สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

การดูดซับโครเมียม (+6) ในน้ำโดยใช้ยีสต์

นายชัยชาญ ไตรศรีศิลป์
นางสาวปานทอง ศรีคัมนพรหม

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต
ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์
คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีการศึกษา 2539

ปพ.
ช379ก
2539
เลขหมู่.....
เลขทะเบียน.....28149
วัน, เดือน, ปี 7 ก.ค. 2540

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Absorbtion of Hexavalent Chromium in water by Yeasts

Mr. Chaichan Traisrisin

Miss Panthong Srikattanaprom

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

1996

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ การดูดซับโครเมียม (+6) ในน้ำโดยใช้ยีสต์

โดย นายชัยชาญ ไตรศรีศิลป์

นางสาวบ่านทอง ศรีคัฒนพรหม

ภาควิชา ชีววิทยาประยุกต์

อาจารย์ที่ปรึกษา อาจารย์เหมือนหมาย อภินทนาพงศ์

อาจารย์มงคล เพ็ญสายใจ

ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง อนุมัติให้โครงงานพิเศษฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต

.....

(ผศ.ดร.พรรณี สุตาภิชิต) หัวหน้าภาควิชา

คณะกรรมการสอบโครงงานพิเศษ

.....

(รศ.ดร. ดุษณี ธนะบริพัฒน์) ประธานกรรมการ

.....

(ผศ นวลพรรณ ณ ระนอง) กรรมการ

.....

(อาจารย์มงคล เพ็ญสายใจ) กรรมการ

ลิขสิทธิ์ของภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ การดูดซับโครเมียม (+6) โดยใช้ยีสต์
โดย นายชัยชาญ ไตรศรีศิลป์
นางสาวปานทอง ศรีคัฒนพรหม
อาจารย์ที่ปรึกษา อาจารย์มงคล เพ็ญสายใจ
อาจารย์เหมือนหมาย อภินทนาพงศ์
ภาควิชา ชีววิทยาประยุกต์
ปีการศึกษา 2539

บทคัดย่อ

โลหะหนักทุกชนิดเป็นปัญหาสิ่งแวดล้อม เพราะโลหะหนักไม่สามารถย่อยสลายได้โครเมียม (+6) เป็นโลหะหนักตัวหนึ่งที่เป็นพิษต่อสิ่งมีชีวิต และเป็นสารก่อมะเร็ง ดังนั้นจึงต้องมีการกำจัดโครเมียม (+6) ออกจากน้ำทิ้งก่อนที่จะปล่อยลงสู่แหล่งน้ำธรรมชาติ ซึ่งสามารถทำได้หลายวิธี เช่น วิธีทางกายภาพ วิธีทางเคมี และวิธีทางชีวภาพ และจากการศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการกำจัดโครเมียม (+6) โดยยีสต์ 4 สายพันธุ์ คือ *Candida utilis, C. tropicalis, C. guilliermondii* และ *Saccharomyces cerevisiae* พบว่า*Saccharomyces cerevisiae* มีประสิทธิภาพในการดูดซับโครเมียม(+6)ได้สูงสุด โดยสภาวะที่เหมาะสมต่อ *S. cerevisiae* ในการดูดซับโครเมียม (+6) คือ ความเข้มข้นเริ่มต้นของโครเมียม (+6) เป็น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร และความเร็วรอบการให้อากาศ 200 รอบต่อนาที โดยสามารถดูดซับโครเมียม (+6) ในสารละลายโครเมียมได้สูงสุด 4.646 มิลลิกรัมต่อลิตร ในเวลา 72 ชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Special Project Title Absorption of Hexavalent Chromium in water by Yeast

Name Mr. Chaichan Trisrisin

Miss Panthong Srikattanaprom

Special Project Advisor Mr. Mongkol Phensaijai

Miss. Muanmai Apintanapong

Department Applied Biology

Academic Year 1996

ABTRACT

One big environmental problem is from heavy metals because they can not be degraded. Hexavalent Chromium is one type of heavy metals which is toxic and carcinogenic to living organisms. Removal of chromium (+6) from wastewater before releasing to natural water resource is very important and can be done by various means such as physical, chemical and biological methods. In the present study, 4 strains of yeasts : *Candida utilis*, *C. tropicalis*, *C. guilliermondii* and *Saccharomyces cerevisiae* were compare the ability to absorb chromium (+6) in liquid culture. The result showed that *S. cerevisiae* absorbed most chromium (+6). Then *S. cerevisiae* was grown in the medium with chromium (+6) concentration of 5 mg/l and cultivated at 200 rpm for 72 hr, 4.646 mg/l of soluble chromium were absorbed.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

โครงงานพิเศษนี้ได้จัดทำขึ้นตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ ซึ่งโครงงานพิเศษนี้สำเร็จได้ด้วยความช่วยเหลือจากบุคคลหลายท่าน ทางคณะผู้จัดทำขอขอบคุณ อาจารย์มงคล เพ็ญสายใจ อาจารย์เหมือนหมาย อภินทนาพงศ์ อาจารย์ที่ปรึกษาโครงงานพิเศษนี้ที่ได้ให้ความรู้ ข้อเสนอแนะรวมทั้งได้กรุณาตรวจทานภาษาที่ใช้ รศ.ดร. ดุษณี ธนะบริพัฒน์ ประธานคณะกรรมการ และ ผศ.นวลพรรณ ณ ระนอง กรรมการพิจารณาโครงงานพิเศษ ซึ่งท่านได้ให้คำแนะนำในโครงงานพิเศษนี้อย่างดียิ่งเสมอมาขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ทุกท่านที่เอื้อเฟื้ออุปกรณ์และสารเคมีต่าง ๆ ที่ใช้สำหรับการทดลอง สุดท้ายนี้ขอขอบคุณพี่ ๆ เพื่อน ๆ และน้อง ๆ ทุกคนที่คอยช่วยเหลือและให้กำลังใจในการจัดทำโครงงานพิเศษนี้

คณะผู้จัดทำ

มีนาคม 2540

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ โครงงานพิเศษภาษาไทย	ก
บทคัดย่อ โครงงานพิเศษภาษาอังกฤษ	ข
กิตติกรรมประกาศ	ค
สารบัญตาราง	ง
สารบัญรูป	ฉ
บทที่ 1 บทนำ	1
บทที่ 2 การตรวจเอกสาร	4
บทที่ 3 อุปกรณ์ และวิธีการทดลอง	16
บทที่ 4 ผลการทดลอง และวิจารณ์	23
บทที่ 5 สรุปผลการทดลอง และข้อเสนอแนะ	29
เอกสารอ้างอิง	30
ภาคผนวก ก สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ	32
ภาคผนวก ข สารเคมี และ วิธีการเตรียม	33
ภาคผนวก ค กราฟมาตรฐานแสดงปริมาณโครเมียม (+6) กับค่าการดูดกลืนแสง	34
ภาคผนวก ง ตารางแสดงข้อมูลผลการทดลอง	35
ภาคผนวก จ การวิเคราะห์ทางสถิติ	40

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่ หน้า

4.1 แสดงปริมาณโครเมียม(+6) ที่ถูกดูดซับโดยยีสต์สายพันธุ์ต่างๆ 23

4.2 แสดงปริมาณโครเมียม(+6) ที่ *Saccharomyces cerevisiae* ดูดซับได้ ที่ความเข้มข้นเริ่มต้นของสารละลายโครเมียมต่างๆ กัน 25

4.3 แสดงปริมาณโครเมียม(+6) ที่ถูกดูดซับได้โดย*Saccharomyces cerevisiae*เมื่อมีอัตราการให้อากาศต่างๆกัน 27

ง1 แสดงโครเมียม (+6) ที่เหลือในน้ำเมื่อใช้ความเข้มข้นเริ่มต้นของโครเมียม (+6) เป็น 3 มิลลิกรัมต่อลิตรโดยใช้เชื้อ *Candida utilis* 35

ง2 แสดงโครเมียม (+6) ที่เหลือในน้ำเมื่อใช้ความเข้มข้นเริ่มต้นของโครเมียม (+6)เป็น 3 มิลลิกรัมต่อลิตรโดยใช้เชื้อ *Candida tropicalis* 35

ง3 แสดงโครเมียม (+6) ที่เหลือในน้ำเมื่อใช้ความเข้มข้นเริ่มต้นของโครเมียม (+6) เป็น 3 มิลลิกรัมต่อลิตรโดยใช้เชื้อ *Candida guilliermondii* 36

ง4 แสดงโครเมียม (+6) ที่เหลือในน้ำเมื่อใช้ความเข้มข้นเริ่มต้นของโครเมียม (+6) เป็น 3 มิลลิกรัมต่อลิตรโดยใช้เชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* 36

ง5 แสดงปริมาณโครเมียม (+6) ที่เหลือหลังจากดูดซับโดย *S. cerevisiae* เมื่อใช้ความเข้มข้นของโครเมียม (+6) เป็น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร 37

ง6 แสดงปริมาณโครเมียม (+6) ที่เหลือหลังจากดูดซับโดย *S. cerevisiae* เมื่อใช้ความเข้มข้นเริ่มต้นของโครเมียม (+6) เป็น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร 37

ง7 แสดงปริมาณโครเมียม (+6) ที่เหลือหลังจากดูดซับโดย *S. cerevisiae* เมื่อใช้ความเข้มข้นเริ่มต้นของโครเมียม (+6) เป็น 20 มิลลิกรัมต่อลิตร 38

ง8 แสดงปริมาณโครเมียม (+6) ที่เหลือหลังจากดูดซับโดย *S. cerevisiae* เมื่อใช้ความเร็วรอบ 100 รอบต่อนาที 38

ง9 แสดงปริมาณโครเมียม (+6) ที่เหลือหลังจากดูดซับโดย *S. cerevisiae* เมื่อใช้ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที 39

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่ หน้า

ง10 แสดงปริมาณโครเมียม (+6) ที่เหลือหลังจากดูดซับโดย *S. cerevisiae* เมื่อใช้ความเร็วรอบ 250 รอบต่อนาที 39

จ1 แสดงการวิเคราะห์ทางสถิติของการคัดเลือกสายพันธุ์ 40

จ2 แสดงการวิเคราะห์ทางสถิติของความเข้มข้นเริ่มต้นของโครเมียม(+6) 41

จ3 แสดงการวิเคราะห์ทางสถิติของอัตราการให้อากาศ (ความเร็วรอบในการเขย่า) 41

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
2.1 แสดงลักษณะของ *Saccharomyces cerevisiae* ที่มีอายุ 3 วันในอาหาร malt extract	4
2.2 แสดงลักษณะของ *Candida guilliermondii* ในอาหาร glucose-yeast extract-peptone water	5
2.3 แสดงลักษณะของ *Candida tropicalis* ในอาหาร glucose-yeast extract-peptone water	7
2.4 แสดงลักษณะของ *Candida utilis* ในอาหาร glucose-yeast extract-peptone water	8
3.1 ยีสต์สายพันธุ์ต่างๆที่ใช้ในการทดลอง	19
3.2 การเลี้ยงเชื้อบนเครื่องเขย่า	20
3.3 เครื่องเหวี่ยงปั่นที่ใช้ในการแยกส่วนใส	20
3.4 ความเข้มข้นของสารละลายโครเมียม(+6) ที่ระดับต่างๆก่อนนำไปวิเคราะห์	21
3.5 ผลการวิเคราะห์ปริมาณโครเมียม(+6) ในตัวอย่าง ที่ระดับความเข้มข้นของสารละลายโครเมียม(+6) ต่างๆกัน	21
3.6 เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง ที่ใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณโครเมียม(+6)	22
4.1 กราฟแสดงปริมาณโครเมียม(+6) ที่ดูดซับได้โดยยีสต์	24
4.2 กราฟแสดงปริมาณโครเมียม (+6) ที่ดูดซับได้เมื่อใช้ความเข้มข้นเริ่มต้นของสารละลายโครเมียมต่างกัน	26
4.3 กราฟแสดงปริมาณโครเมียมที่ดูดซับได้โดย *S. cerevisiae* เมื่อมีอัตราการให้อากาศต่างกัน	28
ค1 กราฟมาตรฐานแสดงปริมาณโครเมียม (+6) กับค่าการดูดกลืนแสง	34

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

ปัจจุบันประเทศไทยได้มีการพัฒนาด้านอุตสาหกรรมอย่างมาก ซึ่งจากการพัฒนาและความเจริญทางด้านอุตสาหกรรมนี้เองก่อให้เกิดผลกระทบทางด้านสิ่งแวดล้อมตามมาอย่างมากมาย ทั้งมลพิษทางน้ำรวมถึงมลพิษทางอากาศด้วย ทำให้ระบบนิเวศน์ตามธรรมชาติสูญเสียไป

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

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

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

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

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วัตถุประสงค์

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

ขอบเขตของโครงงานพิเศษ

1. เปรียบเทียบความสามารถของเชื้อยีสตสายพันธุ์ต่าง ๆ ในการดูดซับโครเมียม (+6)
2. ศึกษาผลของความเข้มข้นเริ่มต้นของโครเมียมต่อการดูดซับโครเมียม (+6) โดยเชื้อยีสต์
3. ทดลองเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการดูดซับโครเมียม (+6) ในน้ำ ของยีสต์ที่ระดับอัตราการให้อากาศต่าง ๆ

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
การตรวจเอกสาร

2.1 สัณฐานวิทยาของเชื้อยีสต์ที่ใช้ในโครงงานพิเศษฉบับนี้ (Kreger-van ,1984)

2.2.1 ลักษณะทั่วไปของ *Saccharomyces cerevisiae*

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

รูปที่2.1 แสดงลักษณะของ *S. cerevisiae* ที่มีอายุ 3 วันในอาหาร malt extract
(ที่มา : Kreger-Van,,1984)

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

โครงสร้างของ ascospore :

1 ascus มีอยู่ 1-4 ascospore มีรูปร่างกลมถึงรี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การหมัก (Fermentation) :

Glucose	+	Maltose	V
Galactose	V	Lactose	-
Sucrose	V		

การใช้สารประกอบคาร์บอน (assimilation of carbon compounds)

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

2.1.2 ลักษณะทั่วไปของ *Candida guilliermondii*

การเจริญในอาหาร glucose-yeast extract-peptone water:

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

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

การเจริญในอาหาร glucose-yeast extract-peptone agar:

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การหมัก (fermentation):

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

การใช้สารประกอบคาร์บอน

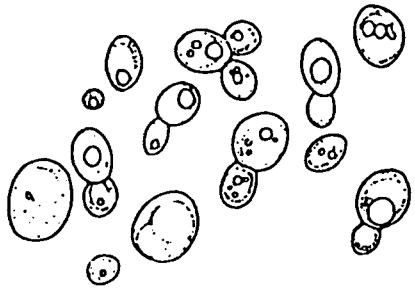
Galactose	+	Melezitose	+
Ribitol	+	L-Sorbose	+S
Soluble Starch	-	Galactitol	+ or S
Sucrose	+	D-Xylose	+
D-Mannitol	-	Maltose	+
L-Arabinose	+	D-Glucitol	+
Cellobiose	+	D-Ribose	V
DL-Lactic acid	V	Lactose	-
L-Rhamnose	V	Succinic acid	+
Melibiose	+	Glyceral	+
Citric acid	+	Raffinose	+
Erythritol	-	Inositol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

2.1.3 ลักษณะทั่วไปของ *Candida tropicalis*

การเจริญในอาหาร glucose-yeast extract-peptone water:

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



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

การเจริญในอาหาร glucose-yeast extract-peptone agar:

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

การหมัก (fermentation):

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

การใช้สารประกอบคาร์บอน

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

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

2.1.4 ลักษณะทั่วไปของ *C. utilis*

การเจริญในอาหาร glucose-yeast extract-peptone water:

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

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

การเจริญในอาหาร glucose-yeast extract-peptone agar:

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

การหมัก (fermentation):

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

การใช้สารประกอบคาร์บอน :

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

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

หมายเหตุ + เกิดปฏิกิริยา

+W เกิดปฏิกิริยาเล็กน้อย

- ไม่เกิดปฏิกิริยา

V บางสายพันธุ์ก็เกิดปฏิกิริยา

2.2 คุณลักษณะทั่วไปของโครเมียม

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

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

- โครเมียม (-2 ถึง 0) พบมากในคาร์บอนิล และสารประกอบโลหะอินทรีย์

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

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

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

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

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

เมื่อ ไดโครเมตละลายน้ำ จะได้โครเมต ดังสมการ

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

โครเมียม (+6) เป็นตัวออกซิไดส์ที่แรงมาก ภายใต้สภาวะกรด (พีเอช 0)

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

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

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

โครเมียมหรือสารประกอบของโครเมียม ส่วนใหญ่จะอยู่ในรูปของฝุ่นและควัน ซึ่งจะเข้าสู่ร่างกายได้โดย

(1) ทางจมูก โดยการสูดหายใจเอาผงและควันของกรดโครมิค ซึ่งส่วนใหญ่จะตกค้างบริเวณจมูกและทำอันตรายแก่กระดูกอ่อนที่กั้นระหว่างจมูกและอาจเข้าไปถึงปอด ซึ่งทำให้เกิดมะเร็งขึ้นได้

(2) ทางผิวหนัง คนงานที่ปฏิบัติงานเกี่ยวข้องกับโครเมียมจะได้รับฝุ่นละอองหรือควันของโครเมียม จะเกิดปฏิกิริยาต่อผิวหนังได้

บุคคลที่ทำงานเกี่ยวข้องกับโครเมียมอาจเกิดอันตรายได้ดังนี้

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ซึ่งอาจทำให้ต้องตัดนิ้วทิ้ง ฝุ่นของเกลือโครเมียมหรือควันของกรดโครมิคอาจตกลงบนหนังตาหรือที่ปลายจมูก ซึ่งอาจจะเกิดแผลขึ้นได้เช่นเดียวกัน

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

(3) ผนังกั้นในจมูกถูกเจาะทะลุ คนที่ทำงานเกี่ยวข้องกับโครเมียมจะได้รับควันของกรดโครมิค หรือฝุ่นของโครเมียมเป็นประจำ จะทำให้ผนังกั้นในจมูกถูกทำลายจนเป็นรูทะลุ ซึ่งการทะลุนี้คนงานจะไม่รู้สึกเจ็บปวดแต่อย่างใด จะรู้สึกตัวก็ต่อเมื่อมีเสียงฮู้อี้หรือดั้งจมูกแบนลง

(4) มะเร็งของปอด อาจเกิดขึ้นกับคนงานที่สูดเอาโครเมียมเข้าสู่ร่างกายอยู่เป็นประจำและเป็นเวลานาน ซึ่งจะเป็นอันตรายอย่างมากแก่ชีวิต

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

(1) งานที่ต้องทำเกี่ยวข้องกับควันของกรดโครมิค จะต้องมีได้ไม่เกิน 0.1 มิลลิกรัมต่ออากาศ 1 ลูกบาศก์เมตร

(2) งานที่ต้องทำเกี่ยวข้องกับฝุ่นละอองของโครเมียมจะต้องมีได้ไม่เกิน 0.5 มิลลิกรัมต่ออากาศ 1 ลูกบาศก์เมตร

ได้มีการสังเกตพบว่า พนักงานในโรงงานอุตสาหกรรมที่ได้รับสารประกอบโครเมียมจากทางอากาศ และละอองของกรดโครมิกจะเกิดอาการระคายเคืองผิวหนัง และระบบทางเดินหายใจ ซึ่งสารประกอบโครเมียมพวกนี้จะกัดเยื่อโพรงจมูก ทำให้ระบบทางเดินหายใจเกิดเป็นแผลพุพองและนำไปสู่การเป็นมะเร็งในที่สุด (Sittig , 1976)

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

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

2.4 การกำจัดโครเมียมจากน้ำเสียก่อนจะนำปล่อยลงแหล่งน้ำธรรมชาติ

2.4.1 <u>การกำจัดโครเมียมออกจากน้ำโดยวิธีทางเคมี และ ทางฟิสิกส์</u>

มีหลายเทคนิคที่นำมาประยุกต์เพื่อใช้กำจัดโครเมียมออกจากน้ำ ดังนี้

(1) การรีดักชัน

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

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

(2) การแลกเปลี่ยนประจุ

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

(3) การระเหย

นำน้ำที่มีโครเมียมปนเปื้อนมาผ่านกระบวนการระเหยเอาน้ำออก จากนั้นก็นำไอน้ำไปผ่านการหล่อเย็นเพื่อนำไปใช้ได้อีก วิธีนี้นิยมใช้กับการบำบัดน้ำหล่อเย็น

(4) การตกตะกอนด้วยสารเคมี

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(5) การสกัดด้วยตัวทำละลาย

นำสารกัดแม่พิมพ์ที่ใช้แล้ว (มีกรดโครมิกเป็นองค์ประกอบ) มาทำการสกัดด้วยตัวทำละลายเพื่อแยกเอากรดโครมิกออกจากสารอื่น และนำกลับไปใช้ได้อีก ตัวทำละลายที่ใช้ ได้แก่ อะซีโตน

(6) รีเวิร์สออสโมซิส

นำน้ำเสียที่มีโครเมียม (+6) มาผ่านกระบวนการทำให้เข้มข้นขึ้นก่อน แล้วไปผ่านกระบวนการรีเวิร์สออสโมซิส ทำให้ได้น้ำอ่อนที่มีอิออนของไดโครเมต ซึ่งสามารถนำไปหมุนเวียนใช้ใหม่ได้

2.4.2 <u>การกำจัดโครเมียมด้วยวิธีทางชีววิทยา</u>

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

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

โดยปรกติแล้วโครเมียม (+3) จะไม่สามารถแพร่ผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ของสิ่งมีชีวิตได้ แต่โครเมียม (+6) สามารถแพร่ผ่านได้ และอาจถูกรีดิวซ์เป็นโครเมียม (+3) ได้ในไมโตคอนเดรีย , นิวเคลียส และ 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) ภายใต้สภาวะไร้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

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

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

โครเมตจะเข้าไปในเซลล์แบคทีเรียโดยผ่านกระบวนการถ่ายทอดซัลเฟต (Ohtake และคณะ,1987) ซึ่งจะทำให้เซลล์ทนต่อความเป็นพิษของโครเมตได้

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

สำหรับกลไกในการดูดซับโลหะหนักในยีสต์และรา ยังไม่มีคำอธิบายได้ชัดเจน ทั้งนี้เป็นเพราะว่าองค์ประกอบของผนังเซลล์ของยีสต์และรา มีความซับซ้อน และยังมีความแตกต่างกันไปตามชนิดมากกว่าที่พบในแบคทีเรียอีกด้วย (Volesky , 1990)

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

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

พบว่าเซลล์แห้ง สามารถดูดซับโครเมียม (+6) ได้มากกว่าเซลล์สด ทั้งนี้อาจเนื่องโครงสร้างของผนังเซลล์ที่เปลี่ยนแปลงไปเมื่อนำเซลล์ไปผ่านกระบวนการดึงน้ำออกจากเซลล์ (dehydration)

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

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

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

อย่างไรก็ดีที่กล่าวมาแล้วนั้นเป็นเพียงข้อสันนิษฐานซึ่งยังไม่มีหลักฐานยืนยันแน่ชัด ทำให้กลไกการดูดซับโลหะหนักในยีสต์ยังเป็นความลับต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3
อุปกรณ์ และ วิธีการทดลอง

3.1 เชื้อจุลินทรีย์

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

เชื้อยีสต์ทั้ง 4 สายพันธุ์ ได้มาจากสภาวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย

3.2 เครื่องมือ

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

3.3 การเตรียมเชื้อยีสต์

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

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

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

กระดาษกรอง ตั้งทิ้งไว้ประมาณครึ่งชั่วโมง เพื่อกำจัดน้ำส่วนเกินออกก่อน จึงนำเซลล์ที่ได้ไปใช้ในการดูดซับโครเมียม (+6) ในน้ำ

3.4 <u>การทดสอบการดูดซับโครเมียม</u>

3.4.1 การทดสอบเปรียบเทียบความสามารถในการดูดซับโครเมียมของยีสต์ทั้ง 4 สายพันธุ์

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

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

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

<u>หมายเหตุ</u> ส่วนใสที่ได้ควรทำการวิเคราะห์ทันที หรือเก็บไว้ในตู้เย็น

3.4.2 การทดสอบเปรียบเทียบความเข้มข้นเริ่มต้นของโครเมียม (+6)

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

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

3.4.3 การทดสอบเปรียบเทียบอัตราการให้อากาศ

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

28149

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

3.5 <u>การวิเคราะห์หาปริมาณโครเมียม (+6)</u>

- สารเคมีและวิธีการเตรียมแสดงดังภาคผนวก ข.

3.5.1 การทำกราฟมาตรฐานระหว่างปริมาณของโครเมียม (+6) กับค่าการดูดกลืนแสง

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

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

(3) เติมสารละลาย Diphenylcarbarzide 2 มิลลิลิตร

(4) ตั้งทิ้งไว้ 5-10 นาที แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร

(5) นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้มาเขียนเป็นกราฟมาตรฐาน

<u>หมายเหตุ</u> ใช้น้ำกลั่นเป็นแบลงค์ แต่ถ้ากรณีที่สารละลายขุ่นหลังจากปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร ให้นำมาเป็นแบลงค์ก่อนจะเติมสารละลาย Diphenylcarbazide

3.5.2 การวิเคราะห์ปริมาณโครเมียม (+6)

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

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

(3) เติมสารละลาย Diphenylcarbazide 2 มิลลิลิตร

(4) ตั้งทิ้งไว้ 5-10 นาที แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หมายเหตุ ใช้น้ำกลั่นเป็นแบลงค์ แต่ถ้ากรณีที่สารละลายขุ่น หลังจากปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร ให้นำมาเป็นแบลงค์ก่อนจะเติมสารละลาย Diphenylcarbazide

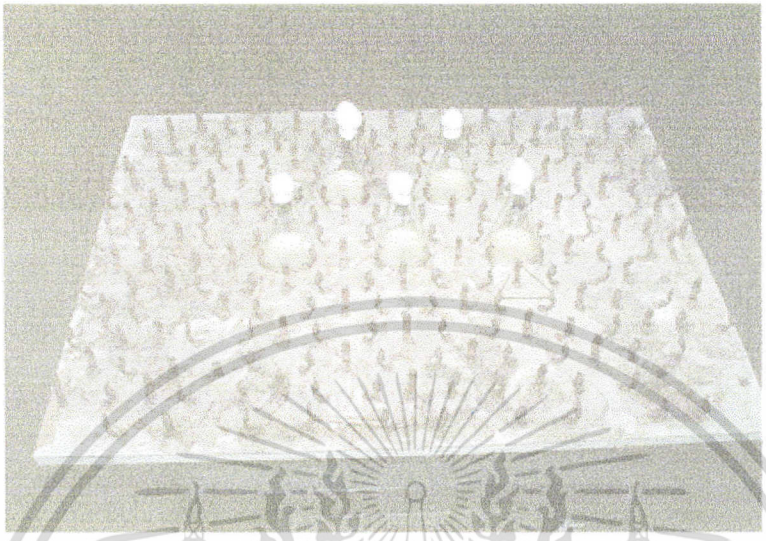
3.6 การวิเคราะห์ผลการทดลองทางสถิติ

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

เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยทรีทเมนต์โดยวิธี Duncan ที่ระดับความเชื่อมั่น 0.05

รูปที่ 3.1 ยีสต์สายพันธุ์ต่าง ๆ ที่ใช้ในการทดลอง

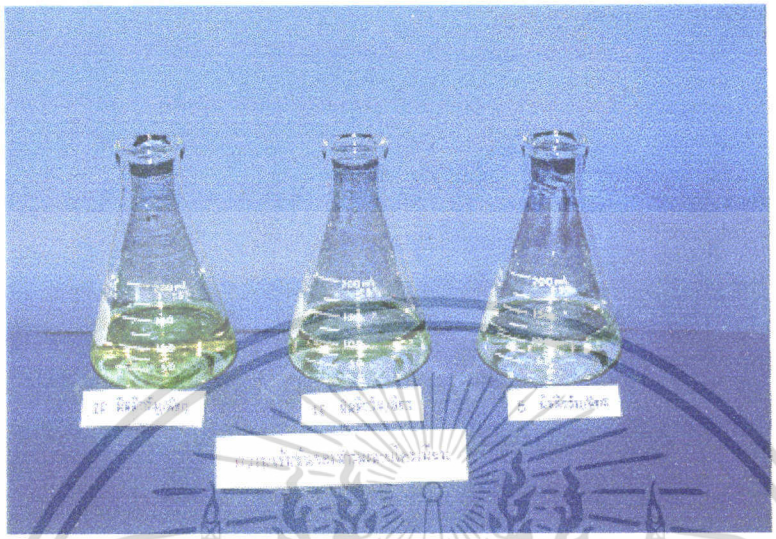
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



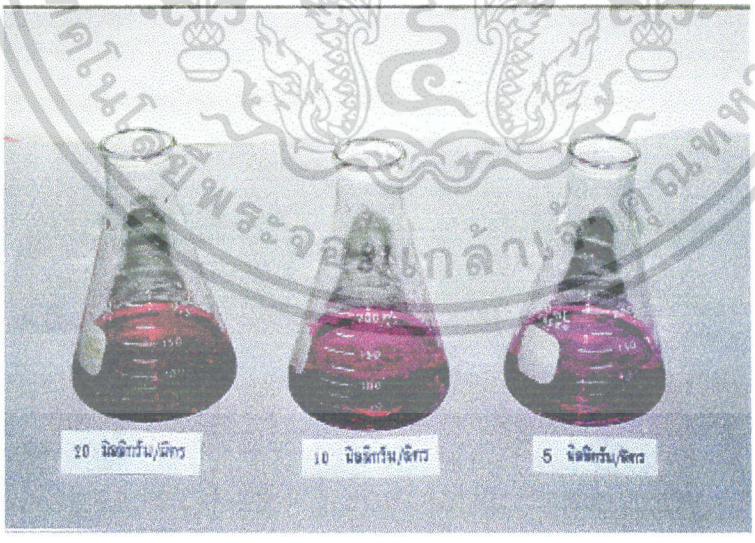
รูปที่ 3.2 การเลี้ยงเชื้อบนเครื่องเขย่า

รูปที่ 3.3 เครื่องหมุนเหวี่ยงที่ใช้ในการแยกส่วนใสที่ได้จากการเก็บตัวอย่าง ก่อนจะนำไปวิเคราะห์หาปริมาณโครเมียม (+6)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

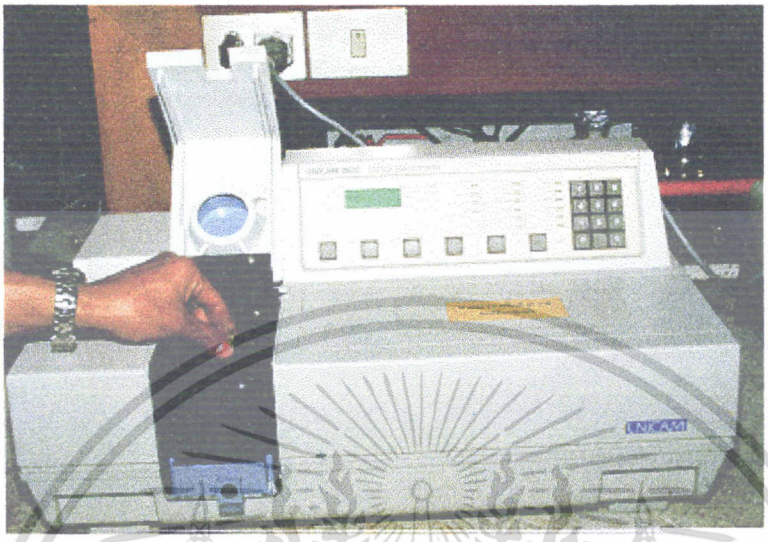


รูปที่ 3.4 ความเข้มข้นของสารละลายโครเมียม(+6) ที่ระดับต่าง ๆ ก่อนนำไปวิเคราะห์



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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 3.6 เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง ซึ่งใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณโครเมียม (+6)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4
ผลการทดลองและวิจารณ์

4.1 <u>การทดสอบเปรียบเทียบประสิทธิภาพการดูดซับโครเมียม (+6) ของยีสต์สายพันธุ์ต่าง ๆ</u>

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

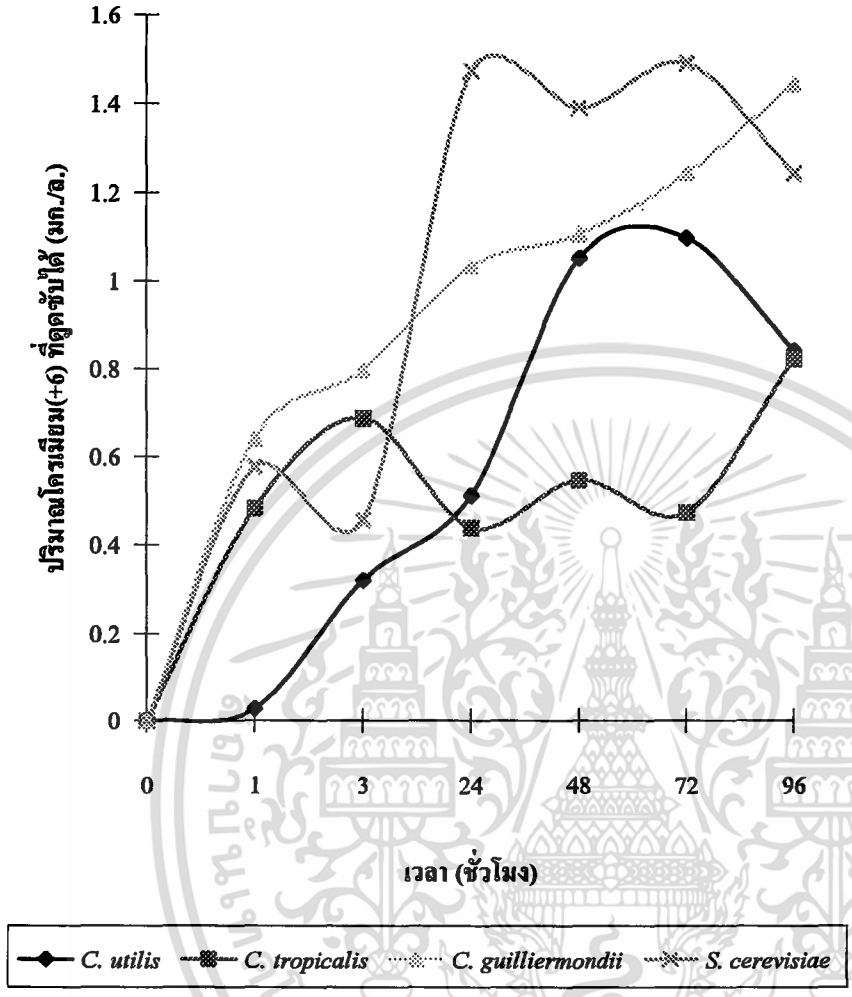
จากการทดลองในน้ำสารละลายโครเมียมซึ่งมีความเข้มข้นของโครเมียม (+6) 3 มิลลิกรัมต่อลิตร แล้วเปรียบเทียบปริมาณโครเมียม (+6) เฉลี่ยที่ลดลง ได้ผลดังตารางที่ 4.1 และรูปที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 แสดงปริมาณโครเมียม (+6) ที่ถูกดูดซับโดยยีสต์สายพันธุ์ต่าง ๆ

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

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.1 กราฟแสดงปริมาณโครเมียม (+6) ที่ดูดซับได้โดยยีสต์สายพันธุ์ต่างๆ

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

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2 การทดสอบเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการดูดซับโครเมียม (+6) โดย *S. cerevisiae* เมื่อมีความเข้มข้นเริ่มต้นของโครเมียม (+6) ต่าง ๆ กัน

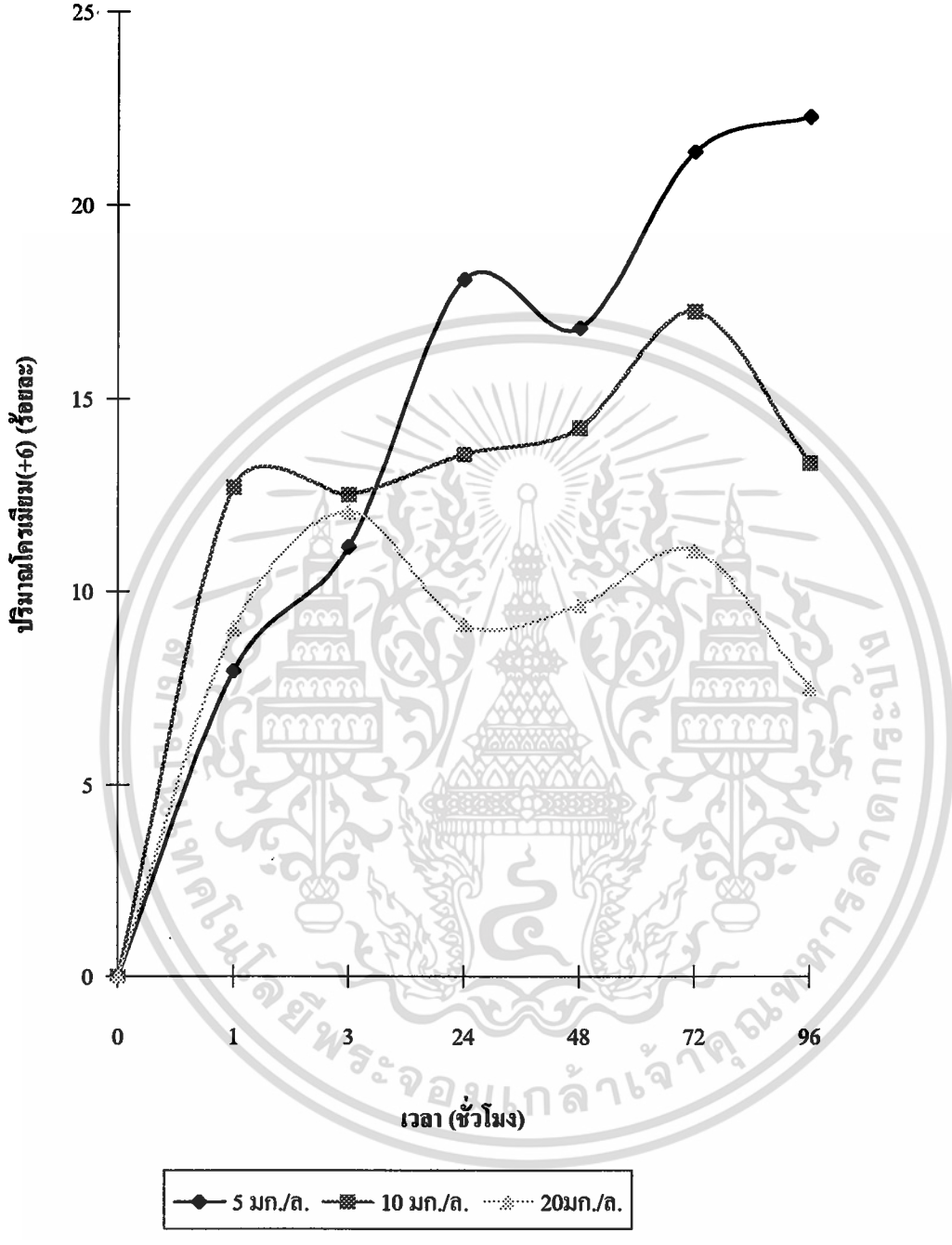
นำเซลล์ยีสต์ *S. cerevisiae* มาใช้ในการดูดซับโครเมียม (+6) ในสารละลายโครเมียมที่มีความเข้มข้น 5,10 และ 20 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งได้ผลดังแสดงในตารางที่ 4.2 และรูปที่ 4.2

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

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

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.2 กราฟแสดงปริมาณโครเมียม (+6) ที่ดูดซับได้เมื่อใช้ความเข้มข้นเริ่มต้นของสารละลายโครเมียมต่างกัน

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

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

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

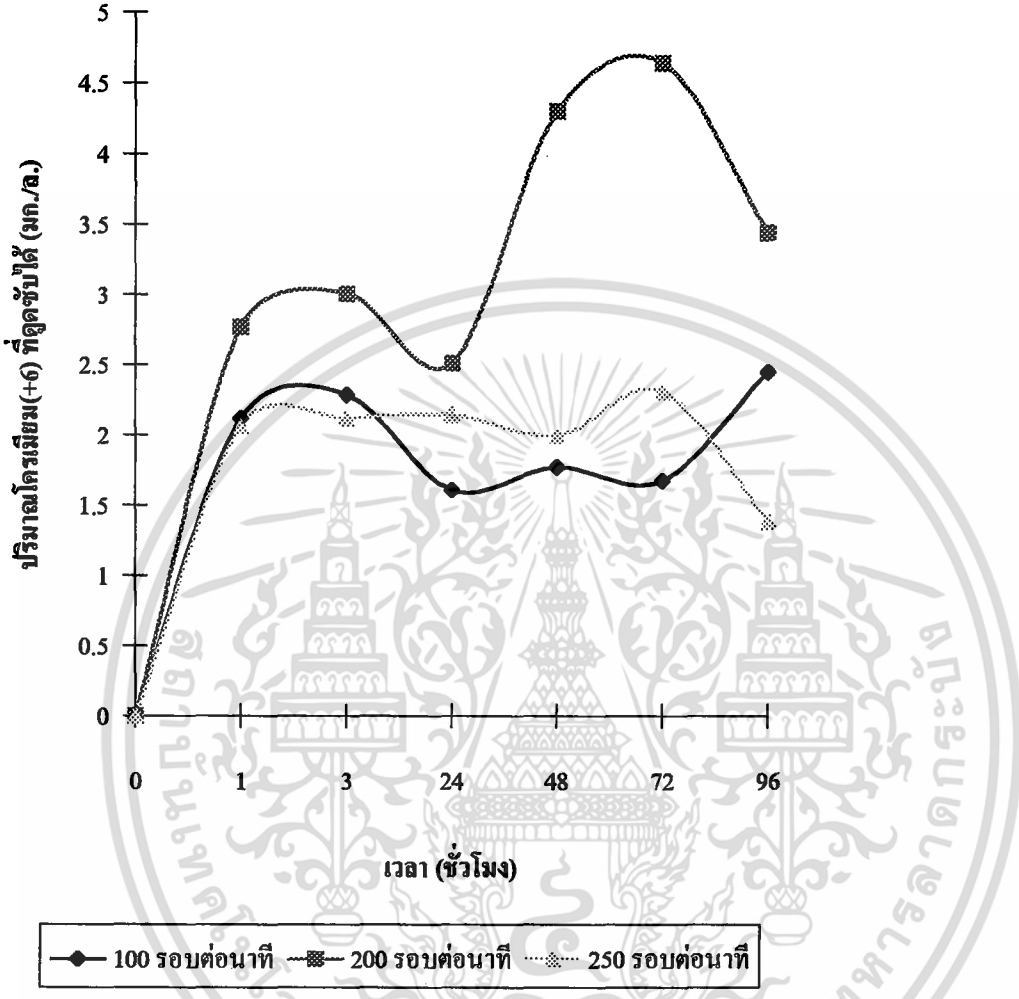
นำเอาเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* มาทดสอบดูดซับโครเมียม (+6) ในสารละลายโครเมียมเข้มข้น 20 มิลลิกรัมต่อลิตร แล้วนำไปวางไว้บนเครื่องเขย่า 100,200 และ 250 รอบต่อนาที ซึ่งได้ผลดังแสดงในตารางที่ 4.3 และรูปที่ 4.3

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

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

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.3 กราฟแสดงปริมาณโครเมียมที่ดูดซับได้โดย *S. cerevisiae* เมื่อมีอัตราการให้อากาศต่างกัน

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5
สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

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

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

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

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

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

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

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

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

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า 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	

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

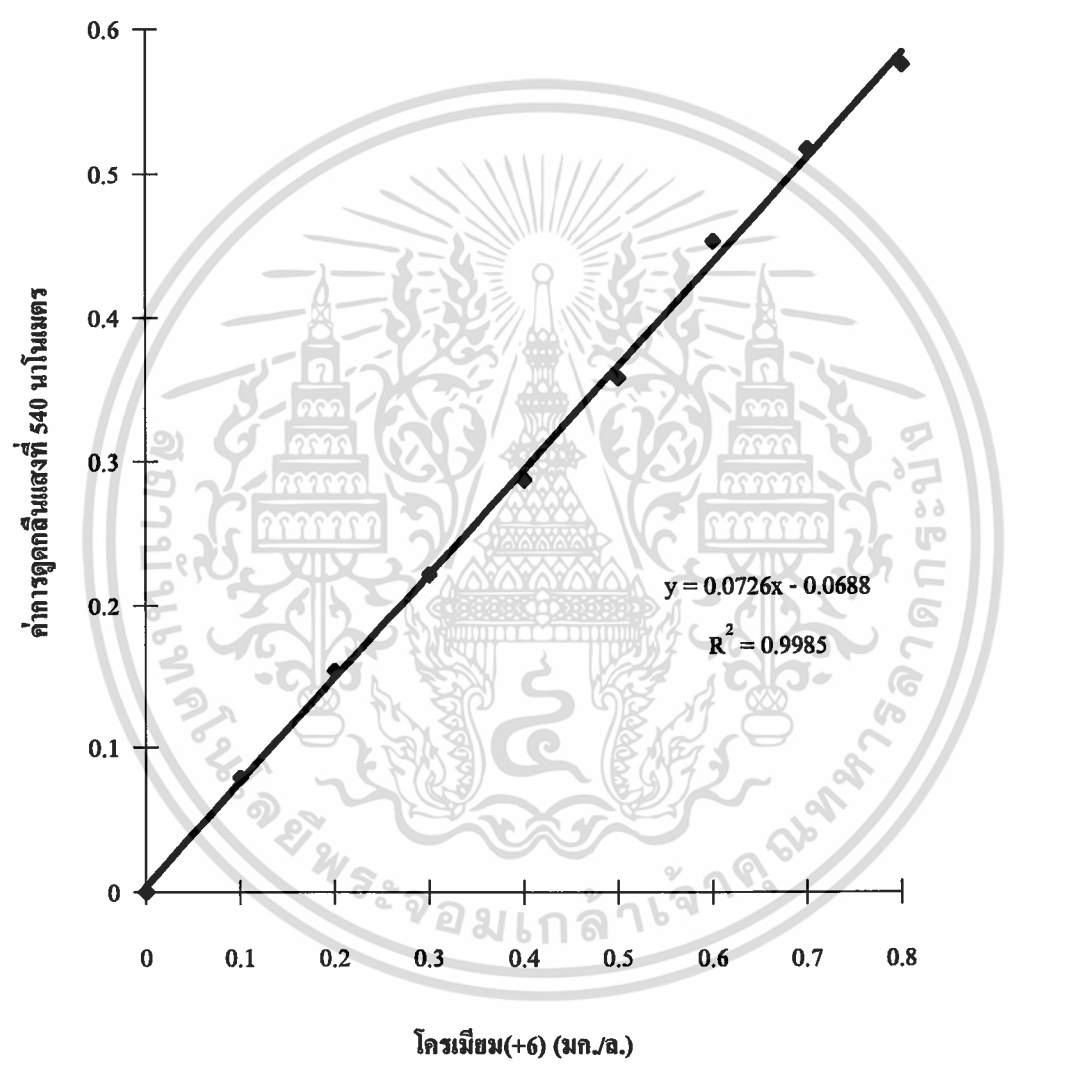
3. สารละลาย Diphenylcarbazide

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

4. สารละลายกรดซัลฟิวริก 2.0 นอร์มอล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค
กราฟมาตรฐานแสดงปริมาณโครเมียม (+6) กันค่าการดูดกลืนแสง



รูปที่ ค1 กราฟมาตรฐานแสดงปริมาณโครเมียม (+6) กับค่าการดูดกลืนแสง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ง
ตารางแสดงข้อมูลผลการทดลอง

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

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

หมายเหตุ - คือ ไม่ได้เก็บตัวอย่างในชั่วโมงนั้น

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

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

หมายเหตุ - คือ ไม่ได้เก็บตัวอย่างในชั่วโมงนั้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

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

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

หมายเหตุ - คือ ไม่ได้เก็บตัวอย่างในชั่วโมงนั้น

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

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

หมายเหตุ - คือ ไม่ได้เก็บตัวอย่างในชั่วโมงนั้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

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

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

หมายเหตุ - คือ ไม่ได้เก็บตัวอย่างในชั่วโมงนั้น

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

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

หมายเหตุ - คือ ไม่ได้เก็บตัวอย่างในชั่วโมงนั้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

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

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

หมายเหตุ - คือ ไม่ได้เก็บตัวอย่างในชั่วโมงนั้น

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

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

หมายเหตุ - คือ ไม่ได้เก็บตัวอย่างในชั่วโมงนั้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

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

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

หมายเหตุ - คือ ไม่ได้เก็บตัวอย่างในชั่วโมงนั้น

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

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

หมายเหตุ - คือ ไม่ได้เก็บตัวอย่างในชั่วโมงนั้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก จ.
การวิเคราะห์ทางสถิติ

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

ตารางที่ จ1 แสดงการวิเคราะห์ทางสถิติของการคัดเลือกสายพันธุ์

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

หมายเหตุ * แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 0.05

∴ ยีสต์สายพันธุ์ทั้ง 4 สายพันธุ์มีความสามารถในการดูดซับโครเมียม(+6)ได้แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ จ2 แสดงการวิเคราะห์ทางสถิติของความเข้มข้นเริ่มต้นของโครเมียม(+6)

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

หมายเหตุ * แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 0.05

ns ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 0.05

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

ตารางที่ จ3 แสดงการวิเคราะห์ทางสถิติของอัตราการให้อากาศ (ความเร็วรอบในการเขย่า)

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

หมายเหตุ * แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 0.05

ns ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 0.05

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การหา Mutiple comparison test โดยวิธี Duncan

เป็นการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยทรีทเมนต์เป็นคู่ๆ โดยทำหลังจากวิเคราะห์ความแปรปรวนแล้ว ซึ่งมีวิธีทำดังนี้

- เรียงลำดับค่าเฉลี่ยทรีทเมนต์จากน้อยไปมาก (1,2,3,...)
- คำนวณค่า LSR

$$LSR = SSR \sqrt{(s^2 / r)}$$

เมื่อ SSR เปิดได้จากตารางสถิติ

s^2 = MS of error

r = d.f. ของทรีทเมนต์

- วิเคราะห์ผลโดยเทียบ LSR กับ ผลต่างของทรีทเมนต์ ถ้า ผลต่างของทรีทเมนต์มากกว่า LSR แสดงว่า ทรีทเมนต์คู่นั้นๆ แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

1. การเปรียบเทียบสายพันธุ์

LSR = SSR (0.179)

เปรียบเทียบทรีทเมนต์	4-1	4-2	4-3	3-1	3-1	2-1
SSR (d.f.=15, α=0.05)	3.25	3.16	3.01	3.16	3.01	3.01
LSR	0.582	0.566	0.539	0.566	0.539	0.539

การวิเคราะห์ผล ถ้า 4-1, 4-2, ..., มากกว่า LSR แสดงว่าค่าเฉลี่ยทรีทเมนต์คู่นั้นๆ แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

2. การเปรียบเทียบความเข้มข้นเริ่มต้น

LSR = SSR (2.31)

เปรียบเทียบทรีทเมนต์	3-1	3-1	2-1
SSR (d.f.=15, α=0.05)	3.30	3.15	3.15
LSR	7.623	7.277	7.277

การวิเคราะห์ผล ถ้า 3-1, 3-2, ..., มากกว่า LSR แสดงว่าค่าเฉลี่ยทรีทเมนต์คู่นั้นๆ แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. <u>การเปรียบเทียบอัตราการให้อากาศ</u>

LSR = SSR (0.428)

เปรียบเทียบทรีทเมนต์	3-1	3-1	2-1
SSR (d.f.=15, α=0.05)	3.30	3.15	3.15
LSR	1.412	1.348	1.348

การวิเคราะห์ผล ถ้า 3-1, 3-2, ..., มากกว่า LSR แสดงว่าค่าเฉลี่ยทรีทเมนต์คู่นั้นๆ แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้