 50 มิลลิกรัมต่อลิตร ความเข้มข้นเริ่มต้นของเชื้อ 1.0 กรัมต่อลิตร พีเอชที่ 5.0 อัตราการเขย่า 150 รอบต่อ นาที

อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	การดูดซับตะกั่ว(+2) (มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง)			
	ชุดที่ 1	ชุดที่ 2	ชุดที่ 3	เฉลี่ย
25	47.43	47.57	47.53	47.51
ห้อง	47.72	47.88	47.81	47.80
35	48.77	48.82	48.73	48.77
45	48.58	48.64	48.70	48.64

**ตารางที่ ๖5** ผลของความเข้มข้นเริ่มต้นของตะกั่ว(+2) ที่มีต่อการดูดซับตะกั่ว(+2) โดยเชื้อแบคทีเรีย *Z. ramigera* TISTR 1329 ที่ความเข้มข้นเริ่มต้นของเชื้อ 1.0 กรัมต่อลิตร อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส พีเอชที่ 4.5 อัตราการเขย่า 150 รอบต่อ นาที

ความเข้มข้นเริ่มต้น ของ ตะกั่ว(+2) (มิลลิกรัม ต่อลิตร)	การดูดซับตะกั่ว(+2) (มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง)			
	ชุดที่ 1	ชุดที่ 2	ชุดที่ 3	เฉลี่ย
50	44.91	45.43	45.96	45.43
100	79.64	78.67	79.13	79.15
150	91.20	92.70	93.13	92.34
200	93.01	91.97	94.46	93.15
300	88.58	90.13	95.33	91.35

**ตารางที่ ๖6** ผลของความเข้มข้นเริ่มต้นของตะกั่ว(+2)ที่มีต่อการดูดซับตะกั่ว(+2)โดยเชื้อรา *R. arrhizus* TISTR 3129 ที่ ความเข้มข้นเริ่มต้นของเชื้อ 1.0 กรัมต่อลิตร อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส พีเอชที่ 5.0 อัตราการเขย่า 150 รอบต่อนาที

ความเข้มข้นเริ่มต้น ของ ตะกั่ว(+2) (มิลลิกรัม ต่อลิตร)	การดูดซับตะกั่ว(+2) (มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง)			
	ชุดที่ 1	ชุดที่ 2	ชุดที่ 3	เฉลี่ย
50	42.82	43.77	44.65	43.75
100	78.16	77.79	77.71	77.89
150	97.02	98.40	98.44	97.95
200	105.54	103.47	104.08	104.36
300	103.53	108.51	106.00	106.01

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ภาคผนวก จ**  
**การวิเคราะห์ทางสถิติ**

**ตารางที่ ๑1** ผลการวิเคราะห์ทางสถิติของพีเอชที่มีต่อการดูดซับตะกั่ว(+2)โดยเชื้อแบคทีเรีย *Z. ramigera* TISTR 1329 และเชื้อรา *R. arrhizus* TISTR 3129

พีเอช	เชื้อแบคทีเรีย <i>Z. ramigera</i>	เชื้อรา <i>R. arrhizus</i>
4.0	48.98 <sup>c</sup>	48.90 <sup>b</sup>
4.5	49.83 <sup>a</sup>	49.22 <sup>b</sup>
5.0	49.46 <sup>ab</sup>	49.66 <sup>a</sup>
5.5	49.35 <sup>bc</sup>	49.08 <sup>b</sup>

ในสคณธ์เดียวกันที่มีอักษรเหมือนกัน หมายถึง ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่น 0.05 โดยการวิเคราะห์ด้วย DMRT

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยตะกั่ว(+2)ที่จุลินทรีย์ดูดซับได้มีหน่วยเป็น มิลลิกรัมต่อกรัม น้ำหนักเซลล์แห้ง

**ตารางที่ ๑2** ผลการวิเคราะห์ทางสถิติของอุณหภูมิที่มีต่อการดูดซับตะกั่ว(+2)โดยเชื้อแบคทีเรีย *Z. ramigera* TISTR 1329 และเชื้อรา *R. arrhizus* TISTR 3129

อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	เชื้อแบคทีเรีย <i>Z. ramigera</i>	เชื้อรา <i>R. arrhizus</i>
25	47.68 <sup>c</sup>	47.51 <sup>b</sup>
ห้อง	48.18 <sup>bc</sup>	47.80 <sup>b</sup>
35	49.44 <sup>a</sup>	48.77 <sup>a</sup>
45	48.65 <sup>b</sup>	48.64 <sup>a</sup>

ในสัณฐานเดียวกันที่มีอักษรเหมือนกัน หมายถึง ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ  
ที่ระดับความเชื่อมั่น 0.05 โดยการวิเคราะห์ด้วย DMRT

หมายเหตุ อุณหภูมิห้องที่ใช้คือ 31 องศาเซลเซียส

ค่าเฉลี่ยตะกั่ว(+2)ที่จุลินทรีย์ดูดซับได้มีหน่วยเป็น มิลลิกรัมต่อกรัม  
น้ำหนักเซลล์แห้ง

**ตารางที่ ๑3** ผลการวิเคราะห์ทางสถิติของความเข้มข้นเริ่มต้นของตะกั่ว(+2)ที่มีต่อการดูดซับ ตะกั่ว(+2)โดยเชื้อแบคทีเรีย *Z. ramigera* TISTR 1329 และเชื้อรา *R. arrhizus* TISTR 3129

ความเข้มข้นเริ่มต้น ตะกั่ว(+2) (มิลลิกรัมต่อลิตร)	เชื้อแบคทีเรีย <i>Z. ramigera</i>	เชื้อรา <i>R. arrhizus</i>
50	79 <sup>a</sup>	76 <sup>a</sup>
100	76 <sup>b</sup>	75 <sup>a</sup>
150	63 <sup>c</sup>	67 <sup>b</sup>
200	47 <sup>d</sup>	53 <sup>c</sup>
300	31 <sup>e</sup>	36 <sup>d</sup>

ในสคริปต์เดียวกันที่มีอักษรเหมือนกัน หมายถึง ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ  
ที่ระดับความเชื่อมั่น 0.05 โดยการวิเคราะห์ด้วย DMRT

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยของตะกั่ว(+2)ที่จุลินทรีย์ดูดซับ ได้มีหน่วยเป็นร้อยละ