การดูดซับโครเมียม (+6) โดยสาหร่ายเซลล์เดียวสีเขียว *Chlorella* sp.

นายสัญชัย ใจยงค์
นางสาวอ่อนหวาน อาจสาคร
นายเอกราช ลิ้มวัฒนา

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต

ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์

คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ปีการศึกษา 2540

Chromium (+6) Absorption by *Chlorella* sp.

Mr. Sunchai Jaiyonk

Miss Onwhan Addsakorn

Mr. Agkarat Limwattana

A Special Project Submitted in Partial Fulfillment of the Requirement

for the Degree of Bachelor of Science

Department of Applied Biology

Faculty of Science

King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang

1997

หัวข้อโครงงานพิเศษ	การดูดซับโครเมียม (+6) โดยสาหร่ายเซลล์เดียวสีเขียว *Chlorella* sp.	
โดย	นายสัญชัย	ใจยงค์
	นางสาวอ่อนหวาน	อาจสาคร
	นายเอกราช	ลิ้มวัฒนา
ภาควิชา	ชีววิทยาประยุกต์	
อาจารย์ที่ปรึกษา	อาจารย์ วีนา	ชูโชติ
	อาจารย์ มงคล	เพ็ญสายใจ

ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง อนุมัติให้นับโครงงานพิเศษฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต

____________________ หัวหน้าภาควิชาชีววิทยาประยุกต์

(รศ. ดร. พรรณี ฐิตาภิชิต)

คณะกรรมการสอบโครงงานพิเศษ

ดุษณี ธนะบริพัฒน์ ____________________ ประธานกรรมการ

(รศ. ดร. ดุษณี ธนะบริพัฒน์)

วีนา ชูโชติ ____________________ กรรมการ

(อาจารย์ วีนา ชูโชติ)

มงคล เพ็ญสายใจ ____________________ กรรมการ

(อาจารย์ มงคล เพ็ญสายใจ)

หัวข้อโครงงานพิเศษ	การดูดซับโครเมียมโดยสาหร่ายเซลล์เดียวสีเขียว *Chlorella* sp.	
โดย	นายสัญชัย	ใจยงค์
	นางสาวอ่อนหวาน	อาจสาคร
	นายเอกราช	ลิ้มวัฒนา
อาจารย์ที่ปรึกษา	อาจารย์วีนา	ชูโชติ
	อาจารย์มงคล	เพ็ญสายใจ
ภาควิชา	ชีววิทยาประยุกต์	
ปีการศึกษา	2540	

บทคัดย่อ

โครเมียมเป็นโลหะที่ใช้กันมากในอุตสาหกรรมต่าง ๆ น้ำทิ้งจากโรงงานเหล่านี้มีสารประกอบของโครเมียม (+6) ละลายปะปนอยู่มาก จากการศึกษาพบว่า *Chlorella* sp. ซึ่ง เป็นสาหร่ายเซลล์เดียวสีเขียวที่พบได้ทั่วไปในแหล่งน้ำต่าง ๆ ของประเทศไทยสามารถใช้เป็นตัวดูดซับโลหะหนักได้ จากการนำน้ำทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรมต่าง ๆ ที่มีโครเมียม (+6) ละลายปะปนอยู่มาแยกเพื่อหาสาหร่าย พบ *Chlorella* sp. 2 สายพันธุ์ คือ *Chlorella* สายพันธุ์ A และ *Chlorella* สายพันธุ์ B เมื่อนำสาหร่ายทั้ง 2 สายพันธุ์ และ *Chlorella vulgaris* มาทำทดสอบการดูดซับโครเมียม (+6) ที่มีความเข้มข้นเริ่มต้นเป็น 5.76 มิลลิกรัมต่อลิตร ใช้ความเร็วรอบในการเขย่าระหว่างการดูดซับ 180 รอบต่อนาที พบว่า *C. vulgaris* และ *Chlorella* สายพันธุ์ A สามารถดูดซับโครเมียม (+6) ได้ 100 เปอร์เซ็นต์ แต่ *Chlorella* สายพันธุ์ B ไม่สามารถดูดซับ ได้หมด จากนั้น นำ *C. vulgaris* มาทดสอบผลของความเข้มข้นเริ่มต้นของโครเมียม (+6) ที่มีต่อการดูดซับโดยใช้ความเข้มข้น 2.80, 5.94 และ 7.78 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยใช้ความเร็วรอบ 180 รอบต่อนาที พบว่า *C. vultaris* สามารถโครเมียม (+6) ได้หมดที่ความเข้มข้นของโครเมียม (+6) 2.80 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อนำ *C. vulgaris* มาทดสอบผลของความเร็วรอบในการเขย่าที่มีต่อการดูดซับโครเมียม (+6) โดยให้ความเข้มข้นของโครเมียม (+6) เป็น 2.96 มิลลิกรัมต่อลิตร และใช้ความเร็วรอบ 140, 180 และ 220 รอบต่อนาที พบว่า ที่ความเร็วรอบ 220 รอบต่อนาที *C. vulgaris* สามารถดูดซับโครเมียม (+6) ได้หมดโดยใช้เวลาในการดูดซับน้อยที่สุด

Special Project Title	Chromium (+6) Absoprtion by *Chlorella* sp.
Name	Mr. Sunchai Jaiyonk
	Miss. Onwhan Addsakorn
	Mr. Agkarat Limwattana
Special Project Advisor	Mrs. Weena Choochot
	Mr. Mongkol Phensaijai
Department	Applied Biology
Academic Year	1997

Abstract

Chromium, the metal that wide use in the industrial and it is in the waste water from these plant. The study found that *Chlorella* sp., the unicellular green algae in surface water in Thailand can use as metal absorbent. When we take the waste water that has chromium from industrial plant to screen for algae, the algae that found are 2 strains of *Chlorella* sp. we call *Chlorella* strain A and *Chlorella* strain B. Then take 2 strains of *Chlorella* sp. (strain A and strain B) and *Chlorella vulgaris* for chromium absorption test, the concentration of solution that has chromium for testing is 5.76 milligram per liter and shaked at 180 round per minute. The result of testing is *Chlorella vulgaris* and *Chlorella* strain A can absorped all of chromium in the solution (100%), but *Chlorella* strain B can not. After that, take *Chlorellla vulgaris* for observed the influence of start concentration testing. The concentrations for testing are 2.80, 5.94 and 7.76 milligram per liter and shaked at 180 round per minute. The result of testing is *Chlorella vulgaris* can absorped all of chromium when the start concentration is 2.80 milligram per liter. When take *Chlorella vulgaris* to test the round speed of shaker that may have the influence for absorption, used round speed 140, 180, and 220 round per minute found that *Chlorella vulgaris* can absorped all of chormium and use less time at 220 round per minute.

กิตติกรรมประกาศ

โครงงานพิเศษฉบับนี้ ได้จัดทำขึ้นตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต คณะผู้จัดทำขอกราบขอบพระคุณ อาจารย์วีนา ชูโชติ และ อาจารย์มงคล เพ็ญสายใจ ผู้ซึ่งเป็นอาจารย์ที่ปรึกษาโครงงานพิเศษ ที่ได้ให้ความรู้ ข้อเสนอแนะ และความสะดวกต่าง ๆ รวมทั้งได้กรุณาตรวจทานและแก้ไขทางด้านภาษา รศ.ดร.ดุษณี ธนะบริพัฒน์ ประธานกรรมการสอบโครงงานพิเศษ และได้กรุณาช่วยตรวจทานโครงงานพิเศษฉบับนี้ รวมทั้งเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการทุกท่านที่กรุณาให้ยืมอุปกรณ์และสารเคมีต่าง ๆ เพื่อใช้ในการทำการทดลอง และเจ้าหน้าที่ที่เกี่ยวข้องทุกท่าน

ขอขอบคุณกำลังใจจากพี่ เพื่อน และน้องทุกคนที่ให้การช่วยเหลือตลอดมา

คณะผู้จัดทำ

สารบัญ

สารบัญตาราง

หน้า

สารบัญรูป

หน้า

สารบัญรูป (ต่อ)

หน้า

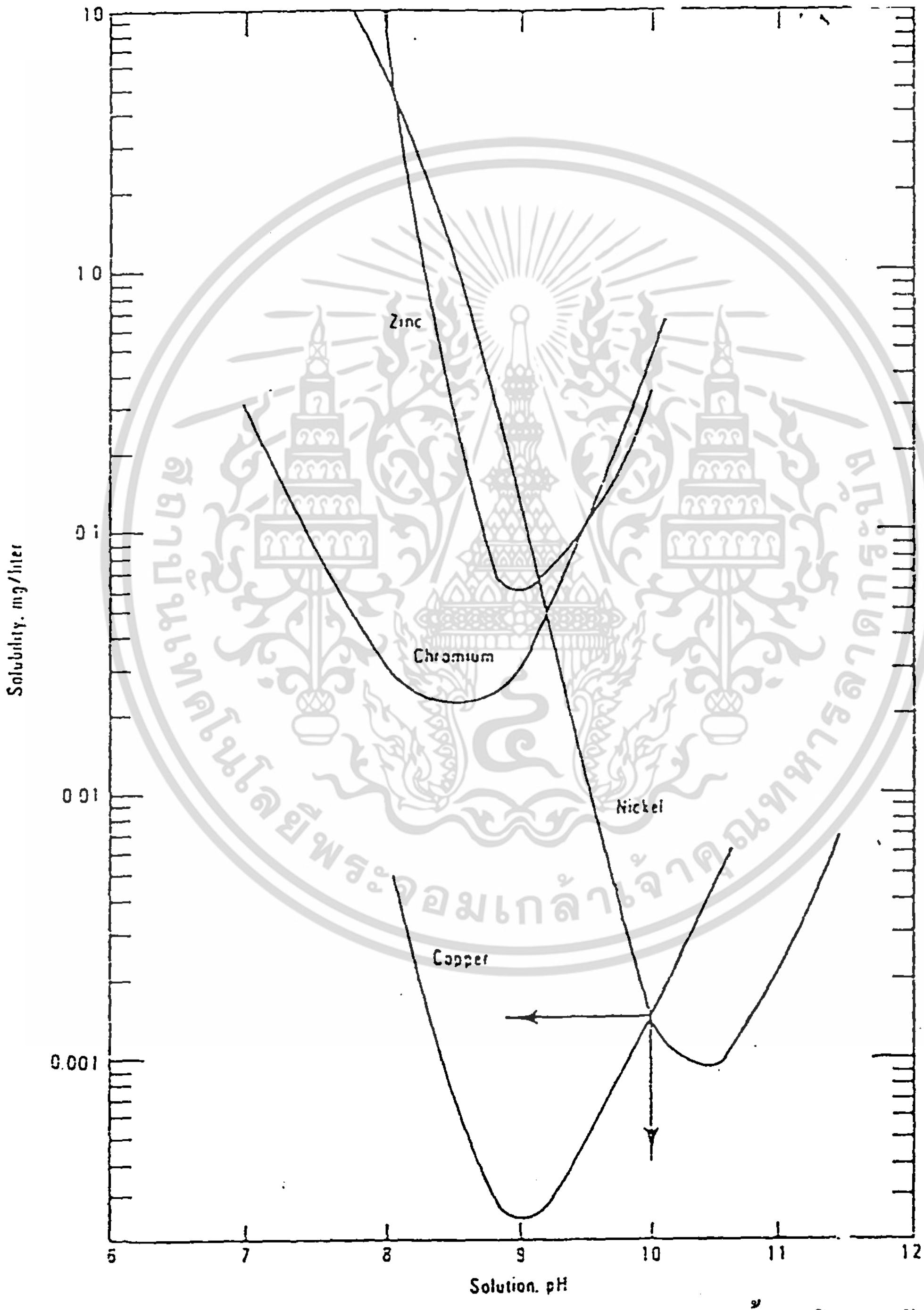
บทที่ 1
บทนำ

ที่มาและความสำคัญของปัญหา

ประเทศไทยเป็นประเทศหนึ่งที่กำลังพัฒนาทางด้านอุตสาหกรรมและเทคโนโลยี ด้วยเหตุนี้จึงทำให้โรงงานอุตสาหกรรมต่าง ๆ เกิดขึ้นอย่างมากมายเพื่อผลิตสินค้าให้เพียงพอต่อความต้องการของคนในประเทศ รวมทั้งเพื่อการส่งออกด้วย โรงงานต่าง ๆ ที่เกิดขึ้นเหล่านี้ มีทั้งที่ขึ้นกับกรมโรงงานอุตสาหกรรมและที่ขึ้นกับนิคมอุตสาหกรรม โรงงานเหล่านี้ได้มีการใช้สารเคมีชนิดต่าง ๆ ในกระบวนการผลิตและใช้เป็นผลิตภัณฑ์มากมาย สารเคมีต่าง ๆ เหล่านี้ ยังรวมถึงโลหะหนักด้วย โลหะหนักเป็นสารมลพิษที่สามารถตกค้างสะสมในสิ่งแวดล้อม โดยอาจอยู่ในรูปของอนุภาคในอากาศ ละลายอยู่ในแหล่งน้ำหรือสะสมในตะกอนดิน โลหะหนักจะมีความถ่วงจำเพาะมากกว่าน้ำ 5 เท่าขึ้นไป มีอัตราการละลายตัวช้า จึงสะสมในสิ่งแวดล้อมได้เป็นเวลานาน การละลายตัวของโลหะหนักชนิดต่าง ๆ ในแหล่งน้ำจะขึ้นอยู่กับชนิดของโลหะและพีเอช (pH) ของแหล่งน้ำดังแสดงในรูปที่ 1.1 โลหะหนักส่วนมากจะมีเลขอะตอม 23 - 92 อยู่ในคาบที่ 4 - 7 ของตารางธาตุ มักอยู่ในกลุ่มของโลหะทรานสิชัน (transition) โลหะหนักที่เป็นพิษซึ่งเป็นที่รู้จักกันดี เช่น ปรอท (Hg) ตะกั่ว (Pb) แคดเมียม (Cd) โครเมียม (Cr) สารหนู (As) และสังกะสี (Zn) เป็นต้น (อู่แก้ว, 2531) โลหะหนักที่มีการใช้กันอย่างแพร่หลายมากชนิดหนึ่งคือ “ โครเมียม (chromium) ” ซึ่งใช้กันมากและใช้กันมานานแล้ว

อุตสาหกรรมที่มีการใช้โครเมียมในกระบวนการต่าง ๆ ได้แก่ อุตสาหกรรมฟอกหนังสัตว์ซึ่งใช้โครเมียมในการฟอกหนัง อุตสาหกรรมผลิตสี ทั้งสีน้ำมัน สีพลาสติก น้ำมันทาไม้ เชลแล็กและแลกเกอร์ ที่สำคัญคืออุตสาหกรรมเคลือบผิวโลหะ ซึ่งเป็น อุตสาหกรรม ที่มีการขยายตัวอย่างรวดเร็ว เพื่อตอบสนองความต้องการของตลาดซึ่งต้องการสินค้าที่มีความสวยงาม และทนทานต่อการกัดกร่อน เช่น ส่วนประกอบต่าง ๆ ของรถยนต์ ปัญหาที่ตามมาจากการขยายตัวของอุตสาหกรรมเหล่านี้ก็คือปัญหาของเสียจากโรงงานอุตสาหกรรม และในน้ำทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรมเหล่านี้มักจะมีโลหะหนักปนเปื้อนอยู่ในปริมาณสูง เมื่อน้ำทิ้งเหล่านี้ถูกปล่อยลงสู่แหล่งน้ำสาธารณะก็จะทำให้เกิดปัญหามลภาวะตามมา เมื่อโลหะหนักถูกปล่อยสู่สิ่งแวดล้อมสัตว์น้ำที่อาศัยอยู่ในแหล่งน้ำก็จะเกิดการสะสมโลหะหนักและส่งผ่านไปยังห่วงโซ่อาหาร เมื่อมนุษย์บริโภคสัตว์น้ำที่สะสมโลหะหนักเอาไว้ ก็จะเกิดการสะสมโลหะหนักเอาไว้ในร่างกายเช่นเดียวกัน

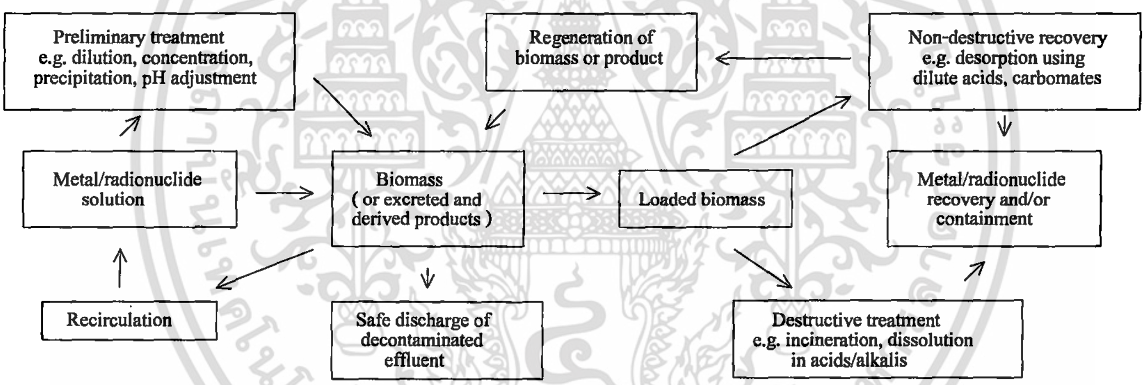
เมื่อเกิดการสะสมมากขึ้น ก็จะก่อให้เกิดอันตรายแก่ชีวิตได้ และการที่สิ่งแวดล้อมมีโลหะหนักปะปนอยู่มากจะทำให้เกิดปัญหาในการบำบัดน้ำเสียมากขึ้นด้วย (Frischmuth และคณะ, 1992) ปัญหา ต่าง ๆ ดังที่ได้กล่าวมานี้ มักเกิดจากโรงงานขนาดกลางและขนาดเล็กที่ไม่มีระบบบำบัดน้ำทิ้งที่มีประสิทธิภาพเพียงพอในการกำจัดโลหะหนักเพื่อลดปริมาณโลหะหนักที่ละลายอยู่ในน้ำทิ้งซึ่งอาจเป็นอันตรายต่อสิ่งแวดล้อมได้



รูปที่ 1.1 ความสัมพันธ์ระหว่างพีเอชและความสามารถในการละลายน้ำของโลหะหนักชนิดต่างๆ

พิษของโครเมียมได้มีการยืนยันจาก " คณะกรรมการวิจัยโรคมะเร็งระหว่างชาติ (International Agency for Research on Cancer : IARC) แล้วว่าสารประกอบของโครเมียมเป็นสารก่อมะเร็ง โดยทำให้เกิดมะเร็งที่ปอดและโพรงจมูก ซึ่งตามมาตรฐานน้ำทิ้งของกระทรวงอุตสาหกรรม ได้กำหนดให้มีโครเมียมในน้ำทิ้งได้ไม่เกิน 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร (0.5 พีพีเอ็ม)

วิธีการบำบัดเพื่อลดปริมาณโลหะหนักที่ปะปนอยู่ในน้ำทิ้งจากโรงงาน ก่อนที่จะทำการปล่อยลงสู่แหล่งน้ำนั้น มีด้วยกันหลายวิธีทั้งวิธีทางกายภาพ วิธีทางเคมี และวิธีทางชีวภาพ วิธีการทางกายภาพ และ วิธีการทางเคมี เช่น การออกซิเดชันหรือรีดักชันด้วยสารเคมี การกรอง (filtration) การตกตะกอน (precipitation) การจับกลุ่มตกตะกอน (flocculation - sedimentation) การแลกเปลี่ยนประจุ (ion exchange) การดูดซับด้วยคาร์บอนหรือเรซิน (carbon absorption or resin absorption) เป็นต้น ซึ่งอาจใช้หลายวิธีร่วมกันได้ ดังรูปที่ 1.2



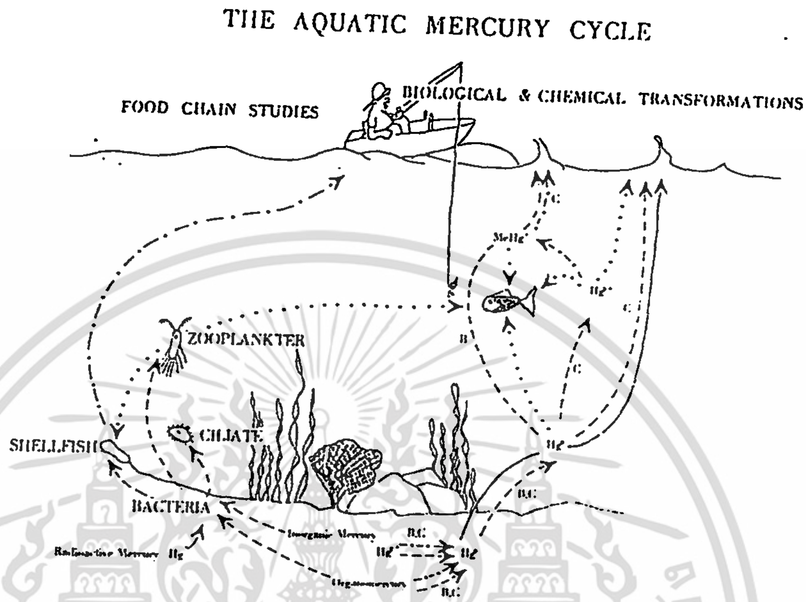
รูปที่ 1.2 แบบแผนขั้นตอนทั่วไปของการกำจัดโลหะหนัก

วิธีการที่ใช้ทั่วไปในการกำจัดโครเมียมในน้ำทิ้ง คือ เติมสารเคมีลงไปเพื่อรีดิวซ์โครเมียม (+6) ให้เป็นโครเมียม (+3) ซึ่ง เป็นพิษน้อยกว่า แล้วตกตะกอนในรูปของโครเมียมไฮดรอกไซด์ ($Cr(OH)_3$) ในสภาวะที่เป็นเบส แต่วิธีนี้จะเกิดปัญหาเนื่องจากต้องปรับพีเอชหลายครั้ง เพราะปฏิกิริยาการรีดิวซ์โครเมียมเกิดในสภาวะที่เป็นกรด (pH 2 - 2.5) และการตกตะกอนโครเมียมเกิดในสภาวะที่เป็นด่าง (pH 10) จากนั้นต้องปรับพีเอชให้เป็นกลางก่อนปล่อยลงสู่แหล่งน้ำ ธรรมชาติ และการใช้วิธีการตกตะกอนหรือวิธีการแลกเปลี่ยนประจุ (ion exchange) แต่วิธีเหล่านี้ก็ไม่

สามารถกำจัดโลหะหนักที่มีอยู่ในน้ำทิ้งให้หมดไปได้ (Frischmuth และคณะ, 1991) นอกจากนี้ยังเป็นวิธีที่ยุ่งยากต้องใช้เทคนิคพิเศษมากมายและค่าใช้จ่ายสูงโดยเฉพาะเมื่อปริมาณโลหะหนักในน้ำทิ้งมีไม่สูงนักก็จะยิ่งเป็นการสิ้นเปลืองค่าใช้จ่ายมากยิ่งขึ้น ดังนั้นจึงได้มีการนำวิธีการทางชีวภาพมาใช้ในการลดปริมาณโลหะหนักในน้ำทิ้งแทนโดยการนำจุลินทรีย์ชนิดต่าง ๆ มาใช้แยกโลหะหนักออกจากน้ำทิ้ง โดยการดูดซับโลหะหนักไว้ที่ผนังเซลล์ของจุลินทรีย์ วิธีการนี้เป็นวิธีการที่สามารถทำได้อย่างสะดวก และเป็นการลดต้นทุนในการกำจัดโลหะหนักอีกด้วย

จุลินทรีย์ที่สามารถใช้ในการดูดซับโลหะหนักได้มีทั้ง แบคทีเรีย ยีสต์ รา และ สาหร่าย จุลินทรีย์เหล่านี้สามารถดูดซับโลหะหนักได้หลายชนิด เช่น แคดเมียม สังกะสี ทองแดง โครเมียม ฯลฯ (Volesky, 1990) นอกจากนี้โลหะหนักสามารถสะสมอยู่ในเซลล์ของสิ่งมีชีวิตที่อาศัยอยู่ในแหล่งน้ำบริเวณนั้น โดยเกิดการสะสมเพิ่มมากขึ้นตามลำดับขั้นของห่วงโซ่อาหาร ดังรูปที่ 1.3 ซึ่งแสดงให้เห็นถึงวัฏจักรของการถ่ายทอดปรอท (Hg) ในห่วงโซ่อาหาร

จากการศึกษาของ Wang และคณะ (1989) พบว่า " โลหะหนักที่ละลายในแหล่งน้ำจะถูกดูดซับ โดยมูลสัตว์และตะกอนจุลินทรีย์ (sewage sludges) ที่อยู่ในแหล่งน้ำนั้นและจะส่งผ่านห่วงโซ่อาหารไปยังสาหร่ายสีเขียว *Chlorella pyrenoidosa* ซึ่ง เป็นอาหารของกุ้งน้ำจืด *Macrobrachium hainanense* " นอกจากนี้ยังพบว่าความเข้มข้นของโลหะหนักภายในร่างกายของสัตว์น้ำจะมากกว่าความเข้มข้นในแหล่งน้ำถึง 3,000 - 5,000 เท่า แต่การปนเปื้อนของโลหะหนักในแหล่งน้ำไม่เพียงแต่มีผลกระทบต่อคุณภาพน้ำและมีอันตรายกับสิ่งมีชีวิตในน้ำเท่านั้น แต่ยังเป็นอันตรายต่อคนและสัตว์ที่บริโภคพืชและสัตว์ที่มีโลหะหนักสะสมอยู่เข้าไป เช่น ในประเทศญี่ปุ่นได้มีผู้ป่วยเป็นโรคมินามาตะเป็นจำนวนมาก เนื่องจากบริโภคปลาที่มีเมทิลเมอร์คิวรีสะสมอยู่ในระดับอันตราย หรือเกิดโรคอิไตอิไต เนื่องจากบริโภคสัตว์น้ำที่มีแคดเมียมสะสมถึงระดับที่เป็นอันตราย



รูป ที่ 1.3 วัฏจักรของการถ่ายทอดปรอทผ่านห่วงโซ่อาหาร และวิถีอื่น ๆ ที่เกี่ยวข้องในแหล่งน้ำ : (C) วิถีทางเคมี ; (B) วิถีทางชีววิทยา; (——) ตรวจสอบในธรรมชาติ; (----) ตรวจสอบในห้องปฏิบัติการ; (····) วิถีที่ไม่ได้รับการยืนยันแน่นอน (ไม่มีการตรวจสอบ); (—·—·—) วิถีที่ได้รับการยืนยันแน่นอน (มีการตรวจสอบ) (Walker และ Davis, 1978)

ในการศึกษาการดูดซับโลหะหนักโดยใช้จุลินทรีย์ จะศึกษาจากสาหร่ายสีเขียวเนื่องจากสามารถสะสมโลหะหนักได้ในปริมาณสูง และยังสามารถพบได้ทั่วไปในธรรมชาติ นอกจากนี้ส่วนประกอบของอาหารเลี้ยงสาหร่าย ที่ใช้ในห้องทดลองส่วนใหญ่มักจะเป็นสารละลายของเกลืออนินทรีย์ ทำให้สามารถลดปัญหาของการปนเปื้อนจากจุลินทรีย์ชนิดอื่น ๆ ได้ โครงงานพิเศษนี้จะเป็นการศึกษาถึงการดูดซับโลหะหนักซึ่งได้แก่ โครเมียมโดยสาหร่ายสีเขียว *Chlorella* sp.

วัตถุประสงค์

1. ศึกษาสภาวะที่เหมาะสม ได้แก่ ชนิดของเชื้อ ความเข้มข้นของโครเมียม (+6) และความเร็วรอบ ที่มีผลต่อการดูดซับโครเมียม (+6) ด้วยสาหร่ายสีเขียว *Chlorella* sp.

2. เพื่อคัดเลือกสายพันธุ์ *Chlorella* sp. ที่สามารถดูดซับ โครเมียม (+6) ได้ดีที่สุด

ขอบเขตของปัญหาพิเศษ

1. หาสภาวะที่เหมาะสมในการดูดซับโครเมียม (+6) ของ *Chlorella* sp.
2. หาสายพันธุ์ *Chlorella* sp. ที่สามารถดูดซับ โครเมียม (+6) ได้ดีที่สุด

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ทราบสภาวะที่เหมาะสมในการดูดซับโครเมียม (+6) ของ *Chlorella* sp.
2. ทราบสายพันธุ์ *Chlorella* sp. ที่สามารถดูดซับ โครเมียม (+6) ได้ดีที่สุด

บทที่ 2

ตรวจเอกสาร

ลักษณะทั่วไปของสาหร่ายสีเขียว *Chlorella* sp.

Chlorella sp. เป็นสาหร่ายเซลล์เดียว (unicellular green algae) อยู่ในดิวิชั่นคลอโรไฟตา (division chlorophyta) เซลล์มีลักษณะคล้าย *Chlorococcum* เคลื่อนที่ไม่ได้ เซลล์มีรูปร่างกลมหรือรูปร่างรี ขนาด 2 - 10 ไมครอน มีคลอโรพลาสต์ (chloroplast) 2 เม็ด โค้งชิดกับผนังเซลล์ คลอโรพลาสต์อาจจะมีรูปร่างแบนด้วย หรือแบบโค้งไปตามผนังเซลล์ ตามปกติจะไม่มีไพรีนอยด์ (pyrinoid) และสติกมา (stigma) ดังแสดงในรูปที่ 2.1

รูปที่ 2.1 สาหร่ายสีเขียว *Chlorella* sp. (Presscott, 1978)

สาหร่าย *Chlorella* sp. มีการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ โดยการสร้างออโตสปอร์ (autospore) ภายในเซลล์แม่ ออโตสปอร์จะมีจำนวนเป็น 2, 4, 8 หรือ 16 สปอร์ (เป็นแบบ ทวีคูณ) แต่ละสปอร์จะมีลักษณะเหมือนเซลล์แม่ทุกประการ ในบางครั้งจะเรียกสปอร์เหล่านี้ว่า อะพลาโนสปอร์ (aplanospore) เมื่อออโตสปอร์หลุดออกจากเซลล์แม่จะเจริญไปเป็นสาหร่าย*Chlorella* sp. เซลล์ใหม่ที่มีจำนวนโครโมโซมเพียง 1 ชุด (haploid) ปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อการเจริญของสาหร่าย *Chlorella* sp. คือ อุณหภูมิ แสงสว่าง พีเอช ความชื้นและสารอาหาร โดยอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญของสาหร่าย *Chlorella* sp. มักจะอยู่ในช่วงอุณหภูมิห้อง ความ

เข้มแสงที่ทดลองแล้วพบว่ามีความเหมาะสมต่อการเจริญของสาหร่ายโดยให้อัตราการเจริญถึง 13.85×10^6 เซลล์ คือ 2,400 ลักซ์ (ปาจารีย์ และคณะ, 2540) และพีเอช 6.8

คุณสมบัติของจุลินทรีย์ที่นำมาใช้ในการกำจัดโลหะ

จุลินทรีย์ที่สามารถดูดซับโลหะหนักได้มีหลายชนิด ทั้งแบคทีเรีย ยีสต์ ราและสาหร่าย โดยสามารถดูดซับโลหะหนักออกจากสารละลายได้ แม้ว่าปริมาณความเข้มข้นของโลหะหนักในสารละลายจะน้อยมาก จุลินทรีย์ที่นำมาใช้อาจอยู่ในรูปของเซลล์ที่มีชีวิตหรือเป็นเซลล์ที่ตายแล้วก็ได้ จุลินทรีย์ที่จะนำมาใช้ในการดูดซับโลหะหนักได้นั้น ควรมีคุณสมบัติดังต่อไปนี้

1. สามารถทนความเป็นพิษของโลหะหนักในสารละลายได้

2. สามารถดูดซับโลหะหนักออกจากสารละลายได้รวดเร็วและมีประสิทธิภาพสูง

3. สามารถเพิ่มปริมาณมวลชีวภาพได้ง่าย และรวดเร็ว โดยเสียค่าใช้จ่ายน้อย และควรนำกลับมาดูดซับได้ใหม่หลังจากผ่านการดูดซับแล้ว

4. การแยกจุลินทรีย์ดูดซับออกจากสารละลายควรจะแยกได้ง่าย รวดเร็ว และมีประสิทธิ - ภาพสูง ค่าใช้จ่ายต่ำ

5. กระบวนการที่ใช้ในการทำให้จุลินทรีย์ดูดซับปล่อยโลหะออกมาควรทำได้ง่าย รวดเร็ว และมีประสิทธิภาพสูง และสารเคมีที่ใช้ในกระบวนการควรหาได้ง่าย ราคาถูก

6. จุลินทรีย์ที่ใช้ดูดซับ ควรดูดซับโลหะหนักได้หลายชนิด (วชิรัคณา, 2531)

กระบวนการสะสมโลหะหนักโดยจุลินทรีย์

กลไกการดูดซับโลหะหนักโดยจุลินทรีย์ ถ้าเป็นเซลล์ที่ตายแล้วส่วนมากจะเกิดที่ผนังเซลล์ โดยเกิดปฏิกิริยากับหมู่ต่าง ๆ (functional group) ที่ผนังเซลล์ แต่ถ้าเป็นเซลล์ที่มีชีวิตจะมีการนำสารเข้าสู่เซลล์ (solute - transport process) ร่วมด้วย และ จะเข้าสู่ กระบวนการเมแทบอลิซึม (metabolism) ต่าง ๆ ภายในเซลล์ กระบวนการนำสารเข้าสู่เซลล์มี 4 วิธี คือ

1. <u>การนำพาสารแบบพาสซีฟ</u> (passive transport) เป็นการนำพาสารโดยไม่อาศัยพลังงาน โมเลกุลของสารจะผ่านเยื่อเมมเบรนโดยอาศัยแรงขับดัน (conjugate driving force) โดยที่การนำพาของสารจะสิ้นสุดลงเมื่อถึงจุดสมดุล (ความแตกต่างของแรงขับดันทั้งสองด้านของเยื่อเมมเบรนเป็นศูนย์)

2. <u>การนำพาสารแบบการแพร่</u> (facilitated diffusion) เป็นการนำพาสารโดยอาศัยตัวพาหะจำเพาะ (specific carrier) ซึ่ง เป็นสารโมเลกุลใหญ่ อยู่ที่เยื่อเมมเบรน ซึ่งจะทำหน้าที่คอยจับโมเลกุลของสารละลาย แล้วเคลื่อนผ่านเยื่อเมมเบรนโดยอาศัยแรงขับดันที่เกิดขึ้นจาก

ความแตกต่างของค่าความเข้มข้นของสารละลายระหว่างเยื่อเมมเบรน โดยไม่ต้องอาศัยพลังงานจากกระบวนการเมแทบอลิซึม ส่วนตัวพาหะจะมีผลต่อการเคลื่อนที่ของสารโดยไม่มีผลต่อสมดุลสุดท้ายที่เกิดขึ้น

3. <u>การนำพาสารแบบแอกทีฟ</u> (active transport) เป็นการนำพาสารโดยอาศัยตัวพาหะจำเพาะ แต่การนำพาสารจะมีพลังงานเป็นแรงขับดัน โมเลกุลของสารถูกละลายจะไม่มีการเปลี่ยนแปลงทางเคมีในระหว่างที่มีการนำพาสารจากข้างหนึ่งของเยื่อเมมเบรนไปอีกข้างหนึ่ง การเคลื่อนที่ของสารอาศัยแรงขับดันจากภายนอก จะเป็นผลทำให้สารเคลื่อนที่จากบริเวณที่มีความเข้มข้นต่ำไปยังบริเวณที่มีความเข้มข้นสูง พลังงานที่ใช้ในการนำพาสารจะเป็นพลังงานที่ได้มาจากกระบวนการเมแทบอลิซึมของจุลินทรีย์

4. <u>การนำพาสารแบบการเคลื่อนย้ายหมู่</u> (group - translocation) เกิดการนำพาสารโดยอาศัยตัวพาหะจำเพาะเป็นตัวนำพาสารเข้าไปในเซลล์จุลินทรีย์ โดยสารเกิดการเปลี่ยนแปลงทางเคมีในระหว่างที่เกิดกระบวนการนำพาสาร โดยโมเลกุลตัวพาหะจะแสดงพฤติกรรมคล้ายกับเอนไซม์ที่เป็นตัวเร่งโดยมีสารถูกละลายเป็นสับสเตรท

ปกติโครเมียม (+3) จะไม่สามารถแพร่ผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ของสิ่งมีชีวิตได้ แต่โครเมียม (+6) สามารถแพร่ผ่านได้ หลังจากนั้นอาจถูกรีดิวซ์กลับไปเป็นโครเมียม (+3) อีกครั้งที่นิวเคลียส ไซโตพลาสซึม และไมโตคอนเดรีย โดยเกิดเป็นโครเมียมไฮดรอกไซด์ได้ที่พีเอช 7.5 โครเมียม (+3) ที่เกิดขึ้นภายในเซลล์จะเกิดปฏิกิริยากับโปรตีนและกรดนิวคลีอิกได้ ทำให้ปริมาณโครเมียมที่แพร่เข้ามาในเซลล์ลดต่ำลง จึง สามารถเกิดการแพร่ของโครเมียม (+6) เข้ามาในเซลล์ได้อีก (วชิรัคณา, 2531)

ลักษณะทั่วไปของโครเมียม (Chromium : Cr)

โครเมียมมีเลขอะตอม 24 มีอยู่ประมาณ 0.037% ของเปลือกโลก เกิดตามธรรมชาติในรูปของโครไมต์หรือสินแร่ chrome ion ($FeOCr_2O_3$) เป็นโลหะสีขาวนวล มีความสุกใสไม่ขุ่นมัว ไม่ต้องขัดถูบ่อย ๆ มีความฝืดต่ำ มีความแข็ง มีจุดหลอมเหลวสูงถึง 1,615 องศาเซลเซียส มีสัญลักษณ์ Cr โครเมียมเป็นตัวนำไฟฟ้าที่ดี และไม่เป็นสนิม มีเลขออกซิเดชันได้หลายค่าตั้งแต่ -2 ถึง +6 (Hamilton และ Wetterhahn, 1988)

- โครเมียม (-2 ถึง 0) พบมากในคาร์บอนิลและสารประกอบโลหะอินทรีย์
- Hexacarbonylchromium (ประจุเป็น 0) ($Cr(CO)_6$) เป็นของแข็งสีขาว มีความคงตัวในอากาศ ไม่ละลายน้ำ

■ โครเมียม (+2) เป็นตัวรีดิวซ์ที่แรง และถูกออกซิไดส์ไปเป็นโครเมียม (+3) ได้ในอากาศ

■ โครเมียม (+3) เป็นวาเลนซีที่เสถียร เป็นรูปที่พบมากในธรรมชาติ เมื่อละลายน้ำจะเกิดสารประกอบเชิงซ้อนโดยมีโมเลกุลของน้ำเป็นลิแกนด์ ในสภาวะกรดเกิดเป็น $[Cr(H_2O)_6]^{+3}$ และเป็น $[Cr(OH)(H_2O)_5]^{+2}$ ในสภาวะด่าง

■ โครเมียม (+6) พบมากในธรรมชาติพอ ๆ กับ โครเมียม (+3) แต่พบในรูปของสารประกอบของออกซิเจนพวก oxo species เช่น

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

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

โครเมียม (+6) เป็นสารออกซิไดส์ที่แรงมากภายใต้สภาวะกรด (pH = 0)

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

ประโยชน์ของโครเมียม

โครเมียมเป็นองค์ประกอบสำคัญสำหรับโลหะผสม ทำให้โลหะผสมมีความแข็ง เหนียว และทนทาน ป้องกันไม่ให้เกิดสนิมและทนต่อการผุกร่อน ใช้ในการชุบโลหะด้วยไฟฟ้าเพื่อป้องกันการเกิดสนิมและเพื่อความสวยงาม สารประกอบโครเมตของตะกั่ว สังกะสี และแบเรียม ซึ่ง เรียกว่า " เม็ดสีโครเมียม (chrome pigment) " จะใช้ในการทำสีต่าง ๆ ใช้ทำพรมน้ำมัน ใช้ทำยาง และใช้ในอุตสาหกรรมเครื่องปั้นดินเผา สีทา สีย้อม สารยืดอายุไม้ ยาฆ่าเห็ดรา (Papp, 1985) นอกจากนี้สารประกอบของโครเมียมยังสามารถใช้ในอุตสาหกรรมอื่น ๆ เช่น อุตสาหกรรมฟอกหนัง การย้อมสีขนสัตว์ ไหม และหนังสัตว์ ได้อีกด้วย

การชุบเคลือบผิวโลหะด้วยโครเมียมในปัจจุบันแบ่งได้ 2 ลักษณะ คือ

1. การชุบโครเมียมชนิดบางเพื่อความสวยงาม (decorative chromium) การชุบโลหะในลักษณะนี้ จะทำเพื่อป้องกันไม่ให้โลหะเกิดสนิม และเพื่อความสวยงาม ทนต่อการเสียดสี และทนทานต่อการผุกร่อน การชุบโครเมียมในลักษณะนี้ มักจะชุบโครเมียมค่อนข้างบางมาก โดยชุบให้โครเมียมมีความหนาประมาณ 0.00001 - 0.00003 นิ้ว หรือ 0.25 - 0.8 ไมครอน

2. การชุบโครเมียมชนิดหนา เรียกว่า " hard chromium หรือ hard chrome " มีจุดมุ่งหมายเพื่อเพิ่มความหนาของผิวโลหะที่ชุบ เช่น ชิ้นส่วนของเครื่องมือ หรือเครื่องจักรที่สึกหรอเนื่องมาจากการใช้งาน การชุบโครเมียมในลักษณะนี้ ต้องใช้เวลามาก โครเมียมที่ชุบจะมีความหนาตั้งแต่ 0.001 นิ้วขึ้นไป และโดยมากจะนิยมชุบบนเหล็กโดยตรงมักจะไม่นิยมชุบบนโลหะอื่น

<u>ตัวล่อโครเมียม</u> (anode)

ตัวล่อโครเมียมมักจะใช้โลหะผสมระหว่างตะกั่วกับดีบุก หรือโลหะผสมระหว่างตะกั่วกับพลวง ในกรณีที่ใช้ตะกั่วผสมกับดีบุก จะผสมตะกั่วกับดีบุกในอัตราส่วน 93 : 8

<u>น้ำยาชุบโครเมียม</u>

ใช้ส่วนผสมของกรดโครมิก (CrO_3) กับกรดกำมะถัน (H_2SO_4) ในอัตราส่วน 100 : 1

อันตรายที่เกิดจากโครเมียม

โครเมียมหรือสารประกอบโครเมียมส่วนใหญ่จะอยู่ในรูปของฝุ่นและควัน ซึ่งฝุ่นและควันเหล่านี้ สามารถเข้าสู่ร่างกายได้หลายทาง ดังนี้

1. ทางจมูก โดยการสูดหายใจเอาผงและควันของกรดโครมิกซึ่งส่วนใหญ่จะตกค้างอยู่ที่บริเวณจมูก และจะทำอันตรายต่อกระดูกอ่อนที่กั้นระหว่างจมูก มีผลต่อระบบทางเดินหายใจ และเมื่อเข้าสู่ปอดก็อาจทำให้เกิดโรคมะเร็งในปอดได้

2. ทางผิวหนัง ผู้ที่ปฏิบัติงานเกี่ยวข้องกับโครเมียม จะได้รับฝุ่นละอองหรือควันของโครเมียม ซึ่ง สามารถเกิดปฏิกิริยาต่อผิวหนังได้

3. อันตรายจากการรับประทานซึ่งได้รับโดยผ่านทางห่วงโซ่อาหาร ทำให้เกิดโรคเกี่ยวกับระบบทางเดินอาหาร อาจมีความบกพร่องของระบบย่อยอาหารร่วมด้วย

4. ทางตา ทำให้ตาเกิดบาดแผล

นอกจากนี้ยังอาจทำให้ระบบประสาท, ตับและไตถูกทำลายได้ (Koren, 1996) และยังเป็นสารก่อมะเร็งอีกด้วย (Marshell, 1991)

แผลจากโครเมียม (chrome ulcers) เกิดจากการสะสมของฝุ่นละอองของโครเมียม ซึ่งโดยมากจะเริ่มจากรอยถลอกที่ผิวหนัง และจะพบมากที่สุดที่โคนเล็บมือ ตามข้อที่นิ้ว หรือที่หลังเท้า แผลที่เกิดขึ้น จะมีลักษณะเป็นวงกลม ขอบค่อนข้างเรียบและบุ๋มลึกลงไป มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 1 เซนติเมตร หรือเล็กกว่า มองดูคล้ายกับถูกเจาะด้วยตะปู ถึงแม้ว่าแผลนี้จะไม่รู้สึกเจ็บปวด แต่จะคันอย่างมากในเวลากลางคืน แผลอาจเกิดการติดเชื้อ และอาจลุกลามไปยังข้อต่อใกล้เคียง อาจจะทำให้ต้องตัดอวัยวะส่วนนั้นทิ้งไป ฝุ่นของเกลือโครเมียม หรือควันของกรดโครมิกซึ่งอาจตกลงบนหนังตา หรือปลายจมูก ก็อาจจะทำให้เกิดบาดแผลได้เช่นเดียวกัน

มะเร็งที่ปอด อาจเกิดขึ้นเนื่องจากการสูดเอาผงหรือควันของโครเมียมเข้าสู่ร่างกายเป็นประจำ และเป็นเวลานาน ซึ่งจะทำให้เกิดโรคมะเร็งในปอด มีอันตรายถึงชีวิต

ผนังกั้นในจมูกทะลุ (perforation of the nasal septum) มักเกิดกับผู้ที่ทำงานเกี่ยวกับโครเมียม และได้รับเอาควันของการโครมิกหรือฝุ่นของโครเมียมอยู่เป็นประจำ จนทำให้ผนังกั้นในจมูกถูกทำลายเป็นรูทะลุ ซึ่งการทะลุนี้จะไม่ทำให้เกิดความรู้สึกเจ็บปวดแต่อย่างใด แต่จะรู้สึกว่าผนังกั้นในจมูกทะลุ แล้วก็ต่อเมื่อมีเสียงอู้อี้หรือดั้งจมูกแบนลง

ผิวหนังอักเสบ (dermatitis) บริเวณที่อาจเกิดการอักเสบได้แต่ มือ , แขน , ใบหน้า และหน้าอก ในรายที่เกิดการอักเสบรุนแรง ใบหน้าจะมีสีแดงเข้มและบวม ส่วนที่เกิดการอักเสบจะคันและเจ็บแสบมาก (กิ่งฟ้า และพิชญา, 2535)

การกำจัดโลหะหนัก โดยวิธีต่างๆ

1. การแลกเปลี่ยนประจุ (ion exchange resin)
   - ใช้กับสารที่มีปริมาณไม่มากนัก
   - ราคาแพง
   - ประสิทธิภาพขึ้นอยู่กับชนิดของ เรซิน (resin) ที่ใช้ และสารเจือปนในสารละลาย

2. ตกตะกอนด้วยสารเคมี เช่น แบเรียมคาร์บอเนต (barium carbonate : $BaCO_3$), แคลเซียมคาร์บอเนต (calcium carbonate : $CaCO_3$) และ โซดาไฟ ตะกอนจะนำไปกลบหรือฝัง

3. <u>การออกซิเดชัน - รีดักชัน</u> (oxidation - reduction)

- การออกซิเดชัน (oxidation) จะใช้สารเคมีเติมออกซิเจนลงไป สารเคมีที่ใช้ เช่น โพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนต (potassium permanganate : $KMnO_4$), โอโซน (ozone : O_3), โครเมต, ไฮโปคลอไรท์ ฯลฯ

- การรีดักชัน (reduction) ใช้สารเคมีนำออกซิเจนออกมา สารเคมีที่ใช้ เช่น SO_2, โซเดียมไบซัลไฟต์, เฟอรัสซัลเฟต

4. <u>ใช้วิธีทางชีววิทยา</u>

- ไม่เป็นพิษเนื่องจากไม่มีสารเคมีตกค้างภายหลังการกำจัด ทำให้สามารถลดค่าใช้จ่ายในการกำจัดสารเคมีที่ตกค้างได้

- ใช้จุลินทรีย์ เช่น การใช้ *Enterobacter cloacae* H01 ในถุงเยื่อเลือกผ่าน (dialysis - sac) ในการดูดซับโครเมียม (+6) สามารถลดปริมาณโครเมียม (+6) ได้ถึง 90% เมื่อปริมาณเริ่มต้นของโครเมียม (+6) น้อยกว่า 4mM (208 ppm) (Komori และคณะ, 1989) , *Candida utilis*, *Anabaena torulosa*, การใช้ *Pseudomonas fluorescens* ในการรีดิวซ์โครเมียม (+6) ให้กลายเป็นโครเมียม (+3) (Paul และ Henry, 1994), การใช้ *Chlorella vulgaris* ในการดูดซับแคดเมียม (Khummongkol และคณะ, 1982), การใช้ผนังเซลล์ของ *Cholrella fusca* ในการดูดซับแคดเมียม ทองแดง และตะกั่ว (Wehrhiem และ Wettern, 1994) และการใช้สาหร่ายสีน้ำตาล *Sargussum* ในการกำจัดโครเมียม เป็นต้น

บทที่ 3
การทดลอง

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

1. เชื้อจุลินทรีย์

1.1 เชื้อสาหร่ายสีเขียว *Chlorella vulgaris* จากศูนย์เก็บรักษาและรวบรวมข้อมูลจุลินทรีย์ สถาบันวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (MIRCEN)

1.2 เชื้อสาหร่ายสีเขียวสายพันธุ์ A ที่แยกได้จากน้ำทิ้งโรงงานอุตสาหกรรมที่มีโครเมียมละลายอยู่

1.3 เชื้อสาหร่ายสีเขียวสายพันธุ์ B ที่แยกได้จากน้ำทิ้งโรงงานอุตสาหกรรมที่มีโครเมียมละลายอยู่

2. อุปกรณ์

2.1 เครื่องแก้วต่างๆ

2.2 เครื่องเขย่า (shaker)

2.3 เครื่องหมุนเหวี่ยง (centrifuge)

2.4 เครื่องวัดพีเอช (pH meter)

2.5 เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (spectrophotometer)

2.6 เดซิกเคเตอร์ (desicator)

2.7 ชุดเครื่องกรอง และกระดาษกรอง

2.8 ช้อนตักสาร

2.9 หม้อนึ่งความดันไอ (autoclave)

2.10 ตู้ปลอดเชื้อ (laminar air flow)

3. การเตรียมเชื้อสาหร่าย

3.1 ถ่ายเชื้อสาหร่ายแต่ละสายพันธุ์จากหลอดอาหารเอียง (slant) ลงในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร ที่บรรจุอาหาร N - 8 (สูตรอาหารอยู่ในภาคผนวก) ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

เลี้ยงที่อุณหภูมิห้องและให้แสงอย่างเพียงพอบนเครื่องเขย่าที่มีความเร็วรอบ 180 รอบต่อนาที เป็นเวลาประมาณ 30 วัน

3.2 ปิเปตต์เชื้อเริ่มต้นที่ได้จากข้อ 3.1 มา 10 มิลลิลิตร ใส่ในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร ที่บรรจุอาหาร N - 8 ปริมาตร 100 มิลลิลิตร เลี้ยงที่อุณหภูมิห้องและให้แสงอย่างเพียงพอบนเครื่องเขย่าที่มีความเร็วรอบ 180 รอบต่อนาที เป็นเวลาประมาณ 15 วัน

รูปที่ 3.1 stock ของ *Chlorella* sp. ทั้ง 3 สายพันธุ์

รูปที่ 3.2 *Chlorella* sp. ที่เลี้ยงบนเครื่องเขย่า (shaker)

4. การหาความสัมพันธ์ระหว่างน้ำหนักแห้งกับน้ำหนักสด

เพื่อทราบปริมาณของเซลล์สดที่ทำให้ได้สาหร่ายอบแห้งปริมาณ 0.5 กรัม

4.1 เตรียมกระทงโดยทำกระทงด้วยกระดาษฟลอยด์ นำไปอบและทำให้เย็นในเดซิกเคเตอร์ นำออกมาชั่งน้ำหนักจนได้น้ำหนักที่แน่นอน

4.2 ตวงสารละลายเซลล์สาหร่ายปริมาตร 100 มิลลิลิตร

4.3 นำสารละลายของเซลล์สาหร่ายมาใส่ในหลอดเซนตริฟิวที่มีฝาปิด ชั่งน้ำหนักของหลอดให้สมดุลกัน

4.4 นำไปหมุนเหวี่ยงโดยใช้ความเร็วรอบ 7,500 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที

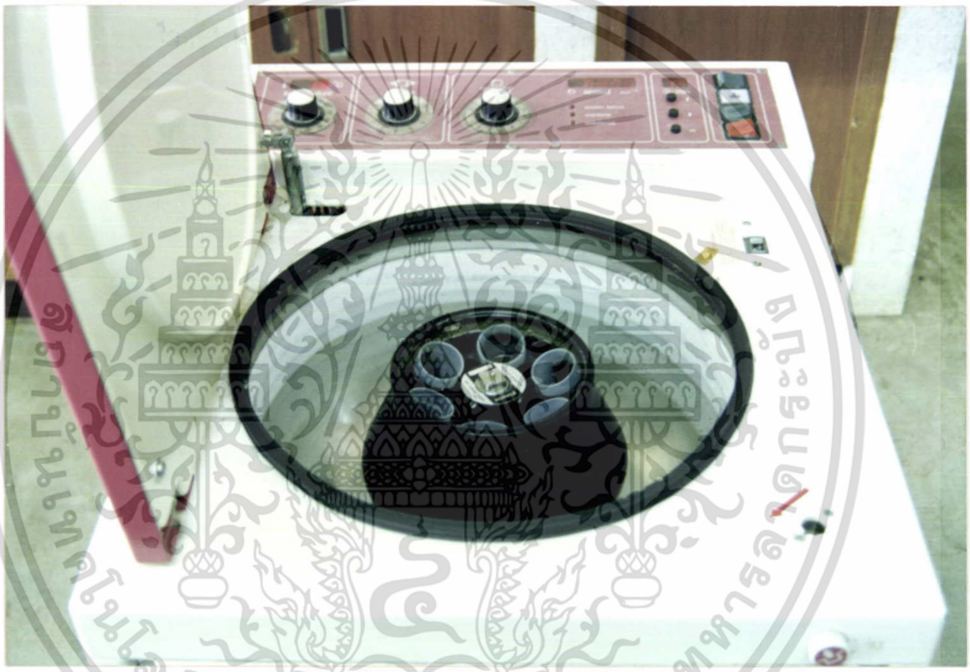
4.5 เทสารละลายส่วนใสทิ้ง เติมน้ำกลั่นที่ฆ่าเชื้อแล้วลงไปเพื่อทำการล้างเซลล์ โดยนำไปหมุนเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 7,500 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที แล้วเทน้ำกลั่นทิ้งให้มากที่สุด ทำเช่นนี้ 2 - 3 ครั้ง

4.6 ตักเซลล์ที่ได้ใส่ในกระทงที่ทราบน้ำหนักที่แน่นอนแล้ว นำกระทงพร้อมเซลล์สาหร่ายไปชั่งน้ำหนัก นำค่าที่ได้มาลบออกจากน้ำหนักกระทง ก็จะได้น้ำหนักของเซลล์สาหร่ายสด

4.7 นำกระทงพร้อมเซลล์สาหร่ายไปอบแห้งในตู้อบโดยใช้อุณหภูมิ 80 องศา - เซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำมาทำให้เย็นในเดซิกเคเตอร์ แล้วนำออกมาชั่งน้ำหนักอีกครั้งหนึ่ง นำค่าที่ได้ลบออกจากน้ำหนักของกระทง ก็จะได้น้ำหนักของเซลล์สาหร่ายแห้ง

4.8 นำน้ำหนักเซลล์สาหร่ายสดและเซลล์สาหร่ายแห้งที่ได้มาคำนวณหาน้ำหนักของเซลล์สาหร่ายสดต่อน้ำหนักของเซลล์สาหร่ายแห้ง 0.5 กรัม

ผลที่ได้ : น้ำหนักเซลล์สาหร่ายสด 6.28 กรัม = น้ำหนักเซลล์สาหร่ายแห้ง 0.5 กรัม



รูปที่ 3.3 เครื่องหมุนเหวี่ยง (centrifuge) ที่ใช้ในการเก็บเกี่ยวเซลล์

5. การทดสอบการดูดซับโครเมียม (+6)

5.1 การเปรียบเทียบความสามารถในการดูดซับโครเมียม (+6) ของสาหร่ายสีเขียว *Chlorella* sp. ทั้ง 3 สายพันธุ์

5.1.1 ทำการเก็บเกี่ยวเซลล์ *Chlorella* sp. ทั้ง 3 สายพันธุ์ โดยนำสารละลายของเซลล์สาหร่าย *Chlorella* sp. แต่ละสายพันธุ์จากข้อ 3.2 มาหมุนเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 7,500 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที

5.1.2 ล้างเซลล์ด้วยน้ำกลั่นที่ฆ่าเชื้อแล้ว 2 - 3 ครั้ง แล้วเทน้ำทิ้งไป

5.1.3 ตักเซลล์ที่ได้ของแต่ละสายพันธุ์ แยกใส่จานเพาะเชื้อที่รองก้นด้วยกระดาษไขจนได้น้ำหนักสด 6.28 กรัม (น้ำหนักเซลล์สดของทั้ง 3 สายพันธุ์จำนวน 6.280 กรัม = 0.5 กรัมของน้ำหนักแห้ง) จึงนำเซลล์ที่ได้ไปใช้ทดสอบการดูดซับโครเมียม

5.1.4 นำน้ำตัวอย่างสารละลายโครเมียม (+6) ในน้ำ ดีไอออไนซ์ (deionized water) ความเข้มข้นของโครเมียมที่ใช้เท่ากับ 5.76 มิลลิกรัมต่อลิตร (ตรวจสอบความเข้มข้นโครเมียมเริ่มต้นจากเครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง) มาใส่ในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร ให้ได้ปริมาตรของสารละลาย 100 มิลลิลิตร

5.1.5 ใส่เซลล์ *Chlorella* sp. แต่ละสายพันธุ์จำนวน 6.28 กรัม (น้ำหนักสด) ในน้ำตัวอย่างแต่ละฟลาสก์ ทำสายพันธุ์ละ 3 ซ้ำ

5.1.6 นำไปวางบนเครื่องเขย่าที่มีความเร็วรอบ 180 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้องในสภาวะที่มีแสง

5.1.7 ทำการเก็บตัวอย่างจากทุกสายพันธุ์ สายพันธุ์ละ 1 ซ้ำ ซ้ำละประมาณ 7 มิลลิลิตร ตามเวลาที่กำหนด คือ 0, 1, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 16, 20, 24, 48, 72 และ 96 ชั่วโมง นำไปทำการหมุนเหวี่ยงโดยใช้ความเร็ว 7,500 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นนำสารละลายส่วนใสไปทำการวิเคราะห์หาปริมาณโครเมียม (+6) ด้วยเครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร สารละลายส่วนใสที่ได้ควรทำการวิเคราะห์ทันที หรือถ้าไม่สามารถวิเคราะห์ได้ทันทีควรเก็บไว้ในตู้เย็น

5.1.8 นำผลการทดลองทั้งหมดเป็นเวลา 96 ชั่วโมง มาคำนวณหาปริมาณโครเมียม (+6) หาค่าเฉลี่ยของทั้ง 3 ซ้ำ แล้วนำผลที่ได้หักลบออกจากความเข้มข้นของโครเมียมเริ่มต้น จะได้เป็นปริมาณโครเมียมที่เซลล์สามารถดูดซับไว้ได้

5.1.9 นำปริมาณโครเมียม (+6) ที่ดูดซับ โดยเซลล์สาหร่ายแต่ละชนิด มาเขียนกราฟของปริมาณโครเมียม (+6) ที่ดูดซับ ได้ที่เวลาต่างๆ เพื่อเปรียบเทียบผลที่ได้จากทั้ง 3 สายพันธุ์

เพื่อใช้คัดเลือก *Chlorella* sp. สายพันธุ์ที่สามารถดูดซับโครเมียม (+6) ได้มากที่สุดและใช้เวลาน้อยที่สุด ซึ่ง ถือว่ามีประสิทธิภาพดูดซับโครเมียม (+6) ได้ดีที่สุด

5.2 การเปรียบเทียบความเข้มข้นเริ่มต้นของโครเมียม (+6) ที่มีผลต่อการดูดซับด้วยสาหร่ายสีเขียว *Chlorella* sp.

5.2.1 เก็บเกี่ยวเซลล์ *Chlorella* sp. ที่ทดสอบได้จากข้อ 5.1 แล้วว่ามีประสิทธิ - ภาพในการดูดซับโครเมียม (+6) ได้ดีที่สุด มาทำการหมุนเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 7,500 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที

5.2.2 ล้างเซลล์ด้วยน้ำกลั่นที่ฆ่าเชื้อแล้ว 2 - 3 ครั้ง แล้วเทน้ำทิ้งไป

5.2.3 ตักเซลล์ที่ได้ใส่จานเพาะเชื้อที่รองด้วยกระดาษไขจนได้น้ำหนักสด 6.28 กรัม จึงนำเซลล์ที่ได้ไปใช้ทดสอบการดูดซับโครเมียม (+6)

5.2.4 นำน้ำตัวอย่างที่มี ความเข้มข้นของโครเมียม (+6) 2.80, 5.94 และ 7.78 มิลลิกรัมต่อลิตร มาใส่ในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร ให้ได้ปริมาตรของสารละลาย 100 มิลลิลิตร ความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ

5.2.5 ใส่เซลล์ *Chlorella* sp. จำนวน 6.28 กรัม (น้ำหนักสด) ในน้ำตัวอย่างที่มีความเข้มข้นของโครเมียม (+6) 3 ระดับ คือ 2.80, 5.94 และ 7.78 มิลลิกรัมต่อลิตร ระดับละ 3 ซ้ำ

5.2.6 นำไปวางบนเครื่องเขย่าที่มีความเร็วรอบ 180 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้องในสภาวะที่มีแสง

5.2.7 เก็บตัวอย่างทุกความเข้มข้น ความเข้มข้นละ 1 ซ้ำ ซ้ำละประมาณ 7 มิลลิลิตร ตามเวลาที่กำหนด คือ 0, 1, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 16, 20, 24, 48, 72 และ 96 ชั่วโมง นำไปหมุนเหวี่ยงโดยใช้ความเร็วรอบ 7,500 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที แล้วนำสารละลายส่วนใสไปวิเคราะห์หาปริมาณโครเมียม (+6)

5.2.8 นำผลการทดลองทั้งหมดเป็นเวลา 96 ชั่วโมง มาคำนวณหาปริมาณโครเมียม (+6) หาค่าเฉลี่ยของทั้ง 3 ซ้ำ แล้วนำผลที่ได้หักลบออกจากความเข้มข้นของโครเมียมเริ่มต้นของแต่ละความเข้มข้น จะได้เป็นปริมาณโครเมียม (+6) ที่ *Chlorella* sp. สามารถดูดซับไว้ได้ที่ความเข้มข้นต่างๆ

5.2.9 นำปริมาณโครเมียม (+6) ที่ดูดซับได้แต่ละค่ามาคำนวณเป็นเปอร์เซ็นต์ของการดูดซับ นำค่าที่ได้มาเขียนกราฟเพื่อเปรียบเทียบผลที่ได้ เพื่อคัดเลือกความเข้มข้นเริ่มต้นที่สามารถใช้เวลาดูดซับน้อยที่สุด

5.3 การเปรียบเทียบความเร็วรอบต่าง ๆ ของการเลี้ยงบนเครื่องเขย่าที่มีผลต่อการดูดซับโครเมียม (+6)

5.3.1 เก็บเกี่ยวเซลล์ *Chlorella* sp. ที่ทดสอบได้จากข้อ 5.1 แล้วว่ามีประสิทธิ - ภาพในการดูดซับโครเมียม (+6) ได้ดีที่สุดมา 6.28 กรัมน้ำหนักสด มาทำการหมุนเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 7,500 รอบต่อนาที นาน 10 นาที

5.3.2 ล้างเซลล์ด้วยน้ำกลั่นที่ฆ่าเชื้อแล้ว 2 - 3 ครั้ง แล้วเทน้ำทิ้งไป

5.3.3 ตักเซลล์ที่ได้ใส่จานเพาะเชื้อที่รองด้วยกระดาษไขจนได้น้ำหนักสด 6.28 กรัม จากนั้นนำเซลล์ที่ได้ไปใช้ทดสอบการดูดซับโครเมียม (+6)

5.3.4 นำน้ำตัวอย่างที่มีความเข้มข้นของโครเมียม (+6) ที่คัดเลือกแล้วจากข้อที่ 5.2 มาใส่ในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร ให้ได้ปริมาตรของสารละลาย 100 มิลลิลิตร โดยเตรียมการดูดซับความเร็วรอบละ 3 ซ้ำ

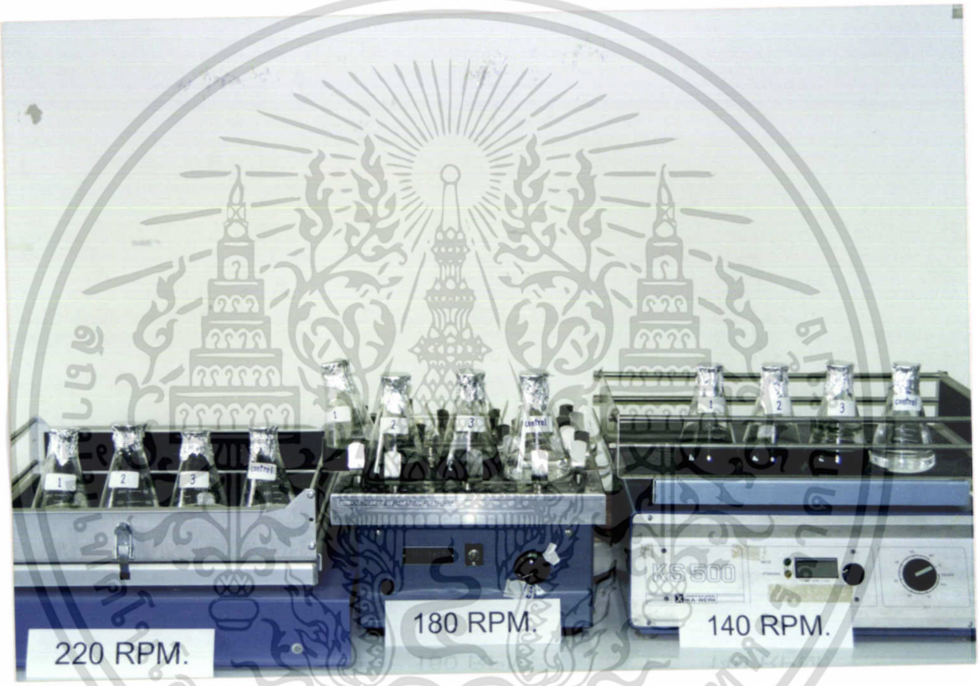
5.3.5 ใส่เซลล์ *Chlorella* sp จำนวน 6.28 กรัม (น้ำหนักสด) ในน้ำตัวอย่างแต่ละฟลาสก์

5.3.6 นำไปวางบนเครื่องเขย่าที่ความเร็วรอบ 140 , 180 และ 220 รอบต่อนาทีในสภาวะที่มีแสง

5.3.7 เก็บตัวอย่างทุกความเร็วรอบ ความเร็วรอบละ 1 ซ้ำซ้ำละประมาณ 7 มิลลิลิตร ตามเวลาที่กำหนด คือ 0, 1, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 16, 20, 24, 48, 72 และ 96 ชั่วโมง นำตัวอย่างไปทำการหมุนเหวี่ยงโดยใช้ความเร็วรอบ 7,500 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที แล้วนำสารละลายส่วนใสไปทำการวิเคราะห์หาปริมาณโครเมียม (+6)

5.3.8 นำผลการทดลองทั้งหมดที่ได้เป็นเวลา 96 ชั่วโมง มาคำนวณหาปริมาณโครเมียม (+6) หาค่าเฉลี่ยของทั้ง 3 ซ้ำ แล้วนำผลที่ได้หักลบออกจากความเข้มข้นของโครเมียมเริ่มต้นของแต่ละความเร็วรอบ จะได้เป็นปริมาณโครเมียมที่เซลล์สามารถดูดซับไว้ได้ที่ความเร็วรอบต่าง ๆ

5.3.9 นำปริมาณโครเมียม (+6) ที่ดูดซับ ได้ที่ความเร็วรอบต่าง ๆ มาเขียนกราฟของปริมาณโครเมียม (+6) ที่ดูดซับ ได้ที่เวลาต่าง ๆ เพื่อเปรียบเทียบผลที่ได้จากความเร็วรอบต่าง ๆ เพื่อคัดเลือกความเร็วรอบที่สามารถดูดซับโครเมียม (+6) ได้มากที่สุด โดยใช้เวลาน้อยที่สุด



รูป ที่ 3.4 การเปรียบเทียบการดูดซับ โครเมียม (+6) ที่ความเร็วรอบ 3 ระดับ คือ 140, 180 และ 220 รอบต่อนาที

6. การวิเคราะห์ปริมาณโครเมียม (+6) (สารเคมีและวิธีการเตรียมดูในภาคผนวก)

6.1 ทำกราฟมาตรฐานระหว่างความเข้มข้นของโครเมียม (+6) กับค่าดูดกลืนแสง

6.1.1 ปิปเตต์สารละลายโครเมียม (+6) มาตรฐาน (ความเข้มข้นของโครเมียม (+6) = 5 มิลลิกรัมต่อลิตร) ในปริมาตร 2, 4, 6, ... , 20 มิลลิลิตร ใส่ในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร

6.1.2 ปรับพีเอชเป็น 1 ± 0.3 ด้วยกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 2.0 นอร์มอล แล้วปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร ด้วยน้ำดีไอออไนซ์ จะได้สารละลายโครเมียม (+6) ที่มีความเข้มข้นเป็น 0.1, 0.2, 0.3, ... , 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ

6.1.3 เติมสารละลายไดฟีนิลคาร์บาไซด์ (diphenylcarbazide) 2 มิลลิลิตร

6.1.4 ทิ้งไว้ 5 - 10 นาที จากนั้นจึงนำไปวัดค่าดูดกลืนแสงโดยใช้ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร

6.1.5 นำค่าดูดกลืนแสงที่ได้มาเขียนกราฟมาตรฐาน (กราฟมาตรฐานอยู่ในภาคผนวก)

หมายเหตุ : ในการวัดค่าดูดกลืนแสง ให้ใช้น้ำกลั่นเป็นแบลงค์ แต่ถ้าสารละลายเกิดความขุ่นหลังจากปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร ให้นำสารละลายนั้นมาใช้เป็นแบลงค์ก่อนจะเติมสารละลายไดฟีนิลคาร์บาไซด์

6.2 การวิเคราะห์ปริมาณโครเมียม (+6)

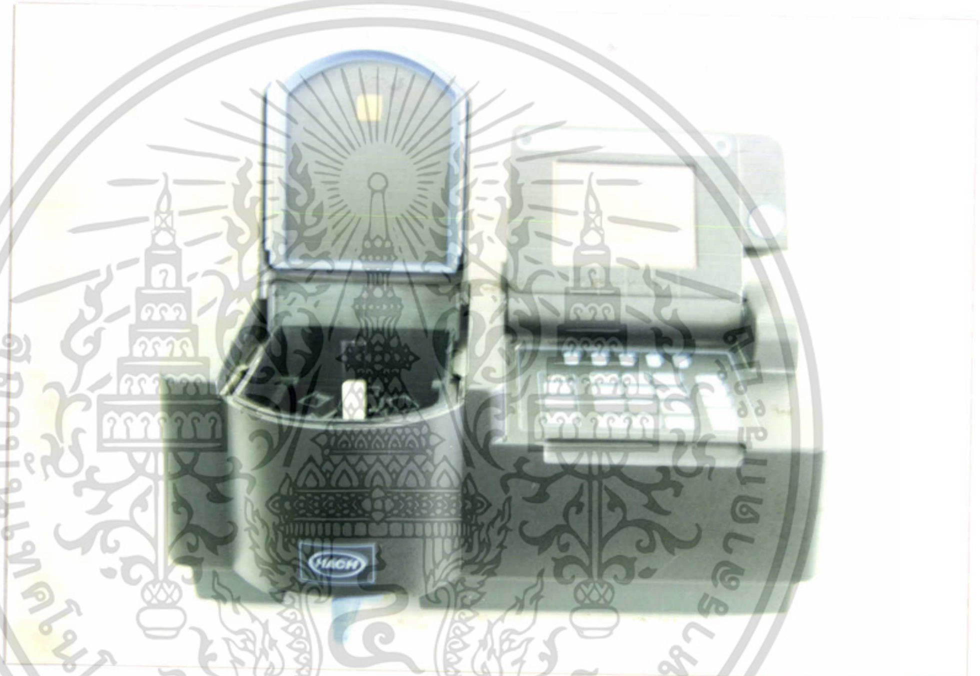
6.2.1 ปิ เปตต์น้ำตัวอย่างที่ใช้ทดสอบการดูดซับมา 7 มิลลิลิตร นำไปทำการหมุนเหวี่ยงโดยใช้ความเร็วรอบ 7,500 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที

6.2.2 ปิ เปตต์เฉพาะสารละลายใสที่ได้ปริมาณ 5 มิลลิลิตร ใส่ในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร ปรับพีเอชเป็น 1 ± 0.3 ด้วยกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 2.0 นอร์มอล แล้วปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร ด้วยน้ำดีไอออไนซ์

6.2.3 เติมสารละลายไดฟีนิลคาร์บาไซด์ 2 มิลลิลิตร

6.2.4 ทิ้งไว้นาน 5 - 10 นาที นำไปวัดค่าดูดกลืนแสง โดยใช้ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร นำค่าดูดกลืนแสงที่ได้ไปหาปริมาณโครเมียม (+6) จากกราฟมาตรฐาน แล้วนำค่าความเข้มข้นที่ได้คูณด้วย 20 (ค่าการเจือจาง 20 เท่า) จะได้ความเข้มข้นโครเมียม (+6) ที่แท้จริงในสารละลาย

รูปที่ 3.5 สารละลายโครเมียม (+6) ก่อนใส่ (ซ้าย : สีเหลืองอ่อน) และหลังใส่ (ขวา : สีชมพูบานเย็น) ไดฟีนิลคาร์บาไซด์



รูปที่ 3.6 เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (spectrophotometer)

บทที่ 4
ผลการทดลอง

1. การเปรียบเทียบความสามารถในการดูดซับโครเมียม (+6) ของสาหร่ายเดียวสีเขียว *Chlorella* sp. ทั้ง 3 สายพันธุ์

จากการทดสอบความสามารถในการดูดซับโครเมียม (+6) ด้วยสาหร่ายสีเขียว *Chlorella* sp. โดยใช้สารละลายโครเมียม (+6) ที่มีความเข้มข้น 5.76 มิลลิกรัมต่อลิตร และใช้ความเร็วรอบในการเขย่า 180 รอบต่อนาทีได้ผลดังตารางที่ 4.1

จากผลการทดลองในตารางที่ 4.1 ปรากฏว่า *Chlorella vulgaris* ใช้ เวลาในการดูดซับโครเมียม (+6) น้อยที่สุด โดยสามารถดูดซับ โครเมียม (+6) จนหมดได้ภายในเวลา 48 ชั่วโมง จึงเลือกใช้ *C. vulgaris* ในการทดสอบหาความเข้มข้นเริ่มต้นของโครเมียม (+6) ในข้อที่ 5.2 ต่อไป

Chlorella สายพันธุ์ A. สามารถดูดซับโครเมียม (+6)ได้หมดภายในเวลา 72 ชั่วโมงซึ่งใช้เวลานานกว่า *Chlorella vulgaris* ส่วน *Chlorella* สายพันธุ์ B. ดูดซับโครเมียม (+6) ได้ไม่หมด โดยสามารถดูดซับ โครเมียม (+6) ได้มากที่สุดในเวลา 48 ชั่วโมง ที่ปริมาณ 5.280 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อนำผลการดูดซับที่ได้มาเขียนกราฟเปรียบเทียบความสามารถในการดูดซับโครเมียม (+6) จะได้กราฟดังรูปที่ 4.1

จากการคำนวณความแตกต่างทางสถิติด้วย LSD พบว่า *C. vulgalis* มีความแตกต่างทางสถิติมากกว่า *Chlorella* sp. ชนิดอื่น ๆ ที่ระดับความเชื่อมั่น 0.01

2. การเปรียบเทียบความเข้มข้นเริ่มต้นของโครเมียม (+6) ที่มีผลต่อการดูดซับด้วยสาหร่ายสีเขียว *Chlorella* sp.

จากการทดสอบดูดซับโครเมียม (+6) ในข้อ 5.2 พบว่า *C. vulgaris* มีประสิทธิภาพในการดูดซับโครเมียม (+6) ดีที่สุด เมื่อนำมาทดสอบผลของความเข้มข้นเริ่มต้นเริ่มต้นที่ 2.80, 5.94 และ 7.78 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่มีผลต่อการดูดซับโครเมียม (+6) ด้วย *C. vulgaris* ที่ชั่วโมงต่างๆ ความเร็วรอบ 180 รอบต่อนาที ได้ผลดังตารางที่ 4.2

จากผลการทดลองหาอิทธิพลของความเข้มข้นเริ่มต้นโครเมียม (+6) ที่ 2.80, 5.94 และ 7.78 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่อาจมีผลต่อการดูดซับด้วย *C. vulgaris* พบว่าที่ความเข้มข้นเริ่มต้นของโครเมียม (+6) เป็น 2.80 มิลลิกรัมต่อลิตร *C. vulgaris* สามารถดูดซับโครเมียม (+6) ได้หมด

(ดูดซับได้ 100 เปอร์เซ็นต์) ภายในเวลา 48 ชั่วโมง ส่วนความเข้มข้นเริ่มต้นที่ 5.94 และ 7.78 มิลลิกรัมต่อลิตร ไม่สามารถดูดซับ ได้หมด

เมื่อนำผลที่ได้มาเขียนกราฟของความเข้มข้นเริ่มต้นกับเปอร์เซ็นต์การดูดซับโครเมียม (+6) ได้กราฟ ดังรูปที่ 4.2

ปริมาณของโครเมียม (+6) ที่ดูดซับได้ที่ความเข้มข้นเริ่มต้นต่าง ๆ เมื่อนำไปคำนวณความแตกต่างทางสถิติด้วย LSD พบว่าความเข้มข้นเริ่มต้นที่ 2.80 มิลลิกรัมต่อลิตร มีความแตกต่างทางสถิติมากกว่าความเข้มข้นอื่น ๆ ที่ระดับความเชื่อมั่น 0.01

3. การเปรียบเทียบอิทธิพลของความเร็วรอบต่าง ๆ ของการเลี้ยงบนเครื่องเขย่าที่มีผลต่อการดูดซับ โครเมียม (+6)

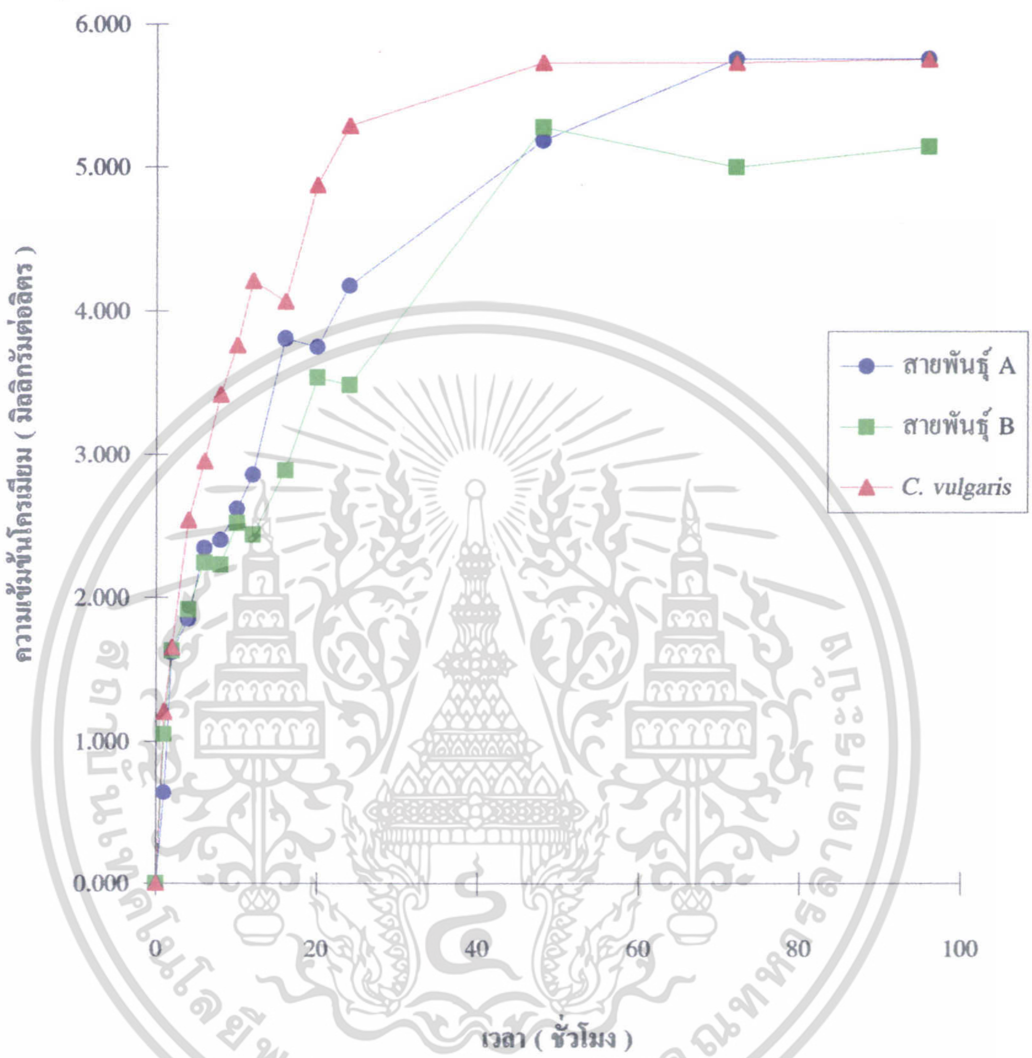
จากการทดสอบดูดซับโครเมียม (+6) ในข้อ 5.3 พบว่า *C. vulgaris* มีประสิทธิภาพดูดซับโครเมียม (+6) ดีที่สุด เมื่อนำมาทดสอบผลของความเข้มข้นเริ่มต้นเริ่มต้นที่ 2.96 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถดูดซับได้ 100 เปอร์เซ็นต์ จึงใช้เป็นความเข้มข้นเริ่มต้น เพื่อใช้ทดสอบอิทธิพลของความเร็วรอบที่ 140, 180 และ 220 รอบต่อนาที ที่มีผลต่อการดูดซับโครเมียม (+6) ด้วย *C. vulgaris* ที่ชั่วโมงต่าง ๆ ได้ผลดังแสดงในตารางที่ 4.3

จากการทดสอบการดูดซับโครเมียม (+6) ด้วย *C. vulgaris* โดยใช้ความเข้มเริ่มต้นของโครเมียม (+6) เป็น 2.96 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่ความเร็วรอบ 140, 180 และ 220 รอบต่อนาที พบว่าที่ความเร็วรอบ 220 รอบต่อนาที สามารถดูดซับโครเมียม (+6) ได้มากที่สุดและใช้เวลาในการดูดซับน้อยที่สุด โดยใช้เวลาเพียง 8 ชั่วโมง ซึ่ง ถ้าเป็นที่ความเร็วรอบ 180 รอบต่อนาที จะใช้เวลา 10 ชั่วโมง และที่ความเร็วรอบ 140 รอบต่อนาที จะใช้เวลานาน 24 ชั่วโมง ซึ่ง มากกว่าที่ความเร็วรอบ 220 รอบต่อนาที เมื่อนำผลการทดลองมาเขียนกราฟจะกราฟดังรูปที่ 4.3

จากการคำนวณทางสถิติด้วย LSD พบว่าความเร็วรอบ 220 รอบต่อนาที ให้ผลแตกต่างจากที่ความเร็วรอบ 140 รอบต่อนาที แต่ไม่แตกต่างจากความเร็วรอบ 180 รอบต่อนาที ที่ระดับความเชื่อมั่น 0.05

ตารางที่ 4.1 ปริมาณโครเมียม (+6) ที่สาหร่ายสีเขียว *Chlorella* สายพันธุ์ A., *Chlorella* สายพันธุ์ B., *Chlorella vulgaris* ดูดซับได้ที่เวลาต่าง ๆ

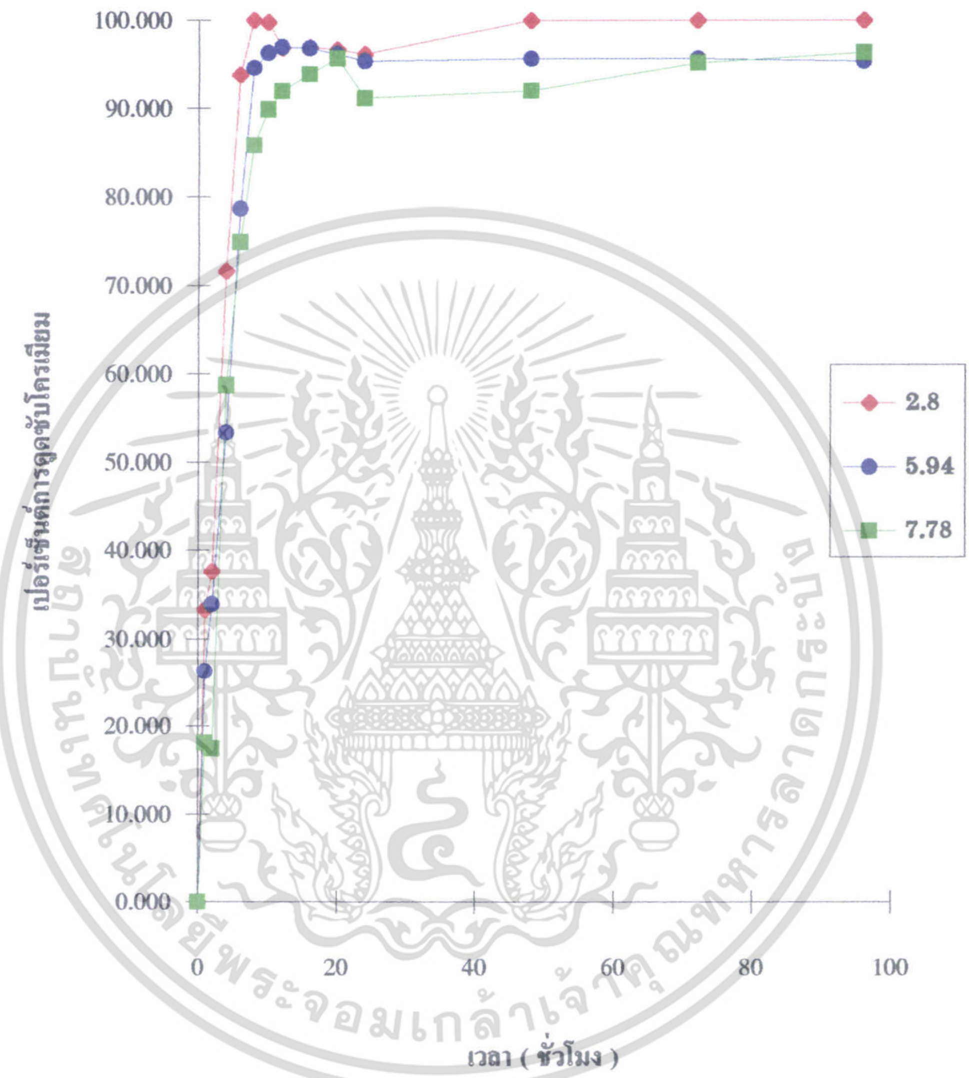
ชั่วโมงที่	ปริมาณโครเมียม (+6) ที่ดูดซับได้ (มิลลิกรัมต่อลิตร)		
	สายพันธุ์ A	สายพันธุ์ B	*C. vulgaris*
0	0.000	0.000	0.000
1	0.640	1.053	1.207
2	1.620	1.633	1.653
4	1.853	1.920	2.540
6	2.347	2.240	2.953
8	2.400	2.227	3.420
10	2.620	2.520	3.767
12	2.860	2.440	4.213
16	3.813	2.887	4.067
20	3.753	3.540	4.873
24	4.180	3.487	5.287
48	5.187	5.280	5.760
72	5.760	5.000	5.760
96	5.760	5.140	5.760



รูปที่ 4.1 แสดงปริมาณโครเมียม (+6) เข้มข้น 5.76 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่ *Chlorella* สายพันธุ์ A., *Chlorella* สายพันธุ์ B. และ *Chlorella vulgaris* ดูดซับได้ที่เวลาต่าง ๆ ที่ความเร็วรอบ 180 รอบต่อนาที

ตารางที่ 4.2 ปริมาณโครเมียม (+6) ที่ *C. vulgaris* ดูดซับได้ที่ความเข้มข้น
เริ่มต้นเป็น 280, 5.94 และ 7.78 มิลลิกรัมต่อลิตร
ความเร็วรอบในการเขย่า 180 รอบต่อนาทีที่เวลาต่างๆ

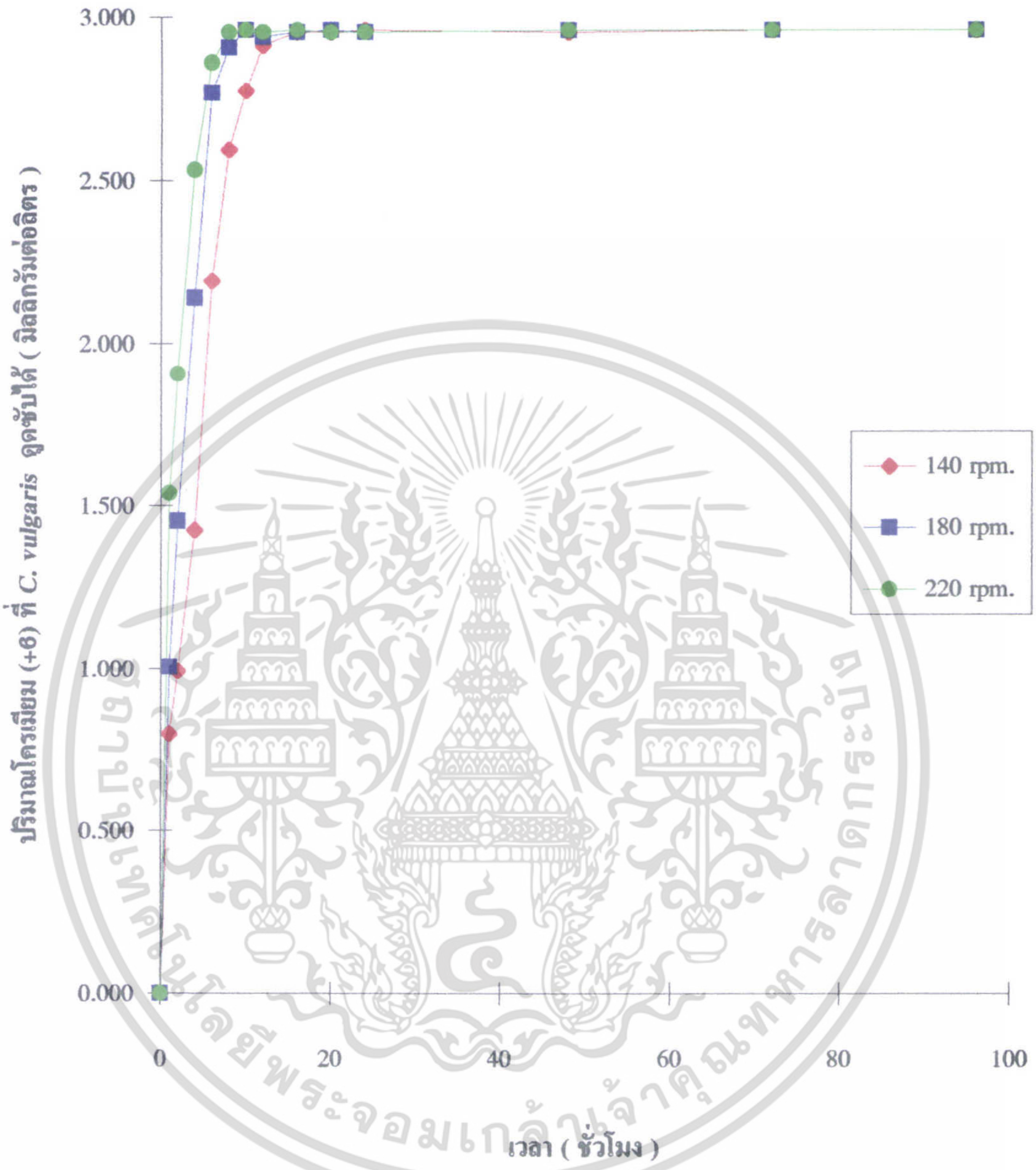
ชั่วโมงที่	ปริมาณโครเมียม (+6) ที่ดูดซับได้ (มิลลิกรัมต่อลิตร)			คิดเป็นเปอร์เซ็นต์		
	2.80	5.94	7.76	2.80	5.94	7.76
0	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
1	0.933	1.567	1.407	33.333	26.375	18.081
2	1.053	2.013	1.353	37.619	33.895	17.395
4	2.007	3.167	4.567	71.667	53.311	58.698
6	2.627	4.673	5.827	93.810	78.676	74.893
8	2.800	5.620	6.680	100.000	94.613	85.861
10	2.793	5.720	6.993	99.762	96.296	89.889
12	2.713	5.760	7.153	96.905	96.970	91.945
16	2.713	5.753	7.307	96.905	96.857	93.916
20	2.707	5.713	7.447	96.667	96.184	95.716
24	2.693	5.667	7.093	96.190	95.398	91.174
48	2.800	5.687	7.160	100.000	95.735	92.031
72	2.800	5.687	7.407	100.000	95.735	95.201
96	2.800	5.667	7.500	100.000	95.398	96.401



รูปที่ 4.2 แสดงปริมาณโครเมียม (+6) เข้มข้น 2.80, 5.94 และ 7.78 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่ *Chlorella vulgaris* ดูดซับได้ที่เวลาต่าง ๆ โดยใช้ความเร็วรอบในการเขย่า 180 รอบต่อนาที

ตารางที่ 4.3 ปริมาณโครเมียม (+6) ที่ *C. vulgaris* ดูดซับได้ที่ความเข้มข้นเริ่มต้นเป็น 2.96 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่ความเร็วรอบ 140, 180 และ 220 รอบต่อนาที ที่เวลาต่าง ๆ

ชั่วโมงที่	ปริมาณโครเมียม (+6) ที่ดูดซับได้ (มิลลิกรัมต่อลิตร)		
	140 รอบต่อนาที	180 รอบต่อนาที	220 รอบต่อนาที
0	0.000	0.000	0.000
1	0.800	1.007	1.540
2	0.993	1.453	1.907
4	1.427	2.140	2.533
6	2.193	2.767	2.860
8	2.593	2.907	2.960
10	2.773	2.960	2.960
12	2.913	2.940	2.953
16	2.953	2.953	2.960
20	2.953	2.960	2.953
24	2.960	2.953	2.953
48	2.953	2.960	2.960
72	2.960	2.960	2.960
96	2.960	2.960	2.960



รูปที่ 4.3 แสดงปริมาณโครเมียม (+6) เข้มข้น 2.96 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่ *C. vulgaris* ดูดซับได้ ที่เวลาต่าง ๆ โดยใช้ความเร็วรอบ 140, 180 และ 220 รอบต่อนาที

บทที่ 5
สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

1. การเปรียบเทียบความสามารถในการดูดซับโครเมียมของสาหร่ายสีเขียว *Chlorella* sp. ทั้ง 3 สายพันธุ์

การทดสอบการดูดซับโครเมียม (+6) โดยใช้สาหร่ายสีเขียวเดียวสายพันธุ์ต่าง ๆ กันจำนวน 3 สายพันธุ์ ได้แก่ *Chlorella* สายพันธุ์ A , *Chlorella* สายพันธุ์ B ซึ่ง ทั้ง 2 สายพันธุ์ได้จากการนำเอาน้ำเสียจากโรงงานอุตสาหกรรมที่มีโครเมียมเจือปนอยู่ มาทำเทคนิค spread plate เพื่อหาสาหร่ายสีเขียวเซลล์เดียว ที่สามารถเจริญเติบโตในน้ำเสียที่มีโครเมียม (+6) ละลายอยู่ได้ และใช้ศึกษาร่วมกับ *C. vulgaris* ซึ่ง ได้เป็นสาหร่ายเซลล์เดียวที่มีขนาดเซลล์ใหญ่ โดยจากการซื้อ เชื้อมา หลังจากทดสอบการดูดซับเป็นเวลา 96 ชั่วโมง นำค่าการดูดซับที่ได้มาทำการ วิเคราะห์ผลทางสถิติ พบว่าที่ระดับความเข้มข้นของสารละลายโครเมียมเริ่มต้น 5.76 มิลลิกรัมต่อลิตร และความ เร็วรอบ 180 รอบต่อนาที *Chlorella* sp. ทั้ง 3 สายพันธุ์สามารถดูดซับโครเมียม (+6) ได้แตกต่างกัน ที่ระดับความน่าเชื่อถือ 0.01 โดยคำนวณความแตกต่างทางสถิติด้วย LSD ซึ่ง *C. vulgaris* สามารถดูดซับโครเมียม (+6) ได้ดีที่สุด และมีอัตราการดูดซับ เร็วที่สุด โดยใช้เวลาในการดูดซับโครเมียม (+6) จนหมดเพียง 48 ชั่วโมง เร็วกว่า *Chlorella* สายพันธุ์ A ซึ่งใช้เวลาในการดูดซับโครเมียม (+6) จนหมดนาน 72 ชั่วโมง ส่วน *Chlorella* สายพันธุ์ B ดูดซับโครเมียม (+6) ได้ไม่หมด และเมื่อการดูดซับผ่านชั่วโมงที่ 4 ไปแล้ว อัตราการดูดซับโครเมียม (+6) ของสาหร่ายแต่ละสายพันธุ์แตกต่างกันอย่างเห็นได้ชัดเจน โดย *C. vulgaris* สามารถดูดซับโครเมียม (+6) ได้มากที่สุด ดังนั้นจึงเลือกใช้ *C. vulgaris* ในการทดสอบอิทธิพลของความเข้มข้นเริ่มต้นที่มีผลต่อการดูดซับโครเมียม (+6) ต่อไป

เมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการดูดซับโครเมียม (+6) ของ *C. vulgaris* กับ ยีสต์ พบว่า *C. vulgaris* สามารถดูดซับดครเมียม (+6) ได้มากกว่า จากการศึกษาของชัยชาญและปานทอง (2540) โดยการใช้ยีสต์ดูดซับ โครเมียม (+6) ที่มีความเข้มข้น 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่ายีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* สามารถดูดซับโครเมียมได้ดีที่สุด คือ ร้อยละ 58.533 ที่ชั่วโมงการดูดซับ ที่ 96

2. การเปรียบเทียบความเข้มข้นเริ่มต้นของโครเมียม (+6) ที่มีผลต่อการดูดซับด้วยสาหร่ายสีเขียว *Chlorella* sp.

การทดสอบการดูดซับโครเมียมโดยใช้ *C. vulgaris* เป็นตัวดูดซับ โดยกำหนดปัจจัยของการดูดซับให้เป็นสารละลายโครเมียม (+6) ที่มีความเข้มข้นแตกต่างกัน ได้แก่ สารละลายโครเมียมที่มีความเข้มข้น 2.80, 5.94 และ 7.78 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 96 ชั่วโมง ที่ความเร็วรอบ 180 รอบต่อนาที จากนั้นนำค่าการดูดซับที่ได้มาทำการวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติด้วย LSD พบว่า *C. vulgaris* สามารถดูดซับโครเมียม (+6) ที่มีความเข้มข้นเริ่มต้นของโครเมียม (+6) ในสารละลาย 2.80 มิลลิกรัมต่อลิตร ได้ดีที่สุด โดยคำนวณที่ระดับความน่าเชื่อถือ 0.01 ปรากฏว่า *C. vulgaris* สามารถดูดซับโครเมียมได้หมด จึงสามารถทำให้แน่ใจได้ว่า *C. vulgaris* จะสามารถดูดซับโครเมียมในน้ำทิ้งที่มีโครเมียมเจือปน (ส่วนใหญ่มักจะมีปริมาณไม่เกิน 2.50 มิลลิกรัมต่อลิตร) ได้หมด จึงเลือกใช้ความเข้มข้นเริ่มต้นของสารละลายโครเมียม (+6) ที่ 2.80 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นความเข้มข้นเริ่มต้น ที่จะใช้ในการทดสอบอิทธิพลของความเร็วรอบ ที่มีผลต่อการดูดซับโครเมียม (+6) ของสาหร่าย สีเขียวเซลล์เดียว *C. vulgaris* ต่อไป

ในกรณีของยีสต์จะไม่สามารถดูดซับโครเมียม (+6) ได้หมด โดยจะดูดซับได้มากที่สุดที่ความเข้มข้นของโครเมียม (+6) ประมาณ 1.1 - 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตรเท่านั้น (ชัยชาญและปานทอง, 2540)

3. การเปรียบเทียบอิทธิพลของความเร็วรอบต่างๆ ของการเลี้ยงบนเครื่องเขย่าที่มีผลต่อการดูดซับโครเมียม (+6)

การทดสอบการดูดซับโครเมียม (+6) โดยใช้สาหร่ายสีเขียว *C. vulgaris* โดยให้ความเข้มข้นของสารละลายโครเมียมเริ่มต้นเป็น 2.96 มิลลิกรัมต่อลิตร และกำหนดให้ความเร็วรอบของการเขย่าระหว่างการดูดซับโครเมียม (+6) แตกต่างกัน ได้แก่ 140, 180 และ 220 รอบต่อนาที เป็นเวลา 96 ชั่วโมง แล้วนำค่าการดูดซับที่ได้มาทำการวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติด้วย LSD พบว่าการดูดซับโครเมียม (+6) ของ *C. vulgaris* ที่ความเร็วรอบ 220 รอบต่อนาทีมีประสิทธิภาพเท่าเทียมกับการใช้ความเร็วรอบ 180 รอบต่อนาที แต่ความเร็วรอบทั้งสองจะมีประสิทธิภาพการดูดซับดีกว่าที่ความเร็วรอบ 140 รอบต่อนาที ที่ระดับความเชื่อมั่น 0.01 แต่จากผลการทดลองพบว่าที่ความเร็วรอบ 220 รอบต่อนาที สามารถดูดซับโครเมียม (+6) ได้มากกว่าที่ความเร็วรอบ 180 รอบต่อนาที อาจเนื่องมาจากเซลล์ของ *C. vulgaris* สามารถผสมกับสารละลายโครเมียม (+6) ได้ทั่วถึงกว่า แต่ในกรณีของการใช้ยีสต์ในการดูดซับโครเมียม (+6) โดยใช้ความเร็วรอบในการดูด

ซับ 100, 200 และ 250 รอบต่อนาที พบว่ายีสต์สามารถดูดซับโครเมียม (+6) ได้ดีที่สุด ที่ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที (ชัยชาญและปานทอง, 2540)

4. ข้อเสนอแนะเพื่อพัฒนาการทดลอง ซึ่งอาจนำไปเป็นแนวทางของการทดสอบสภาวะอื่น ๆ ที่มีประสิทธิภาพในการดูดซับมากกว่านี้ คือ

4.1 ควรศึกษาถึงสภาวะที่สามารถทำให้สาหร่ายสีเขียวเซลล์เดียว *Chlorella* sp. เจริญเติบโตได้เร็วขึ้น ซึ่งจะทำให้ไม่เสียเวลาในการเลี้ยงเพาะสาหร่าย เพื่อให้สามารถทดสอบสภาวะอื่น ๆ ที่อาจจะมีผลต่อการดูดซับโครเมียม (+6) ของ *C. vulgaris* ได้หลากหลายมากขึ้น

4.2 ศึกษาชนิดของอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีสามารถเพิ่มอัตราเร็วในการเจริญเติบโตของสาหร่ายสีเขียวเซลล์เ ดียว *Chlorella* sp.

4.3 สามารถนำไปประยุกต์ใช้ร่วมกับการดูดซับโลหะหนักชนิดอื่นๆได้

4.4 สามารถนำไปใช้ร่วมกับระบบบำบัดน้ำเสียเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการบำบัดให้สูงขึ้น

เอกสารอ้างอิง

กิ่งฟ้า กิจชัยนุกูล และ พิชญา นาคเขียว "การสกัดโครเมียมจากน้ำทิ้งจากโรงงานชุบโครเมียม" โครงงานพิเศษระดับปริญญาตรี จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย 2535

ชัยชาญ ไตรศรีศิลป์ และ ปานทอง ศรีคัฒนาพรหม " การดูดซับโครเมียม (+6) ในน้ำโดยใช้ยีสต์" โครงงานพิเศษระดับปริญญาตรี ภาคชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้า เจ้าคุณทหาร ลาดกระบัง , 2540

ฉัตรไชย รัตนชัย การจัดการคุณภาพน้ำ พิมพ์ครั้งที่ 2 , หน้า 230-232 , โรงพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย , กรุงเทพฯ, 2539

ปาจารีย์ อินทรทองคำ, พงศ์อนันต์ คงดารา และ วนิดา พนายิ่งไพศาล " การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเพิ่มปริมาณสาหร่าย *Chlorella* sp." โครงงานพิเศษระดับปริญญาตรี ภาคชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้า เจ้าคุณทหาร ลาดกระบัง , 2540

วชิรัคณา เจริญสักสวรรค์., 2531. " การศึกษาการสะสมสังกะสีและแคดเมียมโดยสาหร่ายสีเขียวเซลล์เดียว Chlorella sp." วิทยานิพนธ์ตามหลักสูตรวิทยาศาสาตร์มหาบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะพลังงานและวัสดุ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี. 1 - 3, 9 - 12.

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

Frischmuth A. , Weppen P., Deckwer WD, " Quecksilberentfernung aus wassrigen Medien Durch aktive mikrobielle Prozesse. " BioEngineering 3 (1991) : 38 - 48.

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

Koren, H. in Illustrated Dictionary of Environmental Health & Occupational Safety, pp 123-125, Lewis Publishers, New York, 1996

Khummongkol D., Canterford G.S. and Fryer C., " Accumulation of Heavy Metals in Unicellular Algae. " Biotechnology and Bioengineering 23 (1982) : 2643 - 2660.

Komori K., Rivas A., Toda K. and Ohtake H., " A method for removal of toxic chromium using dialysis - sac cultures of a chromate - reducing strain of Enterobacter clocacae." Appl. Microbiol Biotechnol 33 (1989) : 117 - 119.

Marshall Sittig in Handbook of Toxic and Hazardous Chenicals and Carcinogens, 3th ed., Vol. 1 A-F, pp. 432-435, Noyes Publications, Park Ridge, New Jersey, USA, 1991.

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

Paul C. DeLeo and Henry L. Ehrlich, " Reduction of hexavalent chromium by *Pseudomonas fluorescens* LB300 in Batch and continuous cultures." Appl. Microbiol Biotechnol 40 (1994) : 756 - 759.

Presscott, G.W. in How to Know the Freshwater Algae, 3th ed., pp. 88, University of Montana, Wm.C. Brown Company Publishers, U.S.A., 1978.

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

Walker, J.D. and Davis, R.J. in The Microbial Transformation of Some Toxic Element , 1978.

Wang, P., Komori, K., and Ohtaki, H. "Factors affecting chromate reduction in *Enterobactor cloacae* strain H01" Appl Microbiol Biotechnol (1989) 31:567-560.

Wehrhiem B. And Wettern M., " Biosorption of cadminm, copper and lead by isolated mother cell walls and whole cells of *Chlorella fusca*." App. Microbiol Biotechnol 41 (1994) : 725 - 728.

Yoshinobu Eshibashi, Carlos Cervantes and Simon Silver, " Chromium reduction in *Pseudomonas putida*." Applied and Environmental Microbiology 56 (1990) : 2268 - 2270.

ภาคผนวก ก

1. สูตรอาหารที่ใช้ในการเลี้ยงสาหร่ายสีเขียว *Chlorella* sp.

N - 8 medium

$Na_2HPO_4.2H_2O$	0.26	กรัม
KH_2PO_4	0.74	กรัม
* $CaCl_2$	0.01	กรัม
* Fe EDTA	0.01	กรัม
* $MgSO_4.7H_2O$	0.05	กรัม
KNO_3	1	กรัม
Trace element	1	มิลลิลิตร
น้ำกลั่น	1	ลิตร

Trace element

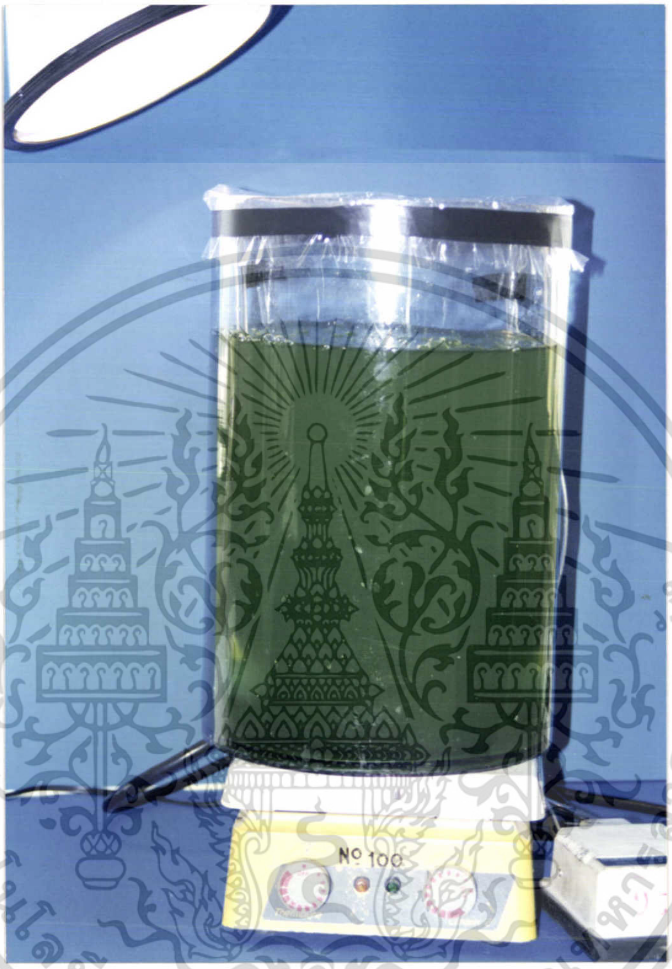
$Al_2(SO_4).18H_2O$	3.58	กรัม
$MnCl_2.4H_2O$	12.98	กรัม
$CuSO_4.5H_2O$	1.83	กรัม
$ZnSO_4.H_2O$	3.20	กรัม
น้ำกลั่น	1.0	ลิตร

นำสารเคมีมาผสมเข้าด้วยกันโดยที่แยกสารเคมีที่มี (*) และไม่มี (*) ออกจากกัน เพื่อป้องกันไม่ให้สารละลายตกตะกอน สำหรับ trace element ให้ผสมแยกต่างหากในปริมาตรที่ต้องการ จากนั้น นำสารละลายไปทำการฆ่าเชื้อโดยใช้หม้อนึ่งความดันไอ (autoclave) เป็นเวลา 15 นาที นำสารละลายออกมาวางทิ้งไว้ให้เย็นในตู้ปลอดเชื้อ (laminar air flow) เมื่อสารละลายเย็นแล้วจึงทำการผสมกันแล้วเติม trace element 1 มิลลิลิตร ต่ออาหารเลี้ยงสาหร่าย 1 ลิตร ทิ้งค้างคืน 1 คืน เพื่อรอให้อาหารเลี้ยงสาหร่ายตกตะกอนลงมา เมื่อจะนำไปใช้ให้เทเอาอาหารส่วนที่ใสไม่มีตะกอนไปใช้โดยไม่ต้องนำไปนึ่งฆ่าเชื้ออีก

N - 8 agar medium

เติมวุ้น 1.5 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักต่อปริมาตร) หลังจากผสม N - 8 กับ trace el ement แล้ว ปรับพีเอชให้ได้ 6.8 โดยใช้กรดไฮโดรคลอริก 3 นอร์มอล หรือ โซเดียมไฮดรอกไซด์ 3 นอร์มอล

รูปที่ 1ก ภาพสาหร่ายเมื่อเริ่มเลี้ยงในโหล



รูปที่ 2ก ภาพสาหร่ายเมื่อเลี้ยงในโหลได้ 1 เดือน

2. การเตรียมสารละลายโครเมียม (+6)

อบโพแทสเซียมไดโครเมต (potassium dichromate : $K_2Cr_2O_7$) จำนวน 0.707 กรัม ที่ 60 - 80 องศาเซลเซียส นาน 3 ชั่วโมง แล้วทิ้งไว้ให้เย็นในเดซิกเคเตอร์ จากนั้น นำมาละลายในน้ำกลั่น 500 มิลลิลิตร จะได้สารละลายโครเมียม (+6) เข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งสามารถนำไปทำการเจือจางเป็นความเข้มข้นต่างๆได้

3. การเก็บตัวอย่างน้ำเพื่อนำมาแยกสาหร่าย (*Chlorella* sp.)

คัดเลือกโรงงานที่ทราบแน่ชัดว่ามีโครเมียมในน้ำทิ้งจากโรงงาน ในนิคมอุตสาหกรรมแห่งประเทศไทยคัดเลือกได้จำนวน 3 โรงงาน

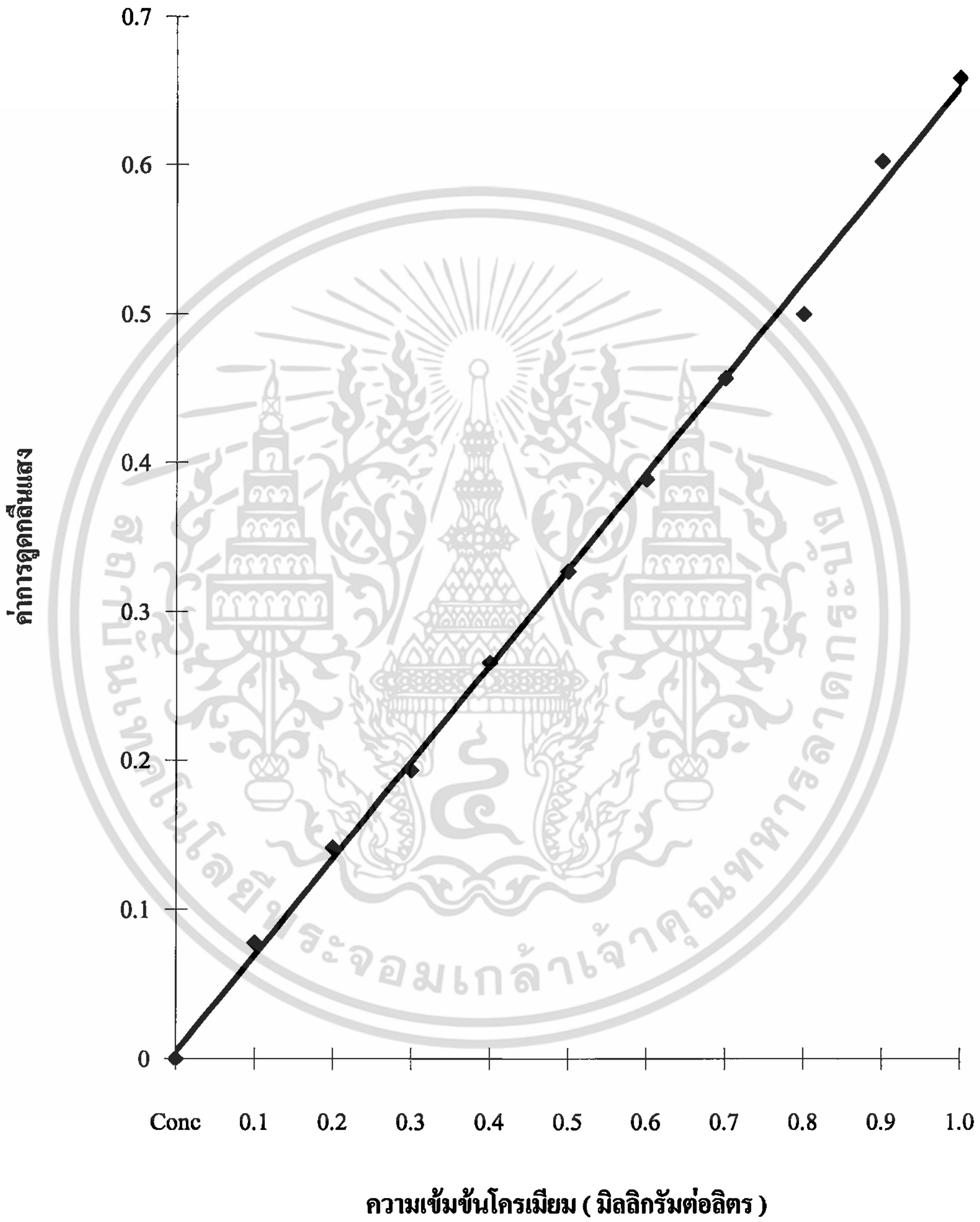
- **บ. แปซิฟิก จำกัด** เป็นโรงงานผลิตสารเคมี ตั้งอยู่ที่นิคมอุตสาหกรรมบางปู
- **บ. NEC จำกัด** เป็นโรงงานผลิตชิ้นส่วนเครื่องใช้ไฟฟ้า เช่น จอภาพโทรทัศน์ ตั้งอยู่ที่นิคมอุตสาหกรรมมาบตาพุด
- **บ. ว พรศิน จำกัด** เป็นโรงงานฟอกหนังตั้งอยู่ที่นิคมอุตสาหกรรมบางปู

นำน้ำตัวอย่างจำนวน 1 มิลลิลิตร มาทำการ steak plate บนอาหาร สูตร N - 8 ซึ่งเป็นอาหารสำหรับใช้แยกสาหร่าย นำไปบ่มในที่มีแสง อุณหภูมิไม่เกิน 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลาประมาณ 1 สัปดาห์ เมื่อเกิดจุดโคโลนีสีเขียวลักษณะ เรียบ ไม่มันเยิ้ม และไม่มีโคโลนีแบคทีเรีย หรือเส้นใยราปกคลุม ให้นำไปตรวจสอบด้วยกล้องจุลทรรศน์ ถ้าเป็น *Chlorella* sp. จะพบเห็นเป็นเซลล์สีเขียว กลม ไม่มีระยางค์ เคลื่อนที่ตามการไหลของน้ำบนแผ่นสไลด์

4. การทำสารละลายมาตรฐานของโครเมียม (+6)

นำสารละลายโครเมียม (+6) ที่มีความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร (ในข้อ 2) มาทำการเจือจางให้ได้ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร จนถึง 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร (1.0, 0.9, 0.8,....,0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร) อย่างละ 3 ซ้ำแล้วนำไปวัดค่าดูดกลืนแสง โดยใช้แสงที่มีความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร นำค่าดูดกลืนแสง ทั้ง 3 ซ้ำมาหาค่าเฉลี่ยแล้วนำไปเขียนกราฟระหว่างค่าดูดกลืนแสงกับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานของโครเมียม (+6)

กราฟมาตรฐานของสารละลายโครเมียม



รูปที่ 3ก กราฟมาตรฐานของสารละลายโครเมียม (+6)

ภาคผนวก ข

ตารางที่ 1ข ข้อมูลดิบของตารางที่ 4.1

เวลา	ปริมาณโครเมียม (+6) ที่ดูดซับ ได้ (มิลลิกรัมต่อลิตร)								
(ชั่วโมง)	*Chlorella* สายพันธุ์ A			*Chlorella* สายพันธุ์ B			*Chlorella vulgaris*		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3
0	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
1	0.640	0.640	0.640	0.980	1.200	0.980	1.200	1.320	1.100
2	1.320	1.840	1.700	2.140	1.280	1.480	1.860	1.740	1.360
4	1.580	1.920	2.060	2.360	1.580	1.820	2.840	2.760	2.020
6	2.300	2.060	2.680	2.70	2.080	1.920	3.340	3.160	2.360
8	2.160	2.280	2.760	2.900	1.620	2.160	4.340	3.520	2.400
10	2.40	2.500	2.940	3.500	2.080	1.980	5.020	3.740	2.540
12	2.640	2.760	3.180	3.380	2.080	1.860	5.420	4.340	2.880
16	2.980	4.880	3.580	3.960	2.500	2.200	5.740	3.140	3.320
20	3.420	3.740	4.100	2.460	5.760	2.400	5.740	5.220	3.660
24	3.940	4.060	4.540	4.560	3.140	2.760	5.760	5.760	4.340
48	4.860	4.940	5.760	5.760	4.320	5.760	5.760	5.760	5.760
72	5.760	5.760	5.760	5.760	4.880	4.360	5.760	5.760	5.760
96	5.760	5.760	5.760	5.760	5.200	4.500	5.760	5.760	5.760

ตารางที่ 2ข ข้อมูลดิบของตารางที่ 4.2

เวลา (ชั่วโมง)	ปริมาณโครเมียม (+6) ที่ดูดซับ ได้ (มิลลิกรัมต่อลิตร)								
	2.800 มิลลิกรัมต่อลิตร			5.940 มิลลิกรัมต่อลิตร			7.780 มิลลิกรัมต่อลิตร		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3
0	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
1	1.000	0.880	0.920	1.880	0.920	1.900	2.020	1.080	1.120
2	1.520	0.880	0.760	2.040	1.820	2.180	1.140	1.300	1.620
4	2.500	1.900	1.620	3.120	2.840	3.540	3.960	4.720	5.020
6	2.800	2.740	2.340	4.640	4.500	4.880	6.640	4.760	6.080
8	2.800	2.800	2.800	5.480	5.560	5.820	7.660	5.320	7.060
10	2.800	2.800	2.780	5.380	5.920	5.860	7.640	6.140	7.200
12	2.540	2.800	2.800	5.480	5.940	5.860	7.640	6.040	7.780
16	2.800	2.540	2.800	5.460	5.920	5.880	7.500	6.640	7.780
20	2.520	2.800	2.800	5.420	5.880	5.840	7.500	7.060	7.780
24	2.480	2.800	2.800	5.360	5.860	5.780	7.260	6.760	7.260
48	2.800	2.800	2.800	5.420	5.860	5.780	7.220	7.080	7.180
72	2.800	2.800	2.800	5.440	5.840	5.780	7.200	7.700	7.320
96	2.800	2.800	2.800	5.400	5.860	5.740	7.200	7.700	7.600

ตารางที่ 3ข ข้อมูลดิบของตารางที่ 4.3

เวลา (ชั่วโมง)	ปริมาณโครเมียม (+6) ที่ดูดซับ ได้ (มิลลิกรัมต่อลิตร)								
	140 รอบต่อนาที			180 รอบต่อนาที			220 รอบต่อนาที		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3
0	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
1	0.840	0.780	0.780	1.000	1.040	0.980	1.460	1.600	1.560
2	1.000	0.980	1.000	1.440	1.560	1.360	1.840	1.920	1.960
4	1.460	1.440	1.380	2.160	2.200	2.060	2.440	2.600	2.560
6	2.200	2.160	2.220	2.760	2.840	2.700	2.860	2.900	2.820
8	2.640	2.580	2.560	2.920	2.940	2.860	2.960	2.960	2.940
10	2.800	2.780	2.740	2.960	2.960	2.960	2.960	2.960	2.960
12	2.940	2.920	2.880	2.940	2.960	2.920	2.940	2.960	2.960
16	2.960	2.960	2.940	2.960	2.960	2.940	2.960	2.960	2.960
20	2.960	2.960	2.940	2.960	2.960	2.960	2.960	2.960	2.940
24	2.960	2.960	2.960	2.940	2.960	2.960	2.960	2.960	2.940
48	2.960	2.960	2.940	2.960	2.960	2.960	2.960	.960	2.960
72	2.960	2.960	2.960	2.960	2.960	2.960	2.960	2.960	2.960
96	2.960	2.960	2.960	2.960	2.960	2.960	2.960	2.960	2.960

ภาคผนวก ค

จากตารางที่ 4.1 คำนวณความแปรปรวนทางสถิติ (ANOVA) ได้ดังตารางที่ 1ค

ตารางที่ 1ค การคัดเลือกทางสถิติของตารางที่ 4.1

source of variation	d.f.	s.s.	M.S.	F ratio	F tabular
Total	41	121.138	2.955		
Treatment	2	4.915	2.458	17.557**	$F_{.01(2,26)} = 5.53$
Block	13	112.581	8.660		
Experiment error	26	3.642	0.140		

จากตารางที่ 4.2 คำนวณความแปรปรวนทางสถิติ (ANOVA) ได้ดังตารางที่ 2ค

ตารางที่ 2ค การคัดเลือกทางสถิติของตารางที่ 4.2

source of variation	d.f.	s.s.	M.S.	F ratio	F tabular
Total	41	43476.760	1060.409		
Treatment	2	530.656	265.328	15.574**	$F_{.01(2,26)} = 5.53$
Block	13	42503.140	3269.472		
Experiment error	26	442.96	17.037		

จากตารางที่ 4.3 คำนวณความแปรปรวนทางสถิติ (ANOVA) ได้ดังตารางที่ 3ค

ตารางที่ 3ค การคัดเลือกทางสถิติของตารางที่ 4.3

source of variation	d.f.	s.s.	M.S.	F ratio	F tabular
Total	41	34.889	0.851		
Treatment	2	0.590	0.295	6.897*	$F_{.05(2,26)} = 3.37$
Block	13	33.188	2.553		
Experiment error	26	1.112	0.043		

การคำนวณความแตกต่างทางสถิติ ใช้การคำนวณแบบ LSD มีสูตรการคำนวณดังนี้

$$LSD = t_{\alpha/2}\, s_d = t_{\alpha/2} \sqrt{(2s^2/r)}$$

ตารางที่ 4ค ตารางค่า F

d.f. ตัวหาร		d.f. ตัวตั้ง																							
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	14	16	20	24	30	40	50	75	100	200	500	∞
1	.05	161	200	216	225	230	234	257	239	241	242	243	244	245	246	248	249	250	251	252	253	253	254	254	254
	.01	4052	4999	5403	5625	5764	5859	5928	5981	6022	6056	6082	6106	6142	6169	6208	6234	6258	6286	6302	6323	6334	6352	6361	6366
2	.05	18.51	19.00	19.16	19.25	19.30	19.33	19.36	19.37	19.38	19.39	19.40	19.41	19.42	19.43	19.44	19.45	19.46	19.47	19.47	19.48	19.49	19.49	19.50	19.50
	.01	98.49	99.00	99.17	99.25	99.30	99.33	99.34	99.36	99.38	99.40	99.41	99.42	99.43	99.44	99.45	99.46	99.47	99.48	99.48	99.49	99.49	99.49	99.50	99.50
3	.05	10.13	9.55	9.28	9.12	9.01	8.94	8.88	8.84	8.81	8.78	8.76	8.74	8.71	8.69	8.66	8.64	8.62	8.60	8.58	8.57	8.56	8.54	8.54	8.53
	.01	34.12	30.82	29.46	28.71	28.24	27.91	27.67	27.49	27.34	27.23	27.13	27.05	26.92	26.83	26.69	26.60	26.50	26.41	26.35	26.27	26.23	26.18	26.14	26.12
4	.05	7.71	6.94	6.59	6.39	6.26	6.16	6.09	6.04	6.00	5.96	5.93	5.91	5.87	5.84	5.80	5.77	5.74	5.71	5.70	5.68	5.66	5.65	5.64	5.63
	.01	21.20	18.00	16.69	15.98	15.52	15.21	14.98	14.80	14.66	14.54	14.45	14.37	14.24	14.15	14.02	13.93	13.83	13.74	13.69	13.61	13.57	13.52	13.48	13.46
5	.05	6.61	5.79	5.41	5.19	5.05	4.95	4.88	4.82	4.78	4.74	4.70	4.68	4.64	4.60	4.56	4.53	4.50	4.46	4.44	4.42	4.40	4.38	4.37	4.36
	.01	16.26	13.27	12.06	11.39	10.97	10.67	10.45	10.27	10.15	10.05	9.96	9.89	9.77	9.68	9.55	9.47	9.38	9.29	9.24	9.17	9.13	9.07	9.04	9.02
6	.05	5.59	5.14	4.76	4.53	4.39	4.28	4.21	4.15	4.10	4.06	4.03	4.00	3.96	3.92	3.87	3.84	3.81	3.77	3.75	3.72	3.71	3.69	3.68	3.67
	.01	13.74	10.92	9.78	9.15	8.75	8.47	8.26	8.10	7.98	7.87	7.79	7.72	7.60	7.52	7.39	7.31	7.23	7.14	7.09	7.02	6.99	6.94	6.90	6.88
7	.05	5.99	4.74	4.35	4.12	3.97	3.87	3.79	3.73	3.68	3.63	3.60	3.57	3.52	3.49	3.44	3.41	3.38	3.34	3.32	3.29	3.28	3.25	3.24	3.23
	.01	12.25	9.55	8.45	7.85	7.46	7.19	7.00	6.84	6.71	6.62	6.54	6.47	6.35	6.27	6.15	6.07	5.98	5.90	5.85	5.78	5.75	5.70	5.67	5.65
8	.05	5.32	4.46	4.07	3.84	3.69	3.58	3.50	3.44	3.39	3.34	3.31	3.28	3.23	3.20	3.15	3.12	3.08	3.05	3.03	3.00	2.98	2.96	2.94	2.93
	.01	11.26	8.65	7.59	7.01	6.63	6.37	6.19	6.03	5.91	5.82	5.74	5.67	5.56	5.48	5.36	5.28	5.20	5.11	5.06	5.00	4.96	4.91	4.88	4.86
9	.05	5.12	4.26	3.86	3.63	3.48	3.37	3.29	3.23	3.18	3.13	3.10	3.07	3.02	2.98	2.93	2.90	2.86	2.82	2.80	2.77	2.76	2.73	2.72	2.71
	.01	10.56	8.02	6.99	6.42	6.06	5.80	5.62	5.47	5.35	5.26	5.18	5.11	5.00	4.92	4.80	4.73	4.64	4.56	4.51	4.45	4.41	4.36	4.33	4.31

ตารางที่ 4ค ตารางค่า F (ต่อ)

d.f. ตัวหาร		d.f. ตัวตั้ง 1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	14	16	20	24	30	40	50	75	100	200	500	∞
10	05	4.96	4.10	3.71	3.48	3.33	3.22	3.14	3.07	3.02	2.97	2.94	2.91	2.86	2.82	2.77	2.74	2.70	2.67	2.64	2.61	2.59	2.56	2.55	2.54
	01	10.04	7.56	6.55	5.99	5.64	5.39	5.21	5.06	4.95	4.85	4.78	4.71	4.60	4.52	4.41	4.33	4.25	4.17	4.12	4.05	4.01	3.96	3.93	3.91
11	05	4.84	3.98	3.59	3.36	3.20	3.09	3.01	2.95	2.90	2.86	2.82	2.79	2.74	2.70	2.65	2.61	2.57	2.53	2.50	2.47	2.45	2.42	2.41	2.40
	01	9.65	7.20	6.22	5.67	5.32	5.07	4.88	4.74	4.63	4.54	4.46	4.40	4.29	4.21	4.10	4.02	3.94	3.86	3.80	3.74	3.70	3.66	3.62	3.60
12	05	4.75	3.88	3.49	3.26	3.11	3.00	2.92	2.85	2.80	2.76	2.72	2.69	2.64	2.60	2.54	2.50	2.46	2.42	2.40	2.36	2.35	2.32	2.31	2.30
	01	9.33	6.93	5.95	5.41	5.06	4.82	4.65	4.50	4.39	4.30	4.22	4.16	4.05	3.98	3.86	3.78	3.70	3.61	3.56	3.49	3.46	3.41	3.38	3.36
13	05	4.67	3.80	3.41	3.18	3.02	2.92	2.84	2.77	2.72	2.67	2.63	2.60	2.55	2.51	2.46	2.42	2.38	2.34	2.32	2.28	2.26	2.24	2.22	2.21
	01	9.07	6.70	5.74	5.20	4.86	4.62	4.44	4.30	4.19	4.10	4.02	3.96	3.85	3.78	3.67	3.59	3.51	3.42	3.37	3.30	3.27	3.21	3.18	3.16
14	05	4.60	3.74	3.34	3.11	2.96	2.85	2.77	2.70	2.65	2.60	2.56	2.53	2.48	2.44	2.39	2.35	2.31	2.27	2.24	2.21	2.19	2.16	2.14	2.13
	01	8.86	6.51	5.56	5.03	4.69	4.46	4.28	4.14	4.03	3.94	3.86	3.80	3.70	3.62	3.51	3.43	3.34	3.26	3.21	3.14	3.11	3.06	3.02	3.00
15	05	4.54	3.68	3.29	3.06	2.90	2.79	2.70	2.64	2.59	2.55	2.51	2.48	2.43	2.39	2.33	2.29	2.25	2.21	2.18	2.15	2.12	2.10	2.08	2.07
	01	8.68	6.36	5.42	4.89	4.56	4.32	4.14	4.00	3.89	3.80	3.73	3.67	3.56	3.48	3.36	3.29	3.20	3.12	3.07	3.00	2.97	2.92	2.89	2.87
16	05	4.49	3.63	3.24	3.01	2.85	2.74	2.66	2.59	2.54	2.49	2.45	2.42	2.37	2.33	2.28	2.24	2.20	2.16	2.13	2.09	2.07	2.04	2.02	2.01
	01	8.53	6.23	5.29	4.77	4.44	4.20	4.03	3.89	3.78	3.69	3.61	3.55	3.45	3.37	3.25	3.18	3.10	3.01	2.96	2.89	2.86	2.80	2.77	2.75
17	05	4.45	3.59	3.20	2.96	2.81	2.70	2.62	2.55	2.50	2.45	2.41	2.38	2.33	2.29	2.23	2.19	2.15	2.11	2.08	2.04	2.02	1.99	1.97	1.96
	01	8.40	6.11	5.18	4.67	4.34	4.10	3.93	3.79	3.68	3.59	3.52	3.45	3.35	3.27	3.16	3.08	3.00	2.92	2.86	2.79	2.76	2.70	2.67	2.65
18	05	4.41	3.55	3.16	2.93	2.77	2.66	2.58	2.51	2.46	2.41	2.37	2.34	2.29	2.25	2.19	2.15	2.11	2.07	2.04	2.00	1.98	1.95	1.93	1.92
	01	8.28	6.01	5.09	4.58	4.25	4.01	3.85	3.71	3.60	3.51	3.44	3.37	3.27	3.19	3.07	3.00	2.91	2.83	2.78	2.71	2.68	2.62	2.59	2.57
19	05	4.38	3.52	3.13	2.90	2.74	2.63	2.55	2.48	2.43	2.38	2.34	2.31	2.26	2.21	2.15	2.11	2.07	2.02	2.00	1.96	1.94	1.91	1.90	1.88
	01	8.18	5.93	5.01	4.50	4.17	3.94	3.77	3.63	3.52	3.43	3.36	3.30	3.19	3.12	3.00	2.92	2.84	2.76	2.70	2.63	2.60	2.54	2.51	2.49

ตารางที่ 4ค ตารางค่า F (ต่อ)

d.f. ตัวหาร		d.f. ตัวตั้ง 1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	14	16	20	24	30	40	50	75	100	200	500	∞
20	.05	4.35	3.49	3.10	2.87	2.71	2.60	2.52	2.45	2.40	2.35	2.31	2.28	2.23	2.18	2.12	2.08	2.04	1.99	1.96	1.92	1.90	1.87	1.85	1.84
	.01	8.10	5.85	4.94	4.43	4.10	3.87	3.71	3.56	3.45	3.37	3.30	3.23	3.13	3.05	2.94	2.86	2.77	2.69	2.63	2.56	2.53	2.47	2.44	2.42
21	.05	4.32	3.47	3.07	2.84	2.68	2.57	2.49	2.42	2.37	2.32	2.28	2.25	2.20	2.15	2.09	2.05	2.00	1.96	1.93	1.89	1.87	1.84	1.82	1.81
	.01	8.02	5.78	4.87	4.37	4.04	3.81	3.65	3.51	3.40	3.31	3.24	3.17	3.07	2.99	2.88	2.80	2.72	2.63	2.58	2.51	2.47	2.42	2.38	2.36
22	.05	4.30	3.44	3.05	2.82	2.66	2.55	2.47	2.40	2.35	2.30	2.26	2.23	2.18	2.13	2.07	2.03	1.98	1.93	1.91	1.87	1.84	1.81	1.80	1.78
	.01	7.94	5.72	4.82	4.31	3.99	3.76	3.59	3.45	3.35	3.26	3.18	3.12	3.02	2.94	2.83	2.75	2.67	2.58	2.53	2.46	2.42	2.37	2.33	2.31
23	.05	4.28	3.42	3.03	2.80	2.64	2.53	2.45	2.38	2.32	2.28	2.24	2.20	2.14	2.10	2.04	2.00	1.96	1.91	1.88	1.84	1.82	1.79	1.77	1.76
	.01	7.88	5.66	4.76	4.26	3.94	3.71	3.54	3.41	3.30	3.21	3.14	3.07	2.97	2.89	2.78	2.70	2.62	2.53	2.48	2.41	2.37	2.32	2.28	2.26
24	.05	4.26	3.40	3.01	2.78	2.62	2.51	2.43	2.36	2.30	2.26	2.22	2.18	2.13	2.09	2.02	1.98	1.94	1.89	1.86	1.82	1.80	1.76	1.74	1.73
	.01	7.82	5.61	4.72	4.22	3.90	3.67	3.50	3.36	3.25	3.17	3.09	3.03	2.93	2.85	2.74	2.66	2.58	2.49	2.44	2.36	2.33	2.27	2.23	2.21
25	.05	4.24	3.38	2.99	2.76	2.60	2.49	2.41	2.34	2.28	2.24	2.20	2.16	2.11	2.06	2.00	1.96	1.92	1.87	1.84	1.80	1.77	1.74	1.72	1.71
	.01	7.77	5.57	4.68	4.18	3.86	3.63	3.46	3.32	3.21	3.13	3.05	2.99	2.89	2.81	2.70	2.62	2.54	2.45	2.40	2.32	2.29	2.23	2.19	2.17
26	.05	4.22	3.37	2.98	2.74	2.59	2.47	2.39	2.32	2.27	2.22	2.18	2.15	2.10	2.05	1.99	1.95	1.90	1.85	1.82	1.78	1.76	1.72	1.70	1.69
	.01	7.72	5.53	4.64	4.14	3.82	3.59	3.42	3.29	3.17	3.09	3.02	2.96	2.86	2.77	2.66	2.58	2.50	2.41	2.36	2.28	2.25	2.19	2.15	2.13
27	.05	4.21	3.35	2.96	2.73	2.57	2.46	2.37	2.30	2.25	2.20	2.16	2.13	2.08	2.03	1.97	1.93	1.88	1.84	1.80	1.76	1.74	1.71	1.68	1.67
	.01	7.68	5.49	4.60	4.11	3.79	3.56	3.39	3.26	3.14	3.06	2.98	2.93	2.83	2.74	2.63	2.55	2.47	2.38	2.33	2.25	2.21	2.16	2.12	2.10
28	.05	4.20	3.34	2.95	2.71	2.56	2.44	2.36	2.29	2.24	2.19	2.15	2.12	2.06	2.02	1.96	1.91	1.87	1.81	1.78	1.75	1.72	1.69	1.67	1.65
	.01	7.64	5.45	4.57	4.07	3.76	3.53	3.36	3.23	3.11	3.03	2.95	2.90	2.80	2.71	2.60	2.52	2.44	2.35	2.30	2.22	2.18	2.13	2.09	2.06
29	.05	4.18	3.33	2.93	2.70	2.54	2.43	2.35	2.28	2.22	2.18	2.14	2.10	2.05	2.00	1.94	1.90	1.85	1.80	1.77	1.73	1.71	1.68	1.65	1.64
	.01	7.60	5.42	4.54	4.04	3.73	3.50	3.33	3.20	3.03	3.00	2.92	2.87	2.77	2.68	2.57	2.49	2.41	2.32	2.27	2.19	2.15	2.10	2.06	2.03

ตารางที่ 4ค ตารางค่า F (ต่อ)

d.f. ตัวหาร		d.f. ตัวตั้ง 1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	14	16	20	24	30	40	50	75	100	200	500	∞
30	.05	4.17	3.32	2.92	2.69	2.53	2.42	2.34	2.27	2.21	2.16	2.12	2.09	2.04	1.99	1.93	1.89	1.84	1.79	1.76	1.72	1.69	1.66	1.64	1.62
	.01	7.56	5.39	4.51	4.02	3.70	3.47	3.30	3.17	3.06	2.98	2.90	2.84	2.74	2.66	2.55	2.47	2.38	2.29	2.24	2.16	2.13	2.07	2.03	2.01
32	05	4.15	3.30	2.90	2.67	2.51	2.40	2.32	2.25	2.19	2.14	2.10	2.07	2.02	1.97	1.91	1.86	1.82	1.76	1.74	1.69	1.67	1.64	1.61	1.59
	01	7.50	5.34	4.46	3.97	3.66	3.42	3.25	3.12	3.01	2.94	2.86	2.80	2.70	2.62	2.51	2.42	2.34	2.25	2.20	2.12	2.08	2.02	1.98	1.96
34	.05	4.13	3.28	2.88	2.65	2.49	2.38	2.30	2.23	2.17	2.12	2.08	2.05	2.00	1.95	1.89	1.84	1.80	1.74	1.71	1.67	1.64	1.61	1.59	1.57
	.01	7.44	5.29	4.42	3.93	3.61	3.38	3.21	3.08	2.97	2.89	2.82	2.76	2.66	2.58	2.47	2.38	2.30	2.21	2.15	2.08	2.04	1.98	1.94	1.91
36	.05	4.11	3.26	2.86	2.63	2.48	2.36	2.28	2.21	2.15	2.10	2.06	2.03	1.98	1.93	1.87	1.82	1.78	1.72	1.69	1.65	1.62	1.59	1.56	1.55
	01	7.39	5.25	4.38	3.89	3.58	3.35	3.18	3.04	2.94	2.86	2.78	2.72	2.62	2.54	2.43	2.35	2.26	2.17	2.12	2.04	2.00	1.94	1.90	1.87
38	.05	4.10	3.25	2.85	2.62	2.46	2.35	2.26	2.19	2.14	2.09	2.05	2.02	1.96	1.92	1.85	1.80	1.76	1.71	1.67	1.63	1.60	1.57	1.54	1.53
	.01	7.35	5.21	4.34	3.86	3.54	3.32	3.15	3.02	2.91	2.82	2.75	2.69	2.59	2.51	2.40	2.32	2.22	2.14	2.08	2.00	1.97	1.90	1.86	1.84
40	.05	4.08	3.23	2.84	2.61	2.45	2.34	2.25	2.18	2.12	2.07	2.04	2.00	1.95	1.90	1.84	1.79	1.74	1.69	1.66	1.61	1.59	1.55	1.53	1.51
	.01	7.31	5.18	4.31	3.83	3.51	3.29	3.12	2.99	2.88	2.80	2.73	2.66	2.56	2.49	2.37	2.29	2.20	2.11	2.05	1.97	1.94	1.88	1.84	1.81
42	.05	4.07	3.22	2.83	2.59	2.44	2.32	2.24	2.17	2.11	2.06	2.02	1.99	1.94	1.89	1.82	1.78	1.73	1.68	1.64	1.60	1.57	1.54	1.51	1.49
	.01	7.27	5.15	4.29	3.80	3.49	3.26	3.10	2.96	2.86	2.77	2.70	2.64	2.54	2.46	2.35	2.26	2.17	2.08	2.02	1.94	1.91	1.85	1.80	1.78
44	.05	4.06	3.21	2.82	2.58	2.43	2.31	2.23	2.16	2.10	2.05	2.01	1.98	1.92	1.88	1.81	1.76	1.72	1.66	1.63	1.58	1.56	1.52	1.50	1.48
	.01	7.24	5.12	4.26	3.78	3.46	3.24	3.07	2.94	2.84	2.75	2.68	2.62	2.52	2.44	2.32	2.24	2.15	2.06	2.00	1.92	1.88	1.82	1.78	1.75
46	.05	4.05	3.20	2.81	2.57	2.42	2.30	2.22	2.14	2.09	2.04	2.00	1.97	1.91	1.87	1.80	1.75	1.71	1.65	1.62	1.57	1.54	1.51	1.48	1.46
	.01	7.21	5.10	4.24	3.76	3.44	3.22	3.05	2.92	2.82	2.73	2.66	2.60	2.50	2.42	2.30	2.22	2.13	2.04	1.98	1.90	1.86	1.80	1.76	1.72
48	.05	4.04	3.19	2.80	2.56	2.41	2.30	2.21	2.14	2.08	2.03	1.99	1.96	1.90	1.86	1.79	1.74	1.70	1.64	1.61	1.56	1.53	1.50	1.47	1.45
	.01	7.19	5.08	4.22	3.74	3.42	3.20	3.04	2.90	2.80	2.71	2.64	2.58	2.48	2.40	2.28	2.20	2.11	2.02	1.96	1.88	1.84	1.78	1.73	1.70
50	.05	4.03	3.18	2.79	2.56	2.40	2.29	2.20	2.13	2.07	2.02	1.98	1.95	1.90	1.85	1.78	1.74	1.69	1.63	1.60	1.55	1.52	1.48	1.46	1.44
	01	7.17	5.06	4.20	3.72	3.41	3.18	3.02	2.88	2.78	2.70	2.62	2.56	2.46	2.39	2.26	2.18	2.10	2.00	1.94	1.86	1.82	1.76	1.71	1.68

ตารางที่ 4ค ตารางค่า F (ต่อ)

d.f. ตัวหาร		d.f. ตัวตั้ง 1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	14	16	20	24	30	40	50	75	100	200	500	∞
55	.05	4.02	3.17	2.78	2.54	2.38	2.27	2.18	2.11	2.05	2.00	1.97	1.93	1.88	1.83	1.76	1.72	1.67	1.61	1.58	1.52	1.50	1.46	1.43	1.41
	.01	7.12	5.01	4.16	3.68	3.37	3.15	2.98	2.85	2.75	2.66	2.59	2.53	2.43	2.35	2.23	2.15	2.06	1.96	1.90	1.82	1.78	1.71	1.66	1.64
60	.05	4.00	3.15	2.76	2.52	2.37	2.25	2.17	2.10	2.04	1.99	1.95	1.92	1.86	1.81	1.75	1.70	1.65	1.59	1.56	1.50	1.48	1.44	1.41	1.39
	.01	7.08	4.98	4.13	3.65	3.34	3.12	2.95	2.82	2.72	2.63	2.56	2.50	2.40	2.32	2.20	2.12	2.02	1.93	1.87	1.79	1.74	1.68	1.63	1.60
65	.05	3.99	3.14	2.75	2.51	2.36	2.24	2.15	2.08	2.02	1.98	1.94	1.90	1.85	1.80	1.73	1.68	1.63	1.57	1.54	1.49	1.46	1.42	1.39	1.37
	01	7.04	4.95	4.10	3.62	3.31	3.09	2.93	2.79	2.70	2.61	2.54	2.47	2.37	2.30	2.18	2.09	2.00	1.90	1.84	1.76	1.71	1.64	1.60	1.56
70	.05	3.98	3.13	2.74	2.50	2.35	2.23	2.14	2.07	2.01	1.97	1.93	1.89	1.84	1.79	1.72	1.67	1.62	1.56	1.53	1.47	1.45	1.40	1.37	1.35
	.01	7.01	4.92	4.08	3.60	3.29	3.07	2.91	2.77	2.67	2.59	2.51	2.45	2.35	2.28	2.15	2.07	1.98	1.88	1.82	1.74	1.69	1.62	1.56	1.53
80	.05	3.96	3.11	2.72	2.48	2.33	2.21	2.12	2.05	1.99	1.95	1.91	1.88	1.82	1.77	1.70	1.65	1.60	1.54	1.51	1.45	1.42	1.38	1.35	1.32
	.01	6.96	4.88	4.04	3.56	3.25	3.04	2.87	2.74	2.64	2.55	2.48	2.41	2.32	2.24	2.11	2.03	1.94	1.84	1.78	1.70	1.65	1.57	1.52	1.49
100	.05	3.94	3.09	2.70	2.46	2.30	2.19	2.10	2.03	1.97	1.92	1.88	1.85	1.79	1.75	1.68	1.63	1.57	1.51	1.48	1.42	1.39	1.34	1.30	1.28
	.01	6.90	4.82	3.98	3.51	3.20	2.99	2.82	2.69	2.59	2.51	2.43	2.36	2.26	2.19	2.06	1.98	1.89	1.79	1.73	1.64	1.59	1.51	1.46	1.43
125	.05	3.92	3.07	2.68	2.44	2.20	2.17	2.08	2.01	1.95	1.90	1.86	1.83	1.77	1.72	1.65	1.60	1.55	1.49	1.45	1.39	1.36	1.31	1.27	1.25
	.01	6.84	4.78	3.94	3.47	3.17	2.95	2.79	2.65	2.56	2.47	2.40	2.33	2.23	2.15	2.03	1.94	1.85	1.75	1.68	1.59	1.54	1.46	1.40	1.37
150	.05	3.91	3.06	2.67	2.43	2.27	2.16	2.07	2.00	1.94	1.89	1.85	1.82	1.76	1.71	1.64	1.59	1.54	1.47	1.44	1.37	1.34	1.29	1.25	1.22
	01	6.81	4.75	3.91	3.44	3.14	2.92	2.76	2.62	2.53	2.44	2.37	2.30	2.20	2.12	2.00	1.91	1.83	1.72	1.66	1.56	1.51	1.43	1.37	1.33
200	.05	3.89	3.04	2.65	2.41	2.26	2.14	2.05	1.98	1.92	1.87	1.83	1.80	1.74	1.69	1.62	1.57	1.52	1.45	1.42	1.35	1.32	1.26	1.22	1.19
	.01	6.76	4.71	3.88	3.41	3.11	2.90	2.73	2.60	2.50	2.41	2.34	2.28	2.17	2.09	1.97	1.88	1.79	1.69	1.62	1.53	1.48	1.39	1.33	1.28
400	.05	3.86	3.02	2.62	2.39	2.23	2.12	2.03	1.96	1.90	1.85	1.81	1.78	1.72	1.67	1.60	1.54	1.49	1.42	1.38	1.32	1.28	1.22	1.16	1.13
	.01	6.70	4.66	3.83	3.36	3.06	2.85	2.69	2.55	2.46	2.37	2.29	2.23	2.12	2.04	1.92	1.84	1.74	1.64	1.57	1.47	1.42	1.32	1.24	1.19
1000	.05	3.85	3.00	2.61	2.38	2.22	2.10	2.02	1.95	1.89	1.84	1.80	1.76	1.70	1.65	1.58	1.53	1.47	1.41	1.36	1.30	1.26	1.19	1.13	1.08
	.01	6.66	4.62	3.80	3.34	3.04	2.82	2.66	2.53	2.43	2.34	2.26	2.20	2.09	2.01	1.89	1.81	1.71	1.61	1.54	1.44	1.38	1.28	1.19	1.11
∞	.05	3.84	2.99	2.60	2.37	2.21	2.09	2.01	1.94	1.88	1.83	1.79	1.75	1.69	1.64	1.57	1.52	1.46	1.40	1.35	1.28	1.24	1.17	1.11	1.00
	.01	6.64	4.60	3.78	3.32	3.02	2.80	2.64	2.51	2.41	2.32	2.24	2.18	2.07	1.99	1.87	1.79	1.69	1.59	1.52	1.41	1.36	1.25	1.15	1.00

ภาคผนวก ง

ตารางที่ 1ง มาตรฐานควบคุมการระบายน้ำทิ้งจากแหล่งกำเนิดประเภทโรงงานอุตสาหกรรมและนิคมอุตสาหกรรม

ตัวแปร	ค่ามาตรฐาน
1. ความเป็นกรดและด่าง (pH)	• 5.5 - 9.0
2. ทีดีเอส (Total Dissolved Solids)	• ไม่เกิน 3,000 มก./ล. หรืออาจแตกต่างแล้วแต่ประเภทของแหล่งรองรับน้ำทิ้ง หรือประเภทของโรงงานอุตสาหกรรม ตามที่คณะกรรมการควบคุมมลพิษเห็นสมควร แต่ต้องไม่เกิน 5,000 มก./ล. • น้ำทิ้งที่ระบายลงแหล่งน้ำกร่อยที่มีค่าความเค็มเกิน 2,000 มก./ล. หรือลงสู่ทะเล ค่าทีดีเอสในน้ำทิ้งจะมีค่ามากกว่าค่าทีดีเอสที่มีอยู่ในแหล่งน้ำกร่อยหรือทะเลได้อีกไม่เกิน 5,000 มก./ล.
3. สารแขวนลอย (Suspended Solids)	• ไม่เกิน 50 มก./ล. หรืออาจแตกต่างแล้วแต่แหล่งรองรับน้ำทิ้ง หรือประเภทของโรงงานอุตสาหกรรม หรือประเภทของระบบบำบัดน้ำเสีย ตามที่คณะกรรมการควบคุมมลพิษเห็นสมควร แต่ต้องไม่เกิน 150 มก./ล.
4. อุณหภูมิ (Temperature)	• ไม่เกิน 40°C
5. สีและกลิ่น (Color and Odor)	• เมื่อระบายลงสู่แหล่งน้ำสาธารณะแล้ว ไม่เป็นที่พึงรังเกียจ
6. ซัลไฟด์ (Sulfide as H_2S)	• ไม่เกิน 1 มก./ล.
7. ไซยาไนด์ (Cyunide as HCN)	• ไม่เกิน 2 มก./ล.
8. น้ำมันและไขมัน (Fat Oil and Grease)	• ไม่เกิน 5 มก./ล. อาจแตกต่างแล้วแต่แหล่งรองรับน้ำทิ้ง หรือประเภทของโรงงานอุตสาหกรรม ตามที่คณะกรรมการควบคุมมลพิษเห็นสมควร แต่ต้องไม่เกิน 15 มก./ล.

ตารางที่ 1ง มาตรฐานควบคุมการระบายน้ำทิ้งจากแหล่งกำเนิดประเภทโรงงานอุตสาหกรรมและนิคมอุตสาหกรรม (ต่อ)

ตัวแปร	ค่ามาตรฐาน
9. ฟอร์มัลดีไฮด์ (Formaldehyde)	• ไม่เกิน 1 มก./ล.
10. สารประกอบฟีนอล (Phenols)	• ไม่เกิน 1 มก./ล.
11. คลอรีนอิสระ (Free Chlorine)	• ไม่เกิน 1 มก./ล.
12. สารที่ใช้ป้องกันหรือกำจัดศัตรูพืชหรือสัตว์ (Pesticide)	• ต้องตรวจไม่พบตามวิธีตรวจสอบที่กำหนด
13. บีโอดี (Biochemical Oxygen Demand : BOD)	• ไม่เกิน 20 มก./ล. หรืออาจแตกต่างแล้วแต่แหล่งรองรับน้ำทิ้ง หรือประเภทของโรงงานอุตสาหกรรมตามที่คณะกรรมการควบคุมมลพิษเห็นสมควร แต่ต้องไม่เกิน 60 มก./ล.
14. ทีเคเอ็น (Total Kjeldahl Nitrogen : TKN)	• ไม่เกิน 100 มก./ล. หรืออาจแตกต่างแล้วแต่แหล่งรองรับน้ำทิ้ง หรือประเภทของโรงงานอุตสาหกรรมตามที่คณะกรรมการควบคุมมลพิษเห็นสมควร แต่ต้องไม่เกิน 200 มก./ล.
15. ซีโอดี (Chemical Oxygen Demand : COD)	• ไม่เกิน 120 มก./ล. หรืออาจแตกต่างแล้วแต่แหล่งรองรับน้ำทิ้ง หรือประเภทโรงงานอุตสาหกรรม ตามที่คณะกรรมการควบคุมมลพิษเห็นสมควร แต่ต้องไม่เกิน 400 มก./ล.
16. โลหะหนัก (Heavy Metal)	
1) สังกะสี (Zn)	ไม่เกิน 50 มก./ล.
2) โครเมียม (Cr)	
Hexavalent	ไม่เกิน 0.25 มก./ล.
Trivalent	ไม่เกิน 0.75 มก./ล.

ตารางที่ 1ง มาตรฐานควบคุมการระบายน้ำทิ้งจากแหล่งกำเนิดประเภทโรงงานอุตสาหกรรมและนิคมอุตสาหกรรม (ต่อ)

ตัวแปร	ค่ามาตรฐาน
3) อาร์เซนิค (As)	ไม่เกิน 0.25 มก./ล.
4) ทองแดง (Cu)	ไม่เกิน 2.0 มก./ล.
5) ปรอท (Hg)	ไม่เกิน 0.005 มก./ล.
6) แคดเมียม (Cd)	ไม่เกิน 0.03 มก./ล.
7) แบเรียม (Ba)	ไม่เกิน 1.0 มก./ล.
8) เซเลเนียม (Se)	ไม่เกิน 0.02 มก./ล.
9) ตะกั่ว (Pb)	ไม่เกิน 0.2 มก./ล.
10) นิเกิล (Ni)	ไม่เกิน 1.0 มก./ล.
11) แมงกานีส (Mn)	ไม่เกิน 5.0 มก./ล.

หมายเหตุ :

(1) มาตรฐานฯ นี้ ได้ประกาศเป็นประกาศกระทรวงวิทยาศาสตร์ฯ เรื่อง กำหนดมาตรฐานควบคุมการระบายน้ำทิ้งจากแหล่งกำเนิดประเภทโรงงานอุตสาหกรรมและนิคมอุตสาหกรรม ลงวันที่ 3 มกราคม 2539

(2) มก./ล. หมายถึง มิลลิกรัมต่อลิตร

(3) โรงงานอุตสาหกรรม หมายความว่า โรงงานตามกฎหมายว่าด้วยโรงงาน

(4) นิคมอุตสาหกรรม หมายความว่า นิคมอุตสาหกรรมตามกฎหมายว่าด้วยนิคมอุตสาหกรรมหรือโครงการที่จัดไว้สำหรับการประกอบการอุตสาหกรรมที่มีการจัดการระบายน้ำทิ้งลงสู่แหล่งน้ำสาธารณะหรือออกสู่สิ่งแวดล้อมร่วมกัน

(5) น้ำเสีย หมายความว่า ของเสียที่อยู่ในสภาพเป็นของเหลว รวมทั้งมลสารที่ปะปน หรือปนเปื้อนอยู่ในของเหลวนั้น

(6) น้ำทิ้ง หมายความว่า น้ำเสียที่เกิดจากการประกอบกิจการโรงงานอุตสาหกรรม หรือนิคมอุตสาหกรรมที่จะระบายลงสู่แหล่งน้ำสาธารณะ หรือออกสู่สิ่งแวดล้อม และให้หมายความรวมถึงน้ำเสียจากการใช้น้ำของคนงาน รวมทั้งจากกิจกรรมอื่นในโรงงานอุตสาหกรรม หรือในนิคมอุตสาหกรรมด้วย โดยน้ำทิ้งต้องเป็นไปตามมาตรฐานควบคุมการระบายน้ำทิ้งที่กำหนดไว้ในประกาศ

(7) โรงงานอุตสาหกรรมจำพวกที่ 2 และ 3 ตามพระราชบัญญัติโรงงาน พ.ศ. 2535 และนิคมอุตสาหกรรม ได้รับความเห็นชอบจากคณะกรรมการควบคุมมลพิษ เมื่อวันที่ 5 ตุลาคม 2537 ให้กำหนดเป็นแหล่งกำเนิดมลพิษที่ต้องถูกควบคุมตามมาตรา 69 ของพระราชบัญญัติส่งเสริมและรักษาคุณภาพสิ่งแวดล้อม พ.ศ. 2535