สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

การดูดซับโครเมียม (+6) ในน้ำเสีย โดยยีสต์

นางสาว การะเกด อมรรัตนเกียรติ
นาย เกรียงศักดิ์ เลิศประภามงคล

ปพ.
ก531 ก
เลขหมู่ 2538
เลขทะเบียน 25403
วัน, เดือน, ปี 9 ก.ค. 2539

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต
ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์
คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีการศึกษา 2538

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Adsorption of Hexavalent Chromium in Wastewater by Yeasts

Miss Karakade Amornrattanakiat

Mr. Kriengsak Lirdprapamongkol

A Special Project Submitted in Partial Fulfillment of the

Requirement for the Degree of Bachelor of Science

Department of Applied Biology

King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang

1995

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ	**การดูดซับโครเมียม (+6) ในน้ำเสีย โดยยีสต์**
โดย	**นางสาวการะเกด อมรรัตนเกียรติ**
	นายเกรียงศักดิ์ เลิศประภามงคล
ภาควิชา	**ชีววิทยาประยุกต์**
อาจารย์ที่ปรึกษา	**อาจารย์ เหมือนหมาย อภินทนาพงศ์**

ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง อนุมัติให้โครงงานพิเศษฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต

.....

(ดร. อุ่นเรือน ศิริวานิชกุล) หัวหน้าภาควิชา

คณะกรรมการโครงงานพิเศษ

.....

(รศ.ดร. ดุษฎี ธนะบริพัฒน์) ประธานกรรมการ

.....

(อาจารย์ เหมือนหมาย อภินทนาพงศ์) กรรมการ

.....

(อาจารย์ มาริสา จาตุพรพิพัฒน์) กรรมการ

ลิขสิทธิ์ของภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ การดูดซับโครเมียม (+6) ในน้ำเสีย โดยยีสต์

โดย นางสาวการะเกด อมรรัตนเกียรติ

นายเกรียงศักดิ์ เลิศประภามงคล

อาจารย์ที่ปรึกษา อาจารย์ เหมือนหมาย อภินทนาพงศ์

ภาควิชา ชีววิทยาประยุกต์

ปีการศึกษา 2538

บทคัดย่อ

ในอุตสาหกรรมหลายชนิดมีการใช้สารประกอบโครเมียมอย่างแพร่หลาย แต่เนื่องจากโครเมียม (+6) มีความเป็นพิษต่อสิ่งมีชีวิตในระบบนิเวศวิทยา จึงต้องมีการกำจัดโครเมียม (+6) ในน้ำทิ้งก่อนที่จะปล่อยลงสู่แหล่งน้ำธรรมชาติ

ในการกำจัดโครเมียม (+6) ได้เลือกใช้ *Candida utilis* เพื่อดูดซับโครเมียม (+6) ในน้ำเสีย โดยเปรียบเทียบประสิทธิภาพการดูดซับโครเมียม (+6) ระหว่างเซลล์สด และ เซลล์แห้ง (dehydrated cells) ที่มีความชื้นต่าง ๆ กัน พบว่าเซลล์แห้ง ความชื้น 30-40 % สามารถดูดซับโครเมียม (+6) ได้ดีที่สุด โดยลดโครเมียม (+6) ในสารละลายโครเมียม และ น้ำเสียชุมชน จาก 10 มก./ล. ให้เหลือ 3.8 และ 2.6 มก./ล. ในเวลา 5 ชั่วโมง ตามลำดับ ดังนั้นจึงได้เลือกใช้เซลล์แห้ง ความชื้น 30-40 % เพื่อทดสอบการดูดซับโครเมียม (+6) ในน้ำเสียอุตสาหกรรมจากโรงงานชุบโครเมียม พบว่าสามารถลดโครเมียม (+6) จาก 4 มก./ล. ให้เหลือ 0.1 มก./ล. ได้ภายในเวลา 15 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Special Project Title Adsorption of Hexavalent Chromium in Wastewater by Yeasts

Name Miss Karakade Amornrattanakiat

Mr. Kriengsak Lirdprapamongkol

Special Project Advisor Miss Muanmai Apintanapong

Department Applied Biology

Academic Year 1995

Abstract

Chromium compounds have widespread industrial uses. However , chromium (VI) is toxic to most organisms in natural ecosystem and wastewater containing chromium (VI) must be treated before discharged into natural environment.

To eliminate chromium from wastewater , *Candida utilis* was selected to adsorb chromium (VI). Fresh and dehydrated cells with different moisture content were used to compare chromium adsorption. Dehydrated cells with 30-40 % moisture content showed the best trend of chromium adsorption in both chromium solution and domestic wastewater by reducing from 10 mg/l to 3.8 and 2.6 mg/l , respectively in first 5 hours. Consequently , 30-40 % moisture content of dehydrated cells were selected to determine chromium (VI) adsorption in industrial wastewater from chromium plating factory. Decrease of chromium (VI) content from 4 mg/l to 0.1 mg/l was obtained in 15 minutes.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

โครงงานพิเศษนี้ได้จัดทำขึ้นตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ โครงงานพิเศษนี้สำเร็จลงได้ดีก็ด้วยความช่วยเหลือจากหลายบุคคล คณะผู้จัดทำขอขอบพระคุณ อาจารย์เหมือนหมาย อภินทนาพงศ์ อาจารย์ที่ปรึกษาโครงงานพิเศษ ที่ได้ให้ความรู้ ข้อเสนอแนะ รวมทั้งได้กรุณาตรวจทานแก้ไขทางด้านภาษา และให้คำแนะนำในด้านต่าง ๆ ในการจัดทำโครงงานพิเศษนี้ รศ.ดร.ดุษณี ธนะบริพัฒน์ และอาจารย์มาริสา จาตุพรพิพัฒน์ ประธาน และคณะกรรมการพิจารณาโครงงานพิเศษ อาจารย์สุวรรณ ไชยสิทธิ์ และอาจารย์พิสมัย ชัยรัตน์อุทัย ที่กรุณาให้คำแนะนำต่าง ๆ ขอขอบคุณ คุณพยอม เกียรติกำจร คุณวิทยา เขียวเขิน คุณธวัชชัย เปรมศรี และคุณประเสริฐวิทย์ แฟงคำ เจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการชีววิทยา รวมถึงเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการเคมีทุกท่าน ที่กรุณาให้ยืมอุปกรณ์ และสารเคมีต่าง ๆ สำหรับทำการทดลอง และเจ้าหน้าที่ธุรการทุกท่านที่ให้ยืมอุปกรณ์ต่าง ๆ รวมทั้งเพื่อน ๆ ที่ได้คอยช่วยเหลือ และเป็นกำลังใจในการจัดทำโครงงานพิเศษนี้เป็นอย่างดี สุดท้ายนี้ ขอขอบคุณโรงงาน ด.บุนนาคชุบโครเมียม ที่ได้กรุณาอนุญาตให้นำน้ำทิ้งของทางโรงงานมาใช้ในการทดลองทำโครงงานพิเศษครั้งนี้

คณะผู้จัดทำ

มีนาคม 2539

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ โครงงานพิเศษภาษาไทย	ก
บทคัดย่อ โครงงานพิเศษภาษาอังกฤษ	ข
กิตติกรรมประกาศ	ค
สารบัญตาราง	ง
สารบัญรูป	จ
บทที่ 1 บทนำ	1
บทที่ 2 การตรวจเอกสาร	3
บทที่ 3 อุปกรณ์ และวิธีการทดลอง	9
บทที่ 4 ผลการทดลอง และวิจารณ์	19
บทที่ 5 สรุปผลการทดลอง และข้อเสนอแนะ	25
เอกสารอ้างอิง	26
ภาคผนวก ก สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ	28
ภาคผนวก ข สารเคมี และ วิธีการเตรียม	29
ภาคผนวก ค กราฟมาตรฐานแสดงปริมาณโครเมียม (+6) กับค่าการดูดกลืนแสง	30
ภาคผนวก ง ตารางแสดงข้อมูลผลการทดลอง	31

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
2.1 แสดงปริมาณการปล่อยโครเมียมจากแหล่งกำเนิดต่าง ๆ	4
2.2 แสดงปริมาณความเข้มข้นของโครเมียม (+6) ในน้ำเสียของโรงงานอุตสาหกรรมต่าง ๆ	5
4.1 แสดงปริมาณโครเมียม (+6) ที่ถูกยีสต์ดูดซับไปในสารละลายโครเมียม และในน้ำเสียชุมชน	20
4.2 แสดงปริมาณโครเมียม (+6) ที่ถูกเซลล์แห้ง ความชื้น 30-40 % ดูดซับไปในสารละลายโครเมียม และในน้ำเสียโรงงานชุบโลหะ	23
ง1 แสดงน้ำหนักเซลล์ *Candida utilis* ที่เหลือ และ เปอร์เซ็นต์ความชื้นที่เวลาต่าง ๆ	31
ง2 แสดงโครเมียม (+6) ที่เหลือในน้ำ เมื่อใช้เซลล์สด	32
ง3 แสดงโครเมียม (+6) ที่เหลือในน้ำ เมื่อใช้เบเกอร์ยีสต์	33
ง4 แสดงโครเมียม (+6) ที่เหลือในน้ำ เมื่อใช้เซลล์แห้ง ความชื้น 30-40 %	34
ง5 แสดงโครเมียม (+6) ที่เหลือในน้ำ เมื่อใช้เซลล์แห้ง ความชื้น 10-20 %	35
ง6 แสดงโครเมียม (+6) ที่เหลือในน้ำเสียโรงงานชุบโลหะ เมื่อใช้เซลล์แห้ง ความชื้น 30-40 %	36
ง7 แสดงค่า COD ของน้ำตัวอย่าง	36

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

รูปที่		หน้า
3.1	แผนผังการวางแผนการทดลอง	9
3.2	อาหารเลี้ยงเชื้อ	14
3.3	การเลี้ยงเชื้อบนเครื่องเขย่า	14
3.4	อาหารเลี้ยงเชื้อที่มียีสต์ หลังจากที่นำไปเหวี่ยงปั่น	15
3.5	เซลล์ที่เก็บเกี่ยวได้	15
3.6	เซลล์สดก่อนจะนำไปอบ	16
3.7	เซลล์แห้ง (dehydrated cells) ที่ได้	16
3.8	การวางเพลทในตู้อบลมร้อน เพื่อทำเซลล์แห้ง	17
3.9	น้ำตัวอย่างที่นำมาทดสอบการดูดซับโครเมียม (+6)	17
3.10	ส่วนใสที่ได้จากการเก็บตัวอย่าง ก่อนจะนำไปวิเคราะห์หาปริมาณโครเมียม (+6)	18
3.11	ผลการวิเคราะห์ปริมาณโครเมียม (+6) ในตัวอย่าง จากซ้ายไปขวา เรียงตามความเข้มข้นของโครเมียม (+6) จากมากไปน้อยตามลำดับ	18
4.1	กราฟแสดงเปอร์เซ็นต์ความชื้นของเซลล์แห้งขณะทำการอบที่เวลาต่าง ๆ	19
4.2	กราฟแสดงการดูดซับโครเมียม (+6) ในสารละลายโครเมียม 10 มก./ล.	21
4.3	กราฟแสดงการดูดซับโครเมียม (+6) ในน้ำเสียชุมชนที่มีโครเมียม 10 มก./ล.	22
4.4	การดูดซับโครเมียม (+6) ของเซลล์แห้ง ความชื้น 30-40 % ในสารละลายโครเมียม และ น้ำเสียโรงงานชุบโลหะ	24
ค1	กราฟมาตรฐานแสดงปริมาณโครเมียม (+6) กับ ค่าการดูดกลืนแสง	30

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

ปัจจุบันปัญหาสิ่งแวดล้อมกำลังเป็นที่สนใจของทุกฝ่าย เนื่องจากการนำ เทคโนโลยีใหม่ๆ มาใช้โดยไม่ได้มีการใส่ใจควบคุมการกำจัดของเสียจากกระบวนการผลิต จึงก่อให้เกิดผลกระทบต่อสิ่งมีชีวิต และระบบนิเวศน์ ผลกระทบจะรุนแรงขึ้นถ้าหากของเสียอุตสาหกรรมนั้นเป็นสารพิษหรือสารที่ย่อยสลายได้ยากในธรรมชาติ (nonbiodegradable)

โลหะหนักทุกชนิดที่มีในน้ำเสียจากโรงงานอุตสาหกรรมล้วนก่อให้เกิดผลกระทบต่อสิ่งมีชีวิตทั้งสิ้น เพราะโลหะหนักไม่สามารถถูกย่อยสลายได้ โลหะหนักบางชนิดร่างกายขับออกได้ยากหรือไม่ได้เลย จึงเกิดการสะสมในร่างกายของสิ่งมีชีวิตแล้วเกิดเป็นพิษ ทำให้เป็นโรค หรือมีอาการผิดปรกติ โครเมียมเป็นโลหะหนักตัวหนึ่งที่ร่างกายไม่สามารถกำจัดออกได้ และนอกจากนี้ยังมีการยืนยันโดย คณะกรรมการวิจัยโรคมะเร็งระหว่างชาติ (International Agency for Research on Cancer, IARC) แล้วว่า สารประกอบโครเมียม เป็นสารก่อมะเร็งแน่นอน โดยทำให้เกิดมะเร็งที่ปอด และโพรงจมูก ซึ่งมาตรฐานคุณภาพน้ำทิ้งของกระทรวงอุตสาหกรรมของไทย ได้กำหนดให้มีโครเมียมในน้ำทิ้งได้ไม่เกิน 0.5 มก./ล.

น้ำเสียอุตสาหกรรมที่มีโครเมียมปนเปื้อน ได้แก่ น้ำเสียจากอุตสาหกรรมฟอกหนัง , อุตสาหกรรมชุบโลหะ , อุตสาหกรรมผลิตเหล็กกล้า สำหรับวิธีการกำจัดโครเมียมในน้ำเสียอุตสาหกรรมเหล่านี้ นิยมใช้วิธีทางเคมี โดยการเติมสารเคมีลงไปเพื่อรีดิวซ์โครเมียม (+6) ให้เป็นโครเมียม (+3) ซึ่งเป็นพิษน้อยกว่า แล้วตกตะกอนลงมาในรูปโครเมียมไฮดรอกไซด์ ($Cr(OH)_3$) โดยการปรับพีเอชให้เป็นด่าง วิธีนี้จะมีปัญหาตามมา คือต้องมีการปรับพีเอชหลายครั้ง เนื่องจากปฏิกิริยาการรีดิวซ์โครเมียมเกิดในสภาวะที่เป็นกรด (พีเอช 2-2.5) และการตกตะกอนโครเมียมเกิดในสภาวะที่เป็นด่าง (พีเอช 10) จากนั้นต้องปรับพีเอชกลับมาให้เป็นกลางเพื่อให้สามารถปล่อยน้ำทิ้งออกสู่แหล่งน้ำสาธารณะได้ ตามมาตรฐานน้ำทิ้งที่กำหนด ผลจากการปรับพีเอชหลายครั้งนอกจากจะเป็นการสิ้นเปลืองสารเคมีแล้ว การที่มีสารเคมีตกค้างอยู่ในน้ำเสียมาก ๆ อาจส่งผลกระทบถึงสิ่งมีชีวิตที่อยู่ในแหล่งน้ำธรรมชาติได้ ดังนั้นหากสามารถหาวิธีอื่นมากำจัดโครเมียมโดยไม่ใช้สารเคมีได้ ก็จะเป็นการปลอดภัยต่อสิ่งแวดล้อม

จากรายงานการวิจัยการนำยีสต์มาดูดซับโครเมียม (+6) ในน้ำ (Rapoport และ Muter , 1995) พบว่ายีสต์มีความสามารถในการลดโครเมียม (+6) ในสารละลายได้ดี โดยเฉพาะยีสต์สายพันธุ์ *Candida utilis* โดยใช้ในรูปเซลล์แห้ง (dehydrated cells) ดังนั้นโครงงานพิเศษนี้จึงมีวัตถุประสงค์ในการนำ *Candida utilis* มาทดสอบการดูดซับโครเมียม (+6) ในน้ำเสียที่มีโครเมียม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(+6) ปนเปื้อนอยู่ เพื่อดูความเป็นไปได้ในการนำยีสต์มากำจัดโครเมียม (+6) ในน้ำเสียแทนวิธีการใช้สารเคมี

วัตถุประสงค์

1. ศึกษาความเป็นไปได้ในการนำยีสต์สายพันธุ์ *Candida utilis* มาใช้กำจัดโครเมียม (+6) ในน้ำทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรม
2. ตรวจหาระดับความชื้นของยีสต์ *Candida utilis* ที่เหมาะสม ในการนำมาใช้กำจัดโครเมียม (+6) ในน้ำเสียอุตสาหกรรม

ขอบเขตของโครงงานพิเศษ

1. ทำการศึกษาหาเวลาที่เหมาะสมในการทำแห้ง (dehydration) เซลล์ยีสต์ *Candida utilis* ให้มีความชื้นที่ระดับต่าง ๆ ที่ต้องการ โดยใช้การอบแห้งในตู้อบลมร้อน
2. ทดลองเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการกำจัดโครเมียม (+6) ในน้ำ ของยีสต์สด และ ยีสต์แห้งที่มีระดับความชื้นต่าง ๆ กัน
3. ทดลองใช้ยีสต์แห้งในการกำจัดโครเมียม (+6) ในน้ำเสีย

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. แนวทางและความเป็นไปได้ในการนำยีสต์ มาใช้ในการกำจัดโครเมียม (+6) ในน้ำเสียจากโรงงานอุตสาหกรรม เพื่อแทนที่วิธีการกำจัดโครเมียมด้วยสารเคมี
2. แนวทางในการศึกษาการนำจุลินทรีย์มาใช้ประโยชน์ด้านการลดมลภาวะให้กับสิ่งแวดล้อม ซึ่งน่าจะมีประโยชน์และเป็นพื้นฐานต่อการวิจัยในอนาคต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2

การตรวจเอกสาร

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

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

- โครเมียม (-2 ถึง 0) พบมากในคาร์บอนิล และสารประกอบโลหะอินทรีย์

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

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

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

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

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

เมื่อ ไดโครเมตละลายน้ำ จะได้โครเมต ดังสมการ

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

โครเมียม (+6) เป็นตัวออกซิไดส์ที่แรงมาก ภายใต้สภาวะกรด (พีเอช 0)

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

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในปี 1970 GCA Corporation ได้ทำการคำนวณปริมาณการปล่อยโครเมียมจากแหล่งกำเนิดต่าง ๆ ดังแสดงในตารางที่ 2.1 สำหรับปริมาณความเข้มข้นของโครเมียม (+6) ในน้ำเสียจากโรงงานอุตสาหกรรมต่าง ๆ ได้แสดงไว้ในตารางที่ 2.2 (Sittig , 1976)

ตารางที่ 2.1 แสดงปริมาณการปล่อยโครเมียมจากแหล่งกำเนิดต่าง ๆ

แหล่งกำเนิด	ปริมาณโครเมียม (ตัน)	ปริมาณโครเมียม (%)
Asbestos mining	8	0.07
Kraft pulp mill recovery furnace	Neg	Neg
Sulfite pulp mill	Neg	Neg
Primary chromium production	4,200	34.98
Asbestos products	Neg	Neg
Refractory brick production	7	0.06
Installation of asbestos material	Neg	Neg
Spray-on fire proofing	Neg	Neg
Use of insulating cement	Neg	Neg
Power plant boilers		
Pulverized coal	5,571	46.40
Stoker coal	640	5.33
Cyclone coal	192	1.60
All oil	22	0.18
Industrial boilers		
Pulverized coal	247	2.06
Stoker coal	864	7.20
Cyclone coal	123	1.02
All oil	17	0.14
Residential/commercial boilers		
Coal	77	0.64
Oil	38	0.32
Total	12,006	

หมายเหตุ Neg = ไม่มีข้อมูล

เอกสารนี้สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.2 แสดงปริมาณความเข้มข้นของโครเมียม (+6) ในน้ำเสียของโรงงานอุตสาหกรรมต่าง ๆ

แหล่งกำเนิด	ความเข้มข้นของโครเมียม (+6) (มก./ล.)	
	ความเข้นข้นเฉลี่ย	ช่วงของความเข้มข้น
Leather tanning	40	
Wood preserving		0.23-1.5
Cooling tower blowdown	31.4	
Cooling tower blowdown		8-10.7
Cooling tower blowdown		10-60
Bright dip rinse		1-6
Bright dip bath		10,000-50,000
Bright dip bath		20,000-75,000
Bright dip bath		200-600
Anodizing bath	173	
Anodizing bath		15,000-52,000
Anodizing rinse	49	
Anodizing rinse		30-100
Plating	1,300	
Plating	600	
Plating		100,000-270,000
Plating		60-80
Electroplating	140	
Electroplating	41	15-70

<u>ความเป็นพิษ ของโครเมียม</u>

ได้มีการสังเกตพบว่า พนักงานในโรงงานอุตสาหกรรมที่ได้รับสารประกอบโครเมียมจากทางอากาศ และละอองของกรดโครมิก จะเกิดอาการระคายเคืองผิวหนัง และระบบทางเดินหายใจ สารพวกนี้จะกัดเยื่อโพรงจมูก ทำให้ระบบทางเดินหายใจเกิดเป็นแผลพุพอง และนำไปสู่การเป็นมะเร็งในที่สุด (Sittig , 1976)

สารประกอบโครเมียม (+6) มีความเป็นพิษต่อเชื้อราและแบคทีเรียมากกว่าสารประกอบโครเมียม (+3) ซึ่งมีความสามารถในการละลายต่ำกว่า และจากคุณสมบัติของโครเมียม (+6) ซึ่ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่อนุญาตให้ทำซ้ำ ดัดแปลง หรือเผยแพร่ต่อ ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น โดยไม่ได้รับอนุญาตเป็นลายลักษณ์อักษรจากจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เป็นสารออกซิไดส์ที่แรง จึงทำให้เกิดความเป็นพิษต่อสิ่งมีชีวิตส่วนใหญ่ จากการศึกษาทางด้านการแพทย์ โครเมียม (+6) หรือ โครเมต สามารถทำให้เกิด Tissue necrosis ได้ หากได้รับสารดังกล่าวเป็นเวลานาน (Brinton , 1952 และ Royle , 1975) นอกจากนี้ยังสามารถทำให้เกิดมะเร็งในปอดด้วย (Bidstrup และ Case , 1956)

จะเห็นได้ว่าโครเมียม (+6) เป็นอันตรายต่อสิ่งมีชีวิตต่าง ๆ ในระบบนิเวศน์ ดังนั้นน้ำทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรมที่มีโครเมียม (+6) ปะปนมา ควรจะได้รับการบำบัดก่อนระบายลงสู่แหล่งน้ำต่าง ๆ เพื่อลดผลกระทบที่จะมีต่อระบบนิเวศน์ตามธรรมชาติ

<u>การกำจัดโครเมียมออกจากน้ำโดยวิธีทางเคมี และ ทางฟิสิกส์</u>

มีหลายเทคนิคที่นำมาประยุกต์เพื่อใช้กำจัดโครเมียมออกจากน้ำ ดังนี้

1. การรีดักชัน

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

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

2. การแลกเปลี่ยนประจุ

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

3. การระเหย

นำน้ำที่มีโครเมียมปนเปื้อนมาผ่านกระบวนการระเหยเอาน้ำออก จากนั้นก็นำไอน้ำไปผ่านการหล่อเย็นเพื่อนำไปใช้ได้อีก วิธีนี้นิยมใช้กับการบำบัดน้ำหล่อเย็น

4. การตกตะกอนด้วยสารเคมี

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5. การสกัดด้วยตัวทำละลาย

นำสารกัดแม่พิมพ์ที่ใช้แล้ว (มีกรดโครมิกเป็นองค์ประกอบ) มาทำการสกัดด้วยตัวทำละลายเพื่อแยกเอากรดโครมิกออกจากสารอื่น และนำกลับไปใช้ได้อีก ตัวทำละลายที่ใช้ ได้แก่ อะซีโตน

6. รีเวิร์สออสโมซิส

นำน้ำเสียที่มีโครเมียม (+6) มาผ่านกระบวนการทำให้เข้มข้นขึ้นก่อน แล้วไปผ่านกระบวนการรีเวิร์สออสโมซิส ทำให้ได้น้ำอ่อนที่มีอิออนของไดโครเมต ซึ่งสามารถนำไปหมุนเวียนใช้ใหม่ได้

<u>การกำจัดโครเมียมด้วยวิธีทางชีววิทยา</u>

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

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

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

จากการวิจัยต่าง ๆ ที่ผ่านมาสนับสนุนว่าจุลินทรีย์ที่ทนต่อความเป็นพิษของโครเมียม (+6) ได้นั้น มีความสามารถในการรีดิวซ์โครเมียม (+6) เป็น โครเมียม (+3) ภายใต้สภาวะไร้ออกซิเจน ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากการใช้โครเมตเป็นตัวรับอิเลคตรอน เช่น จุลินทรีย์พวก *Enterobacter sp.* และ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Pseudomonas sp. เป็นต้น โดยเกิดกระบวนการรีดักชันที่ผิวเซลล์ทำให้เกิดโครเมียมไฮดรอกไซด์ ซึ่งไม่ละลายน้ำอยู่ในสารละลายภายนอกเซลล์ ทำให้สามารถป้องกันเซลล์จากความเป็นพิษของโครเมียม (+6) ได้ (Fujii และคณะ , 1990 ; Wang และคณะ , 1990 และ Ishibashi และคณะ , 1990) จุลินทรีย์พวกยูคาริโอตชั้นต่ำบางชนิดมีกลไกในการลดความเป็นพิษ และต้านทานความเป็นพิษของโครเมียมได้ โดย (1) เยื่อหุ้มเซลล์จะทำหน้าที่ขัดขวางการแพร่ผ่านของโครเมียม (+6) (2) เกิดกระบวนการรีดักชันเปลี่ยนโครเมียม (+6) เป็น โครเมียม (+3) (Horitsu และคณะ , 1987)

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

สำหรับกลไกในการดูดซับโลหะหนักในยีสต์และรา ยังไม่มีคำอธิบายได้ชัดเจน ทั้งนี้เป็นเพราะว่าองค์ประกอบของผนังเซลล์ของยีสต์และรา มีความซับซ้อน และยังมีความแตกต่างกันไปตามชนิดมากกว่าที่พบในแบคทีเรียอีกด้วย (Volesky , 1990)

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

Rapoport และ Muter (1995) ได้ศึกษาการใช้ยีสต์สายพันธุ์ต่าง ๆ มาใช้ในการดูดซับโครเมียม (+6) ในน้ำ พบว่า *Candida utilis* มีความสามารถในการดูดซับโครเมียม (+6) ได้สูงสุด และจากการเปรียบเทียบระหว่างการใช้ในรูปของเซลล์สด กับ เซลล์แห้ง (dehydrated cell) พบว่าเซลล์แห้ง สามารถดูดซับโครเมียม (+6) ได้มากกว่าเซลล์สด ทั้งนี้อาจเนื่องโครงสร้างของผนังเซลล์ที่เปลี่ยนแปลงไปเมื่อนำเซลล์ไปผ่านกระบวนการดึงน้ำออกจากเซลล์ (dehydration)

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

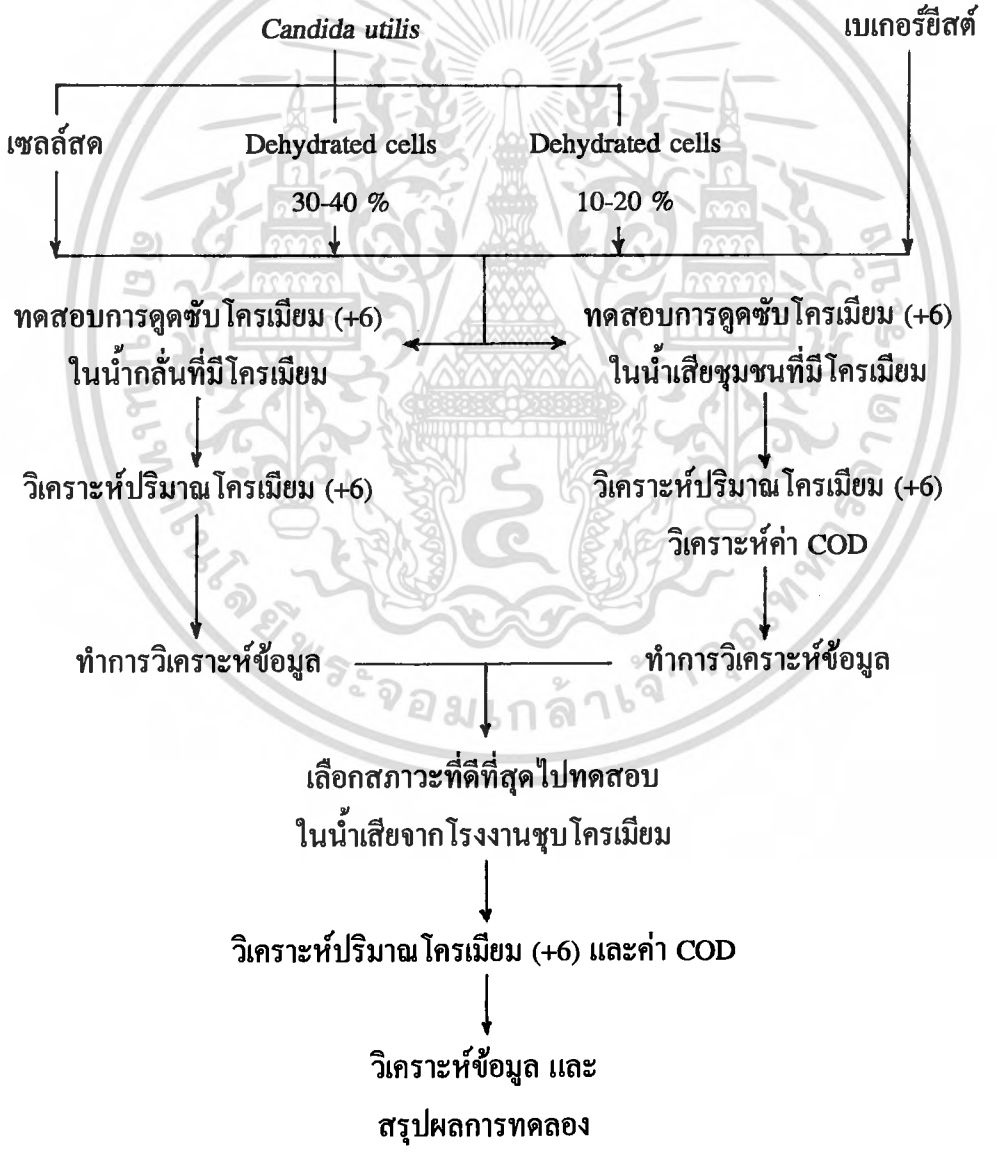
อย่างไรก็ดีที่กล่าวมาแล้วนั้นเป็นเพียงข้อสันนิษฐานซึ่งยังไม่มีหลักฐานยืนยันแน่ชัด ทำให้กลไกการดูดซับโลหะหนักในยีสต์ยังเป็นความลับต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3
อุปกรณ์ และวิธีการทดลอง

3.1 การวางแผนการทดลอง

ได้เลือกใช้ *Candida utilis* ที่มีเปอร์เซ็นต์ความชื้นต่าง ๆ กัน และ เบเกอร์ยีสต์ เพื่อทดสอบการดูดซับโครเมียม (+6) ในน้ำกลั่น และ น้ำเสียชุมชนที่มีโครเมียม (+6) ปนเปื้อนอยู่ จากนั้นจึงเลือกสภาวะที่ดีที่สุดไปทดสอบการดูดซับโครเมียม (+6) ในน้ำเสียจากโรงงานชุบโครเมียม โดยแสดงแผนผังการวางแผนการทดลองคร่าว ๆ ไว้ในรูปที่ 3.1



รูปที่ 3.1 แผนผังการวางแผนการทดลอง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2 เชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้

- เชื้อยีสต์ *Candida utilis* NRRL Y-900 จากสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์ และ เทคโนโลยีแห่งประเทศไทย ใช้ในสภาพเซลล์สด และ เซลล์แห้ง (dehydrated cell)

- เบเกอร์ยีสต์ (*Saccharomyces cerevisiae*) ผลิตโดยบริษัท วี กีสต์ แอนด์ สปิริทัส ฟาบิ-เคน บรักกีมาน เอส เอ ประเทศเบลเยียม (มีความชื้น 5%)

3.3 อุปกรณ์การทดลอง

- เครื่องแก้ว
- เครื่องเขย่า (Shaker)
- เครื่องเหวี่ยงปั่น (Centrifuge)
- เครื่องวัดพีเอช
- เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (Spectrophotometer)
- ตู้อบลมร้อน (Hot air oven)

3.4 การเตรียมเชื้อ *Candida utilis*

3.4.1 ถ่ายเชื้อ *Candida utilis* จากหลอดอาหารเอียง ลงในฟลาสก์ขนาด 250 มล. ที่บรรจุอาหาร Yeast malt extract broth จำนวน 100 มล. เลี้ยงที่อุณหภูมิห้องบนเครื่องเขย่า 200 รอบ/นาที เป็นเวลา 2 วัน

3.4.2 ปิเปตต์เชื้อเริ่มต้นที่ได้จากข้อ 3.4.1 มา 20 มล. ใส่ลงในฟลาสก์ขนาด 500 มล. ที่บรรจุ Working medium (ดูสูตรในภาคผนวก ก) จำนวน 200 มล. เลี้ยงที่อุณหภูมิห้องบนเครื่องเขย่า 200 รอบ/นาที เป็นเวลา 2 วัน

3.4.3 เก็บเกี่ยวเซลล์ *Candida utilis* ที่ได้ โดยนำสารแขวนลอยของเซลล์จากข้อ 3.4.2 มาเหวี่ยงปั่นที่ 5,000 รอบ/นาที เป็นเวลา 7 นาที เทส่วนใสทิ้งไป ตักเซลล์ส่วนที่ตกตะกอนรวบรวมใส่ไว้ในเพลทที่รองก้นด้านในไว้ด้วยกระดาษกรอง ตั้งทิ้งไว้ประมาณครึ่งชั่วโมงเพื่อกำจัดน้ำส่วนเกินออกก่อนจะนำเซลล์ที่ได้ (เซลล์สด) ไปใช้ต่อไป

3.5 การเตรียมเซลล์แห้งของ *Candida utilis*

3.5.1 การหาเปอร์เซ็นต์ความชื้นของเซลล์ที่เวลาต่าง ๆ

(1) นำเพลท และฝา มาอบที่อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง แล้วเก็บในเดซิเคเตอร์จนเย็น นำไปชั่งน้ำหนัก

(2) นำเซลล์สดมาเกลี่ยบาง ๆ บนเพลทที่เตรียมไว้ให้หนาประมาณ 2-3 มม. นำไปชั่งน้ำหนัก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(3) นำเซลล์สดที่เกลี่ยไว้แล้วบนเพลทมาอบในตู้อบลมร้อนอุณหภูมิ 30-35 องศาเซลเซียส นำออกมาชั่งน้ำหนักที่เวลาต่าง ๆ (ขณะนำออกจากตู้ต้องปิดฝาเพลทไว้ตลอดเวลา)

(4) ถ้าต้องการหาน้ำหนักแห้งของเซลล์ให้นำไปอบที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 วัน แล้วนำไปวางไว้ในเดซิเคเตอร์จนเย็น ก่อนที่จะนำมาชั่งน้ำหนัก

(5) คำนวณเปอร์เซ็นต์ความชื้นของเซลล์จุลินทรีย์ จากสูตรการหาความชื้น แบบ Wet basis ดังนี้

$$\text{เปอร์เซ็นต์ความชื้น} = \frac{(\text{น้ำหนักเซลล์ที่เวลาใด ๆ} - \text{น้ำหนักแห้งของเซลล์}) * 100\%}{\text{น้ำหนักเซลล์ที่เวลาใด ๆ}}$$

3.5.2 การเตรียมเซลล์แห้ง ความชื้น 30-40 % และ 10-20 %

นำเซลล์สดมาเกลี่ยบาง ๆ บนเพลท ให้ได้ประมาณเพลทละ 5 กรัม หนาประมาณ 2-3 มม. แล้วอบในตู้อบลมร้อน ที่อุณหภูมิ 30-35 องศาเซลเซียส ใช้เวลาประมาณ 4-5 ชั่วโมง ก็จะได้เซลล์แห้ง ความชื้น 30-40 % และประมาณ 8-9 ชั่วโมง สำหรับเซลล์แห้ง ความชื้น 10-20% หมายเหตุ หลังจากเริ่มอบ ให้สังเกตดูว่าเมื่อเซลล์เริ่มแห้งพอจะขูดได้ ให้ทำการขูดเซลล์ที่เกลี่ยไว้ให้ร่อนออกมาและหั่นเป็นชิ้นเล็ก ๆ แล้วอบต่อ จะช่วยให้น้ำระเหยได้ดีขึ้น และนำเซลล์ไปใช้ได้สะดวกขึ้น (ในการทดลองนี้ ขูดเซลล์หลังจากอบไปได้ประมาณ 2.5-3 ชั่วโมง) และควรจะมีเพลทที่คอยชั่งน้ำหนักไว้ ทุก ๆ ชั่วโมง เพื่อเป็นดัชนีบอกเปอร์เซ็นต์ความชื้น

3.6 การทดสอบการดูดซับโครเมียม

3.6.1 การทดสอบในสารละลายโครเมียม และน้ำเสียชุมชน

น้ำตัวอย่างที่นำมาใช้มี 2 ชนิด คือ (1) สารละลายโครเมียม (+6) ในน้ำ deionized ความเข้มข้น 10 มก./ล. และ (2) น้ำเสียชุมชน (จากบ่อน้ำของคณะวิทยาศาสตร์) ที่ผ่านการกรองด้วยกระดาษกรองวอทช์แมนเบอร์ 4 และ 42 แล้วทำให้น้ำเสียดังกล่าวมีความเข้มข้นของโครเมียม (+6) 10 มก./ล. สำหรับน้ำเสียชุมชน ต้องนำไปวิเคราะห์หาค่า COD ด้วย

(1) นำเซลล์สดของ *Candida utilis* , เซลล์แห้ง ความชื้น 30-40 % และ 10-20 % และ เบเกอร์ยีสต์ มาใส่ในน้ำตัวอย่างที่เตรียมไว้ ฟลาสก์ละ 1 กรัมน้ำหนักแห้ง แล้วนำไปวางบนเครื่องเขย่า 200 รอบ/นาที ที่อุณหภูมิห้อง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

น้ำหนักโดยประมาณ (เทียบเท่ากับ 1 กรัมน้ำหนักแห้ง)

- เซลล์สด	4.5	กรัม
- เซลล์แห้งความชื้น 30-40 %	1.6	กรัม
- เซลล์แห้งความชื้น 10-20 %	1.2	กรัม
- เบเกอร์ยีสต์	1.05	กรัม

(2) ทำการเก็บตัวอย่างประมาณ 7 มล. ที่เวลาต่าง ๆ โดยที่เวลา 0 จะเก็บน้ำตัวอย่างที่ยังไม่ได้ใส่เซลล์ลงไป นำตัวอย่างไปเหวี่ยงปั่นที่ความเร็ว 5,000 รอบ/นาที เป็นเวลา 7 นาที แล้วนำส่วนใสไปทำการวิเคราะห์หาปริมาณโครเมียม (+6) ต่อไป

หมายเหตุ ส่วนใสที่ได้ควรทำการวิเคราะห์ทันที หรือเก็บไว้ในตู้เย็น

3.6.2 การทดสอบในน้ำเสียจากโรงงานชุบโครเมียม

น้ำตัวอย่างเป็นน้ำเสียที่นำมาจากโรงงาน ด. บุนนาคชุบโครเมียม ลักษณะของน้ำมีสีเขียวอ่อน ค่อนข้างใส นำมาหาปริมาณโครเมียม (+6) เริ่มต้นที่มีในน้ำ และค่า COD ก่อนจะนำไปทดสอบกับชนิดของเซลล์ที่ให้ประสิทธิภาพการดูดซับโครเมียม (+6) ที่ดีที่สุด เช่นเดียวกับขั้นตอนในข้อ 3.6.1

3.7 การวิเคราะห์หาปริมาณโครเมียม (+6)

3.7.1 การวิเคราะห์หาค่า COD ใช้วิธี Dichromate Reflux Method (กรรณิการ์ , 2522)

3.7.2 การวิเคราะห์หาปริมาณโครเมียม (+6) (สารเคมีและวิธีการเตรียม ดูในภาคผนวก)

(1) การทำกราฟมาตรฐานระหว่างปริมาณของโครเมียม (+6) กับค่าการดูดกลืนแสง

(1.1) ปิเปตสารละลายโครเมียมมาตรฐาน (ความเข้มข้นของโครเมียม (+6) = 5 มก./ล.) ในปริมาตร 2, 4, 6,...,20 มล. ลงในฟลาสก์ขนาด 250 มล.

(1.2) ปรับพีเอชเป็น 1 ± 0.3 ด้วยสารละลายกรดซัลฟิวริก 0.2 นอร์มอล แล้วปรับปริมาตรเป็น 100 มล. โดยใช้น้ำ deionized ทำให้สารละลายมีความเข้มข้นของโครเมียม (+6) เป็น 0.1, 0.2, 0.3,...,1.0 มก./ล. ตามลำดับ

(1.3) เติมสารละลาย Diphenylcarbazide 2 มล.

(1.4) ตั้งทิ้งไว้ 5-10 นาที แล้ววัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(1.5) นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้มาเขียนเป็นกราฟมาตรฐาน

หมายเหตุ ใช้น้ำกลั่นเป็นแบลงค์ แต่ถ้ากรณีที่สารละลายขุ่นหลังจากปรับปริมาตรเป็น 100 มล. แล้วให้นำมาเป็นแบลงค์ก่อนเติมสารละลาย Diphenylcarbazide

(2) การวิเคราะห์ปริมาณโครเมียม (+6)

(2.1) ปิเปตตัวอย่างมาประมาณ 7 มล. นำไปเหวี่ยงปั่นที่ 5,000 รอบ/นาที เป็นเวลา 7 นาที

(2.2) ปิเปตส่วนใสมา 5 มล. ใส่ในฟลาสก์ขนาด 250 มล. แล้วปรับพีเอช เป็น 1 ± 0.3 ก่อนจะปรับปริมาตรเป็น 100 มล.

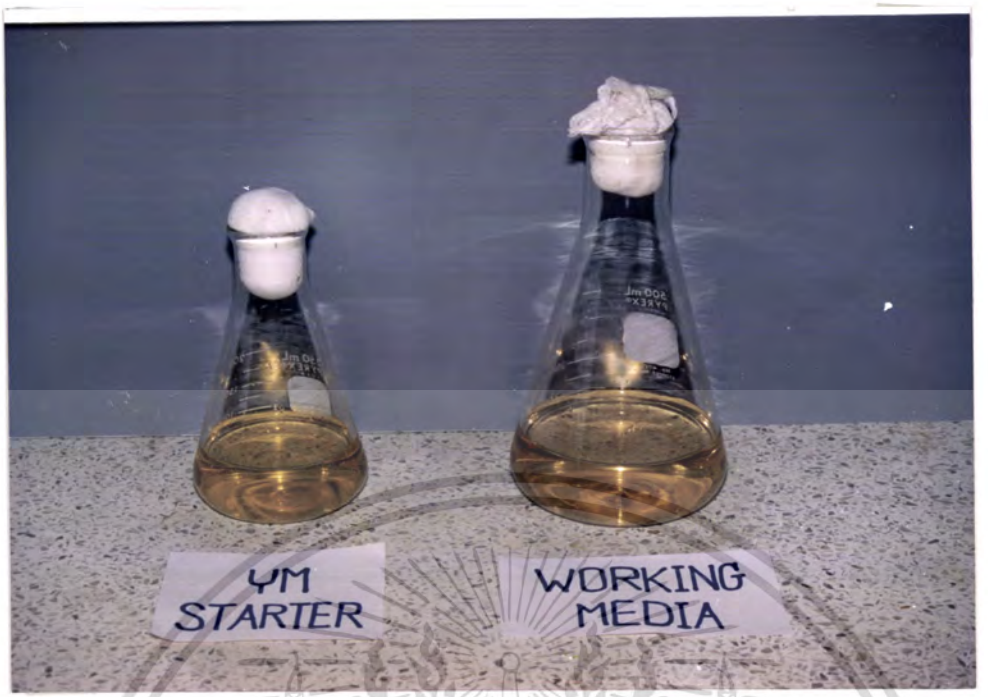
(2.3) เติมสารละลาย Diphenylcarbazide 2 มล.

(2.4) ตั้งทิ้งไว้ 5-10 นาที แล้ววัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร

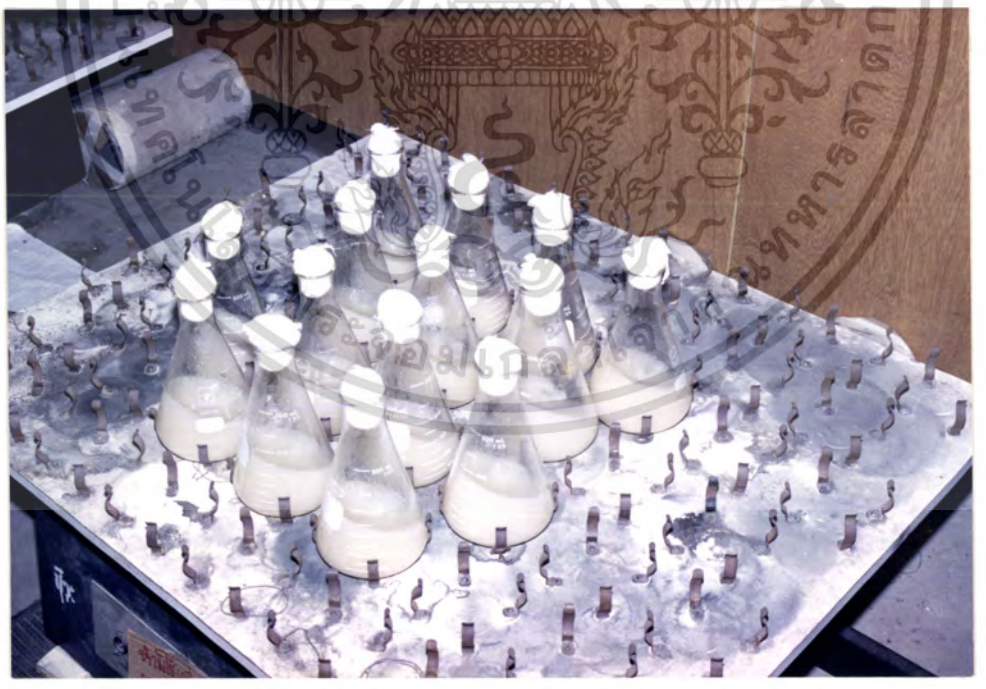
(2.5) นำค่าที่ได้ไปเทียบหาปริมาณโครเมียม (+6) โดยใช้กราฟมาตรฐาน แล้วนำค่าโครเมียมที่ได้ คูณด้วยค่าการเจือจาง (20 เท่า) ก็จะได้เป็นปริมาณโครเมียมที่แท้จริง

หมายเหตุ ใช้น้ำกลั่นเป็นแบลงค์ แต่ถ้ากรณีที่สารละลายขุ่น หลังจากปรับปริมาตรเป็น 100 มล. ให้นำมาเป็นแบลงค์ก่อนจะเติมสารละลาย Diphenylcarbazide

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

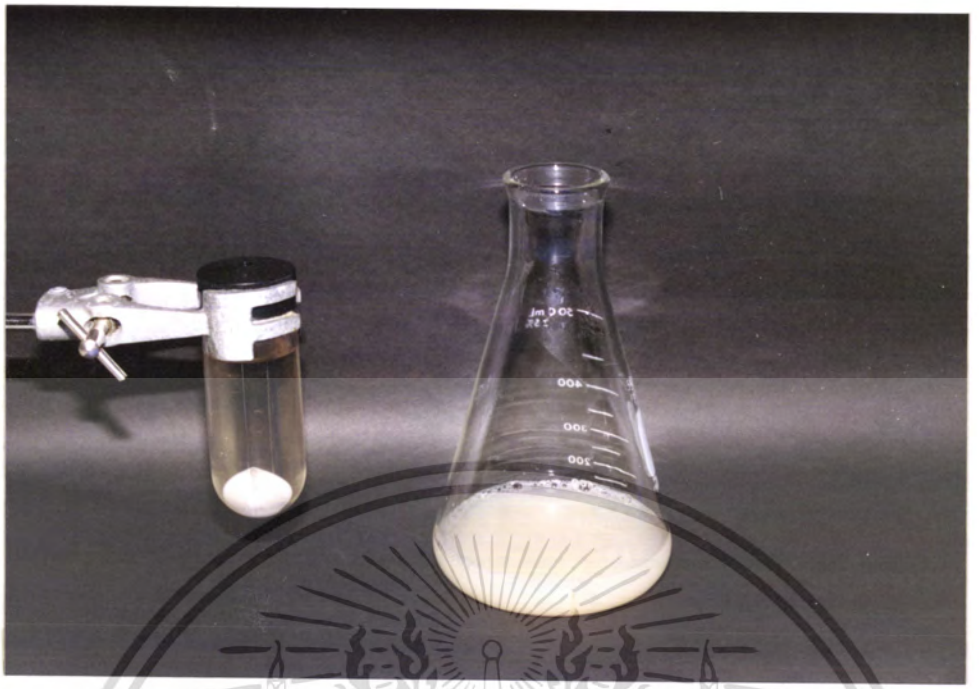


รูปที่ 3.2 อาหารเลี้ยงเชื้อ



รูปที่ 3.3 การเลี้ยงเชื้อบนเครื่องเขย่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 3.4 อาหารเลี้ยงเชื้อที่มียีสต์ หลังจากที่นำไปเหวี่ยงปั่น

รูปที่ 3.5 เซลล์ที่เก็บเกี่ยวได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 3.6 เซลล์สดก่อนจะนำไปอบ

รูปที่ 3.7 เซลล์แห้ง (dehydrated cells) ที่ได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

รูปที่ 3.8 การวางเพลทในตู้อบลมร้อน เพื่อทำเซลล์แห้ง

รูปที่ 3.9 น้ำตัวอย่างที่นำมาทดสอบการดูดซับโครเมียม (+6)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

25403

รูปที่ 3.10 ส่วนใสที่ได้จากการเก็บตัวอย่าง ก่อนจะนำไปวิเคราะห์หาปริมาณโครเมียม (+6)

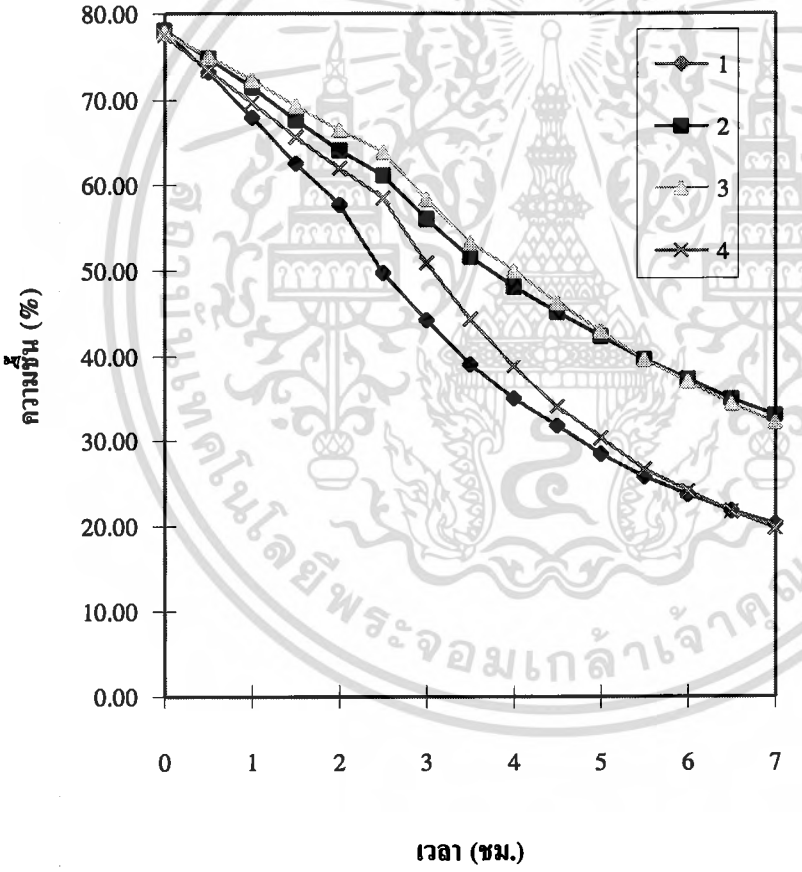
รูปที่ 3.11 ผลการวิเคราะห์ปริมาณโครเมียม (+6) ในตัวอย่าง จากซ้ายไปขวา เรียงตามความเข้มข้นของโครเมียม (+6) จากมากไปน้อยตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4
ผลการทดลอง และวิจารณ์

4.1 <u>การหาเวลาที่เหมาะสมสำหรับทำเซลล์แห้ง (dehydrated cells) ที่มีเปอร์เซ็นต์ความชื้นตามต้องการ</u>

การทำเซลล์แห้งของ *Candida utilis* ในการทดลองนี้ใช้วิธีอบแห้งในตู้อบลมร้อน (hot air oven) ที่อุณหภูมิ 30-35 องศาเซลเซียส โดยได้ทำการทดลองเพื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างน้ำหนักเริ่มต้นของเซลล์ *Candida utilis* ที่จะนำมาอบ กับเวลาที่ใช้อบ เพื่อให้ได้เวลาที่เหมาะสมสำหรับทำเซลล์แห้งที่มีเปอร์เซ็นต์ความชื้นตามต้องการ



รูปที่ 4.1 กราฟแสดงเปอร์เซ็นต์ความชื้นของเซลล์แห้งขณะทำการอบที่เวลาต่าง ๆ

<u>หมายเหตุ</u> 1 = น้ำหนักเซลล์เริ่มต้น 4.9431 กรัม
2 = น้ำหนักเซลล์เริ่มต้น 6.5836 กรัม
3 = น้ำหนักเซลล์เริ่มต้น 6.2097 กรัม
4 = น้ำหนักเซลล์เริ่มต้น 3.2543 กรัม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากรูปที่ 4.1 จะเห็นได้ว่าเวลาที่เหมาะสมสำหรับทำเซลล์แห้ง ความชื้น 30-40 % คือ 3-4 ชั่วโมง และสำหรับเซลล์ ความชื้น 10-20 % คือ 8 ชั่วโมงขึ้นไป โดยใช้น้ำหนักเซลล์ *Candida utilis* เริ่มต้นประมาณ 5 กรัม

4.2 <u>การทดสอบการดูดซับโครเมียม (+6) ของยีสต์ ในน้ำตัวอย่าง</u>

ในการทดลองนี้ต้องการจะเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการดูดซับโครเมียม (+6) ของยีสต์ในน้ำตัวอย่าง โดยใช้เซลล์สด เซลล์แห้ง ของ *Candida utilis* และ เบเกอร์ยีสต์ ซึ่งทั้งเซลล์แห้ง และ เบเกอร์ยีสต์ จัดเป็นเซลล์ที่ผ่านการปรับสภาพโดยการทำให้แห้งมาแล้ว

จากการทดลองในน้ำสารละลายโครเมียม และน้ำเสียชุมชนที่มีค่า COD 105.43 มก./ล. ซึ่งมีโครเมียม (+6) 10 มก./ล. แล้วเปรียบเทียบปริมาณโครเมียม (+6) โดยเฉลี่ย ที่ลดลงในช่วงเวลา 30 นาทีแรก และ 5 ชั่วโมงแรก ได้ผลดังในตารางที่ 4.1

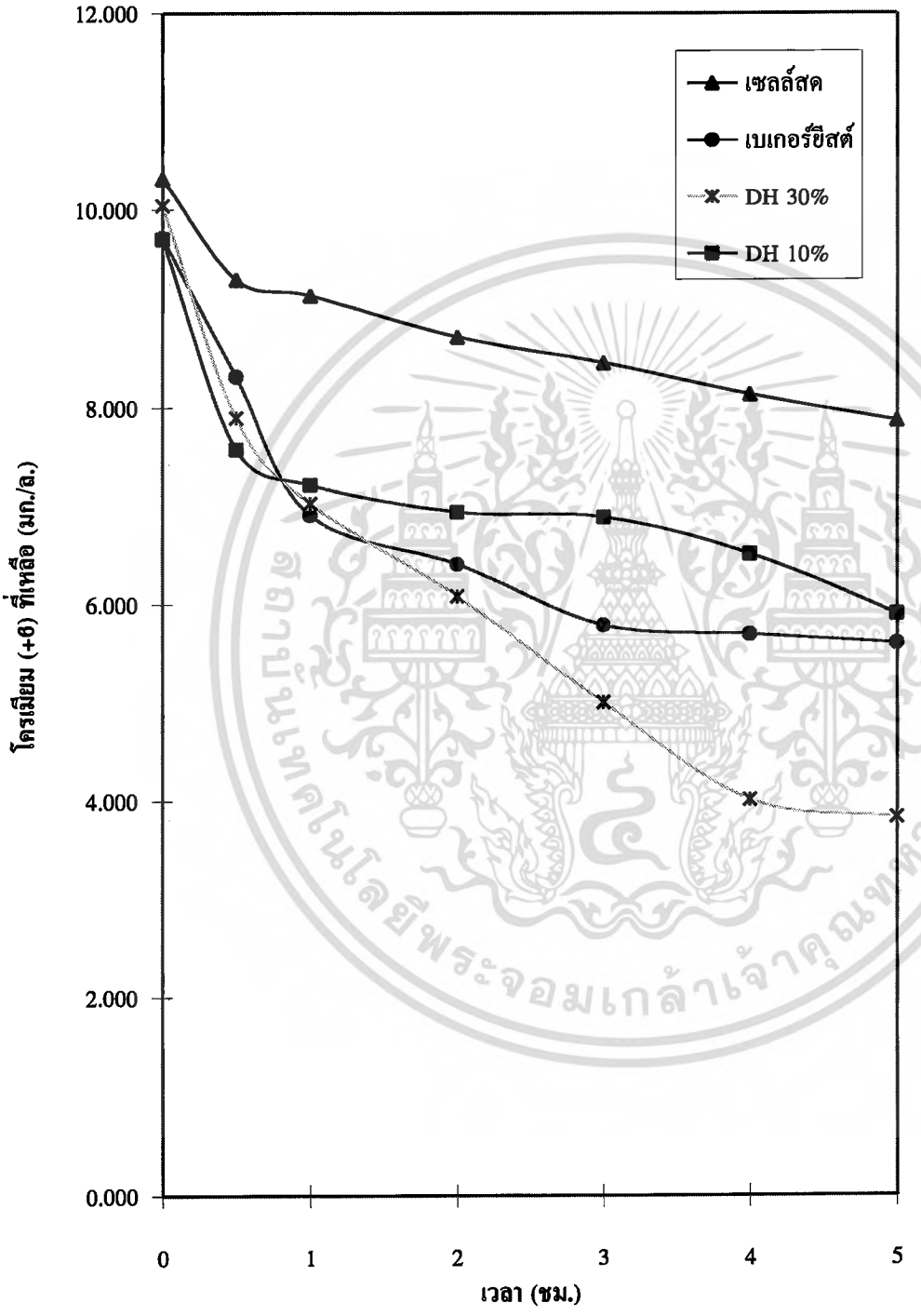
ตารางที่ 4.1 แสดงปริมาณโครเมียม (+6) ที่ถูกยีสต์ดูดซับไปใน สารละลายโครเมียม และในน้ำเสียชุมชน

	ปริมาณโครเมียม (+6) ที่ถูกดูดซับไป (มก./ล.) ในสารละลายโครเมียม			
เวลา	เซลล์สด	เบเกอร์ยีสต์	DH 30-40 %	DH 10-20 %
30 นาทีแรก	1.02	1.40	2.14	2.12
1 ชั่วโมง	1.18	2.81	3.01	2.48
2 ชั่วโมง	1.60	3.31	3.96	2.76
3 ชั่วโมง	1.87	3.92	5.03	2.81
4 ชั่วโมง	2.18	4.01	6.02	3.19
5 ชั่วโมง	2.44	4.10	6.20	3.79
	ปริมาณโครเมียม (+6) ที่ถูกดูดซับไป (มก./ล.) ในน้ำเสียชุมชน			
เวลา	เซลล์สด	เบเกอร์ยีสต์	DH 30-40 %	DH 10-20 %
30 นาทีแรก	0.39	2.17	2.48	2.19
1 ชั่วโมง	0.41	2.34	3.74	2.99
2 ชั่วโมง	0.86	2.60	5.42	3.14
3 ชั่วโมง	1.18	2.57	6.60	3.81
4 ชั่วโมง	0.65	2.29	7.33	4.01
5 ชั่วโมง	0.82	2.97	7.37	4.53

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

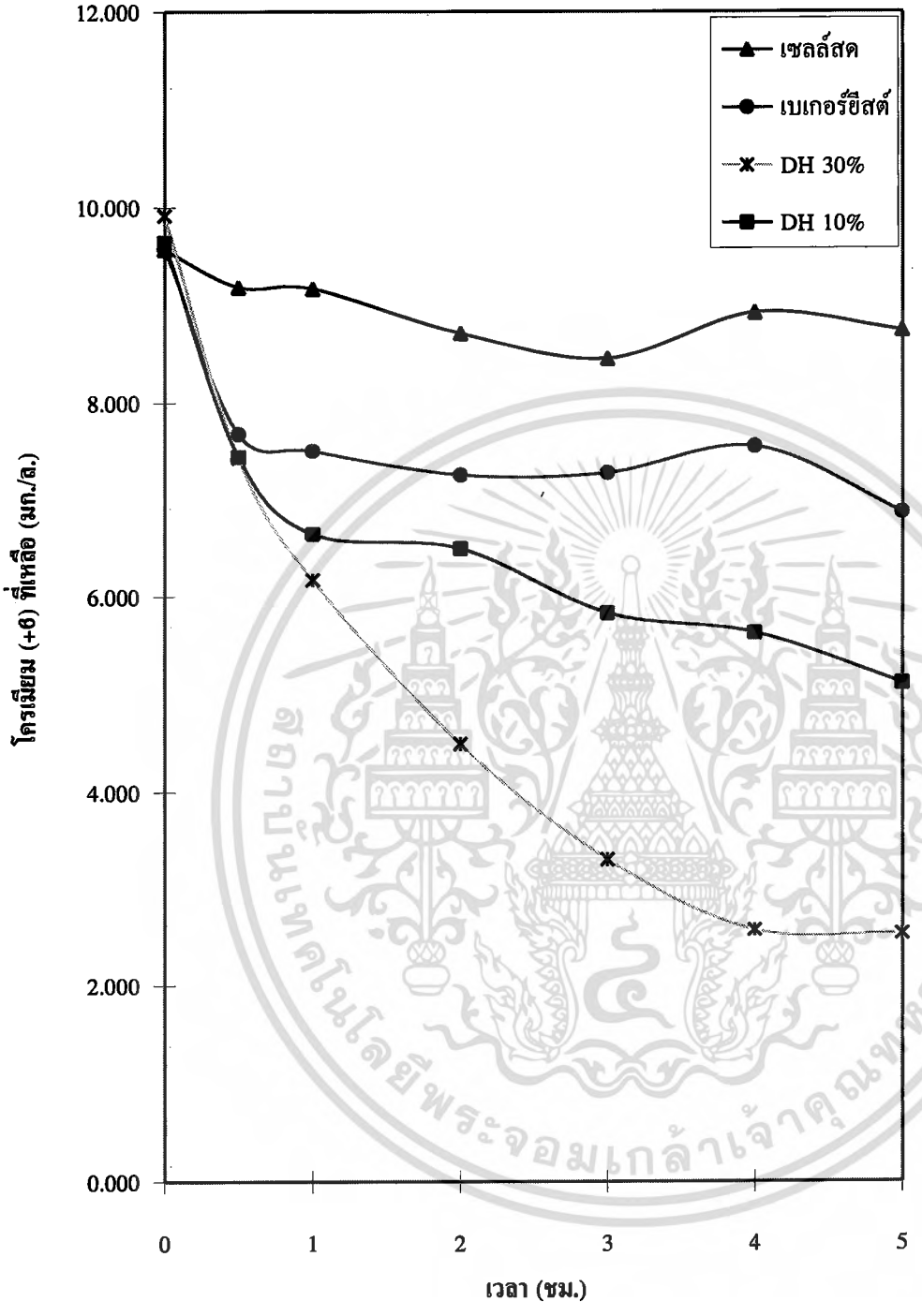
<u>หมายเหตุ</u> DH 30-40 % = เซลล์แห้ง ความชื้น 30-40 %

DH 10-20 % = เซลล์แห้ง ความชื้น 10-20 %



รูปที่ 4.2 กราฟแสดงการดูดซับโครเมียม (+6) ในสารละลายโครเมียม 10 มก./ล.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.3 กราฟแสดงการดูดซับโครเมียม (+6) ในน้ำเสียชุมชนที่มีโครเมียม 10 มก./ล.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากผลการทดลองในตารางที่ 4.1 และรูปที่ 4.2,4.3 จะเห็นได้ว่า เซลล์แห้งที่ความชื้นต่าง ๆ สามารถดูดซับโครเมียม (+6) ได้ดีกว่าเซลล์สด ทั้งนี้อาจเนื่องโครงสร้างของผนังเซลล์ที่เปลี่ยนแปลงไปเมื่อนำไปผ่านกระบวนการดึงน้ำออกจากเซลล์ (Rapoport และ Muter , 1995) โดยพบว่าเซลล์แห้ง ความชื้น 30-40 % สามารถดูดซับโครเมียม (+6) ได้มากที่สุด และใช้เวลาน้อยที่สุด จึงได้เลือกเอาเซลล์แห้ง ความชื้น 30-40 % ไปใช้ในการทดลองขั้นต่อไป ซึ่งเป็นการทดสอบกับน้ำเสียโรงงานชุบโลหะ

4.3 การทดสอบการดูดซับโครเมียม (+6) ของ *Candida utilis* ในน้ำเสียโรงงานชุบโลหะ

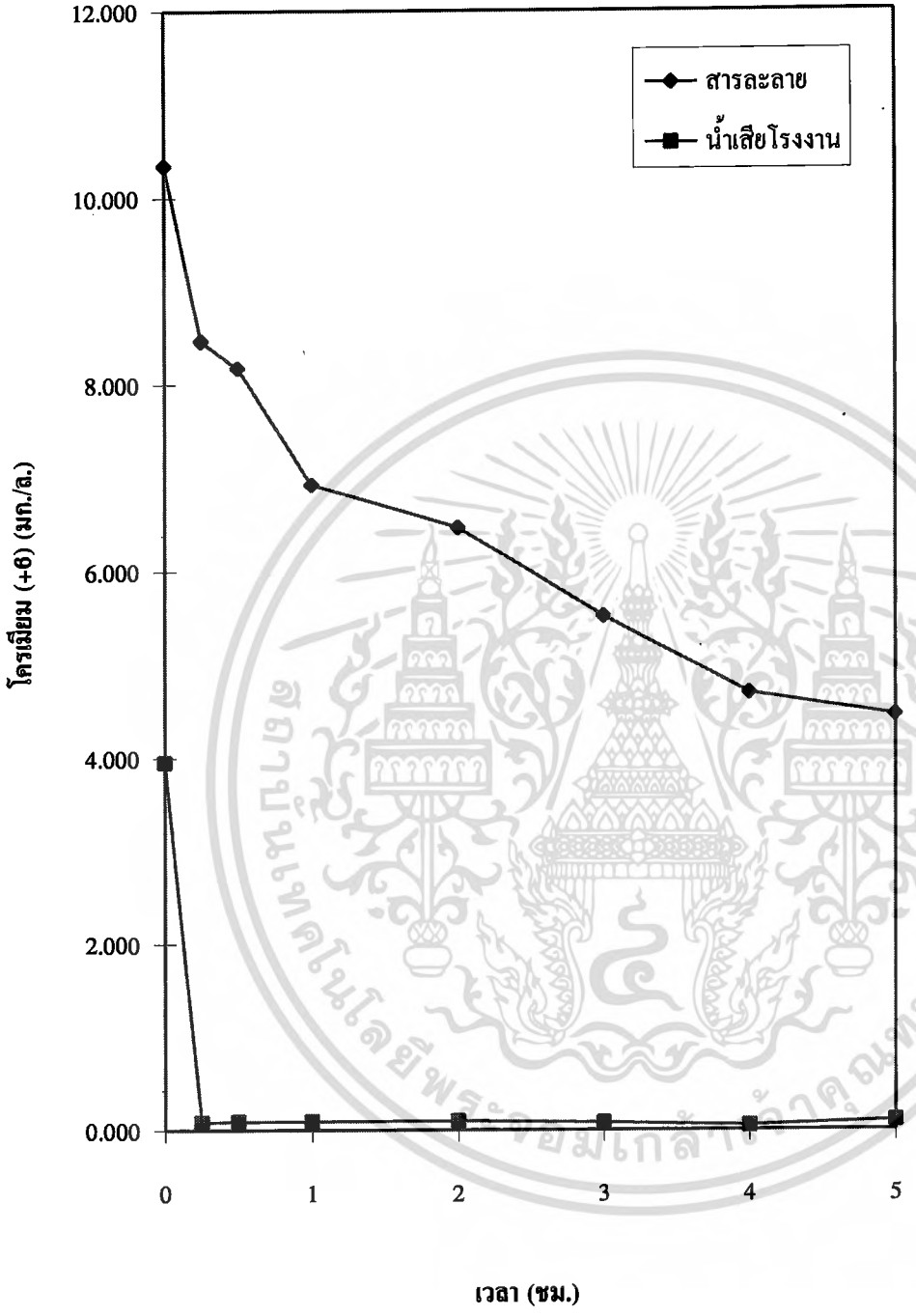
นำเซลล์แห้ง ของ *Candida utilis* ที่มีความชื้น 30-40 % มาใช้ในการดูดซับโครเมียม (+6) ในน้ำเสียจากโรงงานชุบโลหะที่มีโครเมียม (+6) ปนเปื้อน 4 มก./ล. และมีค่า COD 102.61 มก./ล. ได้ผลดังแสดงในตารางที่ 4.2

ตารางที่ 4.2 แสดงปริมาณโครเมียม (+6) ที่ถูกเซลล์แห้ง ความชื้น 30-40 % ดูดซับไปในสารละลายโครเมียม และในน้ำเสียโรงงานชุบโลหะ

เวลา	ปริมาณโครเมียม (+6) ที่ถูกดูดซับไป (มก./ล.)	
	สารละลายโครเมียม (10 มก./ล.)	น้ำเสียโรงงานชุบโครเมียม (4 มก./ล.)
15 นาทีแรก	1.87	3.87
30 นาทีแรก	2.17	3.86
1 ชั่วโมง	3.41	3.86
2 ชั่วโมง	3.87	3.86
3 ชั่วโมง	4.82	3.87
4 ชั่วโมง	5.65	3.91
5 ชั่วโมง	5.89	3.86

จากผลการทดลองในตารางที่ 4.2 และ รูปที่ 4.4 จะเห็นได้ว่า เซลล์แห้งความชื้น 30-40 % สามารถลดโครเมียม (+6)ในน้ำเสียโรงงานชุบโครเมียมได้อย่างรวดเร็ว ในเวลา 15 นาที แต่หลังจากนั้นปริมาณโครเมียม (+6) ที่เหลืออยู่ค่อนข้างคงที่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.4 กราฟแสดงการดูดซับโครเมียม (+6) ของเซลล์แห้ง ความชื้น 30-40 % ในสารละลายโครเมียม และ น้ำเสียโรงงานชุบโลหะ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5
สรุปผลการทดลอง และ ข้อเสนอแนะ

จากผลการทดลองที่ได้เปรียบเทียบการกำจัดโครเมียม (+6) ในน้ำ ของ *Candida utilis* ทั้งเซลล์สด , เซลล์แห้งที่มีความชื้น (dehydrated cells) และ เบเกอร์ยีสต์ ได้แสดงให้เห็นว่าเซลล์แห้งความชื้น 30-40 % ให้ประสิทธิภาพดีที่สุด โดยสามารถดูดซับโครเมียม (+6) ในสารละลายโครเมียม 10 มก./ล. ไปได้ประมาณ 6.2 มก./ล. ในเวลา 5 ชั่วโมง ในขณะที่เซลล์แห้งความชื้น 10-20 % , เซลล์สด และ เบเกอร์ยีสต์ สามารถดูดซับไปได้เพียง 3.8 , 2.4 และ 4.1 มก./ล. ตามลำดับ และเมื่อทำการทดลองกับน้ำเสียชุมชนที่มีโครเมียม (+6) ปนเปื้อน 10 มก./ล. และมีค่า COD ประมาณ 105 มก./ล. ปรากฏว่าเซลล์แห้งความชื้น 30-40 % มีประสิทธิภาพในการดูดซับสูงสุด โดยสามารถดูดซับโครเมียม (+6) ได้ 7.4 มก./ล. ในเวลา 5 ชั่วโมง ส่วนเซลล์แห้งความชื้น 10-20 % , เซลล์สด และ เบเกอร์ยีสต์ สามารถดูดซับไปได้เพียง 4.5 , 0.8 และ 3.0 มก./ล. ตามลำดับ จึงได้เลือกนำเซลล์แห้งความชื้น 30-40 % ไปใช้กับน้ำเสียจากโรงงานชุบโครเมียมที่มีโครเมียม (+6) ปนเปื้อน 4 มก./ล. และมีค่า COD ประมาณ 102 มก./ล. ผลปรากฏว่าสามารถกำจัดโครเมียม (+6) ในน้ำเสียให้เหลือเพียง 0.1 มก./ล. ในเวลา 15 นาที ซึ่งผ่านเกณฑ์มาตรฐานน้ำทิ้งอุตสาหกรรมที่กำหนดค่ามาตรฐานโครเมียมไว้ที่ 0.5 มก./ล.

จากผลการทดลองได้แสดงให้เห็นถึงความเป็นไปได้ในการนำเซลล์ยีสต์ไปใช้ในการกำจัดโครเมียม (+6) ในน้ำเสียอุตสาหกรรม และสมควรที่จะมีการศึกษาอย่างต่อเนื่องในเรื่องของปัจจัยต่าง ๆ ที่จะมีผลต่อประสิทธิภาพการกำจัดโครเมียม (+6) เช่น อิทธิพลของปริมาณโครเมียม (+6) เริ่มต้นที่มีในน้ำเสีย , ปริมาณของเซลล์ยีสต์ และสภาวะในระบบบำบัดที่เหมาะสม , การกำจัดกากตะกอนของเซลล์ยีสต์ที่ใช้แล้ว รวมถึงความสามารถในการกำจัดโลหะหนักที่เป็นพิษตัวอื่น ๆ นอกจากโครเมียม (+6) ที่มีในน้ำเสีย เพื่อพัฒนาไปสู่การนำไปใช้กับระบบบำบัดน้ำเสียต่อไปในอนาคต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

กรรณิการ์ สิริสิงห. เคมีของน้ำโสโครก และการวิเคราะห์ ภาควิชาวิศวกรรมสุขาภิบาล คณะสาธารณสุขศาสตร์ ม.มหิดล, หน้า 188-191.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

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

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

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก
สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ

1. Yeast malt extract agar (YMA)

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

2. Yeast malt extract broth (YMB)

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

3. Working medium

สูตรอาหาร	กรัม/ลิตร
Glucose	20.0
$MgSO_4$	0.7
$(NH_4)_2SO_4$	3.7
NaCl	0.5
KH_2PO_4	1.0
K_2HPO_4	0.13
ปรับพีเอช 6-7	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข

สารเคมี และ วิธีการเตรียม

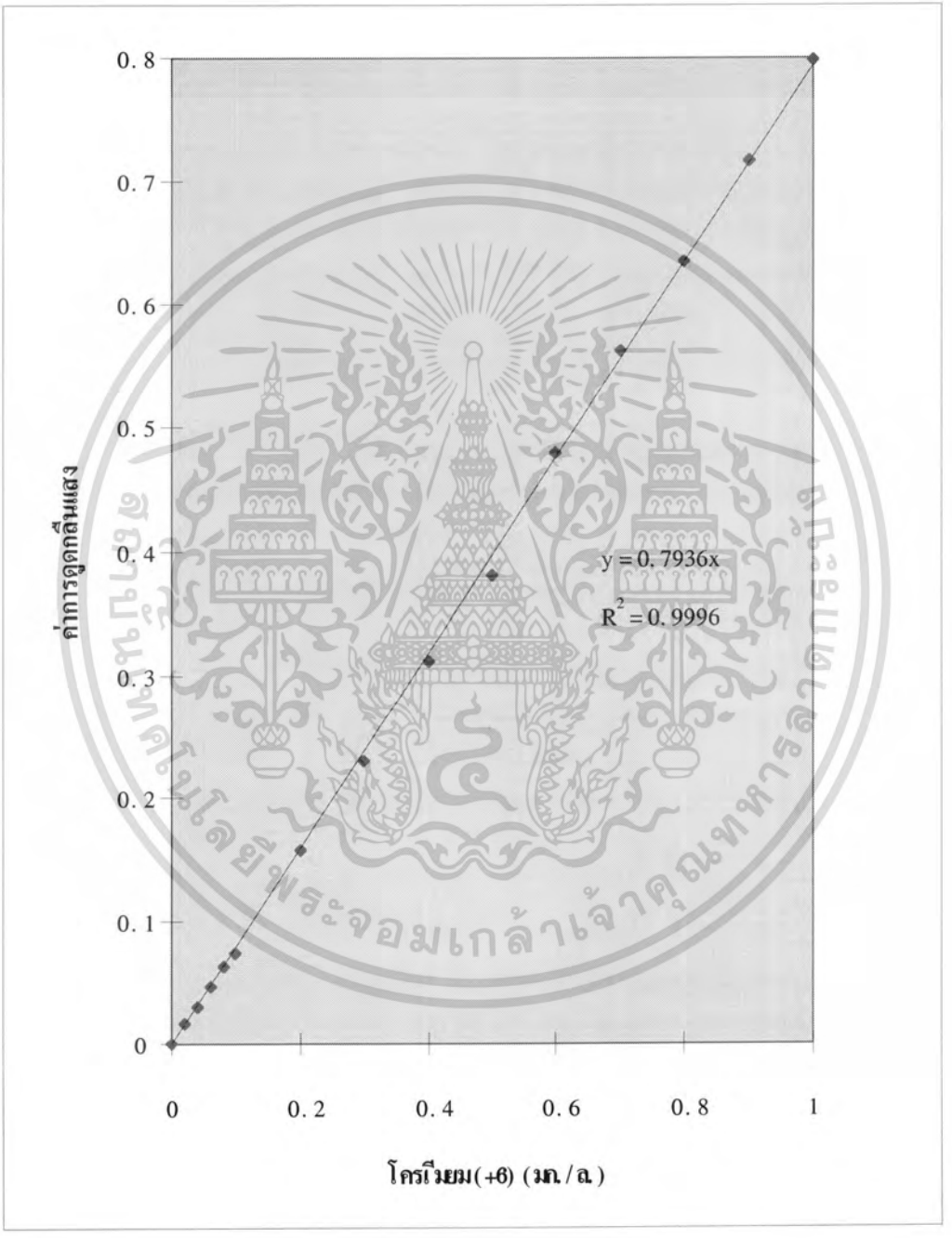
<u>สารเคมี และ วิธีการเตรียม สำหรับการวิเคราะห์โครเมียม (+6)</u>

1. สารละลายสต็อกโครเมียม (ความเข้มข้นของโครเมียม(+6) = 500 มก./ล.)
   - อบ $K_2Cr_2O_7$ 0.707 กรัม ในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรเป็น 500 มล.
2. สารละลายมาตรฐานโครเมียม (ความเข้มข้นของโครเมียม (+6) = 5 มก./ล.)
   - ปิเปตสารละลายสต็อกโครเมียม 2 มล. ปรับปริมาตรเป็น 200 มล. ด้วยน้ำกลั่น
3. สารละลาย Diphenylcarbazide
   - ละลาย 1,5-diphenylcarbazide 0.250 กรัม ในอะซีโตน 50 มล. เก็บในขวดสีชา (ควรเตรียมตอนจะใช้)
4. สารละลายกรดซัลฟิวริก 0.2 นอร์มอล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค

กราฟมาตรฐานแสดงปริมาณโครเมียม (+6) กับค่าการดูดกลืนแสง



รูปที่ ค1 กราฟมาตรฐานแสดงปริมาณโครเมียม (+6) กับค่าการดูดกลืนแสง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ง

ตารางแสดงข้อมูลผลการทดลอง

ตารางที่ ง1 แสดงน้ำหนักเซลล์ *Candida utilis* ที่เหลือ และ เปอร์เซ็นต์ความชื้น ที่เวลาต่าง ๆ

เวลา	น้ำหนักเซลล์ (กรัม)				เวลา	เปอร์เซ็นต์ความชื้น (%)			
(ชม.)	1	2	3	4	(ชม.)	1	2	3	4
0	4.9431	6.5836	6.2097	3.2543	0	78.22	78.09	77.91	77.54
0.5	4.0260	5.7359	5.5033	2.7546	0.5	73.26	74.85	75.07	73.47
1	3.3643	5.0644	4.9714	2.4154	1	68.00	71.52	72.40	69.74
1.5	2.8769	4.4628	4.4739	2.1297	1.5	62.58	67.68	69.33	65.68
2	2.5475	4.0223	4.0922	1.9232	2	57.74	64.14	66.47	62.00
2.5	2.1427	3.7142	3.8051	1.7634	2.5	49.76	61.16	63.94	58.55
3	1.9317	3.2874	3.2962	1.4901	3	44.27	56.12	58.38	50.95
3.5	1.7671	2.9837	2.9437	1.3140	3.5	39.08	51.65	53.39	44.38
4	1.6584	2.7827	2.7480	1.1952	4	35.09	48.16	50.07	38.85
4.5	1.5777	2.6323	2.5558	1.1089	4.5	31.77	45.20	46.32	34.09
5	1.5057	2.5039	2.4065	1.0493	5	28.51	42.39	42.99	30.34
5.5	1.4498	2.3915	2.2714	0.9973	5.5	25.75	39.68	39.60	26.71
6	1.4104	2.3028	2.1803	0.9625	6	23.67	37.36	37.07	24.06
6.5	1.3762	2.2204	2.0920	0.9335	6.5	21.78	35.03	34.42	21.70
7	1.3497	2.1550	2.0223	0.9109	7	20.24	33.06	32.16	19.76
Dry wt	1.0765	1.4425	1.3720	0.7309					

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง2 แสดงโครเมียม (+6) ที่เหลือในน้ำ เมื่อใช้เซลล์สด

เวลา (ชั่วโมง)	โครเมียม (+6) ที่เหลือในน้ำ (มก./ล.)					
	S1	S2	(ชั่วโมง)	W1	W2	W3
0	9.753	10.887	0	9.047	9.854	9.803
0.5	9.501	9.098	0.5	8.594	9.602	9.325
1	9.249	9.022	1	8.846	9.425	9.199
1.5	8.795	8.342	1.5	9.173	9.375	9.476
2	8.871	8.569	2	8.216	8.720	9.199
2.5	8.770	8.367	2.5	8.191	8.921	8.947
3	8.367	8.543	3	7.888	8.317	9.148
3.5	8.317	8.493	3.5	9.224	8.065	9.173
4	8.216	8.065	4	9.073	8.795	8.896
4.5	8.317	7.964	4.5	8.770	9.173	8.846
5	7.989	7.764	5	-	8.669	8.821
18	7.308	6.628	18	7.989	7.964	7.712
42	6.527	6.426	42	7.989	8.216	7.636
66	5.015	4.889	66	3.755	4.511	3.654

หมายเหตุ S = ซ้ำที่ทำในสารละลายโครเมียม (+6) 10 มก./ล.

W = ซ้ำที่ทำในน้ำเสียชุมชนที่มีโครเมียม (+6) 10 มก./ล.

- = ไม่มีข้อมูล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง3 แสดงโครเมียม (+6) ที่เหลือในน้ำเมื่อใช้เบเกอร์ยีสต์

เวลา (ชั่วโมง)	โครเมียม (+6) ที่เหลือในน้ำ (มก./ล.)		
	S1	(ชั่วโมง)	W1
0	10.459	0	9.854
0.5	8.997	0.5	7.686
1	8.594	1	7.510
1.5	8.039	1.5	7.535
2	7.535	2	7.258
2.5	7.384	2.5	7.308
3	-	3	7.283
3.5	6.880	3.5	7.434
4	6.804	4	7.560
4.5	6.704	4.5	7.233
5	6.804	5	6.880
18	5.998	18	7.712
42	6.376	42	8.644
66	4.486	66	5.494

หมายเหตุ S = ซ้ำที่ทำในสารละลายโครเมียม (+6) 10 มก./ล.

W = ซ้ำที่ทำในน้ำเสียชุมชนที่มีโครเมียม (+6) 10 มก./ล.

- = ไม่มีข้อมูล

ผลของ S2 , S3 , W2 และ W3 ผิดพลาด ไม่สามารถนำมาใช้ได้ เนื่องจากเก็บตัวอย่างก่อนจะนำมาวิเคราะห์หาปริมาณโครเมียม (+6) ไว้นานเกินไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง4 แสดงโครเมียม (+6) ที่เหลือในน้ำ เมื่อใช้เซลล์แห้ง ความชื้น 30-40 %

เวลา (ชั่วโมง)	โครเมียม (+6) ที่เหลือในน้ำ (มก./ล.)				
	S1	S2	(ชั่วโมง)	W1	W2
0	9.929	10156	0	10.055	9.778
0.25	7.913	8.241	0.25	7.838	7.611
0.5	7.661	8.140	0.5	7.409	7.460
1	6.905	7.157	1	6.149	6.200
2	5.771	6.401	2	4.486	4.511
3	4.461	5.570	3	3.377	3.251
4	3.478	4.561	4	2.495	2.671
5	3.301	4.385	5	2.445	2.646
12	2.067	3.075	12	1.739	1.815
30	1.033	1.815	30	1.462	1.487
100	1.184	1.411	100	0.731	0.857

หมายเหตุ S = ซ้ำที่ทำในสารละลายโครเมียม (+6) 10 มก./ล.

W = ซ้ำที่ทำในน้ำเสียชุมชนที่มีโครเมียม (+6) 10 มก./ล.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง5 แสดงโครเมียม (+6) ที่เหลือในน้ำ เมื่อใช้เซลล์แห้ง ความชื้น 10-20 %

เวลา (ชั่วโมง)	โครเมียม (+6) ที่เหลือในน้ำ (มก./ล.)				
	S1	S2	(ชั่วโมง)	W1	W2
0	9.652	9.753	0	9.652	9.627
0.25	7.989	7.686	0.25	7.863	7.258
0.5	7.586	7.586	0.5	7.510	7.384
1	7.334	7.107	1	6.804	6.502
2	7.006	6.880	2	6.452	6.552
3	6.981	6.804	3	5.897	5.771
4	6.704	6.326	4	5.595	5.670
5	5.822	5.998	5	4.839	5.393
12	3.931	3.780	12	1.058	1.386
30	0.857	0.983	30	0.882	0.882
100	0.907	2.016	100	1.109	1.058

หมายเหตุ S = ซ้ำที่ทำในสารละลายโครเมียม (+6) 10 มก./ล.

W = ซ้ำที่ทำในน้ำเสียชุมชนที่มีโครเมียม (+6) 10 มก./ล.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง6 แสดงโครเมียม (+6) ที่เหลือในน้ำเสียโรงงานชุบโลหะ เมื่อใช้เซลล์แห้ง ความชื้น 30-40 %

เวลา (ชั่วโมง)	โครเมียม (+6) ที่เหลือในน้ำ (มก./ล.)						
	S1	S2	S3	(ชั่วโมง)	C1	C2	C3
0	10.484	10.383	10.181	0	4.032	3.906	3.931
0.25	8.468	8.619	8.342	0.25	0.076	0.101	0.076
0.5	8.115	8.367	8.065	0.5	0.076	0.101	0.101
1	7.258	6.981	6.578	1	0.101	0.101	0.076
2	6.855	6.452	6.124	2	0.126	0.076	-
3	5.973	5.670	4.940	3	0.076	0.076	0.101
4	4.864	4.763	4.486	4	0.025	0.076	0.050
5	4.688	4.385	4.309	5	0.101	0.101	0.101

หมายเหตุ S = ซ้ำที่ทำในสารละลายโครเมียม (+6) 10 มก./ล.

C = ซ้ำที่ทำในน้ำเสียโรงงานชุบโลหะที่มีโครเมียม (+6) 4 มก./ล.

- = ไม่มีข้อมูล

ตารางที่ ง7 แสดงค่า COD ของน้ำตัวอย่าง

ตัวอย่าง	ปริมาตรของ $Fe(NH_4)_2(SO_4)_2$ ที่ใช้ (มล.)			ค่า COD (มก./ล.)
	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	เฉลี่ย	
แบลงค์	25.50	25.40	25.45	-
น้ำเสียชุมชน (บ่อคณะวิทยาศาสตร์)	23.15	22.50	22.83	105.43
น้ำเสียโรงงานชุบโครเมียม	23.10	22.70	22.90	102.61

หมายเหตุ - = ไม่มีข้อมูล

ความเข้มข้นที่แน่นอนของ $Fe(NH_4)_2(SO_4)_2$ = 0.1006 นอร์มอล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้