



## รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

การผลิตเอนไซม์ตรึงสำหรับประยุกต์ใช้ในการกำจัดโครเมียม  
จากน้ำทิ้งในกระบวนการฟอกหนัง

Construction of an immobilized enzyme for application in  
chromium removal from tannery wastewater

โดย

รองศาสตราจารย์ ดร.จิตติมา เจริญพานิช

โครงการวิจัยประเภทงบประมาณเงินรายได้  
จากเงินอุดหนุนรัฐบาล (งบประมาณแผ่นดิน)  
ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2561 มหาวิทยาลัยบูรพา

รหัสโครงการ 678928

สัญญาเลขที่ 204/2561

## รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

การผลิตเอนไซม์ตรึงสำหรับประยุกต์ใช้ในการกำจัดโครเมียม  
จากน้ำทิ้งในกระบวนการฟอกหนัง

Construction of an immobilized enzyme for application in  
chromium removal from tannery wastewater

รองศาสตราจารย์ ดร.จิตติมา เจริญพานิช  
คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

## กิติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยเรื่อง “การผลิตเอนไซม์ตรึงสำหรับประยุกต์ใช้ในการกำจัดโครเมียมจากน้ำทิ้งในกระบวนการฟอกหนัง” สำเร็จลงด้วยดีเนื่องจากได้รับทุนสนับสนุนการวิจัย จากงบประมาณเงินรายได้จากเงินอุดหนุนรัฐบาล (งบประมาณแผ่นดิน) ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2561 มหาวิทยาลัยบูรพา ผ่านสำนักงานคณะกรรมการการวิจัยแห่งชาติ เลขที่สัญญา 204/2561 ผู้วิจัยต้องขอกราบขอบพระคุณมา ณ โอกาสนี้

คณะผู้วิจัย  
ธันวาคม 2561

## บทคัดย่อ

โครงการวิจัยนี้ค้นพบแบคทีเรียสายพันธุ์ใหม่ที่สามารถรีดิวซ์เฮกซาวาเลนซ์โครเมียมหรือ Cr(VI) โดยคัดแยกจากตะกอนทะเลของประเทศไทย และทำการจำแนกสายพันธุ์ได้เป็น *Bacillus megaterium* และ *B. cereus* แบคทีเรียทั้งสองชนิดสามารถรีดิวซ์ Cr(VI) ที่อยู่ในน้ำเสียสังเคราะห์ได้อย่างสมบูรณ์ภายในเวลา 7 วันของการเดินระบบอย่างต่อเนื่องในถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบแบทภาพถ่ายด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดพบว่าผิวของเซลล์แบคทีเรียมีลักษณะหยาบ และมีรูพรุนเมื่ออยู่ในสภาวะที่มี Cr(VI) ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบธาตุด้วยรังสีเอ็กซ์และภาพถ่ายด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่านพบตะกอนของโครเมียมบนผิวและภายในของเซลล์แบคทีเรียทั้งสองชนิด การเปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงของหมู่ฟังก์ชันที่เกิดขึ้นบนผิวของเซลล์แบคทีเรียโดยเทคนิค FTIR ไม่สามารถตรวจพบการเปลี่ยนแปลงบนผิวเซลล์ของ *B. megaterium* ขณะที่บนผิวเซลล์ของ *B. cereus* ตรวจพบการเปลี่ยนแปลงของหมู่ C-O stretching สำหรับอะลิฟาติกเอไมด์เมื่ออยู่ในสภาวะที่มี Cr(VI) เมื่อนำผลการทดลองมาลงโมเดลการดูดซับที่สมมูลพบว่าการดูดซับ Cr(VI) ที่สมมูลของแบคทีเรียทั้งสองชนิดตรงกับไอโซเทอมโมเดลแบบ Freundlich โดยให้ค่า  $R^2 = 0.981$  สำหรับ *B. megaterium* และ  $R^2 = 0.983$  สำหรับ *B. cereus* ในช่วงความเข้มข้นของ Cr(VI) เท่ากับ 10-70 มิลลิกรัมต่อลิตร การวิเคราะห์ค่าจลนศาสตร์ในการกำจัด Cr(VI) ของแบคทีเรียทั้งสองชนิดพบว่าตรงกับโมเดลการรีดักชันแบบ pseudo-second order reduction และพบกลไกการดูดซับ Cr(VI) ของ *B. megaterium* ที่ตรงกับโมเดลแบบ intra-particle diffusion ขณะที่การดูดซับ Cr(VI) ของ *B. cereus* ตรงกับโมเดลแบบ intra-particle diffusion ร่วมกับ pseudo-second order adsorption model และ Boyd plots ผลการทดลองที่ได้แสดงให้เห็นว่า *B. cereus* และ *B. megaterium* สามารถนำมาใช้ในการกำจัด Cr(VI) ที่ปนเปื้อนในน้ำเสียต่อไปในอนาคตได้

**คำสำคัญ** การรีดักชันทางชีวภาพ, เฮกซาวาเลนซ์โครเมียม, การกำจัด Cr(VI), *Bacillus* sp., จลนศาสตร์ของการดูดซับ

## Abstract

The novel Cr(VI)-reducing bacteria identified as a strain of *Bacillus megaterium* and *B. cereus* were isolated from marine sediment in Thailand. The bacteria evidently showed complete reduction of Cr(VI) in synthetic wastewater after 7 days of continuous operation in batch bioreactor. Scanning electron microscopy images of the bacterial cell surfaces showed rough and porous in structure under Cr(VI) treatment. Energy dispersive X-ray spectroscopy and transmission electron microscopy studies revealed the noticeable chromium precipitates on bacterial surfaces and within bacterial inner portions. No significant changes in the surface functional groups of *B. megaterium* were observed from fourier transform infrared spectrometry while the C-O stretching for aliphatic amines was detected on the surface of *B. cereus* after Cr(VI) adsorption. The experimental data of both bacteria well fitted to Freundlich isotherm ( $R^2 = 0.981$  for *B. megaterium* and  $R^2 = 0.983$  for *B. cereus*) for the 10-70 mg/L concentration range. Analysis of kinetic studies indicated that Cr(VI) removal by both bacteria was consistent with the pseudo-second order reduction model with a good correlation coefficient. The mechanism for the Cr(VI) adsorption of *B. megaterium* showed only the fitting of kinetic data with an intra-particle diffusion model while those of *B. cereus* represented the other suitable models (pseudo-second order kinetic model and Boyd plots). These findings suggested that *B. cereus* and *B. megaterium* would be applicable candidate for the treatment of Cr(VI) containing wastewater in the future.

**Keywords:** Bioreduction, Hexavalent chromium, Cr(VI) removal, *Bacillus* sp., Adsorption kinetics

## สารบัญเรื่อง

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	2
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	3
สารบัญเรื่อง	4
สารบัญตาราง	6
สารบัญภาพ	7
คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อที่ใช้ในการวิจัย	9
บทที่	
1 บทนำ	
1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหา	10
1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย	11
2 การทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง	
2.1 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	12
2.1.1 กระบวนการพอกหนัง	12
2.1.2 เฮกซาวาเลนซ์โครเมียม	14
2.1.3 การกำจัดโครเมียม	15
2.1.4 การรีดักชันทางชีวภาพของเฮกซาวาเลนซ์โครเมียมโดยแบคทีเรีย	21
2.2 ขอบเขตของการดำเนินการวิจัย	22
3 ระเบียบวิธีดำเนินการวิจัย	
3.1 การติดตามการรีดักชัน Cr(VI) ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบแบท	23
3.2 การตรวจหาการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพของแบคทีเรียด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน	23
3.3 การวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงของหมู่ฟังก์ชันบนผิวของเซลล์แบคทีเรียด้วยเทคนิค Fourier transform infrared spectroscopy	25
3.4 การวิเคราะห์ปริมาณของ Cr(VI)	25
3.5 การศึกษาการดูดซับที่สภาวะสมดุล	26
3.5.1 Langmuir model	26
3.5.2 Freundlich model	27
3.6 การศึกษาจลนศาสตร์ของการดูดซับ	28
3.6.1 Pseudo-first-order model	28
3.6.2 Pseudo-second-order-model	29
3.6.3 Intra-particle diffusion model	29
3.6.4 Boyd model	30
3.6.5 โมเดลจลนศาสตร์รีดักชัน	30

## สารบัญเรื่อง (ต่อ)

บทที่	หน้า
3	
ระเบียบวิธีดำเนินการวิจัย	
3.6.6 การประมาณค่าความสอดคล้องของผลการทดลองกับโมเดลที่ทำการศึกษา	31
4	
ผลการวิจัยและอภิปรายผลการวิจัย	
4.1 การรีดักชัน Cr(VI) ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบแบท	32
4.2 การตรวจหาการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพของแบคทีเรียด้วย กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน	37
4.3 การวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงของหมู่ฟังก์ชันบนผิวของเซลล์แบคทีเรียด้วย เทคนิค Fourier transform infrared spectroscopy	39
4.4 การศึกษาไอโซเทอมของการดูดซับ	42
4.4.1 Langmuir model	42
4.4.2 Freundlich model	42
4.5 การศึกษาจลนศาสตร์ของการดูดซับ	45
4.5.1 Pseudo-first-order adsorption model	45
4.5.2 Pseudo-second-order adsorption model	47
4.5.3 Intra-partical diffusion model	50
4.5.4 Boyd model	50
4.5.5 Reduction kinetic model	55
5	
สรุปผลการวิจัย	58
บรรณานุกรม	59
ภาคผนวก	68
1 กราฟมาตรฐานของ Cr(VI) และ $K_2Cr_2O_7$ เมื่อวิเคราะห์ด้วยวิธี 1,5-diphenylcarbazide	69
ประวัติและผลงานของผู้วิจัย	70

## สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
1 Cr(VI) ที่ใช้ในอุตสาหกรรมต่างๆ	15
2 สารดูดซับทางชีวภาพที่ใช้ในการกำจัด Cr(VI)	17
3 การดูดซับ Cr(VI) โดยจุลินทรีย์	18
4 ค่าความถี่ที่ใช้ในการรีดักชัน Cr(VI) ของ <i>B. megaterium</i> และ <i>B. cereus</i> เมื่อวิเคราะห์โดยเทคนิค FTIR เทียบกับเมื่อไม่เกิดการรีดักชัน	41
5 ค่าพารามิเตอร์ของไอโซเทอมโมเดลแบบ Langmuir ที่หาได้จากการดูดซับ Cr(VI) ของ <i>B. megaterium</i> และ <i>B. cereus</i>	43
6 ค่าพารามิเตอร์ของไอโซเทอมโมเดลแบบ Freundlich ที่หาได้จากการดูดซับ Cr(VI) ของ <i>B. megaterium</i> และ <i>B. cereus</i>	44
7 ค่าคงที่ทางจลนศาสตร์ของ Pseudo-first-order adsorption model สำหรับการดูดซับ Cr(VI) ด้วย <i>B. megaterium</i> และ <i>B. cereus</i>	45
8 ค่าคงที่ทางจลนศาสตร์ของ Pseudo-second-order adsorption model สำหรับการดูดซับ Cr(VI) ด้วย <i>B. megaterium</i> และ <i>B. cereus</i>	49
9 ค่าคงที่ทางจลนศาสตร์ของ Intra-particle diffusion model สำหรับการดูดซับ Cr(VI) ด้วย <i>B. megaterium</i>	53
10 ค่าคงที่ทางจลนศาสตร์ของ Intra-particle diffusion model สำหรับการดูดซับ Cr(VI) ด้วย <i>B. cereus</i>	53
11 ค่าคงที่ทางจลนศาสตร์ของ Reduction kinetic model สำหรับการดูดซับ Cr(VI) ด้วย <i>B. megaterium</i> และ <i>B. cereus</i>	55



## สารบัญญภาพ

ภาพที่	หน้า
1 กลไกในการรีดักชัน Cr(VI) ของแบคทีเรียในสภาวะที่มีและไม่มีออกซิเจน	22
2 ภาพจำลองถึงปฏิกรณ์ชีวภาพแบบแบทที่ใช้ในการวิจัย	24
3 ผลของปริมาณหัวเชื้อตั้งต้นต่อการเจริญและการรีดิวซ์ Cr(VI) ของ <i>B. megaterium</i>	32
4 ผลของปริมาณหัวเชื้อตั้งต้นต่อเจริญและการรีดิวซ์ Cr(VI) ของ <i>B. cereus</i>	33
5 การรีดิวซ์ Cr(VI) ของ <i>B. megaterium</i> ที่ความเข้มข้นของโครเมียมต่างกัน	34
6 การเจริญและการรีดิวซ์ Cr(VI) ของ <i>B. cereus</i> ที่ความเข้มข้น Cr(VI) ต่างกัน	34
7 ผลของความเร็วมอเตอร์ในการกวนต่อการรีดิวซ์ Cr(VI) ของ <i>B. megaterium</i>	35
8 ผลของความเร็วยกต่อการเจริญและการรีดิวซ์ Cr(VI) ของ <i>B. cereus</i>	35
9 การเดินระบบแบบต่อเนื่องเพื่อติดตามการรีดิวซ์ Cr(VI) ของ <i>B. megaterium</i>	36
10 การเดินระบบแบบต่อเนื่องเพื่อติดตามการรีดิวซ์ Cr(VI) ของ <i>B. cereus</i>	36
11 ภาพถ่ายจากการวิเคราะห์ SEM และผลการวิเคราะห์ห่ออะตอมธาตุของ <i>B. megaterium</i> ก่อนทำการดูดซับและหลังการดูดซับด้วย Cr(VI)	37
12 ภาพถ่ายจากการวิเคราะห์ SEM และผลการวิเคราะห์ห่ออะตอมธาตุของ <i>B. cereus</i> ก่อนทำการดูดซับและหลังการดูดซับด้วย Cr(VI)	38
13 ภาพถ่ายจากการวิเคราะห์ TEM ของ <i>B. megaterium</i> ก่อนและหลังการเลี้ยงในสภาวะที่มี Cr(VI)	38
14 ภาพถ่ายจากการวิเคราะห์ TEM ของ <i>B. cereus</i> ก่อนและหลังการเลี้ยงในสภาวะที่มี Cr(VI)	39
15 สเปกตรัมของเซลล์ <i>B. megaterium</i> ก่อนและหลังการเลี้ยงในสภาวะที่มี Cr(VI) เมื่อวิเคราะห์ด้วยเทคนิค FTIR	40
16 สเปกตรัมของเซลล์ <i>B. cereus</i> ก่อนและหลังการเลี้ยงในสภาวะที่มี Cr(VI) เมื่อวิเคราะห์ด้วยเทคนิค FTIR	40
17 ไอโซเทอมโมเดลแบบ Langmuir ของการดูดซับ Cr(VI) ด้วย <i>B. megaterium</i> และ <i>B. cereus</i>	43
18 ไอโซเทอมโมเดลแบบ Freundlich ของการดูดซับ Cr(VI) ด้วย <i>B. megaterium</i> และ <i>B. cereus</i>	44
19 กราฟจลนศาสตร์แบบ Pseudo-first-order adsorption model สำหรับการดูดซับ Cr(VI) ด้วย <i>B. megaterium</i> และ <i>B. cereus</i>	46
20 กราฟจลนศาสตร์แบบเส้นตรงของ Pseudo-first-order adsorption model สำหรับการดูดซับ Cr(VI) ด้วย <i>B. megaterium</i> และ <i>B. cereus</i>	47
21 กราฟจลนศาสตร์แบบ Pseudo-second-order adsorption model สำหรับการดูดซับ Cr(VI) ด้วย <i>B. megaterium</i> และ <i>B. cereus</i>	48

## สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่	หน้า	
22	กราฟจลนศาสตร์แบบเส้นตรงของ Pseudo-second-order adsorption model สำหรับการดูดซับ Cr(VI) ด้วย <i>B. megaterium</i> และ <i>B. cereus</i>	49
23	กราฟจลนศาสตร์แบบ Intra-particle diffusion สำหรับการดูดซับ Cr(VI) ด้วย <i>B. megaterium</i> และ <i>B. cereus</i>	51
24	กราฟจลนศาสตร์แบบเส้นตรงของ Intra-particle diffusion model สำหรับการดูดซับ Cr(VI) ด้วย <i>B. megaterium</i> และ <i>B. cereus</i>	52
25	กราฟจลนศาสตร์แบบเส้นตรงของ Boyd model สำหรับการดูดซับ Cr(VI) ด้วย <i>B. megaterium</i> และ <i>B. cereus</i>	54
26	กราฟจลนศาสตร์แบบเส้นตรงของ Pseudo-first-order reduction model สำหรับการดูดซับ Cr(VI) ด้วย <i>B. megaterium</i> และ <i>B. cereus</i>	57
27	กราฟจลนศาสตร์แบบเส้นตรงของ Pseudo-second-order reduction model สำหรับการดูดซับ Cr(VI) ด้วย <i>B. megaterium</i> และ <i>B. cereus</i>	58

## คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อที่ใช้ในการวิจัย

<	=	น้อยกว่า
±	=	บวกหรือลบ
%	=	ร้อยละ
°C	=	องศาเซลเซียส
cm <sup>-1</sup>	=	ต่อเซนติเมตร
g	=	กรัม
g/L	=	กรัมต่อลิตร
h	=	ชั่วโมง
kV	=	กิโลโวลต์
L	=	ลิตร
L/mg	=	ลิตรต่อมิลลิกรัม
M	=	โมลาร์
min	=	นาที
mg/g	=	มิลลิกรัมต่อกรัม
mg/L	=	มิลลิกรัมต่อลิตร
mL/min	=	มิลลิลิตรต่อนาที
nM	=	นาโนเมตร
OD	=	Optical density
Pa	=	ปาสคาล
pH	=	ค่าความเป็นกรด-ด่าง, ค่าพีเอช
ppm	=	ส่วนในล้านส่วน
R <sup>2</sup>	=	Regression coefficient
rpm	=	ความเร็วรอบต่อนาที

# บทที่ 1

## บทนำ

### 1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหา

การฟอกหนัง (Tanning) คือกระบวนการเตรียมพื้นผิวของหนังสัตว์ให้พร้อมก่อนที่จะนำมาผลิตเป็นเครื่องหนัง ซึ่งเป็นหนึ่งในอุตสาหกรรมที่เก่าแก่ที่สุดในโลกและรองรับความต้องการของประชากรในทุกภาคส่วน เมื่อจำนวนประชากรเพิ่มสูงขึ้นส่งผลให้การใช้นหนังฟอกนั้นมีความต้องการเพิ่มสูงขึ้นด้วย จึงนำไปสู่การขยายตัวของกิจการฟอกหนังจากกิจการระดับเล็กไปสู่อุตสาหกรรมระดับใหญ่ขึ้นสำหรับประเทศไทยที่จัดเป็น 1 ใน 4 ของประเทศที่มีการส่งออกหนังฟอกและผลิตภัณฑ์ที่ทำจากเครื่องหนังมากที่สุดในโลก (Ramanujam et al., 2009) ประกอบกับนโยบายของภาครัฐที่ส่งเสริมให้ประเทศไทยเป็นเมืองแฟชั่นเสื้อผ้าและเครื่องแต่งกาย ทำให้อุตสาหกรรมเครื่องหนังมีกำลังขยายตัวเพิ่มขึ้นด้วย จึงไม่สามารถหลีกเลี่ยงกับปัญหามลพิษที่จะตามมาได้ ในกระบวนการฟอกหนังเริ่มจากวัตถุดิบที่เป็นหนังเค็ม (หนังแช่เกลือ) ผ่านขบวนการต่างๆ จนได้เป็นหนังสำเร็จพร้อมส่งจำหน่ายได้นั้นจำเป็นต้องมีการใช้วัตถุดิบเคมีภัณฑ์ พลังงาน และน้ำเป็นจำนวนมาก ที่กลายเป็นของเสียที่ทำให้เกิดปัญหาสิ่งแวดล้อม เช่น น้ำเสีย อากาศเสีย และกากของเสียจากการผลิต โดยพบว่าปัญหาหลักของโรงงานฟอกหนังคือ น้ำเสียที่มีโลหะหนักจากการฟอกโครมปนเปื้อนและกลิ่นเหม็นที่ยังไม่สามารถแก้ไขได้อย่างเป็นการถาวร (Khan et al., 1999)

โครเมียม (Chromium) เป็นหนึ่งในสารปนเปื้อนหลักที่พบในน้ำทิ้งจากกระบวนการฟอกหนัง และยังคงต้องได้รับการกำจัดด้วยวิธีเฉพาะ โดยรูปเสถียรของโครเมียมที่พบการปนเปื้อนสูงที่สุดในน้ำทิ้งจากกระบวนการฟอกหนัง ได้แก่ ไทรวาเลนซ์โครเมียม (trivalent chromium) หรือ Cr(III) ที่สามารถละลายน้ำได้น้อย มีความเป็นพิษน้อยกว่า และเป็นที่ยอมรับว่า Cr(III) ในปริมาณต่ำ จะเป็นสารอาหารที่สำคัญสำหรับการเจริญและเมแทบอลิซึมของจุลินทรีย์ (Xu et al., 2013) และเฮกซะวาเลนซ์โครเมียม (hexavalent chromium) หรือ Cr(VI) ที่จัดเป็นสารอันตรายเนื่องจากเป็นสารก่อมะเร็ง (carcinogen) และสารมิวทาเจน (mutagen) สำหรับสิ่งมีชีวิต นอกจากนี้ยังสามารถละลายน้ำได้ในทุกค่าพีเอชทำให้พบการตกค้างในสิ่งแวดล้อมที่หลากหลายได้ (Megharaj et al., 2003; Mohanty et al., 2006) ซึ่งเคยมีรายงานของ USEPA พบการปนเปื้อนของ Cr(VI) ในน้ำทิ้งจากกระบวนการฟอกหนังปริมาณสูงถึง 0.05 มิลลิกรัมต่อลิตร (Laxman & More, 2002) ซึ่งโรงงานฟอกหนังทุกแห่งจำเป็นต้องยังที่ จะต้องทำการกำจัดโครเมียมในน้ำทิ้งก่อนปล่อยสู่สิ่งแวดล้อมต่อไป (Cronje et al., 2011)

การกำจัดโครเมียมในอดีต นิยมทำโดยการเติมสารเคมีให้เกิดการตกตะกอน (chemical precipitation) หรือการแยกโดยใช้เมมเบรน (membrane based separation) หรือ เรซินแลกเปลี่ยนไอออน (ion exchange resin) แต่วิธีเหล่านี้ก็ยังไม่สามารถกำจัดโครเมียมได้อย่างสมบูรณ์ รวมทั้งเกิดการผลิตกากตะกอนที่มีความเป็นพิษ และใช้ต้นทุนในการกำจัดที่สูงอีกด้วย เนื่องจากการเกิดปฏิกิริยารีดักชัน (chemical reduction) ของ Cr(VI) เป็น Cr(III) นั้นต้องใช้สารเคมีในปริมาณสูง ส่วนการแยกโดยใช้เมมเบรนและกระบวนการแลกเปลี่ยนไอออนต้องใช้เครื่องมือที่มีต้นทุนสูงและ

คณงานที่มีประสพการณ (Eckenfedler, 1989; Philip et al., 1998; Liu et al., 2010) ด้วยเหตุนี้ การพัฒนาวิธีการกำจัดโครเมียมที่มีประสพธิภาพและเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อมจึงเป็นประเด็นที่ได้รับความสนใจเพิ่มมากขึ้น

การประยุกต์ใช้จุลินทรีย์ในการกำจัดโลหะหนักที่ปนเปื้อนมากับน้ำทิ้งเป็นอีกวิธีหนึ่งที่กำลังได้รับความสนใจ ซึ่งมีรายงานยืนยันแล้วว่าจุลินทรีย์สามารถปรับตัวเพื่อการเจริญได้ในสภาวะที่มีโลหะหนัก และจะป้องกันตัวเองจากพิษของโลหะหนักผ่านการเปลี่ยนรูปโลหะหนักนั้นให้เป็นสารที่มีพิษน้อยลงด้วยปฏิกิริยารีดักชัน (reduction) ออกซิเดชัน (oxidation) หรือการตกตะกอน (precipitation) (Wang & Shen, 1995) ซึ่งเคยมีรายงานพบแบคทีเรียหลายชนิดที่สามารถรีดิวส์ Cr(VI) เป็น Cr(III) ที่มีความเป็นพิษน้อยลงได้ (Wang & Shen, 1995; Shen & Wang, 1995; Laxman & More, 2002) จากการทำงานของเอนไซม์โครเมตรีดักเตส (chromate reductase) ที่อยู่ในเซลล์สังอเล็กตรอนจาก NADH หรือ NADPH ให้โครเมท (Bopp & Elrich, 1988; Wang & Shen, 1997; Philip et al., 1998; Murugavelh & Mohanty, 2012) ซึ่งการใช้แบคทีเรียกำจัดโครเมียมมีข้อดีเหนือการใช้สารเคมีกำจัดคือ สามารถกำจัดได้อย่างสมบูรณ์แม้ปริมาณของโครเมียมที่พบจะมีเพียงเล็กน้อย ซึ่งการใช้สารเคมีกำจัดไม่สามารถทำได้ นอกจากนี้ การใช้สารเคมีกำจัดโครเมียมนั้นจำเป็นต้องมีการปรับค่าพีเอชของน้ำทิ้งให้มีความเป็นกรด (ค่าพีเอช 2 หรือ 3) ขณะที่การใช้แบคทีเรียกำจัดโครเมียมสามารถดำเนินการได้ในช่วงค่าพีเอชใกล้เคียงความเป็นกลาง ที่ไม่ทำให้เกิดปัญหาการตกค้างของน้ำทิ้งที่มีความเป็นกรดลงสู่สิ่งแวดล้อมต่อไป (Shen & Wang, 1995; Murugavelh & Mohanty, 2012) จากข้อเท็จจริงข้างต้น ทำให้โครงการวิจัยนี้สนใจที่จะคัดแยกแบคทีเรียที่มีศักยภาพในการกำจัดโครเมียมผ่านการทำงานของเอนไซม์โครเมตรีดักเตส เพื่อนำมาผลิตเป็นผงจุลินทรีย์หรือเอนไซม์ตรึงที่มีศักยภาพสูงในการกำจัดโครเมียม เป็นองค์ความรู้ใหม่ที่สามารถถ่ายทอดให้ภาคอุตสาหกรรมฟอกหนังนำมาพัฒนาต่อยอดและใช้ในการบำบัดน้ำทิ้งที่เกิดขึ้นต่อไป จากความสำเร็จในการดำเนินการวิจัยในปีที่ 1 ที่สามารถคัดแยกแบคทีเรียสกุล *Bacillus* สามสายพันธุ์ ที่มีประสพธิภาพในการกำจัดโครเมียมและทราบสภาวะที่เหมาะสมในการเลี้ยงเจริญเพื่อให้แบคทีเรียที่คัดแยกได้แสดงศักยภาพในการกำจัดโครเมียมสูงที่สุด ทำให้การดำเนินการวิจัยในปีที่ 2 ซึ่งเป็นปีสุดท้าย จะสนใจไปที่การทำความเข้าใจกลไกการกำจัดโครเมียมที่เกิดขึ้นภายในเซลล์ของแบคทีเรียดังกล่าว ผ่านการศึกษาการเปลี่ยนแปลงเชิงเคมีบนผิวและภายในเซลล์ ร่วมกับจลนศาสตร์ของการกำจัดโครเมียมในระดับห้องปฏิบัติการ โดยใช้ตัวอย่างของไหลสังเคราะห์ที่มีองค์ประกอบคล้ายน้ำทิ้งจากกระบวนการฟอกหนังเป็นน้ำทิ้งต้นแบบ และใช้แบคทีเรียสองในสามสายพันธุ์คือ *B. megaterium* และ *B. cereus* เป็นโมเดลในการศึกษา เพื่อที่จะนำข้อมูลที่ได้ไปทำการออกแบบระบบบำบัดโครเมียมจากน้ำทิ้งในกระบวนการอุตสาหกรรมต่อไปในอนาคต

## 1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย (ปีที่ 2 ปีงบประมาณ พ.ศ. 2561)

เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงเชิงเคมีที่เกิดขึ้นบนผิวและภายในเซลล์ของแบคทีเรีย ร่วมกับการศึกษาจลนศาสตร์ของการกำจัดโครเมียมของแบคทีเรียที่คัดแยกได้ในระดับห้องปฏิบัติการ โดยใช้ตัวอย่างของไหลสังเคราะห์ที่มีองค์ประกอบคล้ายน้ำทิ้งจากกระบวนการฟอกหนังเป็นน้ำทิ้งต้นแบบ

## บทที่ 2

### การทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

#### 2.1 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

##### 2.1.1 กระบวนการฟอกหนัง

การฟอกหนัง (Tanning) คือกระบวนการเตรียมพื้นผิวของหนังสัตว์ให้พร้อมก่อนที่จะนำมาผลิตเป็นเครื่องหนัง ซึ่งเป็นหนึ่งในอุตสาหกรรมที่เก่าแก่ที่สุดในโลกและรองรับความต้องการของประชากรในทุกภาคส่วน เมื่อจำนวนประชากรเพิ่มสูงขึ้นส่งผลให้การใช้หนังฟอกนั้นมีความต้องการเพิ่มสูงขึ้นด้วย จึงนำไปสู่การขยายตัวของกิจการฟอกหนังจากกิจการระดับเล็กไปสู่อุตสาหกรรมระดับใหญ่ขึ้น สำหรับประเทศไทยที่จัดเป็น 1 ใน 4 ของประเทศที่มีการส่งออกหนังฟอกและผลิตภัณฑ์ที่ทำจากเครื่องหนังมากที่สุดในโลก (Ramanujam et al., 2009) ประกอบกับนโยบายของภาครัฐที่ส่งเสริมให้ประเทศไทยเป็นเมืองแฟชั่นเสื้อผ้าและเครื่องแต่งกาย ทำให้อุตสาหกรรมเครื่องหนังมีกำลังขยายตัวเพิ่มขึ้นด้วย จึงไม่สามารถหลีกเลี่ยงกับปัญหามลพิษที่จะตามมาได้ ในกระบวนการฟอกหนังเริ่มจากวัตถุดิบที่เป็นหนังเค็ม (หนังแช่เกลือ) ผ่านขบวนการต่างๆ จนได้เป็นหนังสำเร็จพ่นสีที่พร้อมส่งจำหน่ายได้นั้นจำเป็นต้องมีการใช้วัตถุดิบเคมีภัณฑ์ พลังงาน และน้ำเป็นจำนวนมาก ที่กลายเป็นของเสียที่ทำให้เกิดปัญหาสิ่งแวดล้อม เช่น น้ำเสีย อากาศเสีย และกากของเสียจากการผลิต โดยพบว่าปัญหาหลักของโรงงานฟอกหนังคือ น้ำเสียที่มีโลหะหนักจากการฟอกโครมปนเปื้อนและกลิ่นเหม็นที่ยังไม่สามารถแก้ไขได้อย่างเป็นการถาวร (Khan et al., 1999)

กระบวนการฟอกหนังสามารถแบ่งออกได้เป็น 3 ขั้นตอนหลัก คือ

(1) การเตรียมหนังก่อนฟอก (beam house process) ที่จะต้องมีการกำจัดส่วนที่ไม่ต้องการ เช่น ขนสัตว์ เศษหนัง และคราบไขมันออกจากหนังดิบก่อน เพื่อเตรียมหนังดิบให้อยู่ในสภาพที่พร้อมจะฟอก ในขั้นตอนนี้จะมีการแช่น้ำปูน กัดขนออกด้วยซัลไฟด์หรือเอนไซม์โปรติเอส (proteolytic enzymes) ขูดพังผืด แล่หนัง ล้างน้ำปูน และบ่มหนังในน้ำยาที่มีสารต้านการเจริญของแบคทีเรียและเชื้อรา ที่นิยมใช้ได้แก่ ไดไทโอคาร์บาเมต (dithiocarbamate) หรือ 2-(ไทโอไฮยาโนเมทิลไทโอ) เบนโซไทอะโซล (2-(thiocyanomethylthio) benzothiazole) เป็นระยะเวลา 6 ชม. ถึง 12 วัน ทำให้ในขั้นตอนนี้มีการปล่อยน้ำทิ้งที่มีฤทธิ์เป็นด่างอย่างแรงที่มีสิ่งเจือปนที่เป็นสารจำพวกโปรตีนและไขมัน ขนสัตว์ ตลอดจนสารเคมีที่ใช้ในขั้นตอน เช่น ปูนขาว สารลดแรงตึงผิว (surfactant) แอมโมเนียม (ammonium) อัลคาไลน์ (alkaline) ซัลไฟด์ (sulfide) และยาฆ่าเชื้อ เป็นต้น ออกมากับน้ำทิ้ง

(2) การฟอก (tanning process) คือการเปลี่ยนสภาพหนังสัตว์ดิบซึ่งเน่าเปื่อยได้ไปเป็นหนังสำเร็จที่มีความคงตัวกว่า ไม่เน่าเปื่อย และมีความทนทานต่อสภาพอากาศและน้ำร้อน ซึ่งในขั้นตอนนี้มีการใช้สารเคมีบางชนิด ได้แก่ ฝาด (vegetable tanning) โครเมียม (chrome tanning) ร่วมกับเอนไซม์โปรติเอส และสารเคมีอื่นๆ เข้าไปทำปฏิกิริยากับโปรตีนคอลลาเจน (collagen) ในหนัง (Rao et al., 2002; Sundar et al., 2011) ซึ่งเคยมีรายงานว่ามีการเติมสารเคมีลงไป ในขั้นตอนนี้ประมาณ 300 กิโลกรัมต่อหนังดิบ 1 ตันเลยทีเดียว (Verheijen et al., 1996) โดย

กระบวนการฟอกหนังด้วยโครเมียมหรือที่เรียกว่าการฟอกโครมนั้น เป็นวิธีที่ได้รับความนิยมมากกว่า การฟอกฝาดที่ใช้แทนนิน (tannin) หรือสารสังเคราะห์ที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อมเป็นตัวฟอก เนื่องจาก ใช้เวลาสั้น สารเคมีราคาถูก และหนังที่ผ่านการฟอกโดยวิธีนี้ยังทนต่อความร้อนและความชื้นได้ดีกว่า ซึ่งเคยมีรายงานพบว่าร้อยละ 90 ของอุตสาหกรรมฟอกหนังใช้วิธีการฟอกโครมในขั้นตอนนี้ (Ramanujam et al., 2009) แต่ไม่ว่าการฟอกหนังจะดำเนินการโดยวิธีใด ก็มีความจำเป็นที่จะต้อง ทำการดองกรดเสียก่อนเพื่อปรับค่าพีเอชให้เหมาะสมกับปฏิกิริยาการฟอกหนัง และสารเคมีทั่วไปที่ นิยมใช้ในขั้นตอนนี้คือ เกลือแกง กรดกำมะถัน และกรดฟอร์มิก (formic acid) ที่มีค่าพีเอชประมาณ 3.5-4.0 ประกอบกับในระหว่างการฟอกอาจมีการเติมสารเคมีพิเศษ เช่น สารซักฟอกหรือสารช่วย ตรึงโครเมียม ลงไปในระหว่างการดองกรด เพื่อให้หนังจับโครเมียมได้ดีขึ้นและเพื่อลดปริมาณ โครเมียมในน้ำทิ้งที่เกิดจากกระบวนการฟอกหนัง แต่ทั้งนี้ปริมาณของโลหะหนักโครเมียมที่ยังเหลือ ตกค้างในน้ำทิ้งที่มีความเป็นกรดก็ยังคงอยู่ในระดับที่ค่อนข้างสูงอยู่ เมื่อผ่านขั้นตอนนี้หนังจะถูกรีดน้ำ ทำให้แห้ง เจียรผิวด้วยเครื่องตัดแต่งและคัดเลือกเพื่อเก็บไว้รอจำหน่ายหรือแปรรูปต่อไป

(3) การฟอกซ้ำ ย้อมสี ให้น้ำมัน และการตกแต่งหนัง (finishing process) เป็นขั้นตอนนี้ มักกระทำกับหนังที่ได้มาจากการฟอกโครม โดยทำขึ้นเพื่อปรับปรุงคุณภาพหนังให้เหมาะสมกับความ ต้องการของตลาด ในการนี้สารเคมีที่ใช้อาจเป็นโครเมียม, แทนนิน หรือซินแทน (ซึ่งเป็นสารที่ สังเคราะห์ขึ้น) ก็ได้ (Durai and Rajasimman, 2011) จะเห็นได้ว่าการฟอกหนังเป็นกระบวนการ แปรรูปหนังสัตว์ที่อาศัยน้ำและสารเคมีจำนวนมาก ที่อาจส่งผลให้เกิดการตกค้างของคราบโปรตีน ไขมัน เกลือ สารแขวนลอย สารเคมี หรือโลหะหนัก โดยเฉพาะโครเมียมและซัลไฟด์มากับน้ำทิ้งของ โรงงานปริมาณสูง (Nandy et al., 1999; Uberoi, 2003) สำหรับประเทศไทยเคยมีรายงานพบการ ตกค้างของสารแขวนลอยและโลหะหนักโครเมียมเฉลี่ยปริมาณ 8,725 และ 13 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ ในน้ำทิ้งรวมจากอุตสาหกรรมฟอกหนัง (กรมโรงงานอุตสาหกรรม, 2549)

การบำบัดทางชีวภาพ เชื่อว่าเป็นวิธีการบำบัดน้ำทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรมที่ดีที่สุดแต่มี ข้อจำกัดในเรื่องของความเสถียรและศักยภาพของแบคทีเรียที่ใช้ในระบบบำบัด (Jawahar et al., 1998; Kadam, 1990; Rajamani et al., 1995) สำหรับน้ำทิ้งจากกระบวนการฟอกหนังนั้น เคยมี รายงานวิจัยถึงการใช้ ระบบบำบัด MSBR (membrane sequencing batch reactor) บำบัดน้ำทิ้ง ที่ได้จากขั้นตอนการเตรียมหนังก่อนฟอกของโรงงานฟอกหนัง โดยเดินระบบต่อเนื่องเป็นระยะเวลา 150 วันและไม่มีการกำจัดกากตะกอนออกระหว่างเดินระบบ พบประสิทธิภาพของระบบในการกำจัด แอมโมเนียรวมเกือบสมบูรณ์ ขณะที่สามารถลดค่า COD (chemical oxygen demand) ได้ร้อยละ 90 และมีประสิทธิภาพในการกำจัดไนโตรเจนรวม (total nitrogen; TN) ในช่วงร้อยละ 60-90 (Goltara et al., 2003) หรือรายงานวิจัยของ Haydar และคณะ ในปี ค.ศ. 2007 ที่ใช้ระบบบำบัดน้ำทิ้งแบบ แอคติเวทเตดสลัดจ์ (activated sludge process) ซึ่งประกอบด้วยแท่งก่อกำเนิดอากาศและถัง ตกตะกอน ที่มีดำเนินการของระบบบำบัดอย่างต่อเนื่องเป็นเวลา 267 วัน บำบัดน้ำทิ้งสังเคราะห์ของ กระบวนการฟอกหนัง พบว่าสามารถลดค่า BOD (biochemical oxygen demand) และ COD ของน้ำทิ้งได้ถึงร้อยละ 90 และ 80 ตามลำดับ ในวันที่ 5 ของการเดินระบบ เป็นต้น

จากปริมาณเกลือสูง (ร้อยละ 1-10 น้ำหนักต่อปริมาตร) ที่พบในน้ำทิ้งจากโรงงานฟอก หนัง ส่งผลต่อประสิทธิภาพของการบำบัดทางชีวภาพน้ำทิ้งจากกระบวนการฟอกหนังด้วยวิธีปกตินั้น (Dhaneshwar, 1990) จึงทำให้แบคทีเรียที่สามารถเจริญได้ในสภาวะที่มีเกลือสูง (salt tolerant bacteria) เป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่สามารถเพิ่มประสิทธิภาพในการบำบัดฯ ได้ ซึ่งเคยมีรายงานถึงการ

ใช้แบคทีเรียทนเกลือทำงานร่วมกับแบคทีเรียธรรมชาติในระบบบำบัดแบบแอกติเวทเตดสลัดจ์ที่ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำทิ้งจากกระบวนการฟอกหนังได้ (Hinteregger and Streichsbier, 1997; Kargi and Uygur, 1997; Kubo et al., 2001; Lefebvre et al., 2005; Moon et al., 2003; Santos et al., 2001; Sivaprakasam et al., 2008) อย่างไรก็ตาม เนื่องจากองค์ประกอบของน้ำทิ้งที่มาจากกระบวนการฟอกหนังนั้น ยังมีคราบโปรตีน ไขมัน สารเคมี และโลหะหนัก โดยเฉพาะโครเมียมในปริมาณสูงที่ส่งผลต่อการเจริญและศักยภาพในการบำบัดของแบคทีเรียหรือเอนไซม์ที่ผลิตจากแบคทีเรียเหล่านี้ปนมาอีกด้วย จึงทำให้นักวิจัยส่วนใหญ่สนใจที่จะหาแบคทีเรียหรือเอนไซม์ที่มีความเสถียรในสภาวะดังกล่าวมาทดลองใช้ในระบบบำบัดน้ำทิ้งจากกระบวนการฟอกหนัง ดังตัวอย่างเช่น รายงานวิจัยของ Pillai และคณะ ในปี ค.ศ. 2011 ที่คัดแยก *Bacillus subtilis* P13 ที่สามารถขับเอนไซม์เซรินโปรติเอส (serine protease) มาใช้กักขังในขั้นตอนการเตรียมหนังก่อนฟอก รวมทั้งใช้ในการบำบัดขนสัตว์ที่ปนเปื้อนมากับน้ำทิ้งที่ได้จากขั้นตอนการเตรียมหนังก่อนฟอก หรือ รายงานวิจัยของ Sivaprakasam และคณะ ในปีเดียวกันที่ทดลองใช้เอนไซม์โปรติเอสทนเกลือที่ผลิตจาก *Pseudomonas aeruginosa* BC1 ความเข้มข้นร้อยละ 2 (ปริมาตรต่อปริมาตร) กำจัดโปรตีนที่ปนเปื้อนมากับน้ำทิ้งของกระบวนการฟอกหนังได้ถึงร้อยละ 75 เมื่อทำการบำบัดเป็นระยะเวลา 6 ชั่วโมง สำหรับการกำจัดโครเมียมออกจากน้ำทิ้งของกระบวนการฟอกหนังนั้น ได้เคยมีรายงานถึงการใช้ *Bacillus subtilis* ที่คัดแยกได้จากดินและน้ำทิ้งในบริเวณใกล้แหล่งอุตสาหกรรมฟอกหนัง กำจัดโครเมียมที่อยู่ในระบบบำบัดได้ถึงร้อยละ 92-98 (Adeel et al., 2012) และการใช้ตัวดูดซับ (adsorbent) เช่น แอกติเวทเตดคาร์บอน (activated carbon) หรือวัสดุธรรมชาติที่ได้ทางการเกษตร เช่น เศษหญ้าและขี้เลื่อย ดูดซับโครเมียมที่ตกค้างในน้ำทิ้งจากกระบวนการฟอกหนัง เป็นต้น (Hamadia et al., 2001; Kadirvelu et al., 2001; Netzer et al., 1974; Ranganathan, 2000; Rao et al., 2002; Valdimir and Danish, 2002; Youssef et al., 2004)

### 2.1.2 เฮกซาวาเลนซ์โครเมียม

โครเมียม (Chromium) เป็นโลหะหนักที่ถูกนำมาใช้อย่างกว้างขวางในกระบวนการอุตสาหกรรมหลายชนิด เช่น การผลิตแผ่นวงจรไฟฟ้า การทำสารถ้อมสีไม้ สีย้อมผ้า และที่นิยมใช้มากที่สุดคืออุตสาหกรรมฟอกหนัง ที่มีการปล่อยโครเมียมปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อมในปริมาณสูงผ่านมากับน้ำทิ้งที่เกิดจากอุตสาหกรรม

เฮกซาวาเลนซ์โครเมียม (Hexavalent chromium; Cr(VI)) เป็นสารประกอบเคมีที่มีโครเมียมในสถานะออกซิเดชัน (oxidation state) เท่ากับ +6 บางครั้งรู้จักในชื่อของโครเมียมไตรออกไซด์ (chromium trioxide) หรือโครเมต (chromate) หรือเกลือไดโครเมต (dichromate salts) ซึ่งไอออนทั้งของโครเมต (สีเหลือง) และไดโครเมต (สีส้ม) จัดเป็นสารออกซิไดส์ที่มีความรุนแรงในสถานะที่มีค่าพีเอชเป็นกรด (Holleman et al., 1945) โดย Cr(VI) เป็นสารที่นิยมนำมาใช้ในอุตสาหกรรมที่หลากหลาย ยกตัวอย่างเช่น การผลิตสี หมึก ยาฆ่าเชื้อรา ยาทาพื้นผิวไม้ และในกระบวนการฟอกหนัง (NIOSH, 1975; NIOSH, 1988) โดยโพแทสเซียมไดโครเมต ( $K_2Cr_2O_7$ ) เป็นรูปของโครเมียมที่นิยมใช้ที่สุดในการผลิตหนังโดยใช้เป็นสารฟอกหนัง (tanning agent) ขณะที่โครเมตนิยมนำมาใช้เป็นสารที่ช่วยในการย้อมติดสีในอุตสาหกรรมสิ่งทอ ตารางที่ 1 แสดงการใช้ Cr(VI) ในอุตสาหกรรมต่างๆ



ตารางที่ 1 Cr(VI) ที่ใช้ในอุตสาหกรรมต่างๆ

รูปแบบของ Cr(VI) ที่ใช้	สูตรโครงสร้าง	การประยุกต์ใช้	เอกสารอ้างอิง
Ammonium dichromate	$(\text{NH}_4)_2\text{Cr}_2\text{O}_7$	การทำพลุ ภาพถ่าย และ สีย้อมสำหรับเครื่องแก้ว และเครื่องหนัง	Bryson, 1996
Barium chromate	$\text{BaCrO}_4$	เม็ดสีในสีทาผนังผิว	Eastaugh et al., 2007
Calcium chromate	$\text{CaCrO}_4$	เม็ดสีในสีทาผนังผิว สารยับยั้งการกัดกร่อน ใช้ใน อุตสาหกรรมการผลิต โครเมียม ในปฏิกิริยา ออกซิเดชัน และในการ ขับแบตเตอรี่	Pohanish, 2008
Chromium trioxide	$\text{CrO}_3$	สีเขียวในสีทาผนังผิว	Walker and Tarn, 1990
Lead chromate	$\text{PbCrO}_4$	สีทาดน	Cornelis et al., 2005
Potassium chromate	$\text{K}_2\text{CrO}_4$	เครื่องพิมพ์ กระบวนการ ผลิตภาพถ่าย และการ ผลิตโครม-เม็ดสี	Pohanish, 2008
Potassium dichromate	$\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$	การพอกหนัง สีทาผนังผิว สิ่งพิมพ์ ภาพถ่าย เม็ดสี ในสีทาเคลือบผิวไม้	US EPA, 2000
Sodium chromate	$\text{Na}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$	อุตสาหกรรมปิโตรเคมี อุตสาหกรรมสิ่งทอ สี เคลือบเนื้อไม้	Anger et al., 2005 Thompson, 1991
Strontium chromate	$\text{SrCrO}_4$	เม็ดสีด้านการกัดกร่อน	Fouassier and Rabek, 1993
Zinc chromate	$\text{ZnCrO}_4$	สารเคลือบสี	Tencer, 2006

### 2.1.3 การกำจัดโครเมียม

โครเมียมเป็นสารเคมีอันตรายที่พบได้ในน้ำทิ้งจากกระบวนการพอกหนังซึ่งมักพบหลักอยู่ในรูปของไทรวาเลนซ์โครเมียมหรือ Cr(III) และเฮกซะวาเลนซ์โครเมียมหรือ Cr(VI) ซึ่งมีรายงานพบว่า Cr(VI) นั้นมีความเป็นพิษมากกว่า Cr(III) ประมาณ 100 เท่า เมื่อได้รับเข้าสู่ร่างกายโดยตรงผ่านการบริโภค และพบรายงานจำนวนมากถึงความเป็นพิษอันตรายร้ายแรงต่อมนุษย์ (Katz and Salem, 1992) ด้วยเหตุนี้การกำจัดโครเมียมอย่างสมบูรณ์จึงเป็นเรื่องที่น่าสนใจ และในปัจจุบันพบวิธีการกำจัดโครเมียมที่นิยมใ้ช้อยู่สองวิธีคือ การกำจัดด้วยปฏิกิริยาทางเคมี ที่ใช้สารเคมีเปลี่ยน

สถานะออกซิเดชันของ Cr(VI) หรือทำให้ตกตะกอน และการกำจัดทางชีวภาพที่ใช้จุลินทรีย์และสารดูดซับทางชีวภาพในการกำจัด (Lofrano et al., 2013)

การกำจัดด้วยปฏิกิริยาทางเคมีเกี่ยวข้องกับปฏิกิริยารีดักชัน Cr(VI) ด้วยสารรีดิวซ์ ซึ่งเป็นวิธีที่นิยมใช้ก่อนการกำจัดทางชีวภาพ ยกตัวอย่างเช่น การใช้ไฮโดรเจนซัลไฟด์ ( $H_2S$ ) ทำปฏิกิริยากับ Cr(VI) เปลี่ยนเป็นโครเมียม (III) ไฮดรอกไซด์ ( $Cr(OH)_3$ ) และซัลเฟอร์ (S) ซึ่ง  $Cr(OH)_3$  ที่ได้จะอยู่ในรูปออกซิเดชัน Cr(III) ที่ละลายน้ำได้ลดลงและตกตะกอนลงมา (Kim et al., 2001) นอกจากนี้ยังมีการใช้สารรีดิวซ์เช่น โซเดียมไดไทโอไนต์ ( $Na_2S_2O_4$ ) (Fruchter et al., 2000) โซเดียมเมทาไบซัลไฟต์ ( $NaHSO_3$ ) แคลเซียมเมทาไบซัลไฟต์ ( $CaHSO_3$ ) และแคลเซียมโพลีซัลไฟต์ ( $CaS_5$ ) ในบางปฏิกิริยา (Jacobs et al., 2001) จากจำนวนสารรีดิวซ์ทั้งหมดได้มีรายงานพบว่าการใช้  $Na_2S_2O_4$  เป็นวิธีในการรีดิวซ์โครเมทที่ต่ำที่สุด โดยสามารถรีดิวซ์โครเมทได้ที่ระดับปริมาณ 900 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้เหลือในระดับที่ตรวจสอบไม่พบ ( $< 8$  มิลลิกรัมต่อลิตร) อย่างไรก็ตามการใช้สารเคมีในการกำจัดโครเมียมก็ยังคงเป็นวิธีที่มีต้นทุนในการใช้งานที่ค่อนข้างสูงและในระบบกำจัดต้องมีระบบการกรองหรือการทำให้ตกตะกอนที่มีประสิทธิภาพพร้อมด้วย นอกจากนี้การกำจัดโครเมียมด้วยสารเคมียังคงเป็นวิธีที่ไม่คุ้มในเชิงต้นทุนสำหรับการกำจัดโครเมียมที่มีปริมาณต่ำที่พบในน้ำเสียอีกด้วย

การกำจัดทางชีวภาพ แบ่งได้เป็น 2 วิธีหลักๆ คือ

1) การใช้สารดูดซับทางชีวภาพ เคยมีรายงานการใช้สารดูดซับทางชีวภาพที่เป็นของเหลือทิ้งทางเกษตรกรรมหรืออุตสาหกรรมในการกำจัด Cr(VI) ดังสรุปในตารางที่ 2 ดังนี้ ในปี ค.ศ. 2002 Dakiky และคณะทดลองนำขนสัตว์ กากทะเลสาปาล์ม ขี้เลื่อย ใบสน เปลือกอัลมอนด์ ใบกระบองเพชร และถ่าน มาประยุกต์ใช้เป็นสารดูดซับ Cr(VI) จากน้ำเสียของโรงงานอุตสาหกรรม ผลการทดลองพบว่าขนสัตว์และขี้เลื่อยสามารถดูดซับ Cr(VI) ได้ดีที่สุดเมื่อเทียบกับสารอื่น โดยสภาพที่เหมาะสมในการดูดซับคือใช้ Cr(VI) 100 ppm และสารดูดซับจำนวน 8 กรัมต่อลิตร พบว่าขนสัตว์สามารถดูดซับ Cr(VI) ได้ 69.3% ขณะที่ขี้เลื่อยดูดซับได้ 53.5% (Dakiky et al., 2002) และในปีเดียวกันนี้ Garg และคณะได้ทดลองใช้ขานอ้อยกำจัด Cr(VI) โดยพบว่าขานอ้อยที่ผ่านการจุ่มกรดซัคซินิก (succinic acid) สามารถดูดซับ Cr(VI) ในรูปของสารละลายเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตรได้ 92% ที่ค่าพีเอชเท่ากับ 2 ต่อมาในปี ค.ศ. 2003 Yu และคณะได้ทดลองใช้ขี้เลื่อยของต้นมาเบิ้ล กำจัด Cr(VI) ในรูปของสารละลายและพบว่าสามารถกำจัด Cr(VI) ได้ 70% เมื่อใช้ขี้เลื่อย 10 กรัมต่อลิตร และเมื่อเพิ่มปริมาณขี้เลื่อยก็พบว่าประสิทธิภาพในการดูดซับเพิ่มขึ้นเล็กน้อยและสามารถดูดซับได้สูงสุดเมื่อทำการดูดซับที่ค่าพีเอชในช่วง 2-5 (Yu et al., 2003) ต่อมาในปี ค.ศ. 2006 Malkoc และคณะได้ทดลองใช้กากชาจากโรงงานชาในตุรกีดูดซับ Cr(VI) ที่ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าสามารถดูดซับได้สูงถึง 99% ในสภาพที่มีค่าพีเอชเท่ากับ 2 และใช้กากชาปริมาณ 10 กรัมต่อลิตร เมื่อสร้างแบบจำลอง Langmuir isotherm พบว่ากากชาสามารถดูดซับ Cr(VI) ได้สูงที่สุด 54.65 มิลลิกรัมต่อกรัมที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส (Malkoc et al., 2006) นอกจากนี้ยังพบรายงานวิจัยใช้เปลือกมะขามในการดูดซับ Cr(VI) ผลการวิจัยพบว่าการใช้เปลือกมะขาม 10 กรัมต่อลิตร สามารถกำจัด Cr(VI) ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตรได้ 99 % เมื่อเวลาผ่านไป 15 ชั่วโมง และเมื่อเพิ่มความร้อนจะส่งผลให้ประสิทธิภาพในการดูดซับเพิ่มขึ้น โดยเปลือกมะขามสามารถดูดซับ Cr(VI) ได้ดีที่อุณหภูมิ 81 มิลลิกรัมต่อกรัม ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส (Verma et al., 2006)

ตารางที่ 2 สารดูดซับทางชีวภาพที่ใช้ในการกำจัด Cr(VI)

สารดูดซับทางชีวภาพ	ประสิทธิภาพในการดูดซับ	เอกสารอ้างอิง
เปลือกอัลมอนต์	23.5% เมื่อใช้ Cr(VI) 100 ppm และสารดูดซับ 8 กรัมต่อลิตร	Dakiky et al., 2002
ใบกระบอกเพชร	19.8% เมื่อใช้ Cr(VI) 100 ppm และสารดูดซับ 8 กรัมต่อลิตร	Dakiky et al., 2002
ถ่าน	23.6% เมื่อใช้ Cr(VI) 100 ppm และสารดูดซับ 8 กรัมต่อลิตร	Dakiky et al., 2002
ขี้เลื่อย	70.0% เมื่อใช้ Cr(VI) 10 มิลลิกรัมต่อลิตรและสารดูดซับ 10 กรัมต่อลิตร	Yu et al., 2003
กากทะเลสาปาล์ม	47.1% เมื่อใช้ Cr(VI) 100 ppm และสารดูดซับ 8 กรัมต่อลิตร	Dakiky et al., 2002
ใบสน	42.9% เมื่อใช้ Cr(VI) 100 ppm และสารดูดซับ 8 กรัมต่อลิตร	Dakiky et al., 2002
ชานอ้อน	92.0% เมื่อใช้ Cr(VI) 50 มิลลิกรัมต่อลิตร และสารดูดซับ 10 กรัมต่อลิตร	Garg et al., 2009
เปลือกมะขาม	99.0% เมื่อใช้ Cr(VI) 50 มิลลิกรัมต่อลิตร และสารดูดซับ 1 กรัมต่อลิตร	Verma et al., 2006
กากชา	99.0% เมื่อใช้ Cr(VI) 100 มิลลิกรัมต่อลิตร และสารดูดซับ 10 กรัมต่อลิตร	Malkoc et al., 2007

2) การกำจัดโดยจุลินทรีย์ที่ใช้เชื้อรา แบคทีเรีย และสาหร่ายขนาดเล็ก ตารางที่ 3 แสดงตัวอย่างจุลินทรีย์ที่เคยมีรายงานใช้ในการกำจัดโครเมียม เช่น การใช้เชื้อรา *Padina* sp. และ *Sargassum* sp. กำจัด Cr(VI) ความเข้มข้น 1 มิลลิโมลาร์ อย่างสมบูรณ์ในเวลา 1450 นาที และ 500 นาที ตามลำดับ หรือการใช้สาหร่ายทะเลสีน้ำตาลสองชนิดกำจัด Cr(VI) ได้ 90% ในเวลา 360 นาที เป็นต้น (Sheng et al., 2005) อีกหนึ่งตัวอย่างของการใช้จุลินทรีย์ดูดซับโครเมียมในสภาวะที่มีเกลือคือ การใช้ *Rhizopus arrhizus* ที่พบว่าสามารถกำจัด Cr(VI) ความเข้มข้นสูงถึง 78.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ได้ในสภาวะที่ปราศจากเกลือ และยังคงกำจัดโครเมียมได้สูงถึง 64.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ได้ในสภาวะที่มีเกลือปนเปื้อน 50 มิลลิกรัมต่อลิตร (Aksu and Balibek., 2007) นอกจากนี้ยังเคยมีรายงานถึงการกำจัด Cr(VI) โดยเชื้อราในระบบปิด ซึ่งพบว่าในสภาวะที่มี Cr(VI) ปนเปื้อนความเข้มข้น 30 มิลลิกรัมต่อลิตรนั้น *Aspergillus niger* สามารถกำจัด Cr(VI) ได้ 91.03% ขณะที่ *A. sydoni* และ *Penicillium janthinellum* กำจัดได้ 87.95% และ 86.61% ตามลำดับ (Kumar et al., 2008) และยังพบการกำจัด Cr(VI) ของ *A. niger* ที่ไม่มีชีวิตที่สามารถกำจัดได้สูงสุดที่ค่าพีเอชเท่ากับ 1.0 และอุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส โดยกำจัดโครเมียมความเข้มข้น 400 มิลลิกรัมต่อลิตรได้ 117.33 มิลลิกรัมต่อกรัมของเชื้อ (Khambhaty et al., 2009)

ตารางที่ 3 การดูดซับ Cr(VI) โดยจุลินทรีย์

จุลินทรีย์	ประสิทธิภาพในการดูดซับ	เอกสารอ้างอิง
<i>Aspergillus niger</i>	117.33 มิลลิกรัมต่อกรัม	Khambhaty et al., 2009
<i>A. sydoni</i>	87.95%	Kumar et al., 2008
<i>Mucor hiemalis</i>	53.5 มิลลิกรัมต่อกรัม	Tewari et al., 2005
<i>Padina</i> sp.	54.60 มิลลิกรัมต่อกรัม	Sheng et al., 2005
<i>Penicillium janthinellum</i>	86.61%	Kumar et al., 2008
<i>Rhizopus arrhizus</i>	78.0 มิลลิกรัมต่อกรัม	Aksu & Balibek., 2007
<i>Sargassum</i> sp.	31.72 มิลลิกรัมต่อกรัม	Sheng et al., 2005
<i>Chlorella miniata</i>	100%	Han et al., 2007
<i>Dunaliella</i> sp.		Dönmez & Aksu, 2002
<i>Dunaliella</i> 1	58.3 มิลลิกรัมต่อกรัม	
<i>Dunaliella</i> 2	45.5 มิลลิกรัมต่อกรัม	
<i>Pachymeniopsis</i> sp.	225 มิลลิกรัมต่อกรัม	Lee et al., 2000
<i>Spirogyra</i> sp.	14.7 × 10 <sup>3</sup> มิลลิกรัมต่อ กิโลกรัม	Gupta et al., 2001
<i>Achromobacter</i> sp.	8 มิลลิโมลาร์	Zhu et al., 2008
<i>Bacillus pumilus</i>	24%	Rehman & Faisal, 2015
<i>B. salmalaya</i>	20.35 มิลลิกรัมต่อกรัม	Dadrasnia et al., 2015
<i>B. sphaericus</i>	300 ไมโครโมลาร์	Pal et al., 2005
<i>B. subtilis</i>	0.2 มิลลิโมลาร์	Zheng et al., 2015
<i>Cellulosimicrobium cellulans</i>	18%	Rehman & Faisal, 2015
<i>Exiguobacterium</i>	19%	Rehman & Faisal, 2015
<i>Lysinibacillus fusiformis</i>	1 มิลลิโมลาร์	He et al., 2011
<i>Microbacterium</i> sp.	100 ไมโครโมลาร์	Pattanapitpaisal et al., 2001
<i>Pantoea agglomerans</i>	100 ไมโครโมลาร์	Francis et al., 2002
<i>Pseudomonas putida</i>	40 ไมโครโมลาร์	Ishibashi et al., 1990
<i>Shewanella alga</i>	10 มิลลิกรัมต่อลิตร	Guha et al., 2001

นอกจากนี้ยังมีการศึกษาการใช้สาหร่ายทั้งในรูปของเซลล์ที่มีและไม่มีชีวิตกำจัด Cr(VI) ซึ่งพบการเข้าจับของ Cr(VI) กับผิวเซลล์อย่างรวดเร็ว เคยมีรายงานการกำจัด Cr(VI) ของ *Spirogyra* sp. ในระบบปิด พบว่าสามารถกำจัด Cr(VI) ความเข้มข้นเริ่มต้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตรได้ภายใน 120 นาที ด้วยประสิทธิภาพในการกำจัดเท่ากับ  $14.7 \times 10^3$  มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมโครเมท (Gupta et al., 2001) หลังจากนั้นได้มีการทดลองใช้ *Chlorella iniate* กำจัด Cr(VI) ความเข้มข้นเริ่มต้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตรได้ในประสิทธิภาพของการกำจัดเท่ากับ 65% ภายในเวลา 2 ชั่วโมง และพบว่าที่ความเข้มข้นนี้เชื้อสามารถกำจัดได้อย่างสมบูรณ์ในเวลา 150 ชั่วโมง เมื่ออยู่ในสภาวะที่มีค่าพีเอชเริ่มต้นเท่ากับ 2.0 และใช้มวลชีวภาพของเชื้อเท่ากับ 5.0 กรัมต่อลิตร (Han et al., 2007) ต่อมาในปี ค.ศ. 2002 Dönmez และ Aksu ได้รายงานการใช้ *Dunaliella* sp. ที่แยกได้จากทะเลสาบน้ำเค็มในตุรกี ในการกำจัด Cr(VI) ซึ่งพบว่าเชื้อสองสายพันธุ์คือ *Dunaliella* sp.1 และ *Dunaliella* sp.2 ที่สามารถกำจัด Cr(VI) ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่ค่าพีเอชเท่ากับ 2.0 ในสภาวะที่มีเกลือปนเปื้อน โดยพบว่า *Dunaliella* sp.1 และ *Dunaliella* sp.2 สามารถกำจัด Cr(VI) ได้ 58.3 และ 45.5 มิลลิกรัมต่อกรัม ในสภาวะที่มีเกลือปนเปื้อน 20% (น้ำหนักต่อปริมาตร) ได้ภายในเวลา 72 ชั่วโมง ซึ่งพบปริมาณของ Cr(VI) ลดลงเหลือ 20.7 และ 12.2 มิลลิกรัมต่อกรัม ตามลำดับ

นอกจากเชื้อราและสาหร่ายแล้ว แบคทีเรียจัดเป็นจุลินทรีย์ทางเลือกที่นิยมใช้ในการกำจัด Cr(VI) เนื่องจากข้อได้เปรียบที่เหนือกว่าในเรื่องของอัตราการเจริญที่เร็วและง่ายต่อการประยุกต์ใช้ แบคทีเรียทุกสายพันธุ์ที่จะใช้ในการกำจัดโครเมียมนั้นจำเป็นต้องผลิตเอนไซม์โครเมทรีดักเทส (chromate reductase) ซึ่งเป็นเอนไซม์สำคัญในการกำจัด Cr(VI) ซึ่งเคยมีรายงานถึงการผลิตเอนไซม์โครเมทรีดักเทสของ *Pseudomonas putida* หลายสายพันธุ์ ได้แก่ *P. putida* PRS2000 และ *P. fluorescens* LB303 รวมทั้ง *Escherichia coli* AC80 ที่มียีนที่กำหนดการสร้างเอนไซม์โครเมทรีดักเทส โดยพบว่า *P. putida* PRS2000 สามารถกำจัด Cr(VI) ได้อย่างรวดเร็วและสมบูรณ์เมื่อศึกษาค่าทางจลนศาสตร์ของเอนไซม์ในแบคทีเรียชนิดนี้พบว่าเอนไซม์ต้องการ NADH หรือ NADPH ในการเร่งปฏิกิริยา โดยให้ค่าคงที่ Michaelis-Menten ( $K_m$ ) เท่ากับ 40 ไมโครโมลาร์ของโครเมท และให้ค่าความเร็วสูงสุด ( $V_{max}$ ) เท่ากับ 6 นาโนโมลต่อนาทีต่อมิลลิกรัมของโปรตีน และพบว่า  $Hg^{2+}$  และ  $Ag^+$  สามารถยับยั้งการเร่งปฏิกิริยาของเอนไซม์ได้อย่างสมบูรณ์ (Ishibashi et al., 1990) นอกจากนี้ยังมีการแยกแบคทีเรียที่ทน Cr(VI) จากน้ำทิ้งของโรงงานฟอกหนังในปากีสถานพบ *Microbacterium* sp. จำนวน 13 ไอโซเลท ที่สามารถกำจัด Cr(VI) ได้และพบว่าไอโซเลท No. MP 30 สามารถกำจัดโซเดียมไดโครเมทความเข้มข้น 100 ไมโครโมลาร์ ได้สูงที่สุด 99% เมื่อทำในสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง *Microbacterium* sp. MP 30 สามารถเจริญได้ในสภาวะที่มี Cr(VI) ความเข้มข้น 100-500 มิลลิโมลาร์ โดยกำจัด Cr(VI) ความเข้มข้น 100 มิลลิโมลาร์ได้อย่างสมบูรณ์เมื่อใช้ปริมาณมวลชีวภาพเท่ากับ  $2.4 \times 10^9$  เซลล์ต่อมิลลิลิตร (Pattanapitpaisal et al., 2001) นอกจากนี้ยังพบรายงานการกำจัด Cr(VI) โดยเซลล์พักของ *Achromobacter* sp.Ch1 ที่สามารถดูดซับ Cr(VI) ความเข้มข้น 8 มิลลิโมลาร์ได้อย่างสมบูรณ์ภายในเวลา 150 นาที (Zhu et al., 2008) หรือรายงานวิจัยที่ใช้ *Lysinibacillus fusiformis* ZC1 ที่คัดแยกได้จากโรงงานผลิตอิเล็กทรอนิกส์ใน Guangdong ประเทศจีนที่สามารถกำจัด Cr(VI) ได้อย่างสมบูรณ์ภายในเวลา 12 ชั่วโมง (He et al., 2011) และยังพบการใช้ *Bacillus subtilis* BYCr-1 ที่คัดแยกได้จากดินในเมือง Baiyin ประเทศจีนที่สามารถกำจัด Cr(VI) ความเข้มข้น 0.2 มิลลิโมลาร์ได้

อย่างสมบูรณ์ในเวลา 48 ชั่วโมง ซึ่งเมื่อทำการส่องกราดเซลล์ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Transmission electron microscopy; TEM) พบการตกตะกอนของ Cr(VI) อยู่ทั้งภายในและภายนอกเซลล์ และพบว่าเอนไซม์ NADPH nitroreductase (NfsA) เป็นเอนไซม์ที่สำคัญในการกำจัด Cr(VI) ของแบคทีเรียชนิดนี้ (Zheng et al., 2015)

สำหรับแบคทีเรียทางทะเลเคยมีรายงานของ Yer และคณะในปี ค.ศ. 2004 ที่คัดแยก *Enterobacter cloacae* จากตะกอนทะเลในชายฝั่งทะเลทางตะวันตกของอินเดีย พบว่าแบคทีเรียสามารถเจริญได้ดีในสถานะที่มีโลหะหนักปนเปื้อนและสามารถผลิตเอกโซโพลีแซคคาไรด์ (exopolysaccharide) ได้ในสถานะที่มี Cr(VI) ปนเปื้อนที่ความเข้มข้น 25, 50 และ 100 ppm แสดงให้เห็นถึงความเป็นไปได้ที่จะใช้แบคทีเรียชนิดนี้ในการกำจัดโครเมียมทางชีวภาพต่อไป ต่อมา Cheung และ Gu (2005) ได้ทำการคัดแยก *Bacillus megaterium* TKW3 จากตะกอนทะเลที่มีการปนเปื้อนของโลหะหนักใน Tokwawan ฮองกง พบว่าแบคทีเรียชนิดนี้สามารถกำจัด Cr(VI) ในรูปของ  $\text{CrO}_4^{2-}$  ที่ละลายน้ำได้เป็น Cr(III) ที่ไม่ละลายน้ำและมีความเป็นพิษลดลง ภายใต้สภาวะที่ต้องใช้ออกซิเจน โดยสามารถกำจัด Cr(VI) ความเข้มข้น 0.20 มิลลิโมลาร์ได้อย่างสมบูรณ์ภายใน 360 ชั่วโมง นอกจากนี้ยังพบว่าแบคทีเรียชนิดนี้สามารถทนต่อโลหะหนักอื่นๆ ได้แก่  $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$  ความเข้มข้น 0.34 มิลลิโมลาร์  $\text{AsO}_4^{3-}$  ความเข้มข้น 0.32 มิลลิโมลาร์  $\text{SeO}_3^{2-}$  ความเข้มข้น 0.58 มิลลิโมลาร์ และ  $\text{SeO}_4^{2-}$  ความเข้มข้น 0.53 มิลลิโมลาร์ ต่อมาในปี ค.ศ. 2006 ได้มีรายงานถึง *Shewanella* sp. PV-4 ที่แยกจากตะกอนทะเลลึกในฮาวาย ซึ่งสามารถกำจัดโลหะหนักหลายชนิด ได้แก่ Fe(III), Co(III) Cr(VI) Mn(IV) และ U(VI)

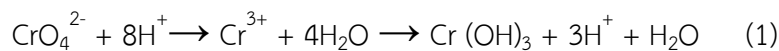
ต่อมาได้มีการศึกษา *Bacillus* sp. MTCC 5514 ที่คัดแยกจากทะเลใน Tamil Nadu กำจัด Cr(VI) ทั้งในระบบปิดและระบบแบบต่อเนื่อง พบว่า แบคทีเรียสามารถกำจัด Cr(VI) ที่ความเข้มข้นสูงถึง 2000 มิลลิกรัมต่อลิตรได้โดยใช้ระบบปิดที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ด้วยความเร็วในการเขย่า 200 รอบต่อนาที โดยสามารถกำจัด Cr(VI) ได้สมบูรณ์ภายในเวลา 72 ชั่วโมง สำหรับการในระบบแบบต่อเนื่องในการบำบัด พบว่าเมื่อใช้ Cr(VI) ความเข้มข้น 20 มิลลิกรัมต่อลิตร ในการบำบัด โดยเติมทุก 12 ชั่วโมง พบว่า สามารถบำบัด Cr(VI) ได้อย่างสมบูรณ์ภายในเวลา 22 วัน (Gnanamani et al., 2010) หลังจากนั้น ในปีค.ศ. 2012 ได้มีการคัดแยกแบคทีเรียชอบเกลื้อ *Halomonas* sp. TA-04 จากตะกอนทะเลในประเทศอิตาลี เมื่อใช้เซลล์อิสระของแบคทีเรียชนิดนี้ทำปฏิกิริยากับ  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_4$  ที่ความเข้มข้น 0.2-3 มิลลิโมลาร์พบว่า แบคทีเรียสามารถกำจัด Cr(VI) ความเข้มข้น 0.2-1 มิลลิโมลาร์ ได้อย่างสมบูรณ์ภายในเวลา 50 ชั่วโมง ขณะที่เมื่อเพิ่มความเข้มข้นความสามารถในการกำจัด Cr(VI) ก็ไม่เพิ่มขึ้น และเมื่อทำการตรึงเซลล์แบคทีเรียใส่ในคอลัมน์แก้วขนาด 100 มิลลิลิตร พบว่า แบคทีเรียสามารถรีดิวซ์ Cr(VI) ที่ความเข้มข้น 0.5 มิลลิโมลาร์ ได้เหลือเป็นความเข้มข้น 0.0248 มิลลิโมลาร์ คือสามารถกำจัด Cr(VI) ได้ 94.5% (Focardi et al., 2012)

หลังจากนั้นได้มีงานวิจัยคัดแยก *Streptomyces* sp. จำนวน 20 สายพันธุ์จาก Tokyo Bay ประเทศญี่ปุ่น พบว่าเชื้อทั้ง 20 สายพันธุ์สามารถทนต่อ Cr(VI) ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตรได้และได้เลือก *S. thermocarboxydus* มาทำการศึกษาความสามารถในการกำจัด Cr(VI) พบว่าสามารถทนต่อ Cr(VI) ได้ความเข้มข้นสูงถึง 150 มิลลิกรัมต่อลิตร และสามารถรีดิวซ์ Cr(VI) ความเข้มข้น 60 มิลลิกรัมต่อลิตรได้อย่างสมบูรณ์ภายในระยะเวลา 1 อาทิตย์ (Terahara et al., 2015) ต่อมาในปี ค.ศ. 2016 Ran และคณะได้ศึกษาการกำจัด Cr(VI) ของ *Sporosarcina saromensis* M52 isolated ที่คัดแยกจากตะกอนทะเลใน Xiamen ประเทศจีน พบว่าเชื้อสามารถทนต่อ Cr(VI)

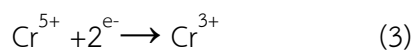
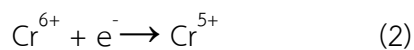
ความเข้มข้นสูงถึง 500 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยสามารถกำจัด Cr(VI) ได้อย่างสมบูรณ์ที่ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร ภายในเวลา 24 ชั่วโมง

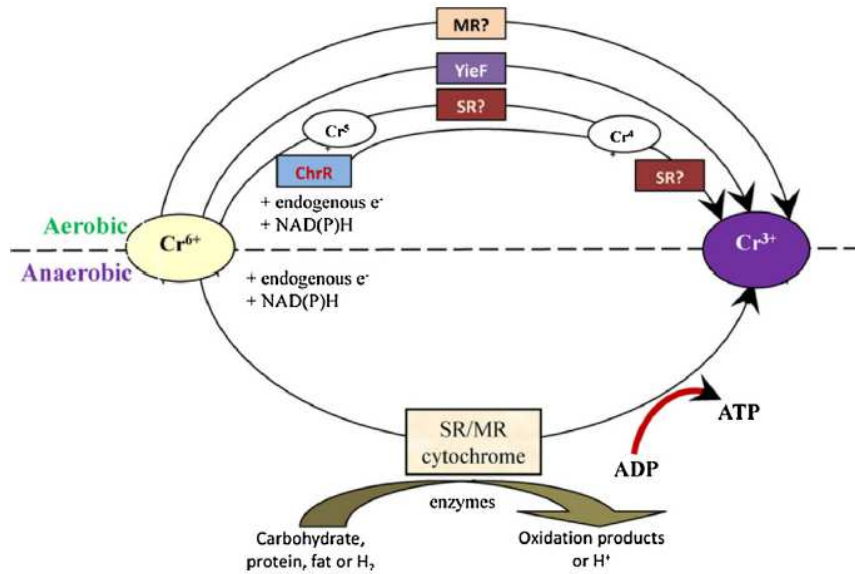
#### 2.1.4 การรีดักชันทางชีวภาพของเฮกซวาเลนซ์โครเมียมโดยแบคทีเรีย

การรีดักชันทางชีวภาพของ Cr(VI) โดยแบคทีเรียเกิดขึ้นโดยการเปลี่ยน Cr(VI) เป็น Cr(III) ซึ่งเป็นรูปที่มีความเป็นพิษน้อยกว่า ผ่านกระบวนการรีดักชันแบบโดยตรงและโดยทางอ้อม ในการรีดักชันแบบโดยตรงจะใช้แบคทีเรียที่สามารถรีดิวซ์และดูดซับโครเมียม (chromium-reducing bacteria) ขณะที่การรีดักชันแบบทางอ้อมจะใช้แบคทีเรียกลุ่มที่สามารถรีดิวซ์ไอออนและซัลเฟอร์ (Iron and sulfur-reducing bacteria) แทน (Malaviya & Singh, 2016) โดยปกติแบคทีเรียที่สามารถรีดิวซ์โครเมียมจะมีระบบเอนไซม์ทั้งที่อยู่ในรูปของเอนไซม์ที่ละลายอยู่ภายในเซลล์และเอนไซม์ที่จับอยู่กับเมมเบรนในการรีดักชัน ในสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน (Anaerobic condition) การรีดักชันของ Cr(VI) โดยแบคทีเรียจะใช้ไซโทโครม (Cytochrome) ที่อยู่ในระบบขนส่งอิเล็กตรอน (electron transport system) ในการทำงาน (Miransari, 2011) โดยในปฏิกิริยารีดักชันจะใช้สารชีวโมเลกุลที่อยู่ในเซลล์ เช่น NADH คาร์โบไฮเดรต โปรตีน ลิพิด ไฮโดรเจน และตัวผลิตอิเล็กตรอนต่างๆ ทำหน้าที่ให้อิเล็กตรอนสำหรับกระบวนการรีดักชันของ Cr(VI) สมการที่ (1) สรุปกลไกในการรีดักชันภายใต้สภาวะที่ไม่มีออกซิเจน



ขณะที่ในสภาวะที่มีออกซิเจน (Aerobic condition) Cr(VI) จะทำปฏิกิริยากับออกซิเจนเพื่อเกิดเป็นสารที่ให้ออกซิเจน (Reactive oxygen species) ค้างอยู่ในเซลล์ จึงทำให้ Cr(VI) สามารถรีดิวซ์เป็น Cr(V) ก่อนที่จะเปลี่ยนเป็น Cr(III) ต่อไป กลไกนี้จะใช้การทำงานของเอนไซม์โคเรมทรีดักเทส (Pradhan et al., 2017) ดังแสดงในสมการที่ (2) และ (3) ซึ่งสามารถสรุปกลไกในการรีดักชัน Cr(VI) ทั้งในสภาวะที่มีและไม่มีออกซิเจนได้ดังแสดงในภาพที่ 1





ภาพที่ 1 กลไกในการรีดักชัน Cr(VI) ของแบคทีเรียในสภาวะที่มีและไม่มีออกซิเจน ที่เสนอโดย Dhal et al. (2013)

## 2.2 ขอบเขตของการดำเนินการวิจัยในปีที่ 2 (ปีงบประมาณ 2561)

ศึกษาการเปลี่ยนแปลงเชิงเคมีที่เกิดขึ้นบนผิวและภายในเซลล์ของแบคทีเรีย ร่วมกับการศึกษา จลนศาสตร์ของการกำจัดโครเมียมของแบคทีเรียที่คัดแยกได้ในระดับห้องปฏิบัติการ โดยใช้ตัวอย่าง ของไหลสังเคราะห์ที่มีองค์ประกอบคล้ายน้ำทิ้งจากกระบวนการฟอกหนังเป็นน้ำทิ้งต้นแบบ



## บทที่ 3

### ระเบียบวิธีดำเนินการวิจัย

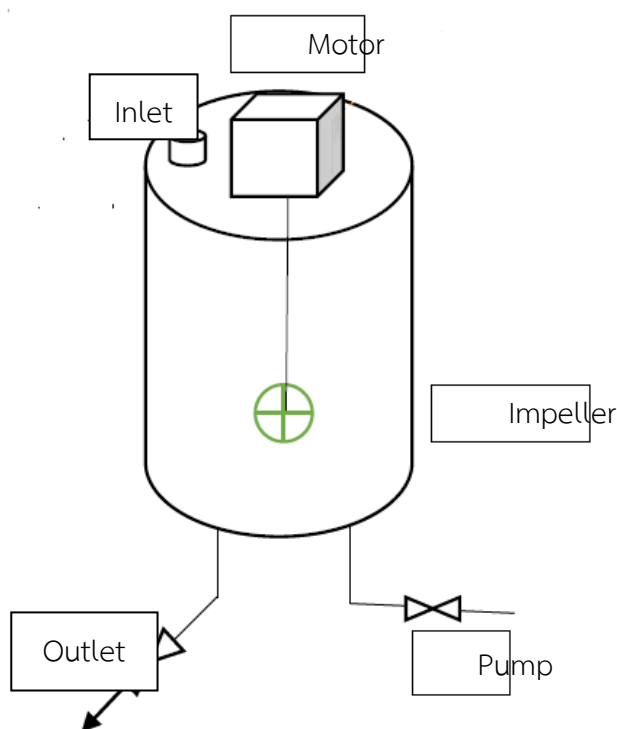
#### 3.1 การติดตามการรื้อถอน Cr(VI) ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบแบท

การติดตามการรื้อถอน Cr(VI) ของ *B. megaterium* และ *B. cereus* ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบแบท เริ่มต้นโดยการหาปริมาณมวลชีวภาพของแบคทีเรีย (biomass) ที่เหมาะสมที่จะเติมในถังปฏิกรณ์ชีวภาพ โดยทดลองใช้มวลเริ่มต้นที่แตกต่างกันในช่วงร้อยละ 5-20 ที่ห่างกันช่วงร้อยละ 5 และติดตามการรื้อถอน Cr(VI) ภายในเวลา 72 ชั่วโมง โดยการเลี้ยงแบคทีเรียในน้ำเสียสังเคราะห์ ปริมาตร 500 มิลลิลิตร ที่มี Cr(VI) ความเข้มข้นเริ่มต้นต่างกันตั้งแต่ 10-40 มิลลิกรัมต่อลิตร ในสภาวะที่เหมาะสมคือ ค่าพีเอชเท่ากับ 7.0 ความเร็วในการเขย่า 250 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส น้ำเสียสังเคราะห์ที่ซัดดแปลงจาก Kishida et al., 2006 และ Yin et al., 2017 ในหนึ่งลิตรของน้ำเสียสังเคราะห์ประกอบด้วยโซเดียมอะซิเตท (sodium acetate) 2.56 กรัม กลูโคส 2.23 กรัม  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  43.9 มิลลิกรัม  $\text{NH}_4\text{Cl}$  229.3 มิลลิกรัม  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  90 มิลลิกรัม  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  14 มิลลิกรัม และ trace solution ปริมาตร 0.3 มิลลิลิตร (Trace solution 1 ลิตร ประกอบด้วย  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  1.5 กรัม  $\text{H}_3\text{BO}_3$  0.15 กรัม  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  0.03 กรัม KI 0.18 กรัม  $\text{MnCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$  0.12 กรัม  $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  0.06 กรัม  $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0.12 กรัม  $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  0.15 กรัม และ EDTA 10 กรัม โดยน้ำเสียสังเคราะห์ที่เตรียมได้จะมีค่าพีเอชในช่วง 6.0-7.0 มีค่า Total Chemical Oxygen Demand (TCOD) เท่ากับ 3,040 มิลลิกรัมต่อลิตร ค่า Soluble Chemical Oxygen Demand (SCOD) เท่ากับ 2,960 มิลลิกรัมต่อลิตร ค่า Mixed liquor suspended solids (MLSS) เท่ากับ 3.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และปริมาณแอมโมเนียม ( $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ ) เท่ากับ 34.7 มิลลิกรัมต่อลิตร ในช่วง 24 ชั่วโมงแรกจะเก็บตัวอย่างเพื่อนำมาวิเคราะห์ทุกๆ 3 ชั่วโมง หลังจากนั้นจะเก็บตัวอย่างทุกๆ 6 ชั่วโมง เพื่อนำมาติดตามการเจริญและการรื้อถอน Cr(VI) สำหรับการทดสอบเดินระบบแบบต่อเนื่องจะทำในถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบแบทขนาด 5 ลิตร (สูง 12 นิ้วและมีเส้นผ่านศูนย์กลาง 8 นิ้ว ดังแสดงในภาพที่ 2 ที่บรรจุน้ำเสียสังเคราะห์ที่ใส่ Cr(VI) ความเข้มข้น 20 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 10 วัน ผสมปฏิกิริยาด้วยแท่งกวนขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 2 นิ้ว ที่เชื่อมกับปั๊มออกซิเจนที่อุณหภูมิห้อง ( $30 \pm 5$  องศาเซลเซียส) และกวนด้วยความเร็ว (50-250 รอบต่อนาที ในการทดลองจะใส่หัวเชื้อร้อยละ 10 ลงในน้ำเสียสังเคราะห์ขนาด 5 ลิตร

#### 3.2 การตรวจหาการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพของแบคทีเรียด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน

การศึกษาลักษณะทางกายภาพที่เปลี่ยนไปของเซลล์แบคทีเรียก่อนและหลังการรื้อถอน Cr(VI) จะดำเนินการวิเคราะห์ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning electron microscope หรือ SEM) ที่ต่อร่วมกับเครื่องวิเคราะห์องค์ประกอบธาตุด้วยรังสีเอ็กซ์ (Energy dispersive X-ray spectroscopy หรือ EDS) และการใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน (Transmission electron microscope หรือ TEM) ในการเตรียมตัวอย่างสำหรับวิเคราะห์ SEM จะ

เลี้ยงแบคทีเรียในอาหารเหลว LB ที่มีและไม่มี Cr(VI) ความเข้มข้น 20 มิลลิกรัมต่อลิตร ภายใต้สภาวะที่เหมาะสม และปั่นเก็บเซลล์แบคทีเรียที่เจริญมาตรึงด้วยออสเมียมเตทราออกไซด์ (osmium tetroxide) ความเข้มข้นร้อยละ 1 ที่ละลายในฟอสเฟตบัฟเฟอร์ซาลีน (phosphate buffer saline) ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ ที่มีค่าพีเอชเท่ากับ 7.4 จากนั้นดึงน้ำออกจากตัวอย่าง (dehydration) ในเอทานอลความเข้มข้นหลากหลาย (ร้อยละ 70-100) ตัวอย่างสำหรับวิเคราะห์ SEM จะทำการตัดตัวอย่างแบบคอสเซกชัน (cross-section cut) และทำให้แห้งภายใต้สภาวะสุญญากาศ จากนั้นจะนำตัวอย่างไปยึดไว้กับแผ่นวิเคราะห์ด้วยการเคลือบด้วยผงทอง ทำการวิเคราะห์โดยกำหนดค่าพารามิเตอร์ดังนี้ ความดัน  $1.3 \times 10^{-2}$  Pa และความละเอียดน้อยกว่า 10 nm ที่ความต่างศักย์ 115 kV



ภาพที่ 2 ภาพจำลองถึงปฏิกรณ์ชีวภาพแบบเบทที่ใช้ในการวิจัย

สำหรับการวิเคราะห์ TEM จะนำตัวอย่างมาล้างด้วยโพรไพลีนออกไซด์ (propylene oxide หรือ PO) เป็นเวลา 30 นาที ทำซ้ำสองครั้ง จากนั้นจะล้างด้วยสารผสมของ PO และ Araldite 502 resin (อัตราส่วน 2:1) เป็นเวลา 1 ชั่วโมง และสารผสม PO และ Araldite 502 resin (อัตราส่วน 1:2) เป็นเวลา 12-14 ชั่วโมง นำตัวอย่างมาแช่ใน Araldite 502 resin ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วนำไปบ่มต่อเป็นเวลา 48 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 45 และ 60 องศาเซลเซียส ตามลำดับ นำตัวอย่างมาตัดแบบคอสเซกชันและย้อมด้วยสารละลายอิมตัวของยูรานิลอะซิเตท (saturated uranyl acetate) ทำการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง Philips TECNAI 20 ที่ความต่างศักย์ 75 กิโลโวลต์ โดยใช้เซลล์ที่ไม่มี Cr(VI) เป็นตัวอย่างควบคุม

### 3.3 การวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงของหมู่ฟังก์ชันบนผิวของเซลล์แบคทีเรียด้วยเทคนิค Fourier transform infrared spectroscopy

การวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงของหมู่ฟังก์ชันบนผิวของเซลล์แบคทีเรียภายหลังดูดซับโครเมียมเทียบกับก่อนดูดซับด้วยเทคนิค Fourier transform infrared spectroscopy หรือ FTIR เริ่มต้นด้วยการเตรียมตัวอย่างโดยการกำจัดโมเลกุลของน้ำ (dehydration) ออกจากตัวอย่างที่จะทำการวิเคราะห์ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง ก่อนที่จะนำไปบดให้ละเอียดและผสมกับผงโพแทสเซียมโบไมด์ (KBr) เกรด spectroscopic เพื่อเตรียมเป็นผงตัวอย่างสำหรับวิเคราะห์ โดยจะทำการอัดเม็ดตัวอย่างด้วยความดัน 10 ตัน เพื่อให้ได้ตัวอย่างที่มีเส้นผ่านศูนย์กลางขนาด 13 มิลลิเมตร และมีความหนา 1 มิลลิเมตร ในการวิเคราะห์จะกำหนด mode ของการวิเคราะห์เป็น reflectance mode ที่ความละเอียด  $4000-400\text{ cm}^{-1}$  โดยให้มีระยะห่างเท่ากับ  $4\text{ cm}^{-1}$  และปรับ baseline ของข้อมูลดิบและ modified data โดยใช้ OMNIC 8.0.342 software (Thermo Scientific, USA)

### 3.4 การวิเคราะห์ปริมาณของ Cr(VI)

ในการหาความเข้มข้นของ Cr(VI) จะใช้การติดตามการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร หลังจากเกิดการสร้างสารเชิงซ้อนของโครเมียมกับ 1,5-ไดฟีนิลคาร์บาไซด์ (1,5-diphenylcarbazide) (American Public Health Association, 1989) กราฟมาตรฐานของ Cr(VI) จะเตรียมได้จาก  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$  ความเข้มข้นในช่วง 0-2 mg/L (ภาคผนวกที่ 1) โดยมีค่า  $R^2$  เท่ากับ 0.9998 ในการทดลองจะทำการเก็บตัวอย่างเพื่อวิเคราะห์ที่เวลาต่างกัน และนำมากำจัดเซลล์แบคทีเรียออกด้วยการปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 10,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที ก่อนที่จะนำส่วนใสที่ได้มาทำปฏิกิริยากับ 1,5-diphenylcarbazide เกิดเป็นสารเชิงซ้อนในสถานะที่เป็นกรด (ค่าพีเอชเท่ากับ  $2.0 \pm 0.5$ ) ที่จะเกิดสีได้เมื่อตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5-10 นาที โดยใช้ชุดควบคุมเป็นน้ำเสียสังเคราะห์ คำนวณการรีดักชัน Cr(VI) ในหน่วยร้อยละจากสมการ

$$\text{การรีดักชัน Cr(VI) (\%)} = \frac{c_i - c_e}{c_i} \times 100 \quad (1)$$

เมื่อกำหนดให้  $c_i$  และ  $c_e$  คือความเข้มข้นของ Cr(VI) ในหน่วย mg/L ในสถานะเริ่มต้นและหลังจากผ่านการรีดักชัน ตามลำดับ ในแต่ละการทดลองจะทำการทดลองซ้ำสามครั้งและรายงานเป็นค่าเฉลี่ยพร้อมส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

การคำนวณค่าความจุในการดูดซับที่สมดุล (equilibrium adsorption capacity) หรือค่า  $q_e$  ในหน่วย mg/L และค่าความจุในการดูดซับ (adsorption capacity) ที่เวลา  $t$  หรือคือค่า  $q_t$  ในหน่วย mg/L จะคำนวณจากสมการที่ (2) และสมการที่ (3) ตามลำดับดังนี้

$$q_e = \frac{(c_i - c_e)V}{m} \quad (2)$$

$$q_t = \frac{c_i - c_t}{m} \times v \quad (3)$$

เมื่อ  $c_i$ ,  $c_e$  และ  $c_t$  คือความเข้มข้นของ Cr(VI) ในหน่วย mg/L ที่สภาวะเริ่มต้น ที่สมดุล และที่เวลา  $t$  (นาที) ตามลำดับ ขณะที่  $M$  คือมวลของเซลล์แบคทีเรียในหน่วย g และ  $V$  คือปริมาตรของสารละลาย Cr(VI) ในหน่วย L

### 3.5 การศึกษาการดูดซับที่สภาวะสมดุล (Equilibrium isotherms)

การดูดซับที่สภาวะสมดุลจะใช้เพื่อทำความเข้าใจกลไกการดูดซับของไอออน Cr(VI) จากน้ำเสียสังเคราะห์กับเซลล์อิสระของแบคทีเรียที่จะใช้เป็นตัวดูดซับ (adsorbent) ในการทดลองจะทำในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตรที่ใส่น้ำเสียสังเคราะห์ปริมาตร 50 มิลลิลิตรที่มี Cr(VI) ความเข้มข้นเริ่มต้นแตกต่างกันคือ 25-70 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำการทดลองที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสและค่าพีเอชเท่ากับ 7.0 โดยใช้เซลล์แบคทีเรียตั้งต้นที่เตรียมใหม่จากการเลี้ยงและปั่นแยกตะกอนเซลล์ออกมาจากอาหารเลี้ยงจำนวน 1.6 กรัมต่อน้ำเสียสังเคราะห์ปริมาตร 1 ลิตร เก็บส่วนใสที่ได้หลังการเลี้ยงจนเข้าสู่สมดุล (ที่เวลา 120 ชั่วโมง) มาวัดความเข้มข้นของ Cr(VI) ที่เหลือและคำนวณปริมาณของไอออน Cr(VI) ที่ถูกดูดซับบนเซลล์แบคทีเรียตามที่อธิบายมาแล้วในหัวข้อ 3.4 โดยในแต่ละการทดลองจะทำการเขย่าที่ความเร็วคงที่เท่ากับ 250 รอบต่อนาที ทุกการทดลองจะทำซ้ำสามครั้งและหาค่าเฉลี่ยเพื่อนำมาใช้คำนวณต่อไป ซึ่งในการดำเนินการทดลองจะทำการเทียบผลการทดลองที่ได้ในสภาวะที่เกิดการสมดุลของการดูดซับโดยใช้ไอโซเทอมโมเดล (isotherm model) ที่แตกต่างกันจำนวน 2 โมเดล ได้แก่ Langmuir model และ Freundlich model (Foo & Hameed, 2010) ดังนี้

#### 3.5.1 Langmuir model

Langmuir model เป็นโมเดลที่ให้รายละเอียดเชิงปริมาณถึงการดูดซับที่เกิดขึ้นได้สูงที่สุดในสภาวะสมดุลบนผิวของตัวดูดซับที่เกิดขึ้นแบบชั้นเดียว (monolayer adsorption) (Langmuir, 1916) ซึ่งสามารถอธิบายได้ด้วยสมการที่ (4)

$$\frac{c_e}{q_e} = \frac{1}{q_m} c_e + \frac{1}{K_L q_m} \quad (4)$$

เมื่อกำหนดให้  $c_e$  คือความเข้มข้นของ Cr(VI) ที่อยู่ในสารละลายที่สภาวะสมดุล ในหน่วย mg/L,  $q_e$  คือปริมาณของ Cr(VI) ที่ถูกดูดซับที่สภาวะสมดุล ในหน่วย mg/g,  $q_m$  คือค่าความจุสูงสุดในการดูดซับแบบชั้นเดียว ในหน่วย mg/g และ  $K_L$  คือค่าคงที่สมดุลของ Langmuir ในหน่วย L/mg ซึ่งแสดงให้เห็นถึงธรรมชาติของการจับจำเพาะที่เกิดขึ้นระหว่าง Cr(VI) และเซลล์แบคทีเรีย

ค่าพารามิเตอร์ของการดูดซับแบบ Langmuir สามารถหาได้จากการจัดเรียงสมการที่ (4) ใหม่เป็นรูปสมการเส้นตรง ดังแสดงในสมการที่ (5)

$$\frac{1}{q_e} = \left( \frac{1}{q_m K_L} \right) \left( \frac{1}{c_e} \right) + \frac{1}{q_m} \quad (5)$$

ค่าพารามิเตอร์  $q_m$  และ  $K_L$  สามารถหาได้จากกราฟเส้นตรงที่เกิดจากการลงกราฟระหว่างค่า  $1/q_e$  และ  $1/c_e$  โดยมีค่าความชันคือ  $1/q_m K_L$  และมีจุดตัดคือ  $1/q_m$  ในสภาวะที่เกิดการดูดซับแบบชั้นเดียวอย่างสมบูรณ์

เมื่อทำการวิเคราะห์ต่อเนื่องโดยใช้ผลการทดลองที่ได้จาก Langmuir model จะสามารถอธิบายถึงการจับจำเพาะของ Cr(VI) กับเซลล์แบคทีเรีย ในแบบที่ไม่คำนึงถึงค่าคงที่ของทิศทางในการดูดซับ (dimensionless constant) โดยใช้ค่าพารามิเตอร์ที่สมดุล  $R_L$  ที่หาได้จากสมการที่ (6)

$$R_L = \frac{1}{1 + K_L c_e} \quad (6)$$

เมื่อกำหนดให้  $K_L$  คือค่าคงที่ของ Langmuir ในหน่วย L/mg และ  $c_e$  คือความเข้มข้นที่สมดุลของ Cr(VI) ในสารละลาย ในหน่วย mg/L ค่า  $R_L$  ที่หาได้จะให้ข้อมูลเกี่ยวกับการดูดซับดังนี้  $R_L > 1$  คือไม่เหมาะที่จะเกิดขึ้น (unfavorable),  $R_L = 1$  คือเส้นตรง,  $0 < R_L < 1$  คือเหมาะสมที่จะเกิด (favorable) และ  $R_L = 0$  คือสามารถผันกลับได้ (irreversible)

### 3.5.2 Freundlich model

Freundlich model คือไอโซเทอมที่ใช้อธิบายถึงลักษณะของการดูดซับที่เกิดขึ้นแบบไม่เป็นเนื้อเดียวกัน (heterogeneous) หรือเกิดการดูดซับแบบหลายชั้นบนพื้นผิว (multilayer surface) (Freundlich, 1906) ซึ่งสามารถหาได้จากสมการที่ (7)

$$q_e = K_f c_e^{\frac{1}{n}} \quad (7)$$

เมื่อกำหนดให้  $q_e$  และ  $c_e$  มีความหมายเดียวกับของสมการ Langmuir,  $K_f$  และ  $n$  คือค่าคงที่ของ Freundlich ที่ใช้อธิบายถึงความจุในการดูดซับ (adsorption capacity) ในหน่วย (mg/g)(L/mg)<sup>(1/n)</sup> และความเข้ม (intensity) ตามลำดับ

สมการของ Freundlich สามารถอธิบายในรูปของสมการเส้นตรง ดังแสดงในสมการที่ (8)

$$\log q_e = \log K_f + \frac{1}{n} \log c_e \quad (8)$$

การสร้างกราฟเส้นตรงระหว่าง  $\log q_e$  และ  $\log c_e$  จะให้ค่าความชันเท่ากับ  $1/n$  และจุดตัดคือ  $\log K_f$  ซึ่งค่า  $1/n$  นี้จะสามารถระบุลักษณะของไอโซเทอมได้ คือ  $1/n < 1$  คือการดูดซับแบบธรรมดา และ  $1/n > 1$  คือการดูดซับแบบต้องการปัจจัยอื่นร่วม (cooperative adsorption)

### 3.6 การศึกษาจลนศาสตร์ของการดูดซับ (Adsorption kinetic)

การทดลองนี้จะใช้โมเดลทางจลนศาสตร์ (kinetic model) ทั้งที่เกี่ยวข้องกับการรีดักชันและการดูดซับเพื่อใช้อธิบายลำดับขั้นตอนของการเกิดปฏิกิริยาการดูดซับ Cr(VI) โมเดลการดูดซับที่ใช้ศึกษา ได้แก่ โมเดลจลนศาสตร์ลำดับที่หนึ่งเทียม (pseudo-first-order kinetic model) และโมเดลจลนศาสตร์ลำดับที่สองเทียม (pseudo-second-order kinetic model) รวมทั้งโมเดลที่อธิบายการแพร่ของสารภายในโมเลกุลเดียวกัน (intra-particle diffusion model) และการแพร่จากภายนอกแบบ (external mass transfer) ที่รู้จักในชื่อของ Boyd model ร่วมกับโมเดลการรีดักชันอีกสองโมเดลคือ โมเดลรีดักชันลำดับที่หนึ่งเทียม (pseudo-first-order reduction model) และโมเดลรีดักชันลำดับที่สองเทียม (pseudo-second-order reduction model) ในการดำเนินการทดลองจะทำการดูดซับ Cr(VI) บนเซลล์แบคทีเรียที่สภาวะที่เหมาะสม คือ ในน้ำเสียสังเคราะห์ที่มี Cr(VI) ความเข้มข้นเริ่มต้น 30 mg/L ที่ค่าพีเอชเท่ากับ 7.0 ด้วยการเขย่าที่ความเร็ว 250 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส โดยใช้ปริมาณ มวลชีวภาพของแบคทีเรีย 1.6 g/L เวลาในการดูดซับที่สมดุลคือ 120 ชั่วโมง

#### 3.6.1 Pseudo-first-order model หรือ Lagergren model

นักวิทยาศาสตร์ชื่อ Lagergren ได้เสนอสมการที่ระบุอัตราการดูดซับลำดับที่ 1 สำหรับใช้วิเคราะห์การดูดซับของสารที่อยู่ในสภาพของเหลวบนตัวดูดซับที่มีสภาพเป็นของแข็ง (Qiu et al., 2009) โดยใช้สมการคณิตศาสตร์อธิบาย ดังแสดงในสมการที่ (9)

$$\frac{dq_t}{dt} = k_1 (q_e - q_t) \quad (9)$$

และเมื่ออินทิเกรต (Integration) สมการที่ (9) เพื่อนำมาใช้ในสภาวะที่เกิดการจับ (boundary conditions) ที่เวลา  $t = 0$  ถึง  $t = t$  และค่า  $q_t = 0$  ถึง  $q_t = q_t$  สามารถแสดงได้ดังสมการที่ (10)

$$\frac{\ln(q_e - q_t)}{q_e} = -k_1 t \quad (10)$$

สมการที่ (11) แสดงรูปแบบที่ไม่ใช่สมการเส้นตรงของโมเดลจลนศาสตร์แบบ pseudo-first-order model คือ

$$q_t = q_e(1 - e^{-k_1 t}) \quad (11)$$

และสามารถแสดงได้ในรูปของสมการเส้นตรง ดังสมการที่ (12)

$$\log(q_e - q_t) = \log q_e - \frac{k_1}{2.303} t \quad (12)$$

เมื่อกำหนดให้  $q_t$  คือค่าความจุในการดูดซับ (adsorption capacity) ในหน่วย mg/g ที่เวลา  $t$  ในหน่วยนาที่,  $q_e$  คือค่าความจุที่สมดุล (equilibrium capacity) ในหน่วย mg/g และ  $k_1$  คือค่าคงที่อัตราเร็วลำดับที่หนึ่ง (pseudo-first-order rate constant)

การวาดกราฟเส้นตรงระหว่างค่า  $\log (q_e - q_t)$  ต่อเวลา  $t$  จะให้ค่าความชันและจุดตัดกราฟเป็นค่า  $k_1$  และ  $q_e$  ตามลำดับ

### 3.6.2 Pseudo-second-order model

จลนศาสตร์ของการดูดซับอาจสามารถอธิบายได้โดยใช้ pseudo-second-order model ที่เสนอโดย Ho and Mckay (Qiu et al., 2009) ซึ่งสามารถหาอัตราเร็วของปฏิกิริยาได้ดังแสดงในสมการที่ (13)

$$\frac{dq_t}{dt} = k_2 (q_e - q_t)^2 \quad (13)$$

เมื่อปรับสมการที่ (13) เพื่อนำมาใช้ในสภาวะที่เกิดการจับ (boundary conditions) ที่เวลา  $t = 0$  ถึง  $t = t$  และค่า  $q_t = 0$  ถึง  $q_t = q_t$  สามารถแสดงได้ดังสมการที่ (14) ที่สามารถใช้อธิบายปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นจากการดูดซับด้วยปฏิกิริยาเคมี (chemisorption) โดยสามารถจัดเรียงสมการที่ (14) ได้ใหม่เป็นสมการที่ (15)

$$q_t = \frac{k_2 q_e^2 t}{1 + k_2 q_e t} \quad (14)$$

$$\frac{t}{q_t} = \frac{1}{k_2 q_e^2} + \frac{1}{q_e} t \quad (15)$$

เมื่อกำหนดให้ค่า  $q_t$  คือความจุในการดูดซับในหน่วย mg/g ที่เวลา  $t$  ในหน่วยนาที่,  $q_e$  คือความจุที่สภาวะสมดุล ในหน่วย mg/g และ  $k_2$  คือค่าคงที่อัตราเร็วของจลนศาสตร์ลำดับที่สอง

เมื่อวาดกราฟระหว่าง  $t/q_t$  และ  $t$  ที่ความเข้มข้น Cr(VI) ที่ต่างกัน จะให้กราฟเส้นตรงที่มีค่าความชันเท่ากับ  $1/k_2 q_e^2$  และจุดตัดกราฟเท่ากับ  $1/q_e$

### 3.6.3 Intra-particle diffusion model หรือสมการของ Morris-Weber

การแพร่ที่เกิดขึ้นภายในโมเลกุลเป็นขั้นตอนควบคุมอัตราเร็ว (rate controlling step) ที่นิยมศึกษาเพื่ออธิบายกลไกในการดูดซับของสาร (Hameed & Ahmad 2009) ค่าโมเดลจลนศาสตร์นี้ได้มีการเสนอครั้งแรกโดย Weber และ Morris ดังแสดงในสมการที่ (16)

$$q_t = k_{id} t^{0.5} + \theta \quad (16)$$

เมื่อกำหนดให้  $q_t$  คือปริมาณของ Cr(VI) บนพื้นผิวของตัวดูดซับที่เวลา  $t$  ( $\text{min}^{0.5}$ ) ในหน่วยของ mg/g และ  $k_{id}$  คือค่าคงที่อัตราเร็วที่เกิดขึ้นจากการแพร่ภายในโมเลกุล (intra-particle diffusion rate

constant) ในหน่วย  $\text{mg/g min}^{0.5}$  และ  $\theta$  คือค่าพารามิเตอร์ที่ขึ้นกับการแพร่แบบสร้างฟิล์ม (film diffusion) หรือการแพร่ที่มาจากภายนอก (external diffusion) ในขณะที่เกิดจลนศาสตร์การดูดซับ และเมื่อวาดกราฟระหว่างค่า  $q_t$  และ  $t^{0.5}$  จะได้กราฟเส้นตรง หากกลไกการดูดซับถูกควบคุมโดยการแพร่ภายในโมเลกุลจะทำให้พบจุดตัดแกนเท่ากับ  $\theta$  ที่ระบุถึงการสร้างฟิล์มที่มีความหนาในสถานะที่เกิดการจับของตัวดูดซับและ Cr(VI)

### 3.6.4 Boyd model

Boyd model เป็นโมเดลที่ใช้จัดจำแนกขั้นตอนจำกัดความเร็วที่เกิดขึ้นในกระบวนการดูดซับ (Boyd et al., 1974) ที่สามารถอธิบายจลนศาสตร์ที่เกิดขึ้นได้จากสมการที่

$$F = 1 - \frac{6}{\pi} (22)^2 \exp(-B_t) \quad (17)$$

และ

$$F = \frac{q_t}{q_e} \quad (18)$$

เมื่อ  $q_e$  คือปริมาณของ Cr(VI) ที่ถูกดูดซับที่เวลาอนันต์ (infinite time) ในหน่วย  $\text{mg/g}$ ,  $q_t$  คือปริมาณของมวลชีวภาพที่เกิดการดูดซับที่เวลาต่างๆ  $t$  (นาทีก),  $F$  คือสัดส่วน (fraction) ของสารละลายที่ถูกดูดซับที่เวลา  $t$  (นาทีก) และ  $B_t$  คือฟังก์ชันทางคณิตศาสตร์ของ  $F$  ซึ่งเมื่อแทนสมการที่ (17) เข้าสู่สมการที่ (18) จะได้

$$1 - F = \frac{6}{\pi} (24)^2 \exp(-B_t) \quad (19)$$

หรือ

$$B_t = -0.4977 - \ln(1 - F) \quad (20)$$

และเมื่อสร้างกราฟของ  $[-0.4977 - \ln(1 - F)]$  กับเวลา  $t$  เพื่อทดสอบค่าที่ได้จากการทดลองว่าเป็นเส้นตรงหรือไม่ หากได้กราฟเป็นเส้นตรงที่ผ่านจุดเริ่มต้น (origin) แสดงว่าขั้นตอนที่เกิดช้าที่สุดจนเป็นขั้นจำกัดความเร็วในกระบวนการดูดซับคือการแพร่ผ่านรูพรุน แต่หากกราฟเส้นตรงไม่ผ่านจุดกำเนิดแสดงว่ากระบวนการดูดซับถูกควบคุมโดยการแพร่ผ่านฟิล์มซึ่งก็คือการแพร่ของมวลจากภายนอกนั่นเอง

### 3.6.5 โมเดลจลนศาสตร์รีดักชัน (Reduction kinetic models)

เนื่องจากกลไกในการดูดซับของ Cr(VI) โดยจุลินทรีย์นั้นอาจเกิดขึ้นผ่านกระบวนการรีดักชันร่วมกับการดูดซับ (adsorption-coupled reduction process) (Park et al., 2007) การทดลองนี้จึงทดลองใช้โมเดลจลนศาสตร์รีดักชันจำนวน 2 โมเดลดังนี้



การรีดักชันลำดับที่หนึ่งเทียม (pseudo-first order reduction)

$$\frac{dc_t}{dt} = -k_3 c_t \quad (21)$$

$$\ln c_t = \ln c_i - k_3 t \quad (22)$$

และการรีดักชันลำดับที่สองเทียม (pseudo-second order reduction)

$$\frac{dc_t}{t} = -k_4 c_t^2 \quad (23)$$

$$\frac{1}{c_t} = k_4 t + \frac{1}{c_i} \quad (24)$$

เมื่อ  $c_i$  และ  $c_t$  คือความเข้มข้นของ Cr(VI) ที่อยู่ในสารละลาย (mg/L) ที่เวลาเริ่มต้น ( $t=0$ ) และที่เวลา  $t$  (นาที) ตามลำดับ และ  $k_3$  และ  $k_4$  คือค่าคงที่ของอัตราเร็ว (rate constants)

### 3.6.6 การประมาณค่าความสอดคล้องของผลการทดลองกับโมเดลที่ทำการศึกษา

การประมาณว่าผลการทดลองที่ได้สอดคล้องกับโมเดลทางจลนศาสตร์ที่ทำการศึกษาหรือไม่จะใช้ค่า  $R^2$  (regression coefficient) ของกราฟเส้นตรงที่สร้างขึ้นจากสมการของแต่ละโมเดล ร่วมกับค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของ Marquardt (Marquardt's present standard deviation หรือ MPSD) ที่พัฒนาขึ้นโดย Marquardt (1963) ซึ่งสามารถคำนวณได้จากสมการที่ (25)

$$MPSD = 100 \left( \sqrt{\frac{1}{p-n} \sum_{i=1}^p \left[ \frac{q_{t,exp} - q_{t,calc}}{q_{t,exp}} \right]_i^2} \right) \quad (25)$$

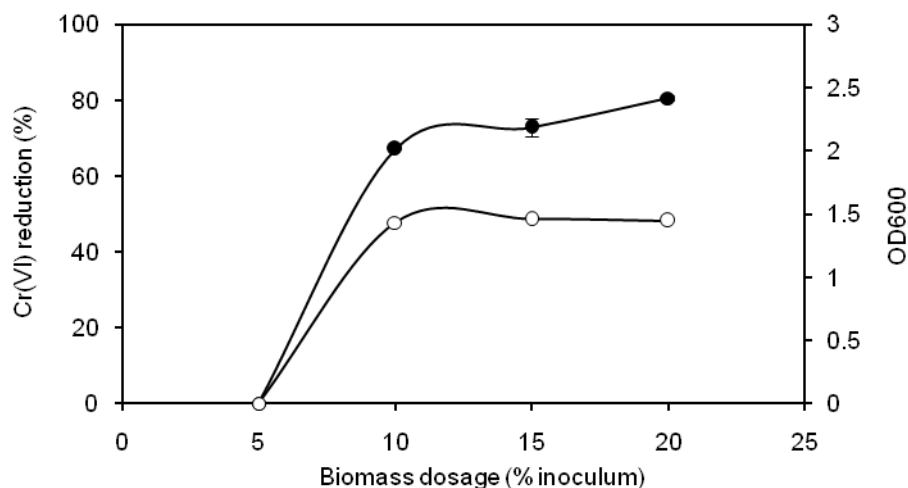
โดยกำหนดให้  $p$  คือจำนวนของข้อมูลจุดทดลอง และ  $n$  คือจำนวนของพารามิเตอร์ในสมการโมเดล ค่า  $q_{t,exp}$  และ  $q_{t,calc}$  เป็นค่าที่ได้จากการทดลองและค่าที่ได้จากการคำนวณจากแต่ละสมการโมเดล ตามลำดับ

## บทที่ 4

### ผลการวิจัยและอภิปรายผลการวิจัย

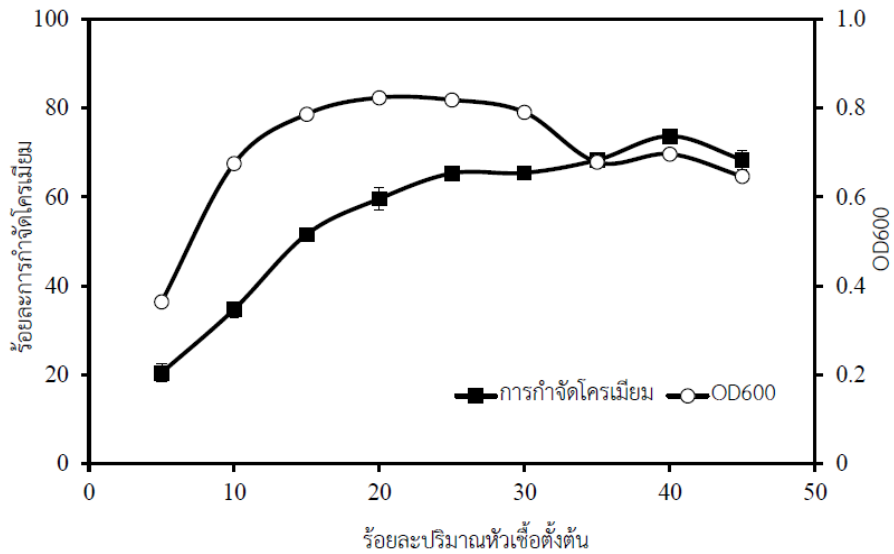
#### 4.1 การรีดักชัน Cr(VI) ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบแบท

การติดตามการรีดักชัน Cr(VI) ในน้ำเสียสังเคราะห์ของ *B. megaterium* และ *B. cereus* เมื่อเดินระบบอย่างต่อเนื่องในถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบแบทขนาด 6 ลิตร เป็นเวลา 10 วัน เริ่มต้นโดยการหาปริมาณมวลของหัวเชื้อที่เหมาะสมต่อการบำบัดพบว่า การเจริญและความสามารถในการรีดิวซ์ Cr(VI) ของ *B. megaterium* จะเพิ่มขึ้นตามการเพิ่มขึ้นของปริมาณหัวเชื้อที่ใช้จากร้อยละ 5 เป็นร้อยละ 10 (ภาพที่ 3) และความสามารถในการรีดิวซ์ Cr(VI) จะแตกต่างกันเล็กน้อยเมื่อใช้หัวเชื้อตั้งต้นระหว่างร้อยละ 10 และร้อยละ 20 ขณะที่ ด้วยเหตุนี้จึงเลือกใช้ปริมาณหัวเชื้อตั้งต้นของ *B. megaterium* ที่ร้อยละ 10 เติมลงในถังปฏิกรณ์ชีวภาพที่เดินระบบแบบต่อเนื่องเพื่อศึกษาต่อไป



ภาพที่ 3 ผลของปริมาณหัวเชื้อตั้งต้นต่อการเจริญและการรีดิวซ์ Cr(VI) ของ *B. megaterium* เมื่อทำการทดลองในน้ำเสียสังเคราะห์ที่มีค่าพีเอชเท่ากับ 7.0 และมี Cr(VI) ความเข้มข้นเริ่มต้น 20 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ด้วยการเขย่าที่ความเร็ว 250 รอบต่อนาที รายงานผลการทดลองเป็นค่าเฉลี่ยของการทดลองจำนวน 3 ซ้ำพร้อมส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

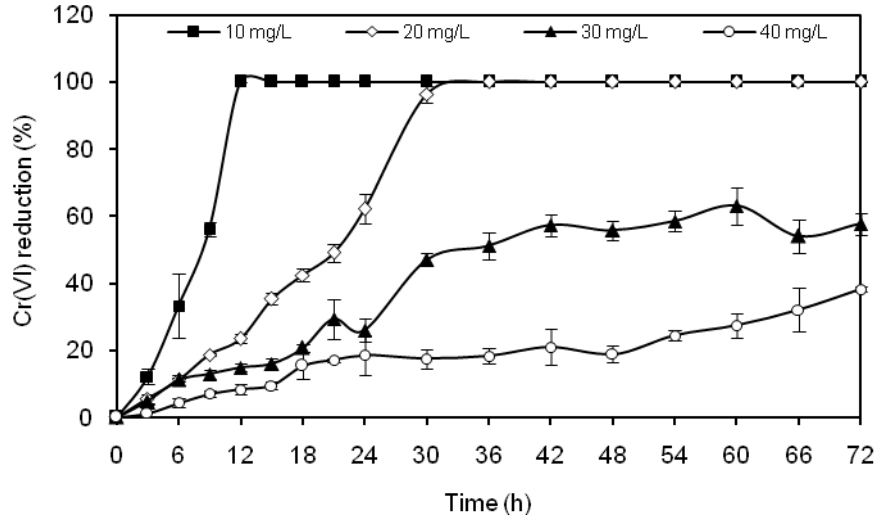
สำหรับผลการทดลองของ *B. cereus* พบว่าการเจริญและประสิทธิภาพในการรีดิวซ์ Cr(VI) ของ *B. cereus* จะเพิ่มขึ้นตามปริมาณหัวเชื้อตั้งต้นที่ใช้ โดยมีร้อยละของการรีดิวซ์ Cr(VI) ที่เพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง เมื่อใช้ปริมาณหัวเชื้อตั้งต้นเท่ากับร้อยละ 5 ถึง 20 จากนั้นความสามารถในการรีดิวซ์ Cr(VI) จะเริ่มคงที่ ที่การใช้ปริมาณหัวเชื้อตั้งต้นระหว่างร้อยละ 25 และร้อยละ 45 ดังแสดงในภาพที่ 4 ซึ่งพบว่าค่าร้อยละการรีดักชัน Cr(VI) สูงสุดจะมีค่าเท่ากับประมาณร้อยละ 70 เมื่อใช้หัวเชื้อตั้งต้นที่ปริมาณร้อยละ 40 แต่เมื่อพิจารณาถึงอัตราการเจริญที่ลดต่ำลงเมื่อเพิ่มปริมาณของหัวเชื้อตั้งต้นนั้น จึงเลือกปริมาณหัวเชื้อตั้งต้นที่ร้อยละ 25 เป็นปริมาณหัวเชื้อตั้งต้นที่เหมาะสมของ *B. cereus* ที่จะเติมลงในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเพื่อนำไปใช้ทดสอบต่อไป



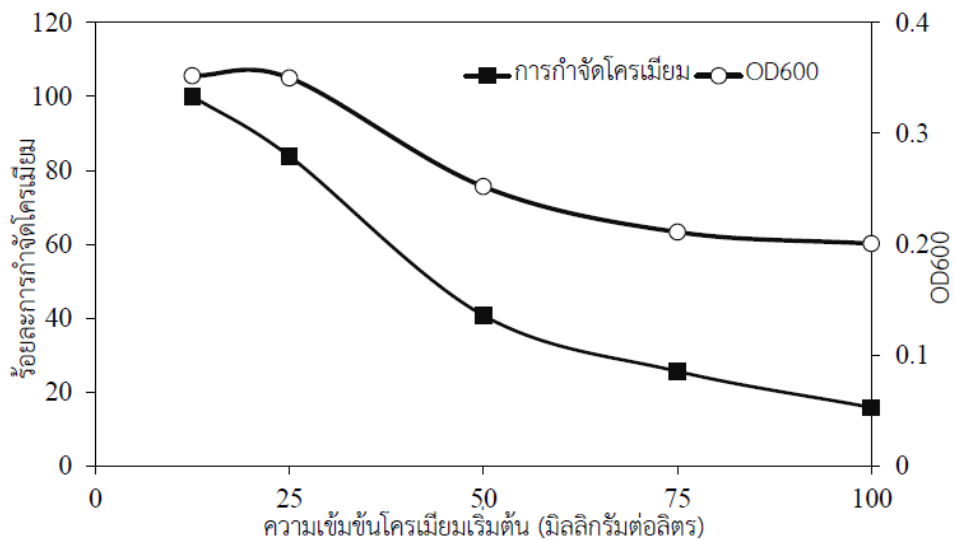
ภาพที่ 4 ผลของปริมาณหัวเชื้อตั้งต้นต่อเจริญและการรีดิวซ์ Cr(VI) ของ *B. cereus* เมื่อเลี้ยงในน้ำเสียสังเคราะห์ที่มีค่าพีเอชเท่ากับ 7.0 มีความเข้มข้น Cr(VI) เริ่มต้น 25 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ด้วยการเขย่าที่ความเร็ว 250 รอบต่อนาที เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ค่าที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ยของการทดลองจำนวน 3 ครั้ง พร้อมส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

เนื่องจากแบคทีเรียจะมีความสามารถในการทนต่อความเข้มข้นของ Cr(VI) ที่อยู่ในน้ำเสียสังเคราะห์ได้แตกต่างกัน เมื่อติดตามความสามารถในการเจริญของ *B. megaterium* ในสถานะที่มีปริมาณ Cr(VI) แตกต่างกันพบว่า แบคทีเรียสามารถรีดักชัน Cr(VI) ได้อย่างสมบูรณ์ภายในเวลา 12 และ 30 ชั่วโมงของการเลี้ยงเจริญที่ความเข้มข้น Cr(VI) เริ่มต้น เท่ากับ 10 มิลลิกรัมต่อลิตร และ 20 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ (ภาพที่ 5) จากนั้นความสามารถในการรีดิวซ์ Cr(VI) ของแบคทีเรียก็จะลดลงเมื่อเพิ่มปริมาณของ Cr(VI) เริ่มต้นในระบบ ซึ่งให้ผลการทดลองที่คล้ายกันใน *B. cereus* (ภาพที่ 6)

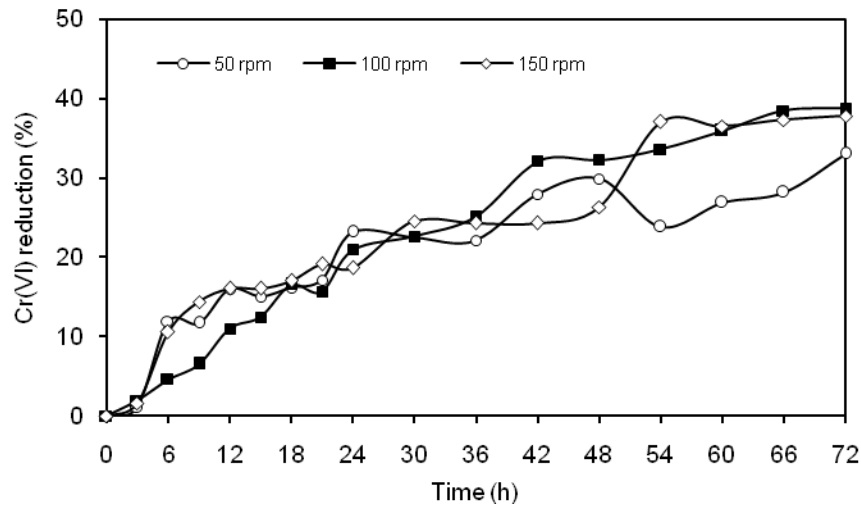
เนื่องจากออกซิเจนเป็นปัจจัยสำคัญที่ส่งผลต่อประสิทธิภาพในการ Cr(VI) ของแบคทีเรีย ดังนั้นในการสร้างถังปฏิกรณ์ชีวภาพจึงจำเป็นต้องหาความเร็วที่เหมาะสมในการกวน โดยการทดลองด้วยการกวนที่มีความเร็วของมอเตอร์ต่างกันในช่วง 50-150 รอบต่อนาที ซึ่งไม่ให้เกิดการรีดักชันที่ต่างกัน ในแบคทีเรียทั้งสองชนิด (ภาพที่ 7 และภาพที่ 8) ดังนั้นจึงเลือกการกวนด้วยมอเตอร์ที่มีความเร็ว 150 รอบต่อนาทีมาใช้ในการออกแบบถังปฏิกรณ์ชีวภาพ เมื่อเดินระบบอย่างต่อเนื่องเป็นเวลา 10 วันพบว่า *B. megaterium* จะเจริญอย่างช้าๆ และเข้าสู่เฟสคงที่ภายหลังจากการเลี้ยง 3 วัน โดยการรีดักชันของ Cr(VI) จะเพิ่มขึ้นอย่างช้าๆ ระหว่างการเจริญในระยะเอ็กโปเนนเชียล จากนั้นความสามารถในการรีดักชันจะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วและสามารถรีดิวซ์ Cr(VI) ได้อย่างสมบูรณ์ในช่วงเวลา 7-10 วัน (ภาพที่ 9) สำหรับการเพิ่มขึ้นของค่าพีเอชของอาหารเลี้ยงเพียงเล็กน้อยนั้นอาจมาจากการเกิด  $\text{Cr(OH)}_3$  ระหว่างปฏิกิริยานั่นเอง (Dadransia et al., 2015) ผลการทดลองที่ได้ของ *B. cereus* ให้ผลที่สอดคล้องกัน โดยสามารถตรวจพบการรีดิวซ์ Cr(VI) อย่างสมบูรณ์เมื่อทำการเลี้ยงอย่างต่อเนื่องเป็นเวลา 6 วัน (ภาพที่ 10)



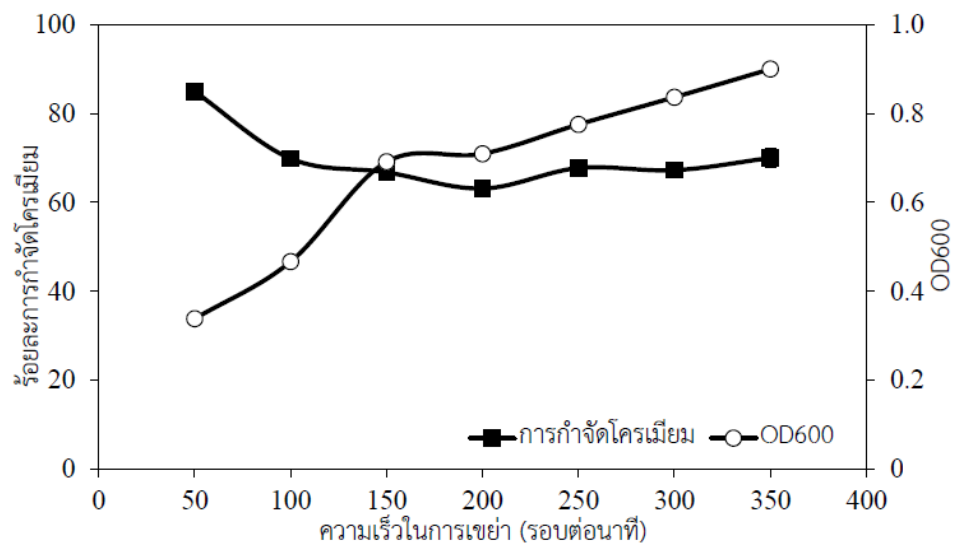
ภาพที่ 5 การรีดิวซ์ Cr(VI) ของ *B. megaterium* ที่ความเข้มข้นของโครเมียมต่างกัน การทดลองทำในน้ำเสียสังเคราะห์ที่มีค่าพีเอชเท่ากับ 7.0 ในเวลารวม 72 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ด้วยการเขย่าที่ความเร็ว 250 รอบต่อนาที เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ค่าที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ยของการทดลองจำนวน 3 ครั้ง พร้อมส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน



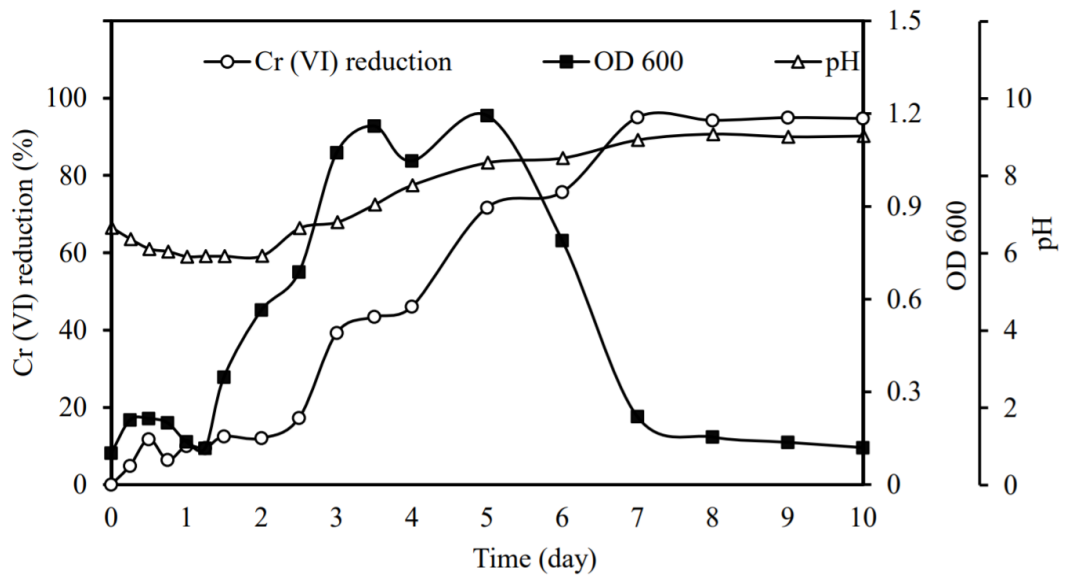
ภาพที่ 6 การเจริญและการรีดิวซ์ Cr(VI) ของ *B. cereus* ที่ความเข้มข้น Cr(VI) ต่างกัน เมื่อเลี้ยงในน้ำเสียสังเคราะห์ที่มีค่าพีเอชเริ่มต้นเท่ากับ 7.0 ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ด้วยการเขย่าที่ความเร็ว 50 รอบต่อนาที เป็นเวลา 24 ชั่วโมง โดยใช้ปริมาณหัวเชื้อตั้งต้นร้อยละ 25 ค่าที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ยของการทดลองจำนวน 3 ซ้ำพร้อมส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน



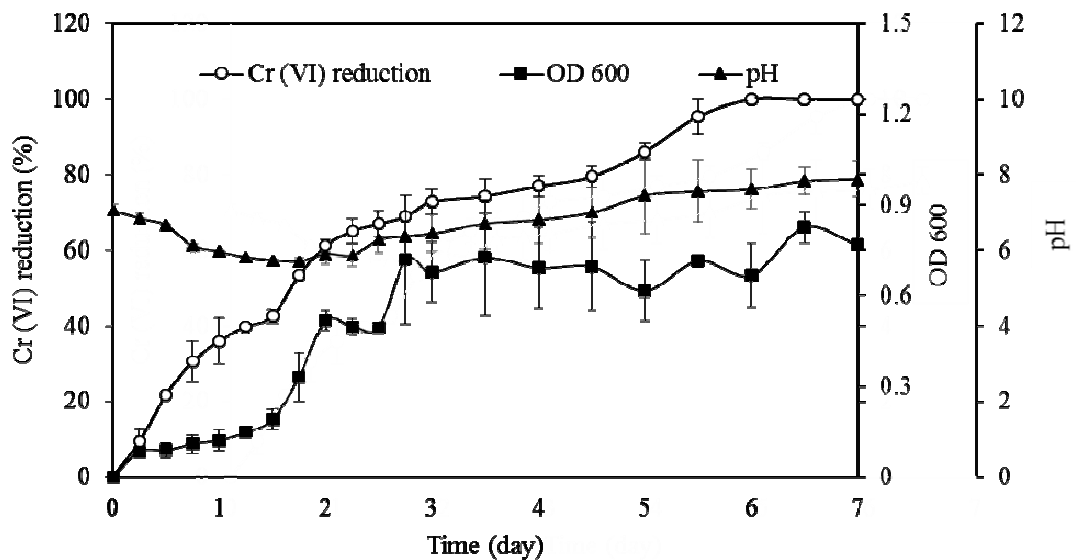
ภาพที่ 7 ผลของความเร็วมอเตอร์ในการกวนต่อการรีดิวซ์ Cr(VI) ของ *B. megaterium* เมื่อติดตามในถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบแบทช์ที่บรรจุน้ำเสียสังเคราะห์ (ค่าพีเอช 7.0) ที่มี Cr(VI) ความเข้มข้นเริ่มต้น 20 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่อุณหภูมิห้อง ( $30 \pm 5$  องศาเซลเซียส)



ภาพที่ 8 ผลของความเร็วในการเขย่าต่อการเจริญและการรีดิวซ์ Cr(VI) ของ *B. cereus* เมื่อเลี้ยงในน้ำเสียสังเคราะห์ที่มีค่าพีเอชเริ่มต้นเท่ากับ 7.0 มีความเข้มข้น Cr(VI) เริ่มต้น 25 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง โดยใช้ปริมาณหัวเชื้อตั้งต้นร้อยละ 25 ค่าที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ยของการทดลองจำนวน 3 ซ้ำพร้อมส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน



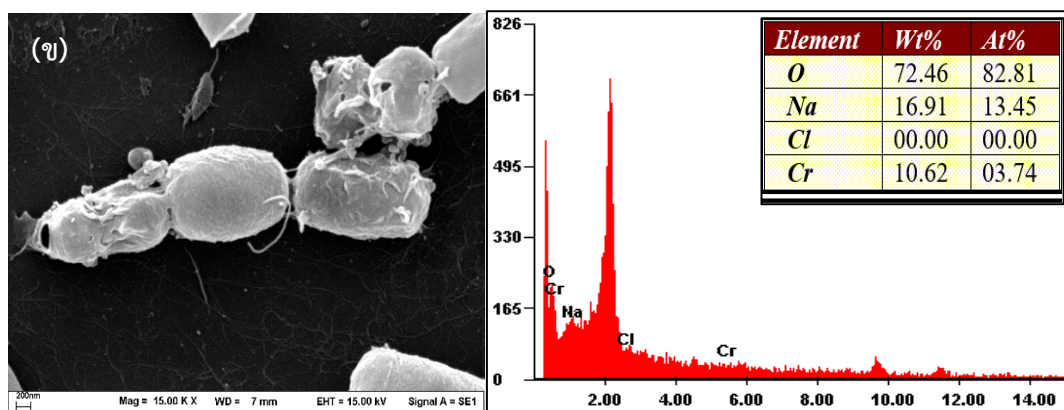
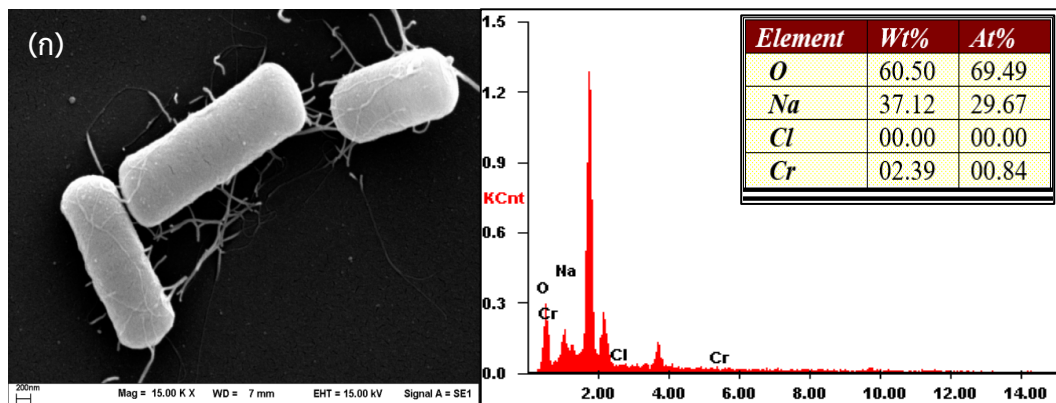
ภาพที่ 9 การเดินระบบแบบต่อเนื่องเพื่อติดตามการรีดิวซ์ Cr(VI) ของ *B. megaterium* ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบเบทที่บรรจุน้ำเสียสังเคราะห์ (ค่าพีเอช 7.0) ที่มี Cr(VI) ความเข้มข้นเริ่มต้น 20 มิลลิกรัมต่อลิตร ด้วยการกวนที่ความเร็ว 150 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง ( $30 \pm 5$  องศาเซลเซียส)



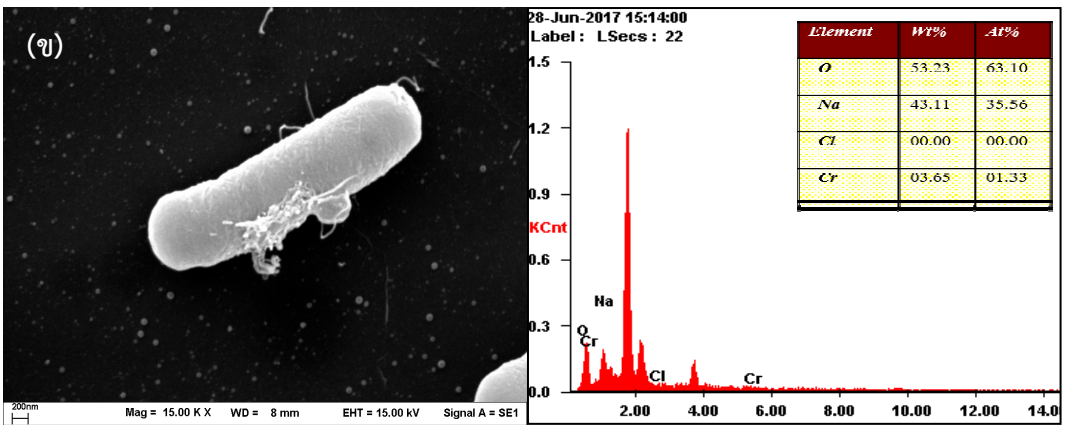
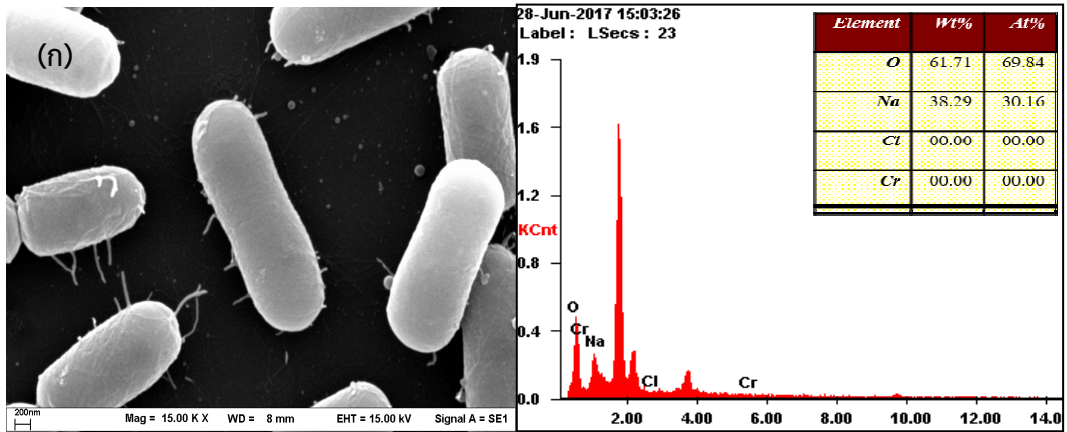
ภาพที่ 10 การเดินระบบแบบต่อเนื่องเพื่อติดตามการรีดิวซ์ Cr(VI) ของ *B. cereus* ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบเบทที่บรรจุน้ำเสียสังเคราะห์ (ค่าพีเอช 7.0) ที่มี Cr(VI) ความเข้มข้นเริ่มต้น 25 มิลลิกรัมต่อลิตร ด้วยการกวนที่ความเร็ว 150 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง ( $30 \pm 5$  องศาเซลเซียส)

## 4.2 การตรวจหาการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพของแบคทีเรียด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน

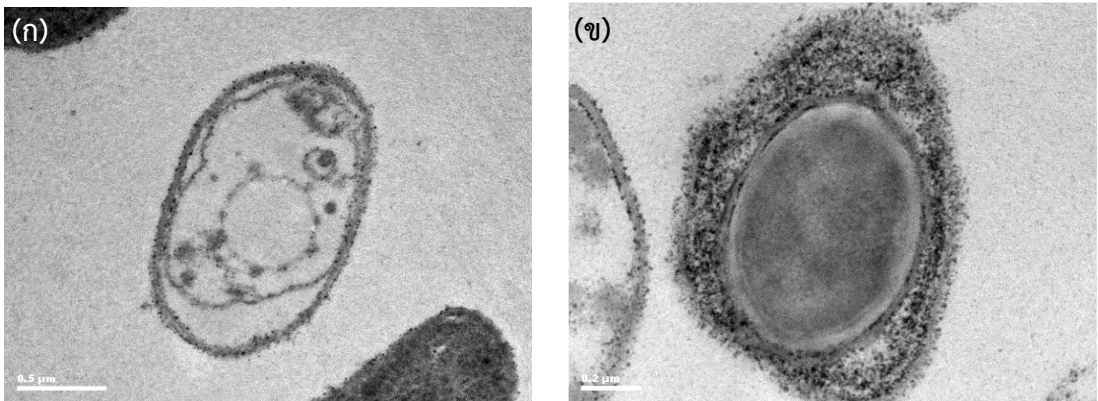
การตรวจหาการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพของเซลล์ *B. megaterium* และ *B. cereus* เมื่อเลี้ยงเจริญในสภาวะที่มี Cr(VI) เทียบกับสภาวะที่ไม่มี Cr(VI) ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน พบว่าจากภาพถ่ายกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (SEM image) ของเซลล์แบคทีเรียทั้งสองสายพันธุ์พบการเปลี่ยนแปลงที่ผิวเซลล์มีลักษณะหยาบและเป็นมันวาวมากขึ้นเมื่อเซลล์ถูกเลี้ยงเจริญในสภาวะที่มี Cr(VI) เทียบกับลักษณะของเซลล์ก่อนเลี้ยงใน Cr(VI) ที่ผิวเซลล์มีลักษณะเรียบ (ภาพที่ 11 และภาพที่ 12) ผลการทดลองที่ได้แสดงให้เห็นถึงการกระจายตัวของ Cr(VI) บนผิวของเซลล์แบคทีเรียทั้งสองชนิด ซึ่งยืนยันได้จากการตรวจเจอสัญญาณของอะตอมโครเมียมที่เพิ่มขึ้นบนผิวเซลล์แบคทีเรียที่อยู่ในสภาวะที่มี Cr(VI) และสามารถตรวจพบการสะสมของตะกอนโครเมียมภายในเซลล์ของแบคทีเรียทั้งสองชนิดเมื่อวิเคราะห์ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่านอีกด้วย (ภาพที่ 13 และภาพที่ 14) ผลการทดลองที่ได้แสดงให้เห็นถึงการสะสมของโครเมียมทั้งที่ผิวเซลล์และภายในเซลล์ของแบคทีเรียทั้งสองชนิด ซึ่งคล้ายคลึงกับผลการทดลองที่เคยมีรายงานมาก่อนในแบคทีเรียกลุ่มที่สามารถรีดิวซ์ Cr(VI) ได้ (Das et al., 2014; Daulton et al., 2007; Zakaria et al., 2007)



ภาพที่ 11 ภาพถ่ายจากการวิเคราะห์ SEM ที่กำลังขยาย 15K และผลการวิเคราะห์อะตอมธาตุของ *B. megaterium* (ก) ก่อนทำการดูดซับ และ (ข) หลังการดูดซับด้วย Cr(VI)

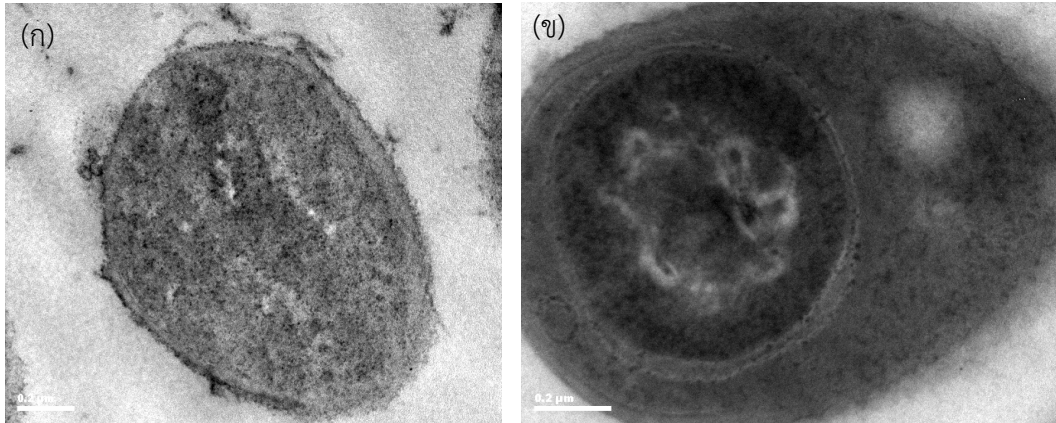


ภาพที่ 12 ภาพถ่ายจากการวิเคราะห์ SEM ที่กำลังขยาย 15K และผลการวิเคราะห์หอะตอมธาตุของ *B. cereus* (ก) ก่อนทำการดูดซับ และ (ข) หลังการดูดซับด้วย Cr(VI)



ภาพที่ 13 ภาพถ่ายจากการวิเคราะห์ TEM ของ *B. megaterium* (ก) ก่อน และ (ข) หลังการเลี้ยงในสภาวะที่มี Cr(VI)

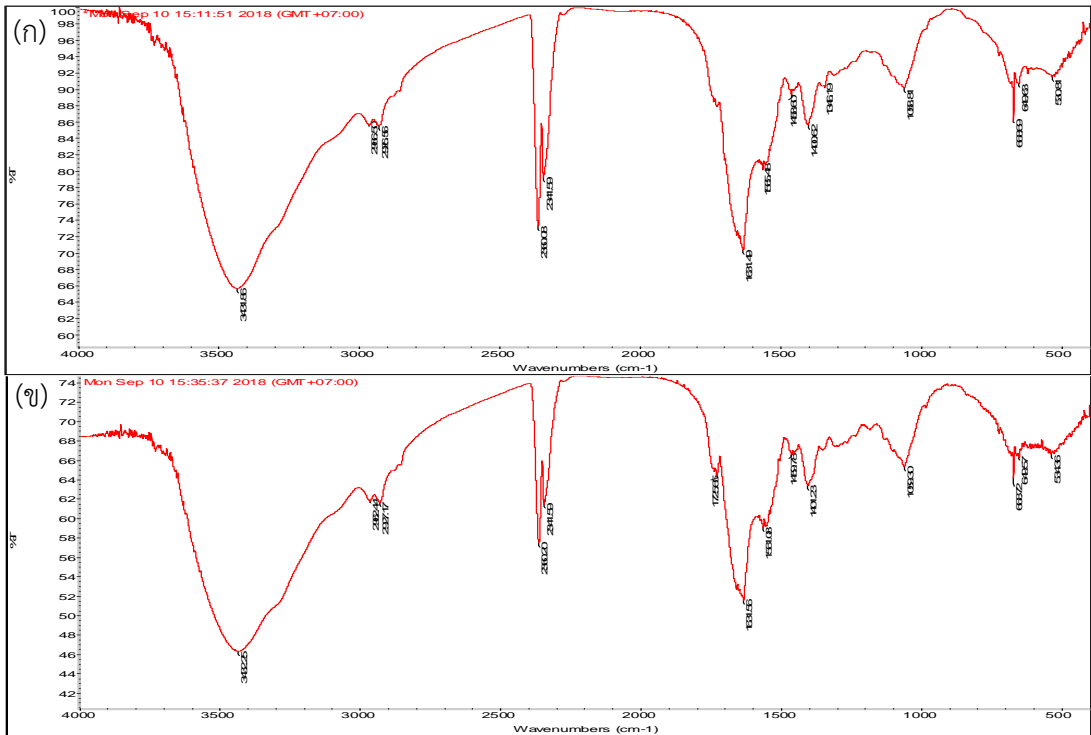




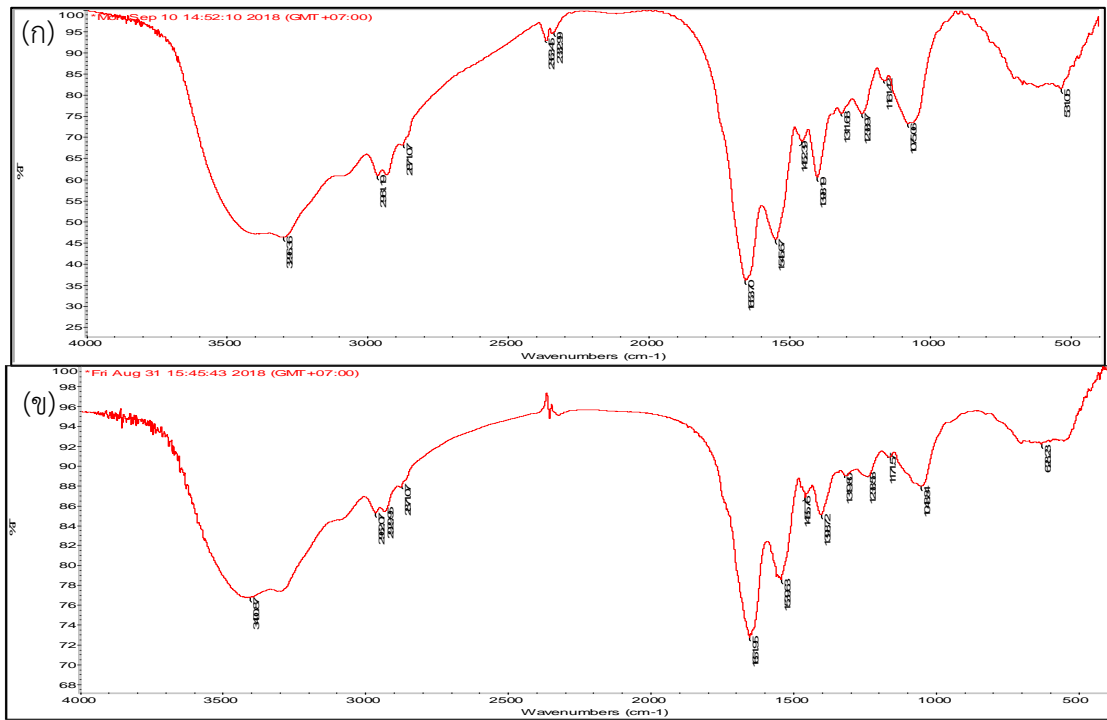
ภาพที่ 14 ภาพถ่ายจากการวิเคราะห์ TEM ของ *B. cereus* (ก) ก่อน และ (ข) หลังการเลี้ยงในสภาวะที่มี Cr(VI)

### 4.3 การวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงของหมู่ฟังก์ชันบนผิวของเซลล์แบคทีเรียด้วยเทคนิค Fourier transform infrared spectroscopy

เนื่องจากกลไกในการกำจัด Cr(VI) โดยแบคทีเรียมักจะเกิดขึ้นผ่านกระบวนการรีดักชันร่วมกับการดูดซับ (adsorption-coupled reduction process) (Park et al., 2007) ด้วยเหตุนี้ การวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงของหมู่ฟังก์ชันบนผิวของเซลล์แบคทีเรียด้วยเทคนิค FTIR อาจสามารถบอกถึงกลไกการกำจัดที่เกิดขึ้นและปฏิกิริยาเคมีที่เกิดขึ้นบนผิวของเซลล์แบคทีเรียได้ ผลการวิเคราะห์ FTIR ของผิวเซลล์ *B. megaterium* ภายหลังจากเลี้ยงในสภาวะที่มี Cr(VI) เทียบกับในสภาวะที่ไม่มี Cr(VI) ไม่พบการเปลี่ยนแปลงของหมู่ฟังก์ชันบนผิวเซลล์ ดังแสดงอินฟราเรดสเปกตรัม (infrared spectra) และความถี่ของคลื่นสเปกตรัมที่หาได้ภาพที่ 15 และตารางที่ 4 ตามลำดับ ขณะที่การวิเคราะห์ FTIR ของผิวเซลล์ *B. cereus* ตรวจพบการเปลี่ยนแปลงของหมู่ C-O stretching สำหรับอะลิฟาติกเอไมด์ จากการเปลี่ยนความยาวคลื่นที่  $1046\text{ cm}^{-1}$  เป็น  $1076\text{ cm}^{-1}$  เมื่อเลี้ยงเซลล์ *B. cereus* ในสภาวะที่มี Cr(VI) ดังแสดงในภาพที่ 16 และตารางที่ 4 ผลการทดลองที่ได้แสดงให้เห็นถึงความเป็นไปได้ในการเกิดพันธะโควาเลนต์ร่วม (co-ordinated covalent) บนผิวเซลล์ของ *B. cereus* ที่เกิดการจับกับ Cr(VI) ก่อนการรีดักชันภายในเซลล์



ภาพที่ 15 สเปกตรัมของเซลล์ *B. megaterium* (ก) ก่อนและ (ข) หลังการเลี้ยงในสภาวะที่มี Cr(VI) เมื่อวิเคราะห์ด้วยเทคนิค FTIR



ภาพที่ 16 สเปกตรัมของเซลล์ *B. cereus* (ก) ก่อนและ (ข) หลังการเลี้ยงในสภาวะที่มี Cr(VI) เมื่อวิเคราะห์ด้วยเทคนิค FTIR

ตารางที่ 4 ค่าความถี่ที่ใช้ในการรีดักชัน Cr(VI) ของ *B. megaterium* และ *B. cereus* เมื่อวิเคราะห์โดยเทคนิค FTIR เทียบกับเมื่อไม่เกิดการรีดักชัน

<i>B. megaterium</i>			<i>B. cereus</i>			หมู่ฟังก์ชัน
แถบความถี่หลักที่พบ (cm <sup>-1</sup> )			แถบความถี่หลักที่พบ (cm <sup>-1</sup> )			
ไม่มี Cr(VI)	มี Cr(VI)	ความแตกต่าง	ไม่มี Cr(VI)	มี Cr(VI)	ความแตกต่าง	
3432	3432	0	3400	3408	-8	OH, NH, CH stretching ใน แอลกอฮอล์ หรือเอมีน หรืออัลคิล
			3279	3273	6	
2965	2967	-2	2962	2961	1	CH stretching ในอัลเคน
2927	2927	0	2923	2926	-3	
2360	2360	0				หมู่อะมิโน
2342	2342	0				
	1726					หมู่ C=O, C-H bending และ N-H bending
1632	1632	0	1652	1655	-3	
1561	1551	10	1540	1547	-7	
1460	1459	1	1456	1451	5	
1340	1346	-6	1399	1399	0	
			1302	1308	-6	
			1235	1235	0	
1059	1059	0	1049	1077	-28	C-O stretching สำหรับอะลิฟาติก เอมีน

#### 4.4 การศึกษาไอโซเทอมของการดูดซับ

ไอโซเทอมโมเดลแบบ Langmuir และ Freundlich มักถูกนำมาใช้อธิบายความสัมพันธ์ระหว่างไอออนและตัวดูดซับที่สภาวะสมดุล

##### 4.4.1 Langmuir model

กราฟเส้นตรงตามโมเดล Langmuir ของการใช้เซลล์ *B. megaterium* และ *B. cereus* เป็นตัวดูดซับ แสดงในภาพที่ 17 ผลการทดลองได้ค่า  $R^2$  ในระดับที่ไม่สูงมากนัก คือ  $R^2 = 0.9642$  สำหรับ *B. megaterium* และ  $R^2 = 0.9361$  สำหรับ *B. cereus* ดังแสดงในตารางที่ 5 แสดงให้เห็นว่าการดูดซับ Cr(VI) โดยใช้เซลล์แบคทีเรียทั้งสองชนิดนี้ไม่ตรงตามโมเดลของ Langmuir แม้จะพบค่าความจุสูงสุดในการดูดซับ (maximum adsorption capacities หรือ  $q_m$ ) เท่ากับ 140.84 mg/g และ 162.60 mg/g สำหรับ *B. megaterium* และ *B. cereus* ตามลำดับ

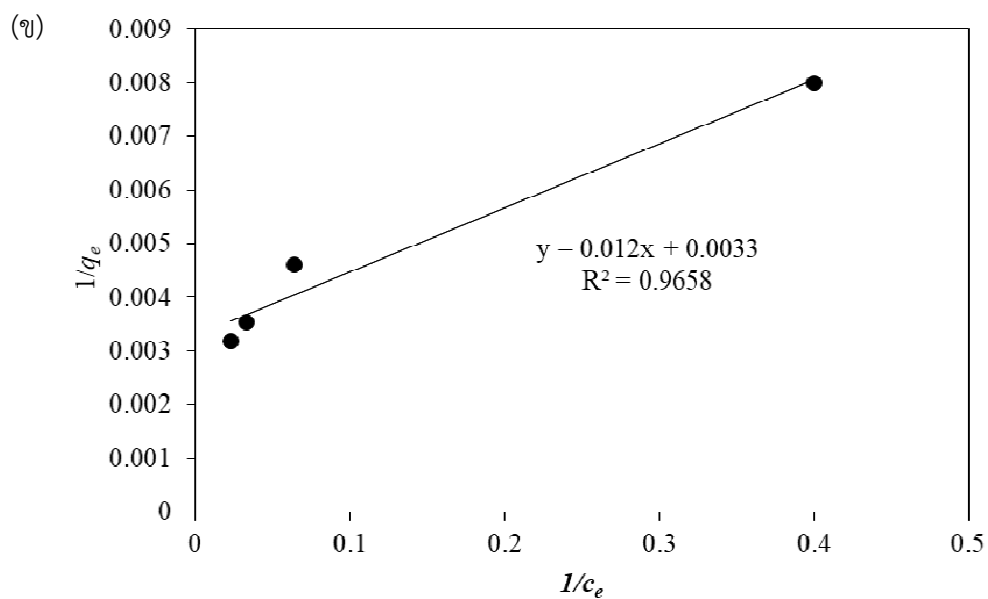
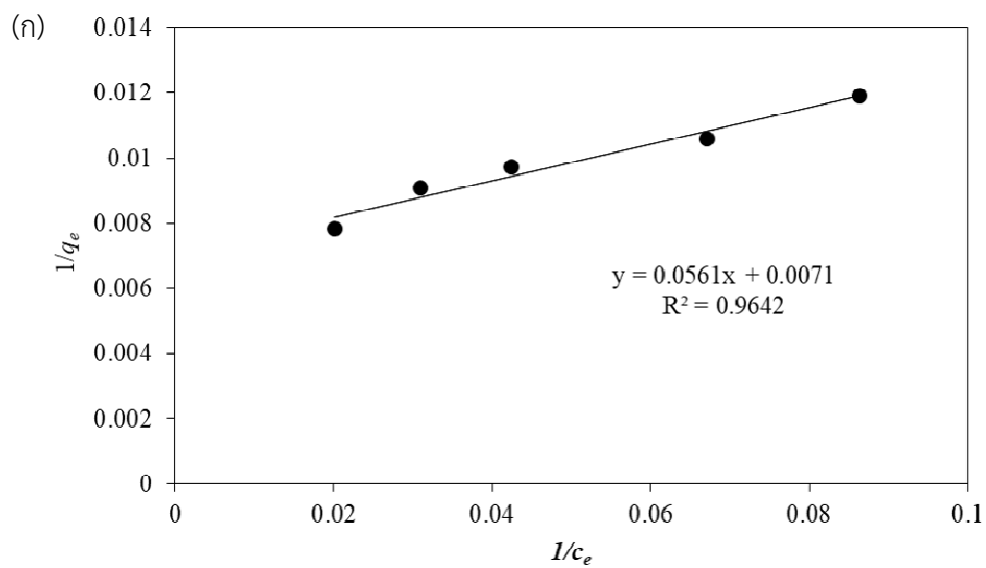
ลักษณะสำคัญของสมการ Langmuir คือมีค่าคงที่ได้หลากหลาย ที่เรียกว่าค่าพารามิเตอร์ที่สมดุล (equilibrium parameter หรือ  $R_L$ ) ซึ่งระบุประเภทของไอโซเทอมดังนี้  $R_L > 1$  คือ ไม่สามารถเกิดขึ้นได้และใช้สำหรับการดูดซับที่ไม่เหมาะสม (non-optimum adsorption),  $R_L = 1$  คือ การดูดซับแบบเป็นเส้นตรง (linear adsorption),  $0 < R_L < 1$  คือ สามารถเกิดขึ้นได้และใช้สำหรับการดูดซับที่เหมาะสม (optimum adsorption) และ  $R_L = 0$  คือการดูดซับที่ไม่สามารถผันกลับได้ และเมื่อพิจารณาจากผลการทดลองที่ได้ พบว่า *B. megaterium* ให้ค่า  $R_L$  ในช่วง 0.026-0.101 ขณะที่ของ *B. cereus* คือ ค่า  $R_L$  ในช่วง 0.032-0.116 ซึ่งระบุถึงความเหมาะสมในการดูดซับของ Cr(VI) ภายใต้สภาวะที่ทำการวิเคราะห์

##### 4.4.2 Freundlich model

เมื่อนำข้อมูลที่ได้จากการทดลองมาสร้างกราฟเส้นตรงตามสมการของโมเดล Freundlich ให้ผลการทดลองดังภาพที่ 18 โดยให้ค่า  $R^2 > 0.98$  (ตารางที่ 6) ที่แสดงถึงการสอดคล้องของผลการทดลองกับโมเดล รวมทั้งเห็นถึงค่าความจุในการดูดซับ (sorption capacity) และการจับจำเพาะของ *B. megaterium* และ *B. cereus* กับ Cr(VI) ที่สูง และเมื่อพิจารณาถึงค่า  $1/n$  ที่ระบุถึงประเภทของกระบวนการดูดซับคือ  $1/n = 0$  เป็นการดูดซับแบบไม่สามารถผันกลับได้  $0 < 1/n < 1$  คือสภาวะที่เหมาะสมในการดูดซับ และ  $1/n > 1$  คือการดูดซับอยู่ในสภาวะที่ไม่เหมาะสมหรือต้องอาศัยตัวช่วยในการดูดซับ (cooperative adsorption) พบว่าผลการทดลองให้ค่า  $1/n = 0.27$  สำหรับ *B. megaterium* และ  $1/n = 0.312$  สำหรับของ *B. cereus* ซึ่งเป็นค่าที่อยู่ระหว่าง 0 และ 1 ที่ระบุถึงความเหมาะสมในการเกิดการดูดซับในสภาวะที่ทำการทดลอง และเมื่อคำนวณค่าคงที่ไอโซเทอม (Freundlich isotherm constant หรือ  $K_f$ ) พบว่า *B. megaterium* ให้ค่า  $K_f = 44.16$  mg/g และ *B. cereus* ให้ค่า  $K_f = 51.87$  mg/g จากผลการทดลองที่ได้จึงระบุว่าการดูดซับ Cr(VI) ของ *B. megaterium* และ *B. cereus* เป็นไปตามโมเดลของ Freundlich ซึ่งแสดงให้เห็นถึงการนำ Cr(VI) เข้ามาจับกับผิวของเซลล์แบคทีเรียแบบเกิดการดูดซับหลายชั้น (multilayer adsorption) นั้นเอง (Malik, 2004; Owalude and Tella, 2016)

ตารางที่ 5 ค่าพารามิเตอร์ของไอโซเทอมโมเดลแบบ Langmuir ที่หาได้จากการดูดซับ Cr(VI) ของ *B. megaterium* และ *B. cereus*

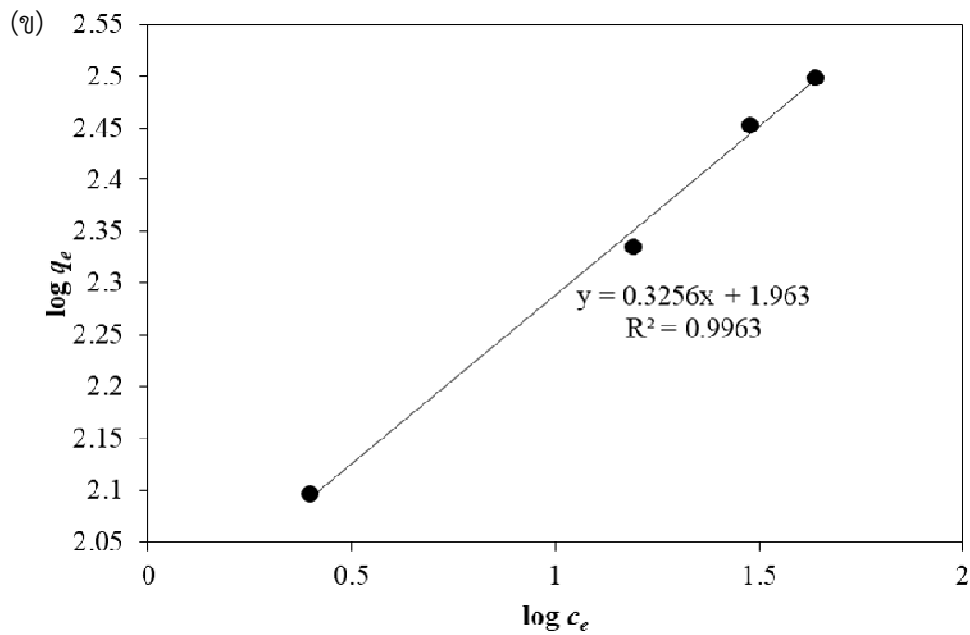
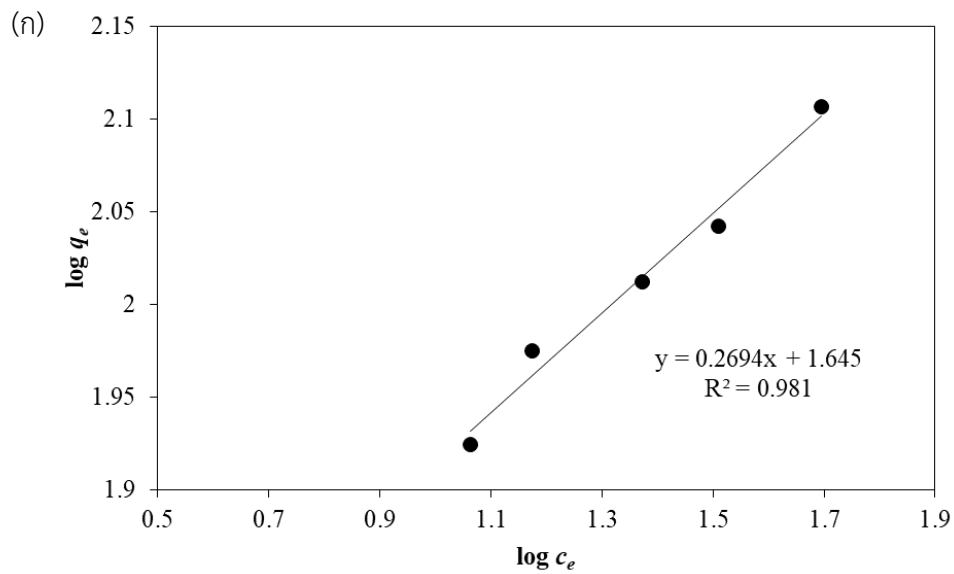
แบคทีเรีย	ค่าพารามิเตอร์			
	$K_L$ (คำนวณ) (mg/g)	$R_L$ (L/mg)	$q_m$ (mg/g)	$R^2$
<i>B. megaterium</i>	0.13 (Cr(VI) 30-70 mg/L)	0.026-0.101 ( $0 < R_L < 1$ )	140.84	0.9642
<i>B. cereus</i>	0.30 (Cr(VI) 30-70 mg/L)	0.032-0.116 ( $0 < R_L < 1$ )	162.60	0.9361



ภาพที่ 17 ไอโซเทอมโมเดลแบบ Langmuir ของการดูดซับ Cr(VI) ด้วย (ก) *B. megaterium* และ (ข) *B. cereus* เมื่อดำเนินการทดลองที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ด้วยการเขย่าที่ความเร็ว 250 รอบต่อนาที ที่ค่าพีเอช เท่ากับ 7.0 และใช้ตัวดูดซับเท่ากับ 1.6 กรัมต่อลิตร

ตารางที่ 6 ค่าพารามิเตอร์ของไอโซเทอมโมเดลแบบ Freundlich ที่หาได้จากการดูดซับ Cr(VI) ของ *B. megaterium* และ *B. cereus*

แบคทีเรีย	ค่าพารามิเตอร์			
	$K_f$ (คำนวณ) (mg/g)	$1/n$	$n$	$R^2$
<i>B. megaterium</i>	44.16 (Cr(VI) = 30 mg/L)	0.270	3.71	0.981
<i>B. cereus</i>	51.87 (Cr(VI) = 30 mg/L)	0.312	3.20	0.9963



ภาพที่ 18 ไอโซเทอมโมเดลแบบ Freundlich ของการดูดซับ Cr(VI) ด้วย (ก) *B. megaterium* และ (ข) *B. cereus* เมื่อดำเนินการทดลองที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ด้วยการเขย่าที่ความเร็ว 250 รอบต่อนาที ที่ค่าพีเอช เท่ากับ 7.0 และใช้ตัวดูดซับเท่ากับ 1.6 กรัมต่อลิตร

#### 4.5 การศึกษาจลนศาสตร์ของการดูดซับ

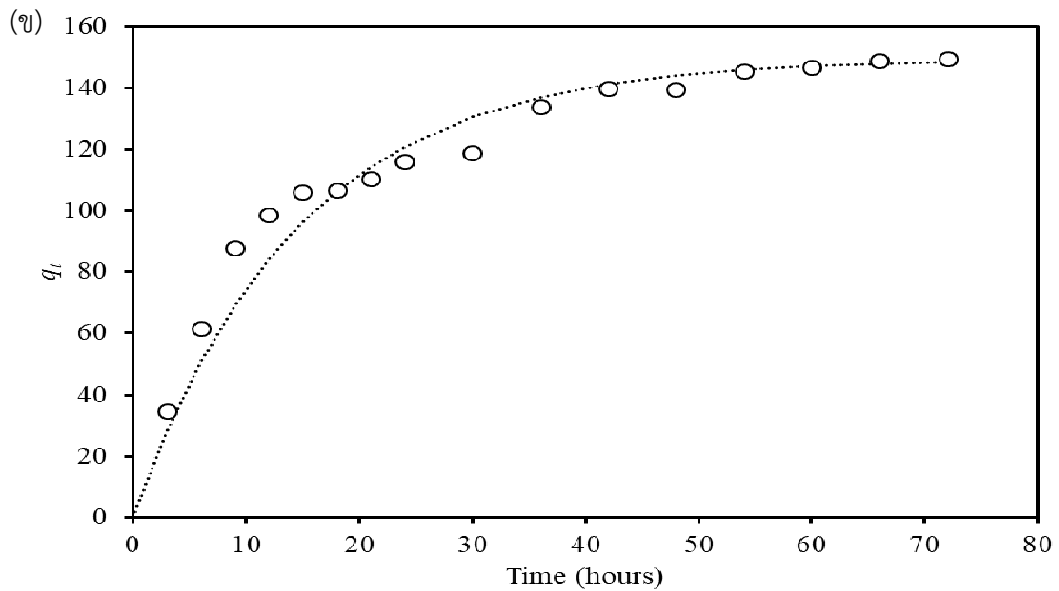
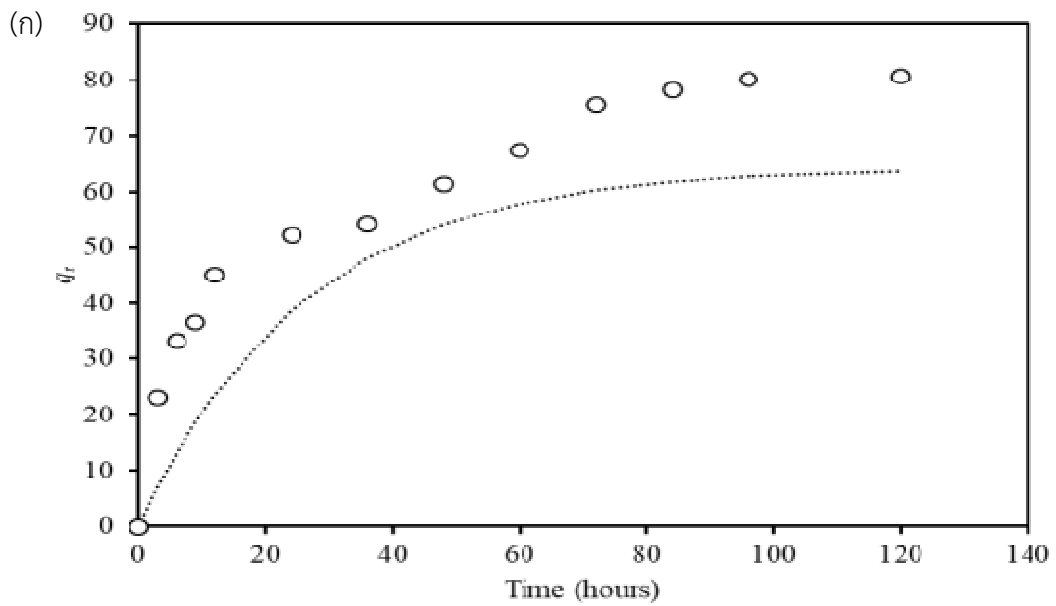
การศึกษาจลนศาสตร์ของการดูดซับที่อธิบายถึงอัตราเร็วในการดูดซับนั้นเป็นปัจจัยสำคัญที่จะใช้ในการออกแบบกระบวนการดูดซับต่อไป ซึ่งค่าจลนศาสตร์ในการดูดซับนี้จะขึ้นกับลักษณะทางกายภาพและเคมีของตัวดูดซับรวมทั้งกระบวนการเคลื่อนย้ายมวล (mass transfer process) ของสารที่ทำการศึกษา (Wang et al., 2005) ข้อมูลที่ได้จากการทดลองจะใช้ในการคาดเดาจลนศาสตร์ของการดูดซับ Cr(VI) ที่เกิดขึ้นเมื่อใช้แบคทีเรียทั้งสองชนิดเป็นตัวดูดซับได้ ในการทดลองนี้ได้นำข้อมูลที่ได้จากการทดลองมาวิเคราะห์โดยใช้โมเดลทางจลนศาสตร์ จำนวน 4 โมเดล คือ pseudo-first-order kinetic model, pseudo-second-order kinetic model, intra-particle diffusion model และ Boyd model ร่วมกับโมเดลการรีดักชัน จำนวน 2 โมเดล คือ pseudo-first-order reduction model และ pseudo-second-order reduction model ซึ่งจะดูความสอดคล้องของผลการทดลองกับโมเดลจากค่า  $R^2$  ที่เข้าใกล้ 1 ร่วมกับความใกล้เคียงของค่าความจุในการดูดซับที่ได้จากการทดลองและที่ได้จากการคำนวณที่ระบุโดยค่า MPSD

##### 4.5.1 Pseudo-first-order adsorption model

โมเดลนี้ใช้อธิบายบนข้อเท็จจริงที่ว่า การเปลี่ยนแปลงของความเข้มข้นของ Cr(VI) ในแต่ละช่วงเวลานั้นจะเป็นสัดส่วนกับประสิทธิภาพในการดูดซับ เมื่อนำผลการทดลองมาสร้างกราฟของ pseudo-first-order model ได้กราฟดังแสดงในภาพที่ 19 ซึ่งพบว่าปริมาณของ Cr(VI) ที่ถูกดูดซับบนตัวดูดซับทั้งสองชนิดจะเพิ่มขึ้นอย่างช้าๆ ที่ทุกช่วงเวลาทำการศึกษา และอัตราเร็วในการดูดซับจะค่อยๆ ลดลงและเข้าสู่สมดุลตามเวลาทำการศึกษา แต่ผลการทดลองที่ได้ให้ค่าที่แตกต่างค่อนข้างมากกับค่าตามทฤษฎี (ค่าที่คำนวณ) และเมื่อทำการสร้างกราฟเส้นตรงตามสมการของโมเดลที่ได้จากการพล็อตค่า  $\log(q_e - q_t)$  และ  $t$  (ภาพที่ 20) และคำนวณค่า  $k_1$  (pseudo-first-order rate constant) ให้ค่า  $R^2$  แสดงดังตารางที่ 7 ซึ่งแสดงให้เห็นถึงความไม่สอดคล้องของผลการทดลองที่ได้กับค่าทางทฤษฎี โดยสามารถยืนยันได้จากค่า MPSD ซึ่งมีค่าสูงที่ระบุถึงความแตกต่างของค่า  $q_t$  ที่ได้จากจากการทดลองและจากการคำนวณ ด้วยเหตุนี้จึงสรุปว่าผลการทดลองไม่สอดคล้องกับ pseudo-first-order model

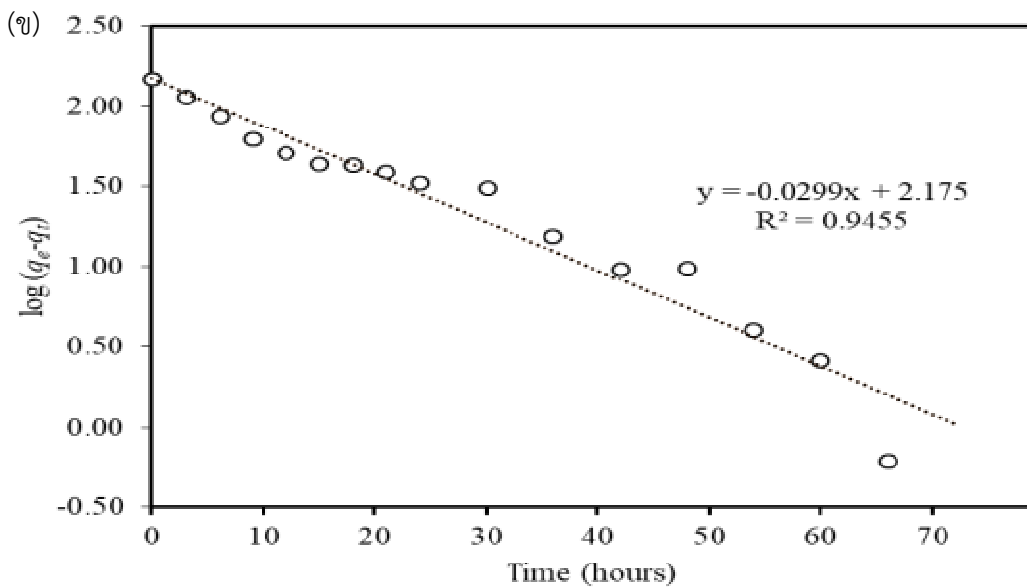
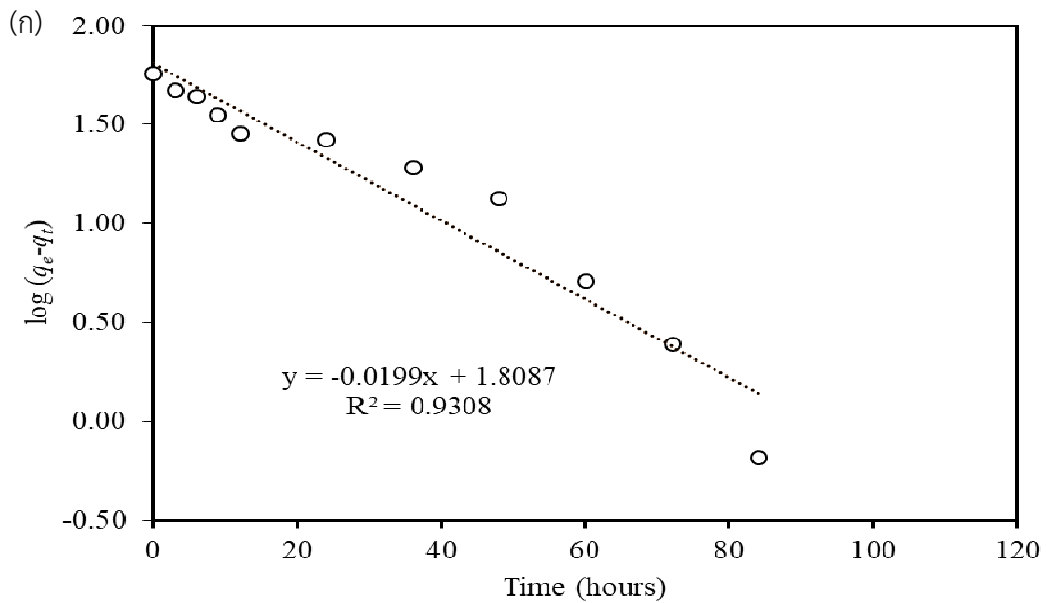
ตารางที่ 7 ค่าคงที่ทางจลนศาสตร์ของ Pseudo-first-order adsorption model สำหรับการดูดซับ Cr(VI) ด้วย *B. megaterium* และ *B. cereus*

แบคทีเรีย	ค่าจากการทดลอง		ค่าคงที่ของ Kinetic model, $R^2$ และ MPSD		
	$q_e$ (exp.) (mg/g)	$q_e$ (cal.) (mg/g)	$k_1$ (min <sup>-1</sup> )	$R^2$	MPSD
<i>B. megaterium</i>	80.86	64.37	0.4583	0.9308	56.83
<i>B. cereus</i>	149.46	149.62	0.0689	0.9455	15.57



ภาพที่ 19 กราฟจลนศาสตร์แบบ Pseudo-first-order adsorption model สำหรับการดูดซับ Cr(VI) ด้วย (ก) *B. megaterium* และ (ข) *B. cereus* ที่ความเข้มข้นโครเมียม 30 มิลลิกรัมต่อลิตร และ 25 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ สัญลักษณ์ระบุถึงค่าที่ได้จากการทดลองและเส้นประคือค่าทางทฤษฎี (ค่าที่ได้จากการคำนวณ) จากโมเดล เมื่อดำเนินการทดลองที่ค่าพีเอชเท่ากับ 7.0 ความเร็วในการเขย่าเท่ากับ 250 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส โดยใช้เซลล์แบคทีเรียเท่ากับ 1.6 กรัมต่อลิตร



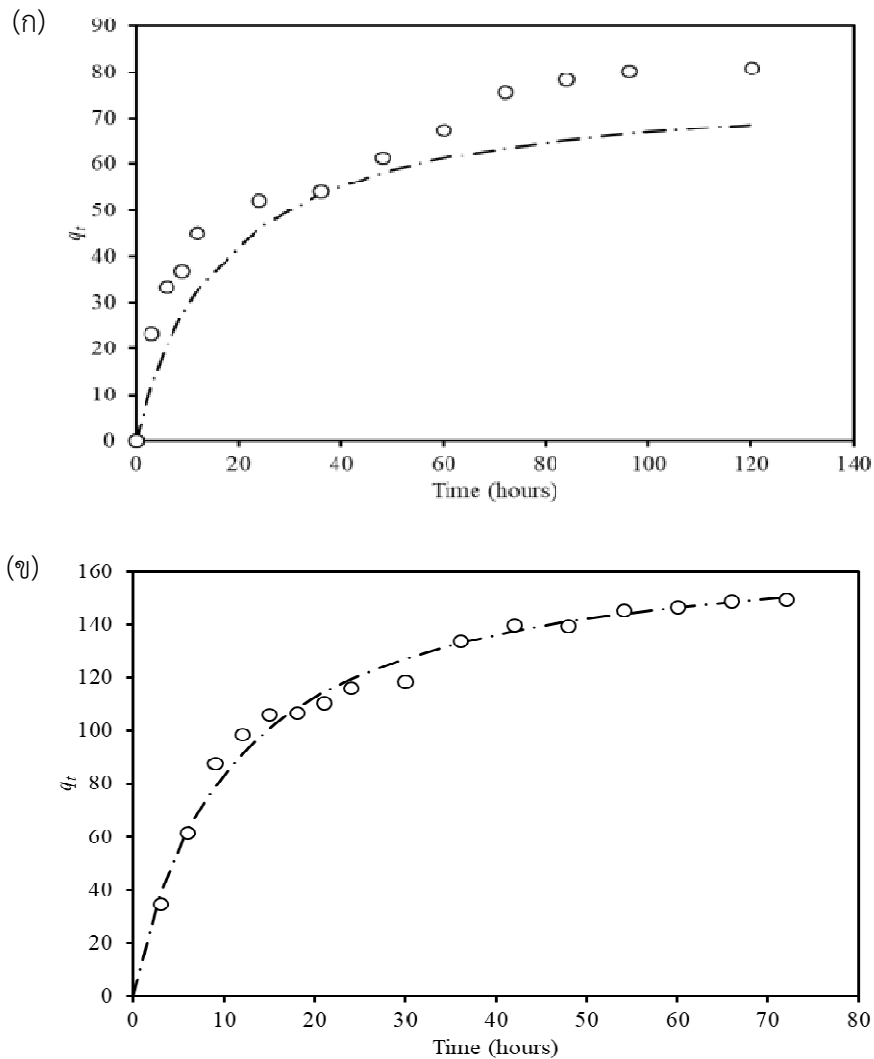


ภาพที่ 20 กราฟจลนศาสตร์แบบเส้นตรงของ Pseudo-first-order adsorption model สำหรับการดูดซับ Cr(VI) ด้วย (ก) *B. megaterium* และ (ข) *B. cereus* ที่ความเข้มข้นโครเมียมเท่ากับ 30 มิลลิกรัมต่อลิตร และ 25 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ สัญลักษณ์ระบุถึงค่าที่ได้จากการทดลองและเส้นประคือค่าทางทฤษฎี (ค่าที่ได้จากการคำนวณ) จากโมเดล เมื่อดำเนินการทดลองที่ค่าพีเอชเท่ากับ 7.0 ความเร็วในการเขย่าเท่ากับ 250 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส โดยใช้เซลล์แบคทีเรียเท่ากับ 1.6 กรัมต่อลิตร

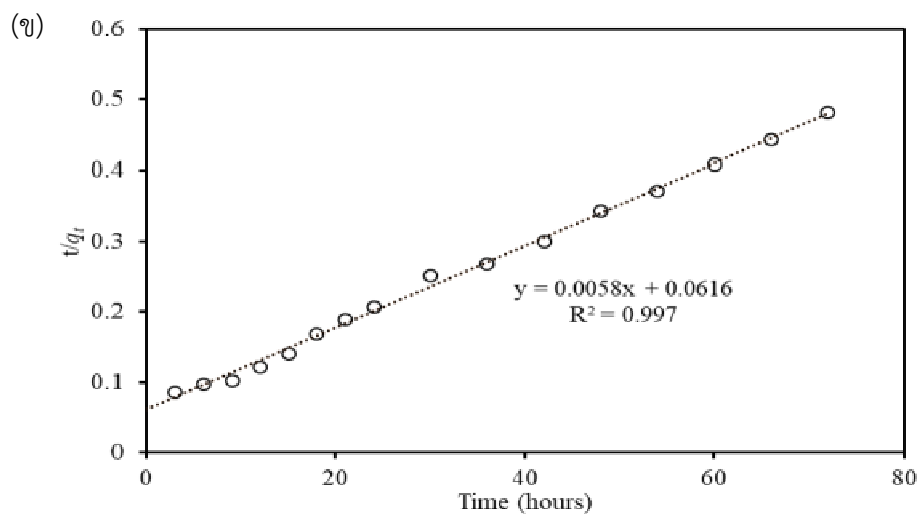
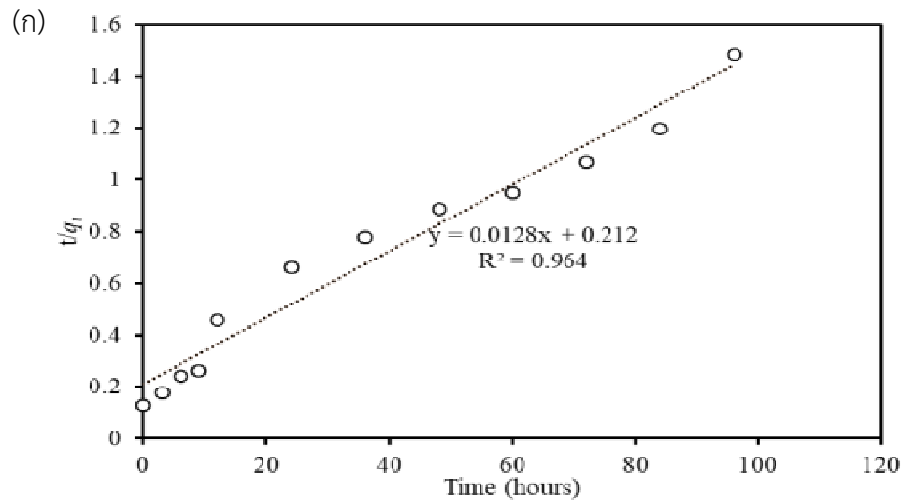
#### 4.5.2 Pseudo-second-order adsorption model

Pseudo-second-order model เป็นโมเดลที่ใช้อธิบายการดูดซับเชิงเคมี (chemisorption) ที่เกิดขึ้นระหว่างตัวดูดซับกับสาร ซึ่งการสร้างกราฟของโมเดล (ภาพที่ 21) แสดงให้เห็นถึงความสอดคล้องของผลการทดลองของ *B. cereus* กับค่าทางทฤษฎี ขณะที่ผลการทดลองของ

*B. megaterium* ยังห่างจากค่าทางทฤษฎีอยู่มาก และเมื่อคาดเดาอัตราเร็วทางจลนศาสตร์ของการดูดซับผ่านสมการเส้นตรงของโมเดลและกราฟเส้นตรงระหว่างค่า  $t/q_t$  และ  $t$  (ภาพที่ 22) ที่มีความชันคือ  $1/k_2q_e^2$  และจุดตัดแกนคือ  $1/q_e$  ให้ค่าคงที่ของโมเดล ( $q_e$  และ  $k_2$ ) ดังสรุปในตารางที่ 8 จากผลการทดลองที่ได้แสดงให้เห็นถึงความสอดคล้องของผลการทดลองที่ได้จาก *B. cereus* กับค่าทางทฤษฎี จากค่า  $R^2 > 0.99$  และความใกล้เคียงกันของค่า  $q_{e, exp}$  และ  $q_{e, cal}$  นอกจากนี้ค่า MPSD ที่น้อยกว่า 10 ยังระบุถึงความใกล้เคียงกันของ  $q_{e, exp}$  และ  $q_{e, cal}$  อีกด้วย ผลการทดลองที่ได้แสดงให้เห็นว่าการดูดซับ Cr(VI) ของ *B. cereus* นั้นสอดคล้องกับ pseudo second-order adsorption model ซึ่งสามารถระบุได้ว่าการดูดซับเชิงเคมีและเป็นขั้นตอนจำกัดความเร็ว (rate-limiting step) ในการดูดซับ Cr(VI) ของ *B. cereus*



ภาพที่ 21 กราฟจลนศาสตร์แบบ Pseudo-second-order adsorption model สำหรับการดูดซับ Cr(VI) ด้วย (ก) *B. megaterium* และ (ข) *B. cereus* ที่ความเข้มข้นโครเมียมเท่ากับ 30 มิลลิกรัมต่อลิตร และ 25 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ สัญลักษณ์ระบุถึงค่าที่ได้จากการทดลองและเส้นขีดคือค่าทางทฤษฎี (ค่าที่ได้จากการคำนวณ) จากโมเดล เมื่อดำเนินการทดลองที่ค่าพีเอชเท่ากับ 7.0 ความเร็วในการเขย่าเท่ากับ 250 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส โดยใช้เซลล์แบบคที่เรียเท่ากับ 1.6 กรัมต่อลิตร



ภาพที่ 22 กราฟจลนศาสตร์แบบเส้นตรงของ Pseudo-second-order adsorption model สำหรับการดูดซับ Cr(VI) ด้วย (ก) *B. megaterium* และ (ข) *B. cereus* ที่ความเข้มข้นโครเมียมเท่ากับ 30 มิลลิกรัมต่อลิตร และ 25 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ สัญลักษณ์ระบุถึงค่าที่ได้จากการทดลองและเส้นประคือค่าทางทฤษฎี (ค่าที่ได้จากการคำนวณ) จากโมเดล เมื่อดำเนินการทดลองที่ค่าพีเอชเท่ากับ 7.0 ความเร็วในการเขย่าเท่ากับ 250 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส โดยใช้เซลล์แบคทีเรียเท่ากับ 1.6 กรัมต่อลิตร

ตารางที่ 8 ค่าคงที่ทางจลนศาสตร์ของ Pseudo-second-order adsorption model สำหรับการดูดซับ Cr(VI) ด้วย *B. megaterium* และ *B. cereus*

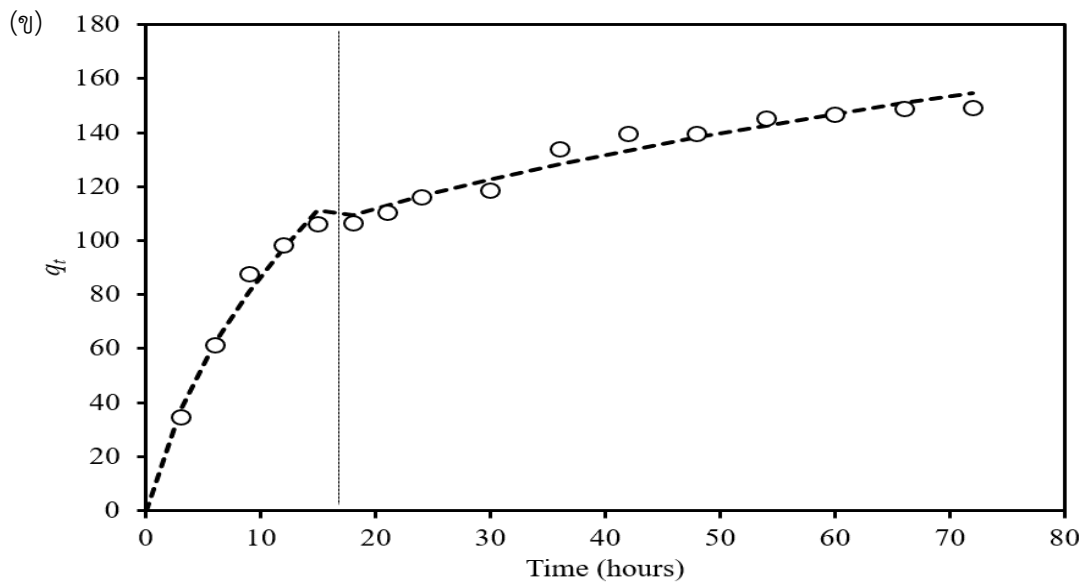
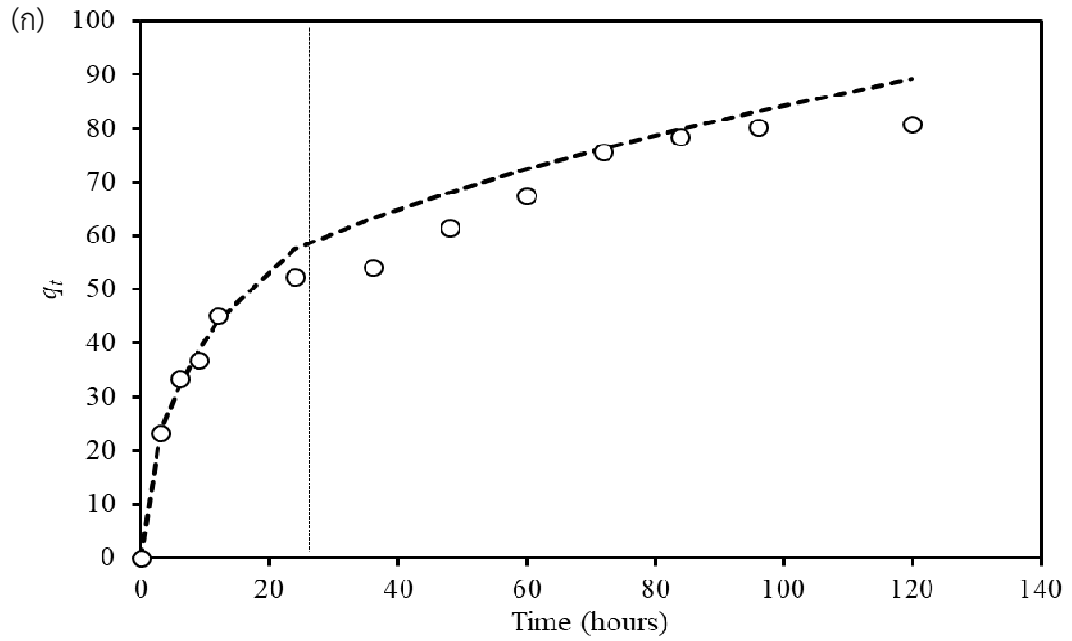
แบคทีเรีย	ค่าจากการทดลอง		ค่าคงที่ของ Kinetic model, $R^2$ และ MPSD		
	$q_e$ (exp.) (mg/g)	$q_e$ (cal.) (mg/g)	$k_2$ ( $\text{min}^{-1}$ )	$R^2$	MPSD
<i>B. megaterium</i>	80.86	70.13	0.0008	0.9640	28.63
<i>B. cereus</i>	149.46	148.80	0.0005	0.9970	7.13

#### 4.5.3 Intra-particle diffusion model

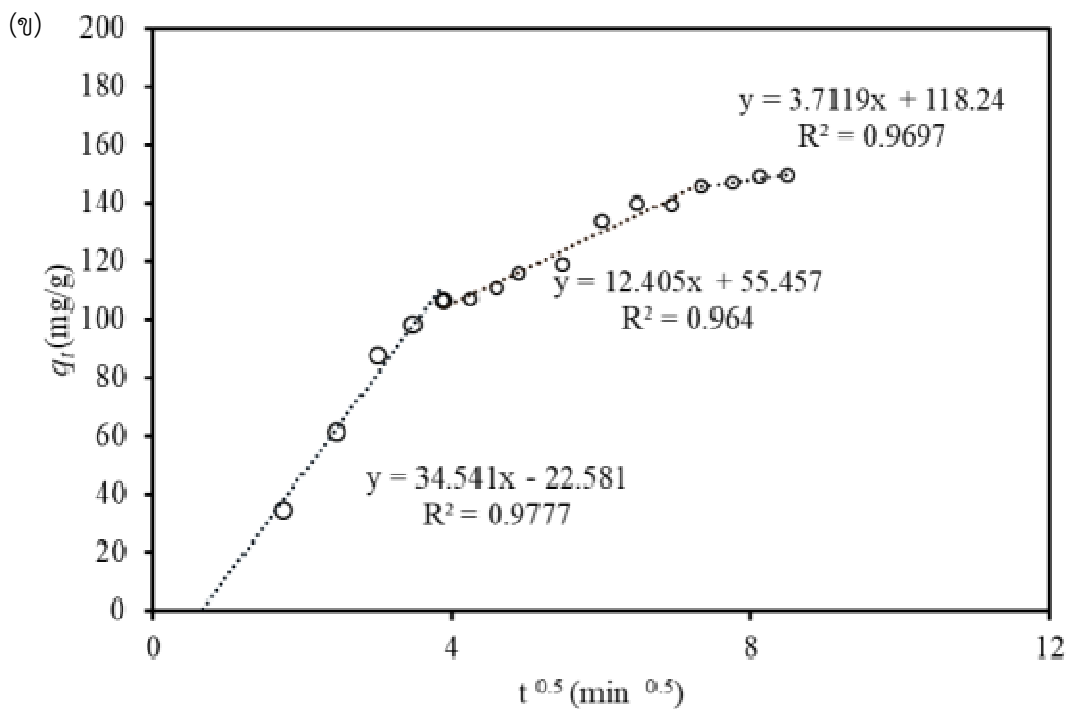
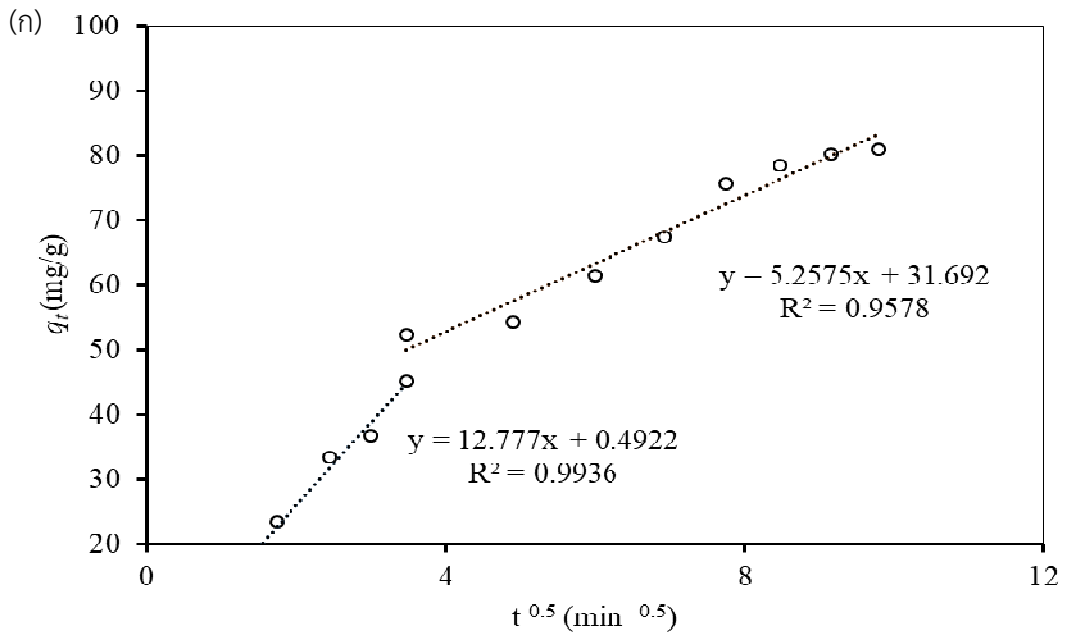
เนื่องจากการเคลื่อนย้ายไอออนของ Cr(VI) สู่พื้นผิวของตัวดูดซับสามารถเกิดขึ้นได้หลายขั้นตอน ได้แก่ การแพร่ผ่านชั้นฟิล์มหรือการแพร่จากภายนอก (external diffusion) การแพร่ผ่านรูพรุน (pore diffusion) การแพร่ผ่านพื้นผิว (surface diffusion) และการดูดซับบนพื้นผิวรูพรุน (pore surface) หรือการรวมกันหลายขั้นตอน นอกจากนี้การดูดซับในระบบแบบ batch ที่มีการใช้ไบพัดกวอย่างรวดเร็วยังอาจทำให้เกิดการแพร่ของมวล (diffusive mass transfer) ด้วยค่าคงที่การแพร่ (diffusion coefficient) ที่ต่างกันได้ ทำให้การทดลองนี้ นำสมการของ Morris-Weber ซึ่งใช้ประเมินชนิดของการแพร่ผ่านค่าคงที่ของการแพร่ (intra-particle diffusion rate constant หรือ  $k_{id}$ ) มาใช้ เมื่อสร้างกราฟระหว่าง  $q_t$  และเวลาที่เกิดการแพร่ (ภาพที่ 23) ตามโมเดล พบว่าลักษณะการแพร่ของ Cr(VI) เข้าสู่ *B. megaterium* และ *B. cereus* เกิดขึ้นในลักษณะสองขั้นตอนและสามขั้นตอน ตามลำดับ นอกจากนี้กราฟเส้นตรงระหว่าง  $q_t$  และ  $t^{0.5}$  ที่ได้จากผลการทดลองของแบบที่เรียทั้งสองสายพันธุ์ (ภาพที่ 24) ยังเป็นกราฟที่ผ่านจุดเริ่มต้น จึงแสดงให้เห็นว่าการแพร่ของ Cr(VI) เข้าสู่แบบที่เรียทั้งสองสายพันธุ์นี้มีอัตราการเคลื่อนย้ายมวลแบบเป็นลำดับขั้นตอน และยังสามารระบุได้ว่าการแพร่ภายในอนุภาคนั้นเป็นขั้นตอนจำกัดความเร็วที่เกิดขึ้นอีกด้วย ซึ่งค่า  $R^2$  ที่ได้จากโมเดลนี้ก็มีค่าที่สูงกว่าของ pseudo-first-order adsorption model ด้วย (ตารางที่ 9 และ ตารางที่ 10) ดังนั้นจึงสามารถสรุปได้ว่าผลการทดลองที่ได้ใกล้เคียงกับ intra-particle diffusion model อีกโมเดล ซึ่งให้ผลสอดคล้องกับผลการวิเคราะห์ SEM-EDS และ FTIR ที่แสดงถึงการดูดซับของ Cr(VI) บนพื้นผิวของเซลล์แบคทีเรีย และเกิดการแพร่ของ Cr(VI) เข้าสู่ภายในเซลล์แบคทีเรียเมื่อวิเคราะห์ด้วย TEM นั้นเอง

#### 4.5.4 Boyd model

ขั้นตอนที่เข้าสู่ที่สุดของกระบวนการดูดซับสามารถคาดเดาได้จากการนำผลการทดลองมาเข้ากับโมเดล Boyd (Cheung et al., 2007) โดยพิจารณาจากค่า  $B_t$  ที่หาได้ในช่วงเวลาต่างๆ และกราฟเส้นตรงที่เกิดขึ้น เนื่องจากผลการทดลองที่ได้จากการศึกษา intra-particle diffusion model พบว่ากราฟผ่านจุดกำเนิด แสดงให้เห็นว่าเกิดการแพร่ของ Cr(VI) ภายในเซลล์แบคทีเรียทั้งสองสายพันธุ์ คำถามต่อมาคือ Cr(VI) เข้าสู่เซลล์แบคทีเรียได้อย่างไร ซึ่งอาจจะเกิดจากการสร้างฟิล์มบนผิวเซลล์แบคทีเรียด้วยพันธะโควาเลนต์ขณะดูดซับ ก่อนที่จะเกิดการลำเลียงเข้าสู่เซลล์แบคทีเรียหรือไม่ ซึ่งจะให้ผลสอดคล้องกับผลการทดลองที่ตรงกับ Freundlich model และ pseudo-second-order adsorption model จากผลการทดลองของ Boyd model พบว่ากราฟเป็นเส้นตรงที่ไม่ผ่านจุดกำเนิด (ภาพที่ 25) แสดงให้เห็นว่าขั้นตอนจำกัดความเร็วในการดูดซับ Cr(VI) ของแบบที่เรียทั้งสองชนิดคือการนำมวลจากภายนอกเข้าสู่เซลล์ (external mass transfer) ภายหลังจากการสร้างฟิล์มของ Cr(VI) บนผิวของเซลล์แบคทีเรียแบบหลายชั้น และจะเกิดการส่งผ่าน Cr(VI) เข้าสู่ภายในเซลล์แบคทีเรียแบบเป็นลำดับขั้นตอนต่อไป



ภาพที่ 23 กราฟจลนศาสตร์แบบ Intra-particle diffusion สำหรับการดูดซับ Cr(VI) ด้วย (ก) *B. megaterium* และ (ข) *B. cereus* ที่ความเข้มข้นโครเมียมเท่ากับ 30 มิลลิกรัมต่อลิตร และ 25 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ สัญลักษณ์ระบุถึงค่าที่ได้จากการทดลองและเส้นขีดคือค่าทางทฤษฎี (ค่าที่ได้จากการคำนวณ) จากโมเดล เมื่อดำเนินการทดลองที่ค่าพีเอชเท่ากับ 7.0 ความเร็วในการเขย่าเท่ากับ 250 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส โดยใช้เซลล์แบบคที่เรียเท่ากับ 1.6 กรัมต่อลิตร



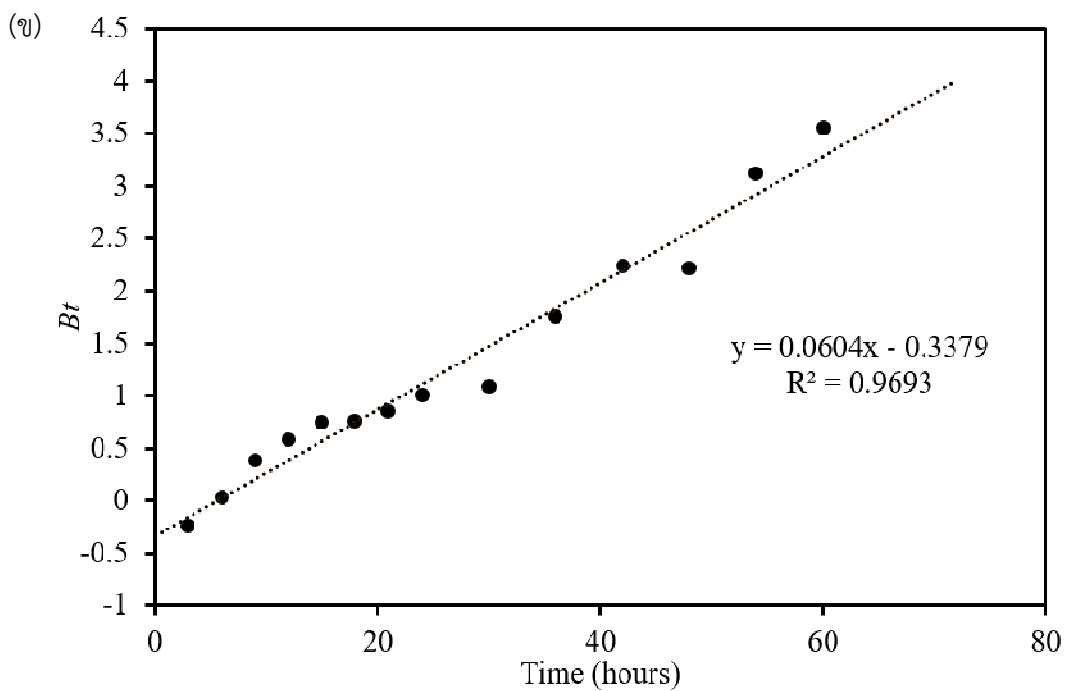
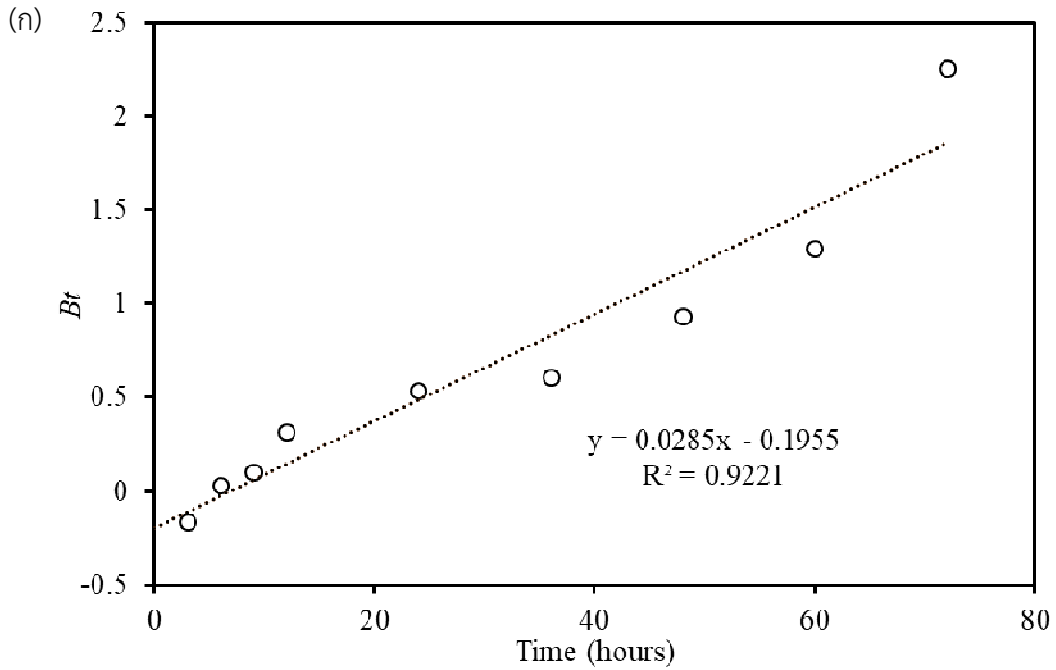
ภาพที่ 24 กราฟจลนศาสตร์แบบเส้นตรงของ Intra-particle diffusion model สำหรับการดูดซับ Cr(VI) ด้วย (ก) *B. megaterium* และ (ข) *B. cereus* ที่ความเข้มข้นโครเมียมเท่ากับ 30 มิลลิกรัมต่อลิตร และ 25 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ สัญลักษณ์ระบุถึงค่าที่ได้จากการทดลองและเส้นขีดคือค่าทางทฤษฎี (ค่าที่ได้จากการคำนวณ) จากโมเดล เมื่อดำเนินการทดลองที่ค่าพีเอชเท่ากับ 7.0 ความเร็วในการเขย่าเท่ากับ 250 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส โดยใช้เซลล์แบบที่เรียเท่ากับ 1.6 กรัมต่อลิตร

ตารางที่ 9 ค่าคงที่ทางจลนศาสตร์ของ Intra-particle diffusion model สำหรับการดูดซับ Cr(VI) ด้วย *B. megaterium*

แบคทีเรีย	ค่าจากการทดลอง		ค่าคงที่ของ Kinetic model, R <sup>2</sup> และ MPSD					
	$q_e$ (exp.) (mg/g)	$k_{id1}$ (min <sup>-1</sup> )	$\theta$	R <sup>2</sup>	$k_{id2}$ (min <sup>-1</sup> )	$\theta$	R <sup>2</sup>	MPSD
<i>B. megaterium</i>	149.46	11.99	2.71	0.97	5.26	31.69	0.96	13.45

ตารางที่ 10 ค่าคงที่ทางจลนศาสตร์ของ Intra-particle diffusion model สำหรับการดูดซับ Cr(VI) ด้วย *B. cereus*

แบคทีเรีย	ค่าจากการทดลอง		ค่าคงที่ของ Kinetic model, R <sup>2</sup> และ MPSD								
	$q_e$ (exp.) (mg/g)	$k_{id1}$ (min <sup>-1</sup> )	$\theta$	R <sup>2</sup>	$k_{id2}$ (min <sup>-1</sup> )	$\theta$	R <sup>2</sup>	$k_{id3}$ (min <sup>-1</sup> )	$\theta$	R <sup>2</sup>	MPSD
<i>B. cereus</i>	149.46	34.51	22.58	0.977	12.405	55.457	0.964	3.7191	118.24	0.9697	6.46



ภาพที่ 25 กราฟจลนศาสตร์แบบเส้นตรงของ Boyd model สำหรับการดูดซับ Cr(VI) ด้วย (ก) *B. megaterium* และ (ข) *B. cereus* ที่ความเข้มข้นโครเมียมเท่ากับ 30 มิลลิกรัมต่อลิตร และ 25 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ สัญลักษณ์ระบุถึงค่าที่ได้จากการทดลองและเส้นประคือค่าทางทฤษฎี (ค่าที่ได้จากการคำนวณ) จากโมเดล เมื่อดำเนินการทดลองที่ค่าพีเอชเท่ากับ 7.0 ความเร็วในการเขย่าเท่ากับ 250 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส โดยใช้เซลล์แบคทีเรียเท่ากับ 1.6 กรัมต่อลิตร



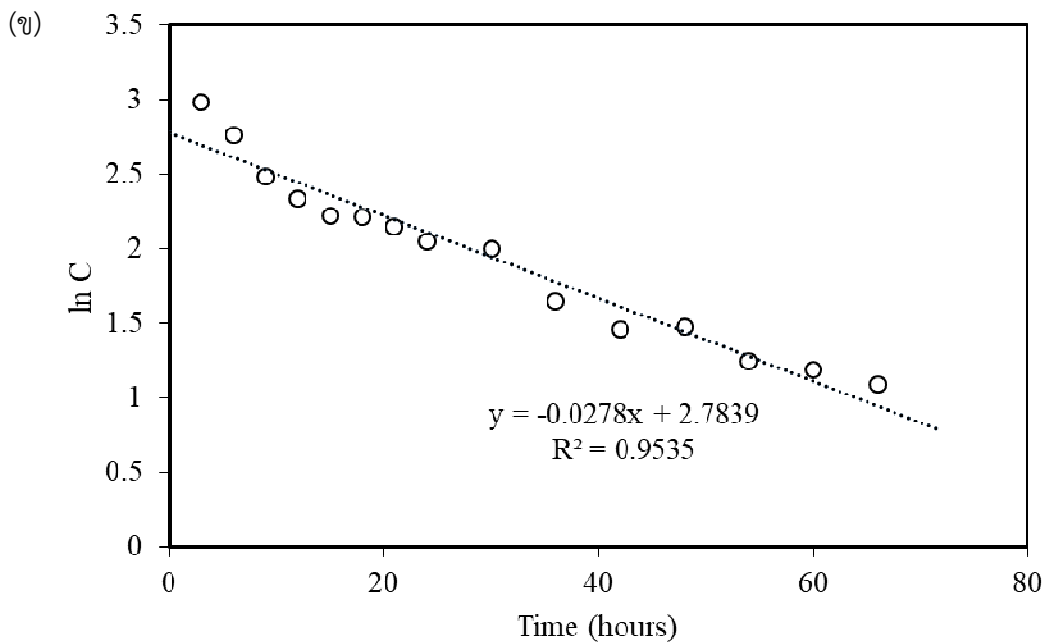
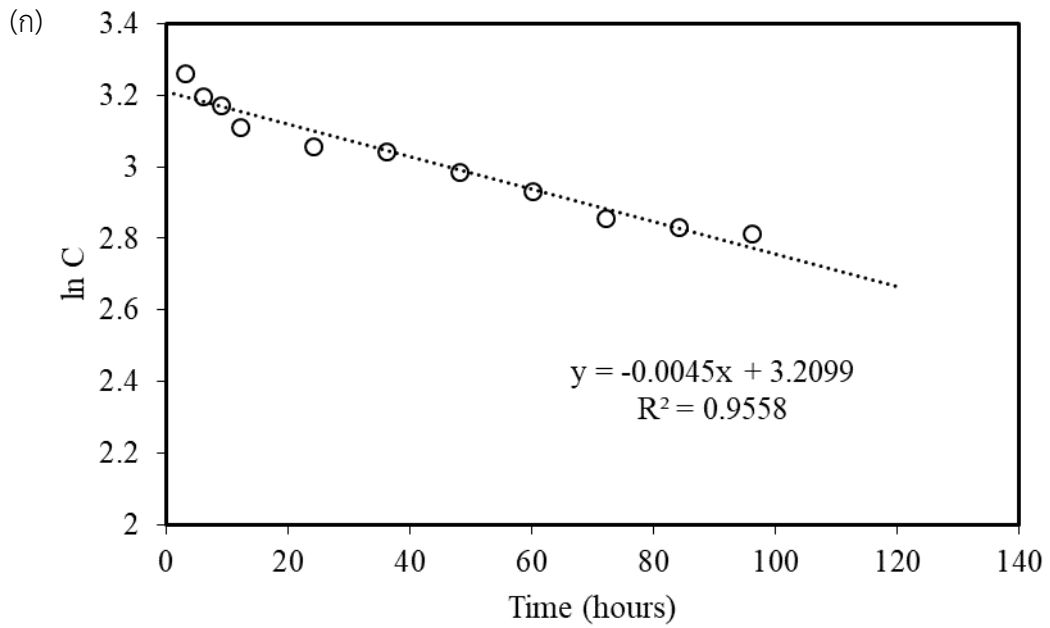
#### 4.5.5 Reduction kinetic model

เมื่อนำผลการทดลองของ *B. megaterium* และ *B. cereus* มาหาความสอดคล้องกับโมเดลจลนศาสตร์รีดักชัน พบความสอดคล้องของผลการทดลองในการกำจัด Cr(VI) ของแบคทีเรียทั้งสองชนิดที่ตรงกับโมเดลการรีดักชันแบบ pseudo-second-order reduction model (ภาพที่ 26) มากกว่าโมเดลการรีดักชันแบบ pseudo-first-order reduction model (ภาพที่ 27) ดังจะเห็นได้จากค่า R<sup>2</sup> ของกราฟเส้นตรงของ pseudo-second-order model ที่สูงกว่าของ pseudo-first-order model (ตารางที่ 11) แสดงให้เห็นว่า *B. megaterium* และ *B. cereus* จะเกิดการรีดิวซ์ Cr(VI) โดยใช้จลนศาสตร์ลำดับที่สองภายหลังจากการลําเลียง Cr(VI) เข้าสู่เซลล์ของแบคทีเรีย

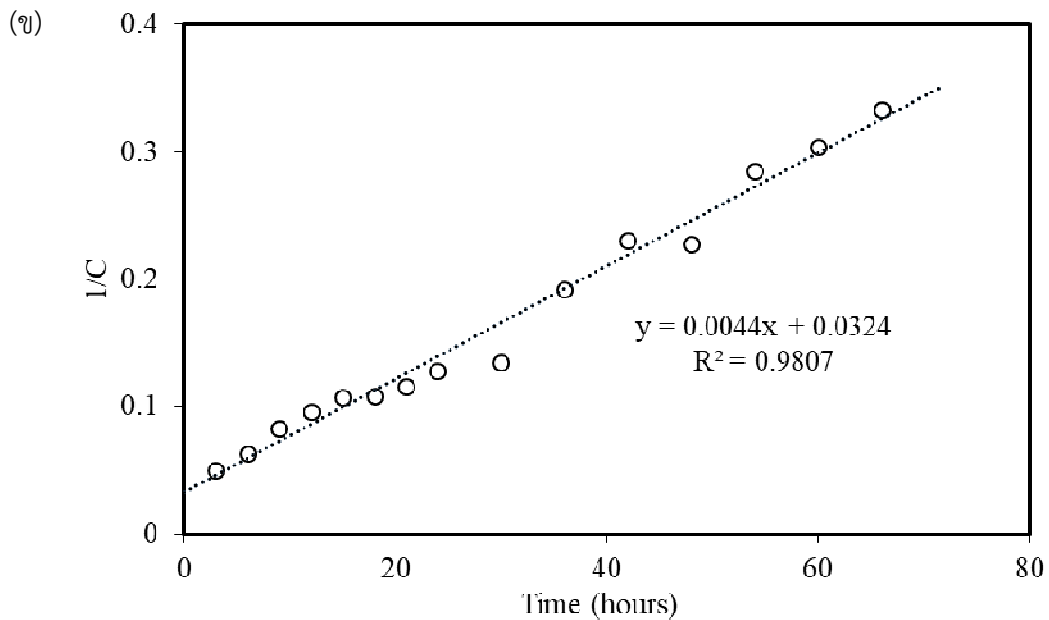
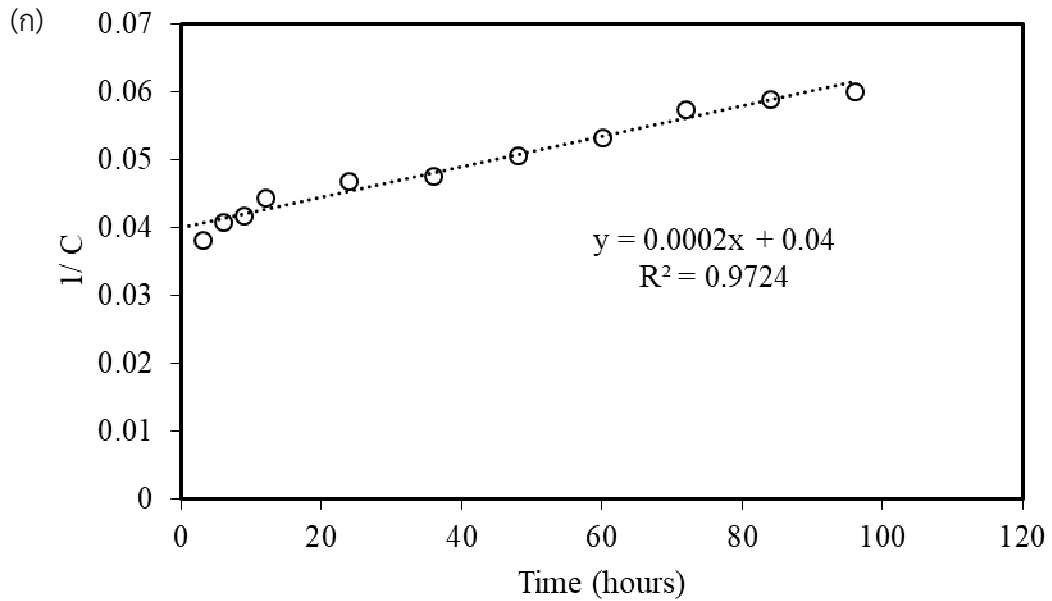
จากผลการวิเคราะห์ค่าจลนศาสตร์ในการกำจัด Cr(VI) ของแบคทีเรียทั้งสองชนิดทั้งหมดสามารถเสนอกลไกการกำจัด Cr(VI) ของแบคทีเรียทั้งสองสายพันธุ์ได้ดังนี้ ใน *B. megaterium* เริ่มต้น Cr(VI) จะเข้าจับกับผิวเซลล์แบบหลายชั้นและเกิดการส่งผ่าน Cr(VI) แบบสองลำดับชั้นเข้าสู่เซลล์เพื่อเกิดการรีดักชันต่อไป ขณะที่ใน *B. cereus* นั้น Cr(VI) จะเกิดการดูดซับทางเคมีร่วมกับการรีดักชัน ซึ่งมีการถ่ายโอน Cr(VI) จากภายนอกเซลล์แบคทีเรียผ่านการสร้างฟิล์มแบบหลายชั้น ผ่านการลําเลียงสามขั้นตอนเข้าสู่ภายในเซลล์แบคทีเรียเพื่อเกิดการรีดักชันต่อไป ผลการทดลองที่ได้ทำให้ทราบกลไกการกำจัด Cr(VI) ของแบคทีเรียทั้งสองชนิดที่สามารถนำมาใช้ออกแบบระบบบำบัด Cr(VI) ที่ปนเปื้อนในน้ำเสียต่อไปในอนาคตได้

ตารางที่ 11 ค่าคงที่ทางจลนศาสตร์ของ Reduction kinetic model สำหรับการดูดซับ Cr(VI) ด้วย *B. megaterium* และ *B. cereus*

แบคทีเรีย	ค่าคงที่ของ Pseudo-first-order reduction model		ค่าคงที่ของ Pseudo-second-order reduction model	
	k <sub>3</sub> (min <sup>-1</sup> )	R <sup>2</sup>	k <sub>4</sub> (min <sup>-1</sup> )	R <sup>2</sup>
<i>B. megaterium</i>	0.0045	0.9558	0.0002	0.9724
<i>B. cereus</i>	0.0278	0.9535	0.0044	0.9807



ภาพที่ 26 กราฟจลนศาสตร์แบบเส้นตรงของ Pseudo-first-order reduction model สำหรับการดูดซับ Cr(VI) ด้วย (ก) *B. megaterium* และ (ข) *B. cereus* ที่ความเข้มข้นโครเมียมเท่ากับ 30 มิลลิกรัมต่อลิตร และ 25 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ สัญลักณ์ระบุถึงค่าที่ได้จากการทดลองและเส้นประคือค่าทางทฤษฎี (ค่าที่ได้จากการคำนวณ) จากโมเดล เมื่อดำเนินการทดลองที่ค่าพีเอชเท่ากับ 7.0 ความเร็วในการเขย่าเท่ากับ 250 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส โดยใช้เซลล์แบคทีเรียเท่ากับ 1.6 กรัมต่อลิตร



ภาพที่ 27 กราฟจลนศาสตร์แบบเส้นตรงของ Pseudo-second-order reduction model สำหรับการดูดซับ Cr(VI) ด้วย (ก) *B. megaterium* และ (ข) *B. cereus* ที่ความเข้มข้นโครเมียมเท่ากับ 30 มิลลิกรัมต่อลิตร และ 25 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ สัญลักษณ์ระบุถึงค่าที่ได้จากการทดลองและเส้นประคือค่าทางทฤษฎี (ค่าที่ได้จากการคำนวณ) จากโมเดล เมื่อดำเนินการทดลองที่ค่าพีเอชเท่ากับ 7.0 ความเร็วในการเขย่าเท่ากับ 250 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส โดยใช้เซลล์แบคทีเรียเท่ากับ 1.6 กรัมต่อลิตร

## บทที่ 5

### สรุปผลการวิจัย

การศึกษาการรีดักชันเฮกซวาเลนต์โครเมียมหรือ Cr(VI) ของแบคทีเรียทางทะเลสองสายพันธุ์ คือ *Bacillus megaterium* และ *B. cereus* ที่คัดแยกจากตะกอนทะเลในเกาะเสม็ด จังหวัดชลบุรี พบความสามารถในการรีดิวซ์ Cr(VI) ในน้ำเสียสังเคราะห์อย่างสมบูรณ์ภายในเวลา 7 วันของการเดินระบบอย่างต่อเนื่องในถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบแบท โดยพบการเปลี่ยนแปลงของผิวเซลล์แบคทีเรียที่มีลักษณะหยาบและมีรูพรุนเพิ่มขึ้นเมื่ออยู่ในสภาวะที่มี Cr(VI) และพบตะกอนของโครเมียมบนผิวและภายในของเซลล์แบคทีเรียทั้งสองชนิด การเปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงของหมู่ฟังก์ชันที่เกิดขึ้นบนผิวของเซลล์แบคทีเรียโดยเทคนิค FTIR ไม่สามารถตรวจพบการเปลี่ยนแปลงบนผิวเซลล์ของ *B. megaterium* ขณะที่บนผิวเซลล์ของ *B. cereus* ตรวจพบการเปลี่ยนแปลงของหมู่ C-O stretching สำหรับอะลิฟาติกเอไมด์เมื่ออยู่ในสภาวะที่มี Cr(VI) และพบว่าการดูดซับ Cr(VI) ที่สมดุลของแบคทีเรียทั้งสองชนิดตรงกับไอโซเทอมโมเดลแบบ Freundlich คือเกิดการดูดซับของ Cr(VI) แบบหลายชั้นบนผิวเซลล์ของแบคทีเรียทั้งสองชนิด ในช่วงความเข้มข้น การวิเคราะห์ค่าจลนศาสตร์ในการกำจัด Cr(VI) ของแบคทีเรียทั้งสองชนิดพบว่าเกิดการรีดักชันแบบ pseudo-second order reduction และพบการแพร่ของ Cr(VI) ภายในเซลล์ของ *B. megaterium* ตามโมเดลแบบ intra-particle diffusion ขณะที่การดูดซับ Cr(VI) ของ *B. cereus* ตรงกับโมเดลแบบ intra-particle diffusion ร่วมกับ pseudo-second order adsorption model และ Boyd plots คือเกิดการดูดซับทางเคมีร่วมกับการรีดักชัน ซึ่งมีการถ่ายโอน Cr(VI) จากภายนอกเซลล์แบคทีเรียผ่านการสร้างฟิล์มก่อนที่จะลำเลียงเข้าสู่ภายในเซลล์แบคทีเรียเพื่อเกิดการรีดักชันต่อไป ผลการทดลองที่ได้แสดงให้เห็นว่า *B. cereus* และ *B. megaterium* สามารถนำมาใช้ในการกำจัด Cr(VI) ที่ปนเปื้อนในน้ำเสียต่อไปในอนาคตได้

## บรรณานุกรม

- กรมโรงงานอุตสาหกรรม. (2549). คู่มือมาตรฐานการตรวจสอบโรงงานฟอกหนัง. สำนักโรงงานอุตสาหกรรมรายสาขา 2. กรมโรงงานอุตสาหกรรม. 75 หน้า.
- Adeel, S. S., Wajid, A., Hussain, S., Malik, F., Sami, Z., Ul-Haq, I., Hameed, A., Channa, R. A. (2012). Recovery of chromium from the tannery wastewater by use of *Bacillus subtilis* in Gujranwala, Pakistan. IOSR Journal of Pharmacy and Biological Sciences. 2 (2): 36-45.
- Aksu, Z., Balibek, E. (2007). Chromium (VI) biosorption by dried *Rhizopus arrhizus*: Effect of salt (NaCl) concentration on equilibrium and kinetic parameters. Journal of Hazardous Materials. 145 (1): 210-220.
- American Public Health Association. (1989). Water Environment Federation Standard methods for the examination of water and wastewater.
- Anger, G., Halstenberg, J., Hochgeschwender, K., Scherhag, C., Korallus, U., Knopf, H., Ohlinger, M. (2005). Chromium compounds. Ullmann's encyclopedia of industrial chemistry. 252.
- Bopp, L. H., Elrich, H. L. (1988). Chromate resistance and reduction in *Pseudomonas fluorescens* strain LB 300. Archives Microbiology. 150: 426-431.
- Boyd, G.E., Adamson, A.W., Myers Jr., L.S. (1947). The exchange adsorption of ions from aqueous solutions by organic zeolites. II: kinetics. Journal of American Chemistry's Society. 69: 2836-2848.
- Bryson, P.D. (1996). Comprehensive reviews in toxicology: for emergency clinicians. CRC press. 318.
- Cheung, K. H., Gu, J. D. (2005). Chromate reduction by *Bacillus megaterium* TKW3 isolated from marine sediments. World Journal of Microbiology and Biotechnology. 21 (3): 213-219.
- Cornelis, R., Caruso, J. A., Crews, H., Heumann, K. G. (2005). Handbook of elemental speciation II: species in the environment, food, medicine and occupational health. John Wiley & Sons. 254.
- Cronje, K. J., Chetty, K., Carsky, M., Sahu, J. N., Meikap, B. C. (2011). Optimization of chromium (VI) sorption potential using developed activated carbon from sugarcane bagasse with chemical activation by zinc chloride. Desalination. 275: 276-284.
- Dadrasnia, A., Chuan Wei, K. S., Shahsavari, N., Azirun, M. S., Ismail, S. (2015). Biosorption potential of *Bacillus salmalaya* strain 139SI for removal of Cr (VI) from aqueous solution. International Journal of Environmental Research and Public health. 12 (12): 15321-15338.

- Dakiky, M., Khamis, M., Manassra, A., Mer'eb, M. (2002). Selective adsorption of chromium (VI) in industrial wastewater using low-cost abundantly available adsorbents. *Advances in Environmental Research*. 6 (4): 533-540.
- Das, S., Mishra, J., Das, S. K., Pandey, S., Rao, D. S., Chakraborty, A., Sudarshan, M., Das, N., Thatoi, H. (2014). Investigation on mechanism of Cr(VI) reduction and removal by *Bacillus amyloliquefaciens*, a novel chromate tolerant bacterium isolated from chromite mine soil. *Chemosphere*. 96: 112-121.
- Daulton, T. L., Little, B. J., Jones-Meehan, J., Blom, D. A., Allard, L. F. (2007). Microbial reduction of chromium from the hexavalent to divalent state. *Geochimica et Cosmochimica Acta*. 71(3): 556-565.
- Dhal, B., Thatoi, H. N., Das, N. N., Pandey, B. D. (2013). Chemical and microbial remediation of hexavalent chromium from contaminated soil and mining/metallurgical solid waste: a review. *Journal of Hazardous Materials*. 250: 272-291.
- Dhaneshwar, R. S. (1990). Tannery wastewater treatment and disposal-state of art. *Indian Journal of Environmental Protection*. 10: 131-141.
- Dönmez, G., Aksu, Z. (2002). Removal of chromium (VI) from saline wastewaters by *Dunaliella* species. *Process Biochemistry*. 38 (5): 751-762.
- Durai, G., Rajasimman, M. (2011). Biological treatment of tannery wastewater-A review. *Journal of Environmental Science and Technology*. 4 (1): 1-17.
- Eastaugh, N., Walsh, V., Chaplin, T., Siddall, R. (2007). *Pigment compendium: a dictionary of historical pigments*. Routledge. 38-39.
- Eckenfedler Jr., W. W. (1989). *Industrial Water Pollution Control*. McGraw Hill Book Company. New York.
- Focardi, S., Pepi, M., Landi, G., Gasperini, S., Ruta, M., Di Biasio, P., Focardi, S.E. (2012). Hexavalent chromium reduction by whole cells and cell free extract of the moderate halophilic bacterial strain *Halomonas* sp. TA-04. *International Biodeterioration and Biodegradation*. 66 (1): 63-70.
- Foo, K. Y., Hameed, B. H. (2010). Insights into the modeling of adsorption isotherm systems. *Chemical Engineering Journal*. 156 (1): 2-10.
- Fouassier, J. P., Rabek, J. F. (Eds.). (1993). *Radiation curing in polymer science and technology: Practical aspects and applications (Vol. 4)*. Springer Science & Business Media.
- Francis, C. A., Obratzsova, A. Y., Tebo, B. M. (2002). Dissimilatory metal reduction by the facultative anaerobe *Pantoea agglomerans* SP1. *Applied and Environmental Microbiology*. 66 (2): 543-548.
- Fruchter, J. S., Cole, C. R., Williams, M. D., Vermeul, V. R., Amonette, J. E., Szecsody, J. E., Humphrey, M. D. (2000). Creation of a subsurface permeable treatment

- zone for aqueous chromate contamination using in situ redox manipulation. *Groundwater Monitoring and Remediation*. 20 (2): 66-77.
- Freundlich, H.M.F. (1906) . Over the adsorption in solution. *Journal of Physical Chemistry*. 57: 385-471
- Garg, U. K., Kaur, M. P., Sud, D., Garg, V. K. (2009). Removal of hexavalent chromium from aqueous solution by adsorption on treated sugarcane bagasse using response surface methodological approach. *Desalination*. 249 (2): 475-479.
- Gnanamani, A., Kavitha, V., Radhakrishnan, N., Rajakumar, G. S., Sekaran, G., Mandal, A. B. (2010). Microbial products (biosurfactant and extracellular chromate reductase) of marine microorganism are the potential agents reduce the oxidative stress induced by toxic heavy metals. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 79 (2): 334-339.
- Goltara, A., Martinez, J., Mendez, R. (2003). Carbon and nitrogen removal from tannery wastewater with a membrane bioreactor. *Water Science and Technology*. 48 (1): 207-214.
- Guha, H., Jayachandran, K., Maurrasse, F. (2001). Kinetics of chromium (VI) reduction by a type strain *Shewanella* alga under different growth conditions. *Environmental Pollution*. 115 (2): 209-218.
- Gupta, V. K., Shrivastava, A. K., Jain, N. (2001). Biosorption of chromium (VI) from aqueous solutions by green algae *Spirogyra* species. *Water Research*. 35 (17): 4079-4085.
- Hamadia, N. K., Chena, X. D., Farid, M. M., Lub, M. G. Q. (2001). Adsorption kinetics for the removal of chromium (VI) from aqueous solution by adsorbents derived from used tyres and sawdust. *Chemical Engineering Journal*. 84: 95-105.
- Hameed, B. H., Ahmad, A. A. (2009). Batch adsorption of methylene blue from aqueous solution by garlic peel, an agricultural waste biomass. *Journal of Hazardous Materials*. 164 (2-3): 870-875.
- Han, X., Wong, Y. S., Wong, M. H., Tam, N. F. Y. (2007). Biosorption and bioreduction of Cr (VI) by a microalgal isolate, *Chlorella miniata*. *Journal of Hazardous Materials*. 146 (1): 65-72.
- He, M., Li, X., Liu, H., Miller, S. J., Wang, G., Rensing, C. (2011). Characterization and genomic analysis of a highly chromate resistant and reducing bacterial strain *Lysinibacillus fusiformis* ZC1. *Journal of Hazardous Materials*. 185 (2): 682-688.
- Hinteregger, C., Streichsbier, F. (1997). *Halomonas* sp., a moderately halophilic strain, for biotreatment of saline phenolic wastewater. *Biotechnology Letters*. 19: 1099-1102.
- Ishibashi, Y., Cervantes, C., Silver, S. (1990). Chromium reduction in *Pseudomonas putida*. *Applied and Environmental Microbiology*. 56 (7): 2268-2270.

- Jacobs, J., Hardison, R. L., Rose, J. V. (2001). In situ remediation of heavy metals using sulfur-based treatment technologies. *Hydrovisions*. 10 (2): 1-4.
- Jawahar, A. J., Chinnadurai, M., Ponselvan, J. K. S., Annadurai, G. (1998). Pollution from tanneries and options for treatment of effluent. *Industrial Journal of Environmental Protection*. 18: 672.
- Kadam, R. V. (1990). Treatment of tannery wastes. *Industrial Journal of Environmental Protection*. 10: 212.
- Kadirvelu, K., Thamaraiselvi, K., Namasivayam, C. (2001). Removal of heavy metals from industrial wastewaters by adsorption onto activated carbon prepared from an agricultural solid waste. *Bioresources Technology*. 76: 63-65.
- Kargi, F., Uygur, A. (1997). Biological treatment of saline wastewater in a rotating biodisc contactor by using halophilic organisms. *Bioprocess and Biosystems Engineering*. 17: 81-85.
- Katz, S. A., Salem, H. (1994). *The biological and environmental chemistry of chromium*. VCH Publishers
- Khambhaty, Y., Mody, K., Basha, S., & Jha, B. (2009). Kinetics, equilibrium and thermodynamic studies on biosorption of hexavalent chromium by dead fungal biomass of marine *Aspergillus niger*. *Chemical Engineering Journal*. 145 (3): 489-495.
- Khan, S. R., Kawaja, M. A., Khan, A. M., Ghani, H., Kazmi, S. (1999). Environmental impacts and mitigation costs associated with cloth and leather exports from Pakistan. A Report on Trade and Sustainable Development Submitted by Sustainable Development Policy Institute and IUCNP to IISD Canada for the IISD/IUCN/IDRC Project on Building Capacity for Trade and Sustainable Development in Developing Countries, Islamabad.
- Kishida, N., Kim, J., Tsuneda, S., Sudo, R. (2006). Anaerobic/oxic/anoxic granular sludge process as an effective nutrient removal process utilizing denitrifying polyphosphate-accumulating organisms. *Water Research*. 40 (12): 2303-2310.
- Kubo, M., Hiroe, J., Murakami, M., Fukami, H., Tachiki, T. (2001). Treatment of hypersaline-containing wastewater with salt-tolerant microorganisms. *Journal of Bioscience and Bioengineering*. 91 (2): 222-224.
- Kumar, R., Bishnoi, N. R., Bishnoi, K. (2008). Biosorption of chromium (VI) from aqueous solution and electroplating wastewater using fungal biomass. *Chemical Engineering Journal*. 135 (3): 202-208.
- Langmuir, I. (1916). The evaporation, condensation and reflection of molecules and the mechanism of adsorption. *Physical Review*. 8 (2): 149.
- Laxman, R. S., More, S. (2002). Reduction of hexavalent chromium by *Streptomyces griseus*. *Mineral Engineering*. 15: 831-837.



- Lee, D. C., Park, C. J., Yang, J. E., Jeong, Y. H., Rhee, H. I. (2000). Screening of hexavalent chromium biosorbent from marine algae. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 54 (3): 445-448.
- Lefebvre, O., Vasudevan, N., Torrijos, M., Thanasekaran, K., Moletta, R. (2005). Halophilic biological treatment of tannery soaks liquor in a sequencing batch reactor. *Water Research*. 39: 1471-1480.
- Liu, G., Yang, H, Wang, J., Jin, R., Zhou, J., Lv, H. (2010). Enhanced chromate reduction by resting *Escherichia coli* cells in the presence of quinine redox mediators. *Bioresource Technology*. 101: 8127-8131.
- Lofrano, G., Meriç, S., Zengin, G. E., Orhon, D. (2013). Chemical and biological treatment technologies for leather tannery chemicals and wastewaters: a review. *Science of the Total Environment*. 461: 265-281.
- Malaviya, P., Singh, A. (2016). Bioremediation of chromium solutions and chromium containing wastewaters. *Critical Reviews in Microbiology*. 42 (4): 607-633.
- Malik, P. (2004). Dye removal from wastewater using activated carbon developed from sawdust: adsorption equilibrium and kinetics. *Journal of Hazardous Materials*. 113 (1-3): 81-88.
- Malkoc, E., Nuhoglu, Y. (2007). Potential of tea factory waste for chromium (VI) removal from aqueous solutions: thermodynamic and kinetic studies. *Separation and Purification Technology*. 54 (3): 291-298.
- Marquardt, D. W. (1963). An algorithm for least-squares estimation of nonlinear parameters. *Journal of the Society for Industrial and Applied Mathematics*. 11 (2): 431-441.
- Meghataj, M., Avudaibayagaru, S., Naidu, R. (2003). Toxicity of hexavalent chromium and its reduction by bacteria isolated from soil contaminated with tannery waste. *Current Microbiology*. 47: 51-54.
- Miransari, M. (2011). Hyperaccumulators, arbuscular mycorrhizal fungi and stress of heavy metals. *Biotechnology Advances*. 29 (6): 645.
- Mohanty, K., Jha, M., Meikap, B. C., Biwas, M. N. (2006). Biosorption of Cr (VI) from aqueous solutions by *Eichhornia crassipes*. *Chemical Engineering Journal*. 117: 71-77.
- Moon, B. H., Seo, G. T., Lee, T. S., Kim, S. S., Yoon, C. H. (2003). Effects of salt concentration on floc characteristics and pollutants removal efficiencies in treatment of seafood wastewater by SBR. *Water Science and Technology*. 47 (1): 65-70.
- Murugavelh, S., Mohanty, K. (2012). Bioreduction of hexavalent chromium by live and active *Phanerochaete chrysosporium*: kinetics and modeling. *Clean Soil Air Water*. 40: 746-751.

- Nandy, T., Kaul, S. N., Shastry, S., Manivel, W., Deshpande, C. V. (1999). Waste-water management in cluster of tanneries in Tamilnadu through implementation of common treatment plants. *Journal of Science Industrial and Research*. 58: 475-516.
- Netzer, A., Wilkinson, P., Beszedits, S. (1974). Removal of trace metals from wastewater by treatment with lime and discarded automotive tires. *Water Research*. 8: 813-817.
- Owalude, S. O., Tella, A. C. (2016). Removal of hexavalent chromium from aqueous solutions by adsorption on modified groundnut hull. *Beni-suef University Journal of Basic and Applied Sciences*. 5 (4): 377-388.
- Pal, A., Dutta, S., Paul, A.K. (2005). Reduction of hexavalent chromium by cell-free extract of *Bacillus sphaericus* AND 303 isolated from serpentine soil. *Current microbiology*. 51 (5): 327-330.
- Park, D., Lim, S.R., Yun, Y.S., Park, J.M. (2007). Reliable evidences that the removal mechanism of hexavalent chromium by natural biomaterials is adsorption-coupled reduction. *Chemosphere*. 70: 298-305.
- Pattanapitpaisal, P., Brown, N., Macaskie, L. (2001). Chromate reduction and 16S rRNA identification of bacteria isolated from a Cr(VI)-contaminated site. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 57 (1): 257-261.
- Philip, L., Iyengar, L., Venkobachar, C. (1998). Cr (VI) reduction by *Bacillus coagulans* isolated from contaminated soils. *Journal of Environmental Engineering*. 124: 1165-1170.
- Pillai, P., Mandge, S., Archana, G. (2011). Statistical optimization of production and tannery applications of a keratinolytic serine protease from *Bacillus subtilis* P13. *Process Biochemistry*. 46: 1110-1117.
- Pohanish, R. P. (2008). *Sittig's handbook of toxic and hazardous chemicals and carcinogens*. William Andrew.
- Qiu, H., Lv. L., Pan, B. C., Zhang, Q. J., Zhang, W. M., Zhang, Q. X. (2009). Critical review in adsorption kinetic models. *Journal of Zhejiang University-Science A*. 10 (5): 716-724.
- Rajamani, S., Ramasami, T., Langerwerf, J. S. A., Schappman, J. E. (1995). Environmental management in tanneries-feasible chromium recovery and reuse system. *Proceedings of the 3<sup>rd</sup> International Conference on Appropriate Waste Management Technologies for Developing Countries, (AWMTDC'95), Nagpur, India, pp: 965-969.*
- Ramanujam, R. A., Ganesh, R., Kandasamy, J. (2009). Wastewater treatment technology for tanning industry. In Vigneswaran, S. ed. *Water and Wastewater*

- Treatment Technologies. Encyclopedia of Life Support Systems (EOLSS) Publishers, Ontario, Canada.
- Ran, Z. H. A. O., Bi, W. A. N. G., CAI, Q. T., LI, X. X., Min, L. I. U., Dong, H. U., Chun, F. A. N. (2016). Bioremediation of hexavalent chromium pollution by *Sporosarcina saromensis* M52 isolated from offshore sediments in Xiamen, China. *Biomedical and Environmental Sciences*. 29 (2): 127-136.
- Ranganathan, K. (2000). Chromium removal by activated carbons prepared from *Casurina equisetifolia* leaves. *Bioresources Technology*. 73: 99-103.
- Rao, J. R., Thanikavelan, P., Sreeram, K. J., Nair, B. U. (2002). Green route for the utilization of chrome shavings (chromium-containing solid waste) in tanning industry. *Environmental Science and Technology*. 36: 1372-1376.
- Rehman, F., Faisal, M. (2015). Toxic hexavalent chromium reduction by *Bacillus pumilis*, *Cellulosimicrobium cellulans* and *Exiguobacterium*. *Chinese Journal of Oceanology and Limnology*. 33 (3): 585-589.
- Santos, C. A., Vieira, A. M., Fernandes, H. L., Empis, J. A., Novais, J. M. (2001). Optimisation of the biological treatment of hypersaline wastewater from *Dunaliella salina* carotenogenesis. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*. 76: 1147-1153.
- Shen, H. and Wang, Y. T. (1995). Hexavalent chromium removal in two stage bioreactor system. *Journal of Environmental Engineering*. 121: 798-804.
- Sheng, P. X., Tan, L. H., Chen, J. P., Ting, Y. P. (2005). Biosorption performance of two brown marine algae for removal of chromium and cadmium. *Journal of Dispersion Science and Technology*. 25 (5): 679-686.
- Sivaprakasam, S., Mahadevan, S., Sekar, S., Rajakumar, S. (2008). Biological treatment of tannery wastewater by using salt-tolerant bacterial strains. *Microbial Cell Factories*. 7: 15.
- Sundar, J. V., Raghavrao, J., Muralidharan, C., Mandal, A. B. (2011). Recovery and utilization of chromium-tanned proteinous wastes of leather making: a review. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*. 41: 2048-75.
- Tencer, M. (2006). Electrical conductivity of chromate conversion coating on electrodeposited zinc. *Applied Surface Science*. 252 (23): 8229-8234.
- Terahara, T., Xu, X., Kobayashi, T., Imada, C. (2015). Isolation and characterization of Cr (VI)-reducing *Actinomyces* from estuarine sediments. *Applied Biochemistry and Biotechnology*. 175 (7): 3297-3309.
- Tewari, N., Vasudevan, P., Guha, B. K. (2005). Study on biosorption of Cr (VI) by *Mucor hiemalis*. *Biochemical Engineering Journal*. 23 (2): 185-192.
- Thompson-Eagle, E. T., Frankenberger, W. T. (1991). Selenium biomethylation in an alkaline, saline environment. *Water Research*. 25 (2): 231-240.

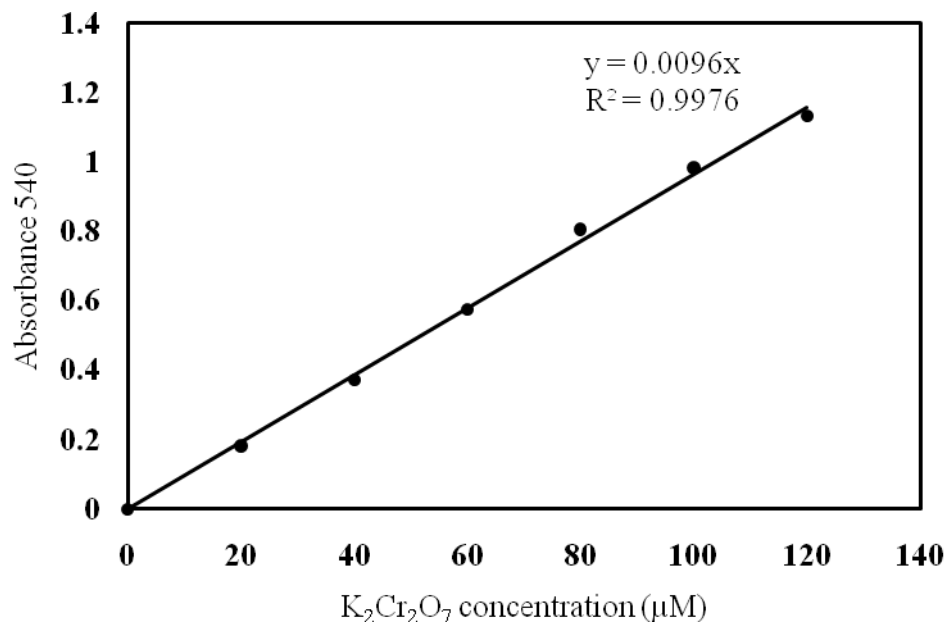
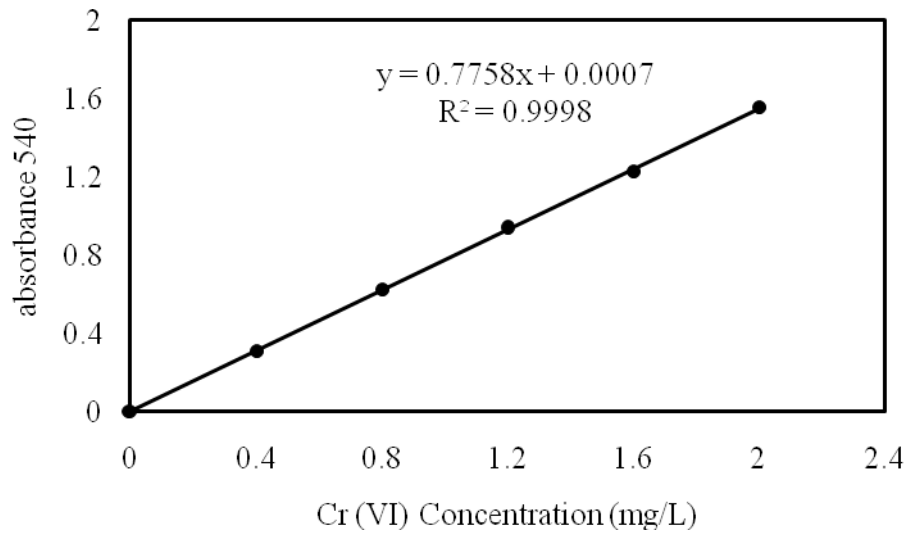
- Uberoi, N. K. (2003). Environmental Management. Excel Books Publisher, New Delhi. pp: 269.
- Valdimir, S., Danish, J. M. (2002). Characterization and metal sorptive properties of oxidized active carbon. *Journal of Colloid and Interface Science*. 250: 213-220.
- Verheijen, L. A. H. M., Weirsema, D., Hwshoffpol, L. W., Dewit, J. (1996). Live stock and the environment: finding a balance management of waste from animal product processing. International Agriculture Centre, Wageningen, The Netherlands.
- Verma, A., Chakraborty, S., Basu, J. K. (2006). Adsorption study of hexavalent chromium using tamarind hull-based adsorbents. *Separation and Purification Technology*. 50 (3): 336-341
- Walker, P., Tarn, W. H. (Eds.). (1990). *CRC handbook of metal etchants*. CRC press, 293.
- Wang, Y. T., Shen, H. (1995). Bacterial reduction of hexavalent chromium. *Journal of Industrial Microbiology*. 159-163.
- Wang, Y. T., Shen, H. (1997). Modeling Cr (VI) reduction by pure bacterial cultures. *Water Research*. 31: 727-732.
- Wang, S., Zhu, Z. H., Coomes, A., Haghseresht, F., Lu, G. Q. (2005). The physical and surface chemical characteristics of activated carbons and the adsorption of methylene blue from wastewater. *Journal of Colloid and Interface Science*. 284 (2): 440-446.
- Xu, F., Ma, T., Shi, L., Zhang, J. (2013). Bioreduction of Cr (VI) by *Bacillus* sp. QH-1 isolated from soil under chromium-containing slag heap in high altitude area. *Annual Reviews in Microbiology*. 1-8.
- Yin, Q., Miao, J., Li, B., Wu, G. (2016). Enhancing electron transfer by ferroferric oxide during the anaerobic treatment of synthetic wastewater with mixed organic carbon. *International Biodeterioration and Biodegradation*. 119: 104-110.
- Youssef, A. M., El-Nabarawy, T. H., Samra, S. E. (2004). Sorption properties of chemically-activated carbons 1. Sorption of cadmium (II) ions. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*. 235: 153-163.
- Yu, L. J., Shukla, S. S., Dorris, K. L., Shukla, A., Margrave, J. L. (2003). Adsorption of chromium from aqueous solutions by maple sawdust. *Journal of Hazardous Materials*. 100 (1): 53-63.
- Zakaria, Z. A., Zakaria, Z., Surif, S., Ahmad, W. A. (2007). Hexavalent chromium reduction by *Acinetobacter haemolyticus* isolated from heavy-metal contaminated wastewater. *Journal of Hazardous Materials*. 146(1-2): 30-38.

- Zheng, Z., Li, Y., Zhang, X., Liu, P., Ren, J., Wu, G., Li, X. (2015). A *Bacillus subtilis* strain can reduce hexavalent chromium to trivalent and an *nfrA* gene is involved. *International Biodeterioration and Biodegradation*. 97: 90-96.
- Zhu, W., Chai, L., Ma, Z., Wang, Y., Xiao, H., Zhao, K. (2008). Anaerobic reduction of hexavalent chromium by bacterial cells of *Achromobacter* sp. strain Ch1. *Microbiological Research*. 163 (6): 616-623.

ภาคผนวก

# ภาคผนวกที่ 1

กราฟมาตรฐานของ Cr(VI) และ  $K_2Cr_2O_7$  เมื่อวิเคราะห์ด้วยวิธี 1,5-diphenylcarbazide



## ประวัติและผลงานของผู้วิจัย

ชื่อ-นามสกุล (ไทย) รองศาสตราจารย์ ดร.จิตติมา เจริญพานิช  
(อังกฤษ) Associate Professor Dr. Jittima Charoenpanich  
ตำแหน่งวิชาการ รองศาสตราจารย์  
หน่วยงานที่สังกัด ภาควิชาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา  
169 ถ.ลงหาดบางแสน ต.แสนสุข อ.เมือง จ.ชลบุรี  
โทรศัพท์ 0-3810-3058 ต่อ 14 โทรสาร 0-3839-3495  
E-mail address: [jittima@buu.ac.th](mailto:jittima@buu.ac.th)

### ประวัติการศึกษา

คุณวุฒิ	สาขาวิชา	สถานศึกษา, ประเทศ
วทบ.	ชีวเคมี	จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, ประเทศไทย
วทม.	ชีวเคมี	จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, ประเทศไทย
Ph.D	Natural Science and Technology	Okayama University, ประเทศญี่ปุ่น

### สาขาที่มีความชำนาญ

- Molecular biology and protein engineering
- Proteome analysis and enzyme technology
- Transcriptomics and metabolic regulation

### ผลงานทางวิชาการ

#### - หนังสือ(Book)

1. จิตติมา เจริญพานิช. 2553. *เอนไซม์วิทยา*. โอ. เอส. พรินติ้ง เฮ้าส์. กรุงเทพฯ. 378 หน้า. ISBN 978-974-433-165-6.
2. จิตติมา เจริญพานิช. 2556. *พันธุศาสตร์เชิงชีวเคมี*. โอ. เอส. พรินติ้ง เฮ้าส์. กรุงเทพฯ. 186 หน้า. ISBN 978-616-335-375-7.
3. จิตติมา เจริญพานิช. 2556. *หลักวิศวกรรมโปรตีน*. โอ. เอส. พรินติ้ง เฮ้าส์. กรุงเทพฯ. 208 หน้า. ISBN 978-974-335-469-4.

#### - Book chapter

J. Charoenpanich. 2013. Removal of Acrylamide by Microorganisms. In *Applied Bioremediation - Active and Passive Approaches* (Yogesh B. Patil and Prakash Rao, eds.) InTech Open Access Publishers, Croatia, ISBN: 978-953-51-1200-6. pp. 99-119.

#### - บทความวิชาการ (Review articles)

1. จิตติมา เจริญพานิช. 2551. การตอบสนองต่อสิ่งเร้าภายนอกของแบคทีเรียผ่านระบบส่งสัญญาณชีวภาพแบบสององค์ประกอบ (Two-component signal transduction system: A



responsive system for external stimuli in bacteria). *วารสารวิทยาศาสตร์บูรพา*, ปีที่ 13 ฉบับที่ 2 เดือนกรกฎาคม-ธันวาคม. หน้า 75-82.

2. **จิตติมา เจริญพานิช**. 2551. อะคริลาไมด์ : ก่อตัวได้ง่ายกำจัดไม่ยาก (Acrylamide: its formation and degradation). *วารสารอิเล็กทรอนิกส์ บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร (Veridian E-Journal Silpakorn University)*, ปีที่ 1 ฉบับที่ 1 เดือนกันยายน หน้า 68-79.

3. **จิตติมา เจริญพานิช**. 2552. หลักการและสภาวะการณ์ปัจจุบันของการสังเคราะห์เพปไทด์ (Principles and current status of peptide synthesis). *วารสารวิทยาศาสตร์บูรพา*, ปีที่ 14 ฉบับที่ 2 เดือนกรกฎาคม-ธันวาคม. หน้า 128-137.

4. **จิตติมา เจริญพานิช**. 2555. สารอะคริลาไมด์ที่แฝงมากับอาหารไทย (Acrylamide in Thai foods). *วารสารวิทยาศาสตร์ มข.*, ปีที่ 40 ฉบับที่ 4 เดือนตุลาคม-ธันวาคม. หน้า 1059-1072.

- *บทความวิจัย (Research articles)*

*วารสารวิจัยระดับชาติ*

1. อรสา สุริยาพันธ์, พิทักษ์ สุตรอนันต์, **จิตติมา เจริญพานิช** และบุญรัตน์ ประทุมชาติ. 2548. คุณภาพของเนื้อกุ้งกุลาดำที่เลี้ยงภายใต้้น้ำความเค็มต่ำและให้อาหารที่เสริมแร่ธาตุ. *วารสารประมง*, ปีที่ 58 ฉบับที่ 6 เดือนพฤศจิกายน-ธันวาคม. หน้า 550 – 558.

2. **J. Charoenpanich**, W. Chulalaksananukul, and T. Yongvanich. 2005. Synthesis of amyl acetate by immobilized lipases from *Mucor miehei* and *Aspergillus niger* in n-hexane. *Journal of Science Research Chulalongkorn University*. 30 (2): 153-159.

3. S. Jangkorn, **J. Charoenpanich**, and T. Sriwiryarat. 2015. Acrylamide degradation with mixed culture bacteria in sequencing batch reactor (SBR) wastewater treatment process. *Burapha Science Journal*. 20 (1): 25-34.

*วารสารวิจัยระดับนานาชาติ*

1. **J. Charoenpanich**, A. Tani, N. Moriwaki, K. Kimbara, and F. Kawai. 2006. Dual regulation of a polyethylene glycol degradative operon by AraC-type and GalR-type regulators in *Sphingopyxis macrogoltabida* strain 103. *Microbiology-SGM*. 152: 3025-3034. (SJR & JCR Q1, Impact factor (2006) 3.14).

2. A. Tani, **J. Charoenpanich (co-first author)**, T. Mori, M. Takeichi, K. Kimbara, and F. Kawai. 2007. Structure and conservation of a polyethylene glycol-degradative operon in Sphingomonads. *Microbiology-SGM*. 153: 338-346. (SJR & JCR Q1, Impact factor (2006) 3.14).

3. P. Somyoonsap, A. Tani, **J. Charoenpanich**, T. Minami, K. Kimbara, and F. Kawai. 2008. Involvement of PEG-carboxylate dehydrogenase and glutathione S-transferase in PEG metabolism by *Sphingopyxis macrogoltabida* strain 103. *Applied Microbiology and Biotechnology* 81: 473-484. (SJR & JCR Q1, Impact factor (2007) 2.48).

4. **J. Charoenpanich**, A. Tani, and F. Kawai. 2010. Identification of the PEG-induced proteins by 2D-gel electrophoresis and mass spectrometry in *Sphingopyxis macrogoltabida* strain 103. *Chiang Mai University Journal of Natural Sciences*. 9 (1): 111-124. (SJR Q3).
5. S. Uttatree, P. Winayanuwattikun, and **J. Charoenpanich**. 2010. Isolation and characterization of a novel thermophilic-organic solvent stable lipase from *Acinetobacter baylyi*. *Applied Biochemistry and Biotechnology: Part A Enzyme Engineering and Biotechnology*. 162 (5): 1362-1376. (SJR & JCR Q2, Impact factor (2009) 1.42).
6. K. Buranasilp and **J. Charoenpanich**. 2011. Biodegradation of acrylamide by *Enterobacter aerogenes* isolated from wastewater in Thailand. *Journal of Environmental Sciences*. 23 (3): 396-403. (SJR & JCR Q1, Impact factor (2010) 1.51).
7. **J. Charoenpanich**, S. Suktanarag, and N. Toobbucha. 2011. Production of a thermostable lipase by *Aeromonas* sp. EBB1 isolated from marine sludge in Angsila, Thailand. *ScienceAsia*. 37 (2): 105-114. (SJR & JCR Q2, Impact factor (2010) 0.18).
8. S. Uttatree and **J. Charoenpanich**. 2011. Nutritional requirements and physical factors affecting the production of organic solvent-stable lipase by *Acinetobacter baylyi*. *Chiang Mai University Journal of Natural Sciences*. 10 (1): 115-131. (SJR Q3).
9. P. Komthong, O. Suriyaphan, and **J. Charoenpanich**. 2012. Determination of acrylamide in Thai-conventional snacks from Nong Mon market, Chonburi using GC-MS technique. *Food Additives and Contaminants: Part B Surveillance*. 5 (1): 20-28. (SJR & JCR Q2, Impact factor (2011) 0.89).
10. U. Thanyacharoen, A. Tani, and **J. Charoenpanich**. 2012. Isolation and characterization of *Kluyvera georgiana* strain with the potential for acrylamide biodegradation. *Journal of Environmental Science and Health: Part A Toxic/Hazardous Substances and Environmental Engineering*. 47 (11): 1491-1499. (SJR & JCR Q2, Impact factor (2011) 1.19).
11. F. Kawai, S. Kitajima, K. Oda, T. Higasa, **J. Charoenpanich**, X. Hu, and R. Mamoto. 2013. Polyvinyl alcohol and polyethylene glycol form polymer bodies in the periplasm of Sphingomonads that are able to assimilate them. *Archives of Microbiology*. 195 (2): 131-140. (SJR & JCR Q3, Impact factor (2012) 1.91).
12. **J. Charoenpanich** and A. Tani. 2014. Proteome analysis of acrylamide-induced proteins in *Enterobacter aerogenes* by 2D-electrophoresis and MALDI-TOF MS. *Chiang Mai University Journal of Natural Sciences*. 13 (1): 11-22. (SJR Q3).
13. P. Nualta and **J. Charoenpanich**. 2014. Nutritional requirements of *Aeromonas* sp. EBB1 for lipase production. *Chiang Mai University Journal of Natural Sciences*. 13 (2): 183-194. (SJR Q3).

14. P. Ittrat, T. Chacho, J. Pholprayoon, N. Suttiwarayanon, and **J. Charoenpanich**. 2014. Application of agriculture waste as support for lipase immobilization. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*. 3 (3): 77-82 (SJR & JCR Q2).
15. P. Chalopagorn, **J. Charoenpanich**, and K. Choowongkomon. 2014. Genome shuffling enhances lipase production of thermophilic *Geobacillus* sp. *Applied Biochemistry and Biotechnology: Part A Enzyme Engineering and Biotechnology*. 174 (4): 1444-1454. (SJR & JCR Q2, Impact factor (2013) 1.69).
16. P. Winayanuwattikun, K. Piriayakananon, P. Wongsathonkittikun, and **J. Charoenpanich**. 2014. Immobilization of a thermophilic solvent-stable lipase from *Acinetobacter baylyi* and its potential for use in biodiesel production. *ScienceAsia*. 40 (5): 327-334. (SJR & JCR Q2, Impact factor (2013) 0.39).
17. S. Uttatree and **J. Charoenpanich**. 2016. Isolation and characterization of a broad pH- and temperature-active, solvent and surfactant stable protease from a new strain of *Bacillus subtilis*. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*. 8: 32-38. (SJR & JCR Q2).
18. M. Okumura, Y. Fujitani, M. Maekawa, **J. Charoenpanich**, H. Murage, K. Kimbara, N. Sahin, and A. Tani. 2017. Cultivable *Methylobacterium* species diversity in rice seeds identified with whole-cell matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometric analysis. *Journal of Bioscience and Bioengineering*. 123 (2): 190-196. (SJR & JCR Q2, Impact factor (2016) 2.24).
19. Uttatree, S., Kobtrakool, K., Ketsuk, A., Kaengam, W., Thakolprajak, P., and **Charoenpanich, J.** 2017. A novel metal-tolerant, solvent and surfactant stable protease from a new strain of *Bacillus megaterium*. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*. 12: 228-235. (SJR & JCR Q2).
20. **Charoenpanich, J.**, Soongrung, T., Chinnasri, S., Suebchuea, N., Suppoontong, M., and Thiemsawait, S. 2018. A novel broad-temperature active and solvent stable esterase from a newly isolated *Bacillus aerophilus*. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*. 13: 116-122. (SJR & JCR Q2).
21. Jangkorn, S., **Charoenpanich, J.**, and Sriwiriyarat, T. 2018. Comparative study between *Enterobacter aerogenes* and mixed culture bacteria for acrylamide biodegradation in sequencing batch reactor (SBR) wastewater treatment systems. *Journal of Environmental Engineering*. 144 (3): 04017112. (SJR & JCR Q2, Impact factor (2017) 1.54).

22. Uttatree, S., and **Charoenpanich, J.** 2018. Purification and characterization of a harsh conditions-resistant protease from a new strain of *Staphylococcus saprophyticus*. *Agriculture and Natural Resources*. 52 (1): 16-23. (SJR Q4).

23. Madmanang, R., Jangkorn, S., **Charoenpanich, J.**, and Sriwiriyarat, T. 2019. Kinetics of nitrification and acrylamide biodegradation by *Enterobacter aerogenes* and mixed culture bacteria in sequencing batch reactor wastewater treatment systems. *Environmental Engineering Research*. 24 (3): <https://doi.org/10.4491/eer.2018.196>. (SJR & JCR Q3, Impact factor (2017) 1.50).

การผลิตเอนไซม์ตรีงสำหรับประยุกต์ใช้ในการกำจัดโครเมียมจากน้ำทิ้งในกระบวนการฟอกหนัง

สัญญาเลขที่ 204/2561