

การดูดซับโลหะทองแดงและสังกะสีในสารละลายน้ำด้วย *Rhodopseudomonas*
boonkerdii sp. nov. strain NS20 และ *Bradyrhizobium* sp. strain DOA9



นายอภิชาติ พานิชกุล

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาวิศวกรรมโลหการ
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี
ปีการศึกษา 2556

**BIOSORPTION OF COPPER AND ZINC IN AQUEOUS
SOLUTIONS BY *RHODOPSEUDOMONAS BOONKERDII*
SP. NOV. STRAIN NS20 AND *BRADYRHIZOBIUM* SP.
STRAIN DOA9**

Apichart Panitchagul



**A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements for the
Degree of Master of Engineering in Metallurgical Engineering
Suranaree University of Technology
Academic Year 2013**

การดัดซับโลหะทองแดงและสังกะสีในสารละลายน้ำด้วย *Rhodopseudomonas*

boonkerdii sp. nov. strain NS20 และ *Bradyrhizobium* sp. strain DOA9

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา
ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

(อ. ดร.สงขล คำค้อ)

ประธานกรรมการ

(ผศ. ดร.อุษณีย์ กิตกำธร)

กรรมการ (อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์)

(รศ. ดร.หนึ่ง เตียอำรุง)

กรรมการ

(อ. ดร.ณรงค์ อัครพัฒนากุล)

กรรมการ

(อ. ดร.รัตน บรีสุทธิกุล)

กรรมการ

(ผศ. ดร.รัตนวรรณ เกียรติโกมล)

กรรมการ

(ศ. ดร.ชูกิจ ลิ้มปีจันทร์)

รองอธิการบดีฝ่ายวิชาการ

(รศ. ร.อ. ดร.กนต์ธร ชำนิประศาสน์)

คณบดีสำนักวิชาวิศวกรรมศาสตร์

อภิชาติ พานิชกุล : การดูดซับโลหะทองแดงและสังกะสีในสารละลายน้ำด้วย
Rhodopseudomonas boonkerdii sp. nov. strain NS20 และ *Bradyrhizobium* sp. strain
DOA9 (BIOSORPTION OF COPPER AND ZINC IN AQUEOUS SOLUTIONS BY
RHODOPSEUDOMONAS BOONKERDII SP. NOV. STRAIN NS20 AND
BRADYRHIZOBIUM SP. STRAIN DOA9) อาจารย์ที่ปรึกษา : ผู้ช่วยศาสตราจารย์
ดร.อุษณีย์ กิตกำธร, 208 หน้า.

งานวิจัยนี้ได้ศึกษาการดูดซับไอออนโลหะทองแดง และสังกะสีที่ละลายในสารละลายของเหลว ด้วยแบคทีเรียสองสายพันธุ์ที่ทนต่อความเข้มข้นของโลหะหนักได้สูง ได้แก่ *Rhodopseudomonas boonkerdii* sp. สายพันธุ์ NS20 และ *Bradyrhizobium* sp. สายพันธุ์ DOA9 ซึ่งถูกใช้เป็นวัสดุดูดซับโลหะหนักทั้งในรูปของเซลล์มีชีวิต และเซลล์ตาย การทดสอบด้วยเซลล์มีชีวิตนั้น ได้ศึกษาอัตราการเจริญ และจำนวนประชากรของเซลล์ภายใต้สารละลายที่มีความเข้มข้นของสารประกอบโลหะ $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ และ $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ เท่ากับ 250 และ 500 มิลลิกรัมต่อลิตร กระบวนการดูดซับทำโดยการใส่เซลล์แบคทีเรียปริมาณ 1.5 และ 10% ลงในสารละลายโลหะหนัก ปริมาณ 10 มิลลิลิตร และวัดปริมาณการดูดซับในช่วงเวลา 48-144 ชั่วโมง ปริมาณของโลหะหนักในสารละลายของเหลวทั้งก่อนและหลังการดูดซับ ถูกวัดด้วยเครื่องวัดการดูดกลืนแสงของอะตอม ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าแบคทีเรียทั้งสองสายพันธุ์สามารถเจริญได้ในสารละลายที่มีความเข้มข้นของสารประกอบโลหะทองแดงและสังกะสีเท่ากับ 250 และ 500 มิลลิกรัมต่อลิตร แต่มีอัตราการเจริญช้าลงเมื่อความเข้มข้นของโลหะหนักสูงขึ้น การใช้เซลล์มีชีวิตเป็นวัสดุดูดซับให้ผลการดูดซับสูงสุดในระบบที่ใส่เซลล์เริ่มต้น 10% ลงในสารละลายที่มีความเข้มข้นของสารประกอบโลหะ 250 มิลลิกรัมต่อลิตร และเข้าสู่สมดุลการดูดซับนานกว่า 48 ชั่วโมง กระบวนการที่มีประสิทธิภาพสูงสุด คือการดูดซับโลหะสังกะสีด้วย *R. boonkerdii* sp. สายพันธุ์ NS20 โดยสามารถลดความเข้มข้นของสังกะสีได้ประมาณ 50% ที่เวลาการดูดซับ 144 ชั่วโมง ส่วนการดูดซับด้วยเซลล์ตายทำโดยการใช้เซลล์แห้งในสัดส่วน 2 และ 4 กรัมต่อลิตร ใส่ในสารละลายโลหะหนักที่มีความเข้มข้นของสารประกอบโลหะในช่วง 80-500 มิลลิกรัมต่อลิตร และควบคุมค่าความเป็นกรด-ด่างของสารละลายเท่ากับ 4.5.5 และ 7 ใช้เวลาในการดูดซับนาน 5-1,440 นาที การใช้เซลล์ตายเป็นวัสดุดูดซับให้ประสิทธิภาพการดูดซับสูงสุดเมื่อใช้เซลล์เริ่มต้น 2 กรัมต่อลิตร ในสารละลายที่มีความเข้มข้นของสารประกอบโลหะ 500 มิลลิกรัมต่อลิตร และค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 7 การดูดซับโลหะหนักด้วยเซลล์ตายเข้าสู่สมดุลที่เวลาประมาณ 30 นาที ความสามารถในการกำจัดโลหะมากที่สุดพบในกรณีของการดูดซับโลหะทองแดงด้วย *R. boonkerdii* sp. สายพันธุ์ NS20 โดยสามารถลดความเข้มข้นของทองแดงได้ประมาณ 80% ที่เวลาการดูดซับ 24 ชั่วโมง การดูดซับด้วยเซลล์ตายเป็นไป

ตามแบบจำลองสมดุลการดูดซับของฟรอนด์ลิซ และสมการอัตราอันดับสอง กระบวนการดูดซับเป็นปฏิกิริยาคูดความร้อน เอนโทรปีมาตรฐานมีค่าเป็นบวกในการดูดซับโลหะทองแดง และพลังงานอิสระมาตรฐานก็มีค่าเป็นลบเฉพาะในการดูดซับโลหะทองแดงด้วย *R. boonkerdii* sp. สายพันธุ์ NS20 แบบที่เรียกทั้งสองสายพันธุ์มีความสามารถในการดูดซับโลหะสังกะสีลดลงเมื่อได้ทดสอบในน้ำเสียอุตสาหกรรม เนื่องจากอิทธิพลของไอออนโลหะที่มีมากกว่าหนึ่งชนิด และค่าความเป็นกรด-ด่างที่ต่ำ ผลการวิเคราะห์หมู่ฟังก์ชันทางเคมีของวัสดุดูดซับ พบว่า ประกอบด้วยหมู่ เอมีน เอไมด์ คาร์บอกซิล ไฮดรอกซิล และฟอสเฟต



สาขาวิชา วิศวกรรมโลหการ

ปีการศึกษา 2556

ลายมือชื่อนักศึกษา _____

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา _____

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม _____

APICHART PANITCHAGUL : BIOSORPTION OF COPPER AND ZINC
IN AQUEOUS SOLUTIONS BY *RHODOPSEUDOMONAS BOONKERDII*
SP. NOV. STRAIN NS20 AND *BRADYRHIZOBIUM* SP. STRAIN DOA9.
THESIS ADVISOR : ASST. PROF. USANEE KITKAMTHORN, Ph.D.,
208 PP.

ADSORPTION/BIOSORBENT/ADSORPTION ISOTHERM/UPTAKE KINETIC

This research was carried out in order to assess the heavy metals (Zn and Cu) removal by *Rhodopseudomonas boonkerdii* sp. strain NS20 and *Bradyrhizobium* sp. strain DOA9. Both bacterial strains were proved as heavy metal tolerant. The experiments were divided into the adsorptions by living and by dead cells. Growth rates and populations of the two strains in aqueous solutions containing 250 and 500 mg·L⁻¹ of each CuSO₄·5H₂O and ZnSO₄·7H₂O were investigated. Bacterial inocula obtained from 5 days cultivation (early of stationary phase) at 1, 5 and 10% (vol/vol) were inoculated into the 10 mL of heavy metals containing media. The heavy metal sorption times were evaluated at 48 to 144 hours. The heavy metal concentrations in the supernatant were determined using atomic absorption spectrometer. It was found that both strains can grow in aqueous solutions containing 250 and 500 mg·L⁻¹ of each metal compounds. Growth rate and population of bacteria decreased with an increase of heavy metal concentration. The highest heavy metal removal efficiency by living cells was found when 10% (vol/vol) of fresh bacteria were inoculated into the aqueous solution containing 250 mg·L⁻¹ of heavy metal compounds. The sorption took place and reached equilibrium over 48 hours. The highest efficiency of sorption

process was found in zinc uptake by *R. boonkerdii* sp. strain NS20. Zinc was removed by about 50% within 144 hours. In case of adsorption by dead cells, 2 and 4 g·L⁻¹ of each bacterial dried biomass were inoculated into the heavy metal solutions containing 80-500 mg·L⁻¹ of each CuSO₄·5H₂O and ZnSO₄·7H₂O. Solution pH was adjusted to 4, 5.5 and 7. The sorption times were 5 to 1,440 minutes. It was found that 2 g·L⁻¹ of biomass exhibited higher heavy metal removal efficiency than 4 g·L⁻¹ of biomass. Dried biomass showed the highest metal uptake when used as biosorbent in the treatment of 500 mg·L⁻¹ of metal compound solutions. The sorption equilibrium was reached within 30 minutes. The highest metal removal efficiency was found in copper uptake by *R. boonkerdii* sp. strain NS20. The copper concentration in the solution was decreased by about 80% within 24 hours. The adsorption by dead cells followed Freundlich adsorption isotherm and the uptake kinetic was well described by pseudo-second order model. The adsorption process was found to be endothermic. Positive values of standard entropy changes were found in copper uptake. The sorption was considered to be spontaneous process only in the case of copper removal by *R. boonkerdii* sp. strain NS20. Heavy metal removal efficiencies by the both bacterial strains became lower when used with industrial waste water treatment. This was due to the presence of two-ions species in the water. In order to determine the possible active site in the bacterial biomass, FT-IR analysis was carried out. The result indicated that amine, amide, carboxyl, hydroxyl and phosphate were the important functional groups involving in the cell-metal ion interaction.

School of Metallurgical Engineering

Academic Year 2013

Student's Signature _____

Advisor's Signature _____

Co-advisor's Signature _____

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงได้ด้วยดีอันเนื่องมาจากได้รับความร่วมมือจากบุคคลหลายส่วนด้วยกัน ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณบุคคลต่างๆ เหล่านี้ที่ได้กรุณาให้คำปรึกษา แนะนำ และช่วยเหลือข้าพเจ้าในระหว่างการดำเนินงานวิจัยนี้

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อุษณีย์ กิตติคำธร อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ และรองศาสตราจารย์ ดร.หนึ่ง เตียอำรุง อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ผู้มอบโอกาสให้ข้าพเจ้าได้ดำเนินงานวิจัยนี้ อีกทั้งยังให้คำแนะนำ และช่วยเหลือในด้านต่างๆ จนกระทั่งงานวิจัยนี้เสร็จสมบูรณ์

กลุ่มบุคคลสำคัญที่ช่วยเหลือข้าพเจ้าเป็นอย่างมากคือ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.พรธาดา ดิตตะบุตร คณาจารย์สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ คุณกมลลักษณ์ เทียมไชยสง หัวหน้างานกลุ่มห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีชีวภาพ ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี ดร.รุจิเรข น้อยเสงี่ยม และ คุณอาภากร หล่อทองกลาง นักวิจัยสาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี บุคคลผู้เปรียบเสมือนพี่เลี้ยง คอยกำกับดูแล ควบคุม และให้ความช่วยเหลือในการดำเนินงานเบื้องต้นในห้องปฏิบัติการ อีกทั้งยังเป็นผู้สอนเทคนิคการทำงานในด้านวิทยาศาสตร์ชีวภาพให้แก่ข้าพเจ้าผู้ซึ่งเป็นนักศึกษาทางด้านวิศวกรรมศาสตร์

ขอขอบคุณ คุณสุชาดา อุคัมพร และคุณยุทิกา สร้อยระย้า นักวิทยาศาสตร์ฝ่ายวิเคราะห์ด้วยเครื่องมือ ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ผู้ให้คำแนะนำในการใช้เครื่องมือวิเคราะห์ปริมาณโลหะหนักในสารละลายน้ำ

ขอขอบคุณ ดร.วราภรณ์ ตันตานุช นักวิจัยสถาบันวิจัยแสงซินโครตรอนแห่งชาติ และคุณจรรจिता รุจิวรรณ นักวิทยาศาสตร์ฝ่ายวิเคราะห์ด้วยเครื่องมือ ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ผู้ช่วยเหลือและให้คำแนะนำในการวิเคราะห์ตัวอย่างด้วยรังสีอินฟราเรด

และสุดท้ายคือกลุ่มสมาชิกนักวิจัยห้องปฏิบัติการจุลินทรีย์ดินประยุกต์ สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ และนักวิจัยสาขาวิศวกรรมโลหการทุกคน ผู้มอบความเป็นมิตร และให้ความช่วยเหลือในทุกๆ ด้านแก่ข้าพเจ้าด้วยดีตลอดมา

อภิชาติ พานิชกุล

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อ (ภาษาไทย).....	ก
บทคัดย่อ (ภาษาอังกฤษ).....	ค
กิตติกรรมประกาศ.....	จ
สารบัญ.....	ฉ
สารบัญตาราง.....	ฐ
สารบัญรูป.....	ด
คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ.....	ฝ
บทที่	
1 บทนำ.....	1
1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหา.....	1
1.2 วัตถุประสงค์.....	4
1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	4
1.4 ขอบเขตการวิจัย.....	4
1.5 ระยะเวลาการดำเนินการวิจัย.....	5
1.6 โครงสร้างของวิทยานิพนธ์.....	5
1.7 เอกสารอ้างอิง.....	6
2 ปรีทัศน์วรรณกรรมและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	8
2.1 โลหะหนักกับปัญหาสิ่งแวดล้อม.....	8
2.2 โลหะหนักและอันตรายของโลหะหนัก.....	9
2.3 การบำบัดน้ำเสียที่ปนเปื้อนโลหะหนัก.....	11
2.4 การบำบัดโลหะหนักด้วยวิธีทางชีวภาพ.....	13
2.5 การดูดซับทางชีวภาพ.....	13
2.6 วัสดุดูดซับ.....	14

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า	
2.7	การใช้แบคทีเรียเป็นวัสดุดูดซับ.....	17
2.8	โครงสร้างของแบคทีเรีย.....	17
2.9	กลไกการดูดซับทางชีวภาพของแบคทีเรีย.....	22
2.9.1	กลไกที่ขึ้นและไม่ขึ้นกับกระบวนการเมตาบอลิซึมของเซลล์.....	22
2.9.2	กลไกที่ขึ้นกับตำแหน่งของเซลล์ชีวมวล.....	24
2.10	บทสรุป.....	26
2.11	เอกสารอ้างอิง.....	27
3	อิทธิพลของปัจจัยต่างๆที่มีผลต่อกระบวนการดูดซับทางชีวภาพ.....	34
3.1	บทคัดย่อ.....	34
3.2	บทนำ.....	35
3.2.1	ความเป็นกรด-ด่างของสารละลายโลหะหนัก.....	35
3.2.2	อุณหภูมิของกระบวนการดูดซับ.....	35
3.2.3	ผลของเซลล์มีชีวิตและเซลล์ไม่มีชีวิต.....	35
3.2.4	ผลของไอออนโลหะชนิดอื่นที่อยู่ร่วมกัน.....	37
3.2.5	ผลของความเข้มข้นของสารละลายโลหะหนัก.....	38
3.3	วิธีการดำเนินงานวิจัย.....	39
3.3.1	กระบวนการดูดซับด้วยเซลล์มีชีวิต.....	39
3.3.1.1	การเตรียมวัสดุชีวมวล.....	39
3.3.1.2	การเตรียมสารละลายโลหะหนัก.....	39
3.3.1.3	การศึกษากระบวนการดูดซับด้วยปริมาณเซลล์ เริ่มต้นต่างกัน.....	39
3.3.1.4	การศึกษากระบวนการดูดซับด้วยระยะเวลาการ ดูดซับต่างกัน.....	39
3.3.1.5	การศึกษากระบวนการดูดซับที่ความเข้มข้นของ โลหะหนักในสารละลายต่างกัน.....	39
3.3.1.6	การวัดอัตราการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย.....	40

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
3.3.1.7 การนับจำนวนโคโลนี.....	40
3.3.2 กระบวนการดูดซับด้วยเซลล์ตาย.....	40
3.3.2.1 การเตรียมวัสดุชีวมวล.....	40
3.3.2.2 การเตรียมสารละลายโลหะหนัก.....	40
3.3.2.3 การศึกษากระบวนการดูดซับด้วยปริมาณเซลล์ เริ่มต้นต่างกัน.....	40
3.3.2.4 การศึกษากระบวนการดูดซับที่ระยะเวลาการดูดซับ ต่างกัน.....	41
3.3.2.5 การศึกษากระบวนการดูดซับที่ความเข้มข้นของโลหะ หนักในสารละลายต่างกัน.....	41
3.3.2.6 การศึกษากระบวนการดูดซับที่ค่า pH ของสารละลาย โลหะหนักต่างกัน.....	41
3.3.3 การวัดความเข้มข้นของโลหะหนัก.....	41
3.3.4 การประเมินค่าความสามารถในการดูดซับ.....	41
3.3.5 แผนภาพการดำเนินงานวิจัย.....	42
3.3.5.1 แผนภาพกระบวนการดูดซับด้วยเซลล์มีชีวิต.....	42
3.3.5.2 แผนภาพกระบวนการดูดซับด้วยเซลล์ตาย.....	43
3.4 ผลการทดลองและการอภิปรายผล.....	44
3.4.1 กระบวนการดูดซับด้วยเซลล์มีชีวิต.....	44
3.4.1.1 ผลของโลหะทองแดงและสังกะสีที่มีต่ออัตรา การโตของแบคทีเรีย.....	44
3.4.1.2 ผลของโลหะทองแดงและสังกะสีที่มีต่อจำนวน ประชากรของแบคทีเรีย.....	48
3.4.1.3 การศึกษากระบวนการดูดซับที่ปริมาณเซลล์เริ่มต้น ต่างกัน.....	49
3.4.1.4 การศึกษากระบวนการดูดซับที่เวลาการดูดซับต่างกัน.....	50

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

3.4.1.5	การศึกษากระบวนการดูดซับที่ความเข้มข้นของ สารละลายโลหะหนักเริ่มต้นต่างกัน.....	51
3.4.2	กระบวนการดูดซับด้วยเซลล์ตาย.....	53
3.4.2.1	การศึกษากระบวนการดูดซับที่ปริมาณเซลล์เริ่มต้น ต่างกัน.....	53
3.4.2.2	การศึกษากระบวนการดูดซับที่เวลาการดูดซับต่างกัน.....	55
3.4.2.3	การศึกษากระบวนการดูดซับที่ความเข้มข้นของ โลหะหนักเริ่มต้นต่างกัน.....	57
3.4.2.4	การศึกษากระบวนการดูดซับที่ค่า pH ของ สารละลายโลหะหนักต่างกัน.....	60
3.5	สรุปผลการวิจัย.....	62
3.6	เอกสารอ้างอิง.....	63
4	สมมูลของการดูดซับทางชีวภาพ.....	66
4.1	บทคัดย่อ.....	66
4.2	บทนำ.....	67
4.2.1	แบบจำลองการดูดซับของเฮนรี.....	68
4.2.2	แบบจำลองการดูดซับของแลงมัวร์.....	69
4.2.3	แบบจำลองการดูดซับของฟรุนด์ลิช.....	71
4.3	วิธีการดำเนินงานวิจัย.....	74
4.3.1	แผนภาพการดำเนินงานวิจัย.....	75
4.4	ผลการทดลองและการอภิปรายผล.....	76
4.4.1	แบบจำลองสมมูลการดูดซับของแลงมัวร์.....	81
4.4.2	แบบจำลองสมมูลการดูดซับของฟรุนด์ลิช.....	87
4.4.3	เปรียบเทียบแบบจำลองการดูดซับกับผลการทดลอง.....	92
4.5	สรุปผลการวิจัย.....	96
4.6	เอกสารอ้างอิง.....	97

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
5 อุณหพลศาสตร์ของการดูดซับทางชีวภาพ	99
5.1 บทคัดย่อ.....	99
5.2 บทนำ.....	100
5.3 วิธีการดำเนินงานวิจัย.....	103
5.3.1 แผนภาพการดำเนินงานวิจัย.....	104
5.4 ผลการทดลองและการอภิปรายผล.....	105
5.5 สรุปผลการวิจัย.....	110
5.6 เอกสารอ้างอิง.....	111
6 จลนศาสตร์ของการดูดซับทางชีวภาพ	114
6.1 บทคัดย่อ.....	114
6.2 บทนำ.....	115
6.2.1 สมการอัตราอันดับหนึ่งเทียม (pseudo-first order rate equation).....	115
6.2.2 สมการอัตราอันดับสองเทียม (pseudo-second order rate equation).....	116
6.3 วิธีการดำเนินงานวิจัย.....	118
6.3.1 แผนภาพการดำเนินงานวิจัย.....	119
6.4 ผลการทดลองและการอภิปรายผล.....	119
6.4.1 สมการอัตราอันดับหนึ่งเทียม (pseudo-first order rate equation).....	122
6.4.2 สมการอัตราอันดับสองเทียม (pseudo-second order rate equation).....	126
6.4.3 เปรียบเทียบสมการอัตราการดูดซับกับผลการทดลอง.....	129
6.5 สรุปผลการวิจัย.....	133
6.6 เอกสารอ้างอิง.....	134

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
7 กระบวนการดูดซับทางชีวภาพในน้ำเสียอุตสาหกรรม	137
7.1 บทคัดย่อ.....	137
7.2 บทนำ.....	138
7.2.1 อิทธิพลของไอออนบวกต่อการดูดซับทางชีวภาพ.....	138
7.2.2 อิทธิพลของไอออนลบต่อการดูดซับทางชีวภาพ.....	139
7.2.3 แบบจำลองการดูดซับในระบบหลายองค์ประกอบ.....	139
7.3 วิธีการดำเนินงานวิจัย.....	140
7.3.1 แผนภาพการดำเนินงานวิจัย.....	141
7.4 ผลการทดลองและการอภิปรายผล.....	142
7.5 สรุปผลการวิจัย.....	147
7.6 เอกสารอ้างอิง.....	148
8 การบ่งลักษณะของวัสดุดูดซับ	149
8.1 บทคัดย่อ.....	149
8.2 บทนำ.....	150
8.3 วิธีการดำเนินงานวิจัย.....	155
8.4 ผลการทดลองและการอภิปรายผล.....	156
8.5 สรุปผลการวิจัย.....	163
8.6 เอกสารอ้างอิง.....	163
9 บทสรุปและข้อเสนอแนะ	165
9.1 ประสิทธิภาพการดูดซับ.....	165
9.2 ลักษณะทางเคมีและกายภาพของการดูดซับทางชีวภาพ.....	165
9.3 ประสิทธิภาพของการดูดซับโลหะหนักในน้ำเสียอุตสาหกรรม.....	167
9.4 เอกสารอ้างอิง.....	167
ภาคผนวก ก อาหารเลี้ยงมวลงชีวภาพและการเตรียม.....	169
ภาคผนวก ข สารประกอบโลหะหนักและการเตรียมสารละลาย	
โลหะหนัก.....	172

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
ภาคผนวก ค	
ผลการวัดอัตราการโตของเซลล์ชีวมวลด้วยเทคนิค	
การวัดความขุ่น.....	174
ภาคผนวก ง	
ผลการวัดปริมาณโลหะหนัก.....	181
ภาคผนวก จ	
เครื่องมือวิเคราะห์และการเตรียมตัวอย่าง.....	192
ภาคผนวก ฉ	
การเผยแพร่ผลงานวิจัย.....	200
ประวัติผู้เขียน.....	208



สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
1.1 แสดงความเข้มข้นต่ำสุดของโลหะหนักที่ยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย (Noisangiam และคณะ, 2010).....	2
1.2 แสดงระยะเวลาในการดำเนินการวิจัย.....	5
2.1 โลหะที่ถูกใช้ในอุตสาหกรรมต่างๆ (Madacha, 2006).....	9
2.2 ค่ามาตรฐานของโลหะหนักในน้ำเสียจากอุตสาหกรรม (Madacha, 2006).....	11
2.3 คุณสมบัติด้านต่างๆของเทคโนโลยีในการบำบัดโลหะหนัก (Veglio และ Beolchini, 1997).....	12
2.4 ตัวอย่างการใช้วัสดุชีวมวลในการดูดซับไอออนของโลหะสังกะสีและทองแดง.....	15
2.5 ตัวอย่างการใช้วัสดุเหลือใช้ตามธรรมชาติเป็นวัสดุดูดซับไอออนสังกะสีและทองแดง.....	16
2.6 ตัวอย่างงานวิจัยการใช้แบคทีเรียสายพันธุ์ต่างๆเป็นวัสดุดูดซับโลหะสังกะสีและทองแดง.....	19
2.7 หมู่เคมีที่สำคัญบนวัสดุชีวมวล (Volesky, 2007).....	24
2.8 ข้อแตกต่างระหว่างการดูดซับทางกายภาพและการดูดซับทางเคมี.....	26
3.1 แสดงข้อแตกต่างการหว่างกระบวนการดูดซับด้วยเซลล์มีชีวิตและเซลล์ตาย (Chojnacka, 2010).....	36
3.2 แสดงจำนวนประชากรของแบคทีเรียในสภาวะต่างๆ.....	48
4.1 ค่าคงที่การดูดซับและค่าประเมินความถูกต้องของแบบจำลองสมดุลการดูดซับของแลงมัวร์.....	86
4.2 ค่าคงที่การดูดซับค่าประเมินความถูกต้องแบบจำลองสมดุลการดูดซับของฟรุนด์ลิช.....	91
5.1 ผลการคำนวณทางเทอร์โมไดนามิกส์ของการดูดซับโลหะหนักด้วยวัสดุดูดซับทางชีวภาพ.....	102

สารบัญตาราง (ต่อ)

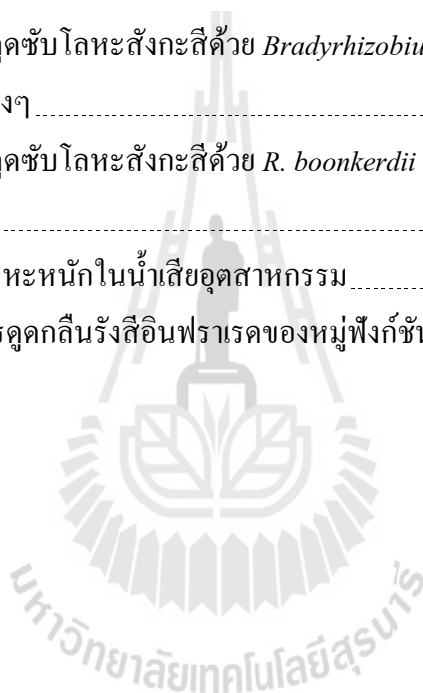
ตารางที่	หน้า	
5.2	แสดงผลการคำนวณตัวแปรทางเทอร์โมไดนามิกส์ของกระบวนการดูดซับ.....	109
6.1	ปริมาณโลหะหนักที่ถูกดูดซับที่สมดุล ค่าคงที่อัตราอันดับหนึ่ง และ สัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ จากการแปรผลการทดลองด้วยสมการอัตรา อันดับหนึ่งเทียม.....	126
6.2	ปริมาณโลหะหนักที่ถูกดูดซับที่สมดุล ค่าคงที่อัตราอันดับหนึ่ง และ สัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ จากการแปรผลการทดลองด้วยสมการอัตรา อันดับสองเทียม.....	129
7.1	เปรียบเทียบความเข้มข้นของโลหะหนักในน้ำเสียก่อนและหลังการปรับ pH.....	143
8.1	แสดงตำแหน่งของแถบการดูดซับที่สอดคล้องกับหมู่ฟังก์ชันทางเคมีของ วัสดุดูดซับที่เป็นเซลล์มีชีวิต.....	161
8.2	แสดงตำแหน่งของแถบการดูดซับที่สอดคล้องกับหมู่ฟังก์ชันทางเคมีของ วัสดุดูดซับที่เป็นเซลล์ไม่มีชีวิต.....	162
ข.1	ปริมาณมลทินในสารประกอบโลหะทองแดงและสังกะสี.....	173
ค.1	อัตราการโตของ <i>Bradyrhizobium</i> sp. strain DOA9 ในสารละลายที่ไม่มี โลหะหนัก.....	175
ค.2	อัตราการโตของ <i>Bradyrhizobium</i> sp. strain DOA9 ในสารละลายโลหะ ทองแดง.....	175
ค.3	อัตราการโตของ <i>Bradyrhizobium</i> sp. strain DOA9 ในสารละลายโลหะ สังกะสี.....	176
ค.4	อัตราการโตของ <i>Bradyrhizobium</i> sp. strain DOA9 ในสารละลายที่ไม่มี โลหะหนักและไม่มีแหล่งคาร์บอนและไนโตรเจน.....	176
ค.5	อัตราการโตของ <i>Bradyrhizobium</i> sp. strain DOA9 ในสารละลายโลหะ ทองแดงที่ปราศจากแหล่งคาร์บอนและไนโตรเจน.....	177
ค.6	อัตราการโตของ <i>Bradyrhizobium</i> sp. strain DOA9 ในสารละลายโลหะ สังกะสีที่ปราศจากแหล่งคาร์บอนและไนโตรเจน.....	177

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่	หน้า
ค.7	อัตราการใช้ของ <i>R. boonkerdii</i> sp. nov. NS20 ในสารละลายโลหะที่ไม่มีโลหะหนัก..... 178
ค.8	อัตราการใช้ของ <i>R. boonkerdii</i> sp. nov. NS20 ในสารละลายโลหะทองแดง..... 178
ค.9	อัตราการใช้ของ <i>R. boonkerdii</i> sp. nov. NS20 ในสารละลายโลหะสังกะสี..... 179
ค.10	อัตราการใช้ของ <i>R. boonkerdii</i> sp. nov. NS20 ในสารละลายที่ไม่มีโลหะหนักและไม่มีแหล่งคาร์บอนและไนโตรเจน..... 179
ค.11	อัตราการใช้ของ <i>R. boonkerdii</i> sp. nov. NS20 ในสารละลายโลหะทองแดงที่ปราศจากแหล่งคาร์บอนและไนโตรเจน..... 180
ค.12	อัตราการใช้ของ <i>R. boonkerdii</i> sp. nov. NS20 ในสารละลายโลหะสังกะสีที่ปราศจากแหล่งคาร์บอนและไนโตรเจน..... 180
จ.1	ผลการดูดซับโลหะทองแดงด้วย <i>Bradyrhizobium</i> sp. strain DOA9 ที่มีชีวิต..... 182
จ.2	ผลการดูดซับโลหะสังกะสีด้วย <i>Bradyrhizobium</i> sp. strain DOA9 ที่มีชีวิต..... 183
จ.3	ผลการดูดซับโลหะทองแดงด้วย <i>R. boonkerdii</i> sp. nov. NS20 ที่มีชีวิต..... 184
จ.4	ผลการดูดซับโลหะสังกะสีด้วย <i>R. boonkerdii</i> sp. nov. NS20 ที่มีชีวิต..... 185
จ.5	ผลการดูดซับโลหะทองแดงด้วย <i>Bradyrhizobium</i> sp. strain DOA9 ที่ไม่มีชีวิต..... 186
จ.6	ผลการดูดซับโลหะสังกะสีด้วย <i>Bradyrhizobium</i> sp. strain DOA9 ที่ไม่มีชีวิต..... 186
จ.7	ผลการดูดซับโลหะทองแดงด้วย <i>R. boonkerdii</i> sp. nov. NS20 ที่ไม่มีชีวิต..... 187
จ.8	ผลการดูดซับโลหะสังกะสีด้วย <i>R. boonkerdii</i> sp. nov. NS20 ที่ไม่มีชีวิต..... 187
จ.9	ผลการทดสอบสมมูลของการดูดซับโลหะทองแดงด้วย <i>Bradyrhizobium</i> sp. strain DOA9..... 188
จ.10	ผลการทดสอบสมมูลของการดูดซับโลหะทองแดงด้วย <i>R. boonkerdii</i> sp. nov. NS20..... 188
จ.11	ผลการทดสอบสมมูลของการดูดซับโลหะสังกะสีด้วย <i>Bradyrhizobium</i> sp. strain DOA9..... 189
จ.12	ผลการทดสอบสมมูลของการดูดซับโลหะสังกะสีด้วย <i>R. boonkerdii</i> sp. nov. NS20..... 189

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่	หน้า
ง.13 ผลการทดสอบการดูดซับโลหะทองแดงด้วย <i>Bradyrhizobium</i> sp. strain DOA9 ที่อุณหภูมิต่างๆ.....	190
ง.14 ผลการทดสอบการดูดซับโลหะทองแดงด้วย <i>R.boonkerdii</i> sp. nov. NS20 ที่อุณหภูมิต่างๆ.....	190
ง.15 ผลการทดสอบการดูดซับโลหะสังกะสีด้วย <i>Bradyrhizobium</i> sp. strain DOA9 ที่อุณหภูมิต่างๆ.....	190
ง.16 ผลการทดสอบการดูดซับโลหะสังกะสีด้วย <i>R. boonkerdii</i> sp. Nov. NS20 ที่อุณหภูมิต่างๆ.....	191
ง.17 ผลการวัดปริมาณโลหะหนักในน้ำเสียอุตสาหกรรม.....	191
จ.1 ช่วงเลขคลื่นของการดูดกลืนรังสีอินฟราเรดของหมู่ฟังก์ชันต่างๆ.....	198



สารบัญรูป

รูปที่	หน้า	
1.1	แสดงรูปทรงพื้นฐานของ <i>R. boonkerdii</i> sp. nov. NS20 ภายใต้วัดกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Noisangiam และคณะ, 2010).....	3
2.1	ห้วงโซ่อาหารของโลหะหนักในสิ่งแวดล้อม (Volesky, 2001).....	9
2.2	โครงสร้างของแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบ (Vijayaraghavan, 2008).....	21
2.3	โครงสร้างที่ผิวของแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบ (Volesky, 2007).....	21
2.4	กลไกการดูดซับทางชีวภาพ จำแนกตาม a) กลไกที่ขึ้นและไม่ขึ้นกับกระบวนการเมตาบอลิซึมของเซลล์ b) ตำแหน่งของเซลล์ (Veglio และ Beolchini, 1997).....	22
3.1	ช่วงระยะการโตของแบคทีเรีย.....	37
3.2	แสดงอัตราการโตของ <i>Bradyrhizobium</i> sp. strain DOA9 ในสารละลายที่ไม่มีโลหะหนัก (control) และสารละลายที่มีความเข้มข้นของ $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ และ $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ เท่ากับ 250 และ 500 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	45
3.3	แสดงอัตราการโตของ <i>R. boonkerdii</i> sp. nov. NS20 ในสารละลายที่ไม่มีโลหะหนัก (control) และสารละลายที่มีความเข้มข้นของ $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ และ $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ เท่ากับ 250 และ 500 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	46
3.4	แสดงอัตราการโตของ <i>Bradyrhizobium</i> sp. strain DOA9 ในสารละลายที่ไม่มีแหล่งคาร์บอนและไนโตรเจนสำหรับการโตของแบคทีเรีย.....	47
3.5	แสดงอัตราการโตของ <i>R. boonkerdii</i> sp. nov. NS20 ในสารละลายที่ไม่มีแหล่งคาร์บอนและไนโตรเจนสำหรับการโตของแบคทีเรีย.....	47
3.6	แสดงการลดลงของความเข้มข้นของโลหะทองแดงและสังกะสีภายหลังจากการดูดซับด้วย <i>Bradyrhizobium</i> sp. strain DOA9 และ <i>R. boonkerdii</i> sp. nov. strain NS20 ที่มีชีวิต โดยใช้ปริมาณเซลล์เริ่มต้นต่างกัน (เวลาการดูดซับ 144 ชั่วโมง ความเข้มข้นของสารประกอบโลหะ 250 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ pH ของสารละลายโลหะหนัก 7.0).....	50

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่	หน้า
3.7 แสดงการลดลงของความเข้มข้นของโลหะทองแดงและสังกะสีภายหลังจากการดูดซับด้วย <i>Bradyrhizobium</i> sp. strain DOA9 และ <i>R. boonkerdii</i> sp. nov. strain NS20 ที่มีชีวิต โดยใช้เวลาในการดูดซับต่างกัน (ปริมาณเซลล์เริ่มต้น 5% ความเข้มข้นของสารประกอบโลหะ 250 mg.L ⁻¹ pH ของสารละลายโลหะหนัก 7.0).....	51
3.8 แสดงประสิทธิภาพในการดูดซับโลหะทองแดงและสังกะสีด้วย <i>Bradyrhizobium</i> sp. strain DOA9 และ <i>R. boonkerdii</i> sp. nov. strain NS20 ที่มีชีวิต โดยใช้ความเข้มข้นเริ่มต้นของสารละลายโลหะหนักต่างกัน (ปริมาณเซลล์เริ่มต้น 5% เวลาการดูดซับ 144 ชั่วโมง pH ของสารละลายโลหะหนัก 7.0).....	52
3.9 แสดงประสิทธิภาพในการดูดซับโลหะทองแดงและสังกะสีด้วย <i>Bradyrhizobium</i> sp. strain DOA9 และ <i>R. boonkerdii</i> sp. nov. strain NS20 ที่ไม่มีชีวิต โดยใช้ปริมาณเซลล์เริ่มต้นต่างกัน (เวลาการดูดซับ 24 ชั่วโมง ความเข้มข้นของสารประกอบโลหะ 250 mg.L ⁻¹ pH ของสารละลายโลหะหนัก 7).....	54
3.10 ผลการดูดซับโลหะหนักเช่นเดียวกับรูปที่ 3.8 แต่แสดงในรูปของปริมาณโลหะหนักที่ถูกดูดซับต่อกรัมของวัสดุดูดซับ.....	55
3.11 แสดงการลดลงของความเข้มข้นของโลหะทองแดงและสังกะสีภายหลังจากการดูดซับด้วย <i>Bradyrhizobium</i> sp. strain DOA9 และ <i>R. boonkerdii</i> sp. nov. strain NS20 ที่ไม่มีชีวิต โดยใช้เวลาการดูดซับต่างกัน (ปริมาณเซลล์เริ่มต้น 2 g.L ⁻¹ ความเข้มข้นของสารประกอบโลหะ 250 mg.L ⁻¹ pH ของสารละลายโลหะหนัก 7).....	56
3.12 ผลการดูดซับโลหะหนักเช่นเดียวกับรูปที่ 3.10 แต่แสดงในรูปของปริมาณโลหะหนักที่ถูกดูดซับต่อกรัมของวัสดุดูดซับ.....	57
3.13 แสดงประสิทธิภาพในการดูดซับโลหะทองแดงและสังกะสีด้วย <i>Bradyrhizobium</i> sp. strain DOA9 และ <i>R. boonkerdii</i> sp. nov. strain NS20 ที่ไม่มีชีวิต โดยใช้ความเข้มข้นเริ่มต้นของสารละลายโลหะหนักต่างกัน (ปริมาณเซลล์เริ่มต้น 2 g.L ⁻¹ เวลาการดูดซับ 24 ชั่วโมง pH ของสารละลายโลหะหนัก 7).....	59

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่	หน้า
3.14 ผลการดูดซับโลหะหนักเช่นเดียวกับรูปที่ 3.10 แต่แสดงในรูปของปริมาณโลหะหนักที่ถูกดูดซับต่อกรัมของวัสดุดูดซับ.....	59
3.15 แสดงประสิทธิภาพในการดูดซับโลหะทองแดงและสังกะสีด้วย <i>Bradyrhizobium</i> sp. strain DOA9 และ <i>R. boonkerdii</i> sp. nov. strain NS20 ที่ไม่มีชีวิต โดยใช้ pH ของสารละลายโลหะหนักต่างกัน (ปริมาณเซลล์เริ่มต้น 2 g.L^{-1} ความเข้มข้นของสารประกอบโลหะ 250 mg.L^{-1} เวลาการดูดซับ 24 ชั่วโมง).....	61
3.16 ผลการดูดซับโลหะหนักเช่นเดียวกับรูปที่ 3.12 แต่แสดงในรูปของปริมาณโลหะหนักที่ถูกดูดซับต่อกรัมของวัสดุดูดซับ.....	62
4.1 แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง C_e และ q_e ของแบบจำลองสมดุลการดูดซับของเฮนรี แลงมัวร์และฟรุนด์ลิช.....	73
4.2 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของโลหะทองแดงในสารละลายที่สมดุล ($C_{e,Cu}$) กับปริมาณของโลหะทองแดงที่ถูกดูดซับต่อกรัมของ <i>Bradyrhizobium</i> sp. strain DOA9 ($q_{e,Cu}$).....	77
4.3 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของโลหะสังกะสีในสารละลายที่สมดุล ($C_{e,Zn}$) กับปริมาณของโลหะสังกะสีที่ถูกดูดซับต่อกรัมของ <i>Bradyrhizobium</i> sp. strain DOA9 ($q_{e,Zn}$).....	78
4.4 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของโลหะทองแดงในสารละลายที่สมดุล ($C_{e,Cu}$) กับปริมาณของโลหะทองแดงที่ถูกดูดซับต่อกรัมของ <i>R. boonkerdii</i> sp. nov. strain NS20 ($q_{e,Cu}$).....	79
4.5 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของโลหะสังกะสีในสารละลายที่สมดุล ($C_{e,Zn}$) กับปริมาณของโลหะสังกะสีที่ถูกดูดซับต่อกรัมของ <i>R. boonkerdii</i> sp. Nov. strain NS20 ($q_{e,Zn}$).....	80
4.6 แสดงความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่าง $1/C_{e,Cu}$ กับ $1/q_{e,Cu}$ ของแบบจำลองสมดุลการดูดซับของแลงมัวร์ ในการดูดซับโลหะทองแดงด้วย <i>Bradyrhizobium</i> sp. strain DOA9.....	82

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่	หน้า
4.7 แสดงความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่าง $1/C_{e, Zn}$ กับ $1/q_{e, Zn}$ ของแบบจำลองสมดุลการดูดซับของแลงมัวร์ ในการดูดซับโลหะสังกะสีด้วย <i>Bradyrhizobium</i> sp. strain DOA9	83
4.8 แสดงความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่าง $1/C_{e, Cu}$ กับ $1/q_{e, Cu}$ ของแบบจำลองสมดุลการดูดซับของแลงมัวร์ ในการดูดซับโลหะทองแดงด้วย <i>R. boonkerdii</i> sp. nov. strain NS20	84
4.9 แสดงความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่าง $1/C_{e, Zn}$ กับ $1/q_{e, Zn}$ ของแบบจำลองสมดุลการดูดซับของแลงมัวร์ ในการดูดซับโลหะสังกะสีด้วย <i>R. boonkerdii</i> sp. nov. strain NS20	85
4.10 แสดงค่าตัวแปรแยก (separation factor) จากค่าคงที่สมดุลการดูดซับของแลงมัวร์ของการดูดซับโลหะทองแดงและสังกะสีด้วย <i>Bradyrhizobium</i> sp. strain DOA9 และ <i>R. boonkerdii</i> sp. nov. strain NS20 ที่ความเข้มข้นของโลหะหนักทั้งสองเริ่มต้นต่างกัน	87
4.11 แสดงความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่าง $1/C_{e, Cu}$ กับ $1/q_{e, Cu}$ ของแบบจำลองสมดุลการดูดซับของฟรุนด์ลิช ในการดูดซับโลหะทองแดงด้วย <i>Bradyrhizobium</i> sp. strain DOA9	88
4.12 แสดงความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่าง $1/C_{e, Zn}$ กับ $1/q_{e, Zn}$ ของแบบจำลองสมดุลการดูดซับของฟรุนด์ลิช ในการดูดซับโลหะสังกะสีด้วย <i>Bradyrhizobium</i> sp. strain DOA9	89
4.13 แสดงความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่าง $1/C_{e, Cu}$ กับ $1/q_{e, Cu}$ ของแบบจำลองสมดุลการดูดซับของฟรุนด์ลิช ในการดูดซับโลหะทองแดงด้วย <i>R. boonkerdii</i> sp. nov. strain NS20	90
4.14 แสดงความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่าง $1/C_{e, Zn}$ กับ $1/q_{e, Zn}$ ของแบบจำลองสมดุลการดูดซับของฟรุนด์ลิช ในการดูดซับโลหะสังกะสีด้วย <i>R. boonkerdii</i> sp. nov. strain NS20	90

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่	หน้า
4.15 แสดงค่าตัวแปรแยก (separation factor) จากค่าคงที่สมดุลการดูดซับของ ฟรอนด์ลิซของการดูดซับโลหะทองแดงและสังกะสีด้วย <i>Bradyrhizobium</i> sp. strain DOA9 และ <i>R. boonkerdii</i> sp. nov. strain NS20 ที่ความเข้มข้นของ โลหะหนักทั้งสองเริ่มต้นต่างกัน.....	92
4.16 แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง $C_{e, Cu}$ กับ $q_{e, Cu}$ ที่ได้จากแบบจำลองสมดุลการ ดูดซับของแลงมัวร์ ฟรอนด์ลิซ และผลการทดลองการดูดซับโลหะทองแดง ด้วย <i>Bradyrhizobium</i> sp. strain DOA9.....	93
4.17 แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง $C_{e, Cu}$ กับ $q_{e, Cu}$ ที่ได้จากแบบจำลองสมดุลการ ดูดซับของแลงมัวร์ ฟรอนด์ลิซ และผลการทดลองการดูดซับโลหะทองแดง ด้วย <i>R. boonkerdii</i> sp. nov. strain NS20.....	94
4.18 แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง $C_{e, Zn}$ กับ $q_{e, Zn}$ ที่ได้จากแบบจำลองสมดุลการ ดูดซับของแลงมัวร์ ฟรอนด์ลิซ และผลการทดลองการดูดซับโลหะสังกะสี ด้วย <i>Bradyrhizobium</i> sp. strain DOA9.....	95
4.19 แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง $C_{e, Zn}$ กับ $q_{e, Zn}$ ที่ได้จากแบบจำลองสมดุลการ ดูดซับของแลงมัวร์ ฟรอนด์ลิซ และผลการทดลองการดูดซับโลหะสังกะสี ด้วย <i>R. boonkerdii</i> sp. nov. strain NS20.....	96
5.1 แสดงประสิทธิภาพการดูดซับโลหะที่อุณหภูมิต่างๆ.....	105
5.2 แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง $\ln K$ และ $1/T$ จากกระบวนการดูดซับโลหะ ทองแดงด้วย <i>Bradyrhizobium</i> sp. strain DOA9.....	106
5.3 แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง $\ln K$ และ $1/T$ จากกระบวนการดูดซับโลหะ สังกะสีด้วย <i>Bradyrhizobium</i> sp. strain DOA9.....	107
5.4 แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง $\ln K$ และ $1/T$ จากกระบวนการดูดซับโลหะ ทองแดงด้วย <i>R. boonkerdii</i> sp. nov. strain NS20.....	107
5.5 แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง $\ln K$ และ $1/T$ จากกระบวนการดูดซับโลหะ สังกะสีด้วย <i>R. boonkerdii</i> sp. nov. strain NS20.....	108

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่	หน้า
6.1 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างเวลาการดูดซับกับปริมาณของโลหะทองแดง ที่ถูกดูดซับต่อกรัมของ <i>Bradyrhizobium</i> sp. strain DOA9 ณ เวลาต่างๆ.....	120
6.2 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างเวลาการดูดซับกับปริมาณของโลหะสังกะสี ที่ถูกดูดซับต่อกรัมของ <i>Bradyrhizobium</i> sp. strain DOA9 ณ เวลาต่างๆ.....	121
6.3 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างเวลาการดูดซับกับปริมาณของโลหะทองแดง ที่ถูกดูดซับต่อกรัมของ <i>R. boonkerdii</i> sp. nov. strain NS20 ณ เวลาต่างๆ.....	121
6.4 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างเวลาการดูดซับกับปริมาณของโลหะสังกะสี ที่ถูกดูดซับต่อกรัมของ <i>R. boonkerdii</i> sp. nov. strain NS20 ณ เวลาต่างๆ.....	122
6.5 แสดงความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่าง เวลา กับ $\log(q_e - q_t)$ ตามสมการอัตรา อันดับหนึ่งเทียม ในการดูดซับโลหะทองแดงด้วย <i>Bradyrhizobium</i> sp. strain DOA9.....	123
6.6 แสดงความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่าง เวลา กับ $\log(q_e - q_t)$ ตามสมการอัตรา อันดับหนึ่งเทียมในการดูดซับโลหะสังกะสีด้วย <i>Bradyrhizobium</i> sp. strain DOA9.....	124
6.7 แสดงความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่าง เวลา กับ $\log(q_e - q_t)$ ตามสมการอัตรา อันดับหนึ่งเทียมในการดูดซับโลหะทองแดงด้วย <i>R. boonkerdii</i> sp. nov. strain NS20.....	124
6.8 แสดงความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่าง เวลา กับ $\log(q_e - q_t)$ ตามสมการอัตรา อันดับหนึ่งเทียมในการดูดซับโลหะสังกะสีด้วย <i>R. boonkerdii</i> sp. nov. strain NS20.....	125
6.9 แสดงความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่าง เวลาการดูดซับ กับ t/q_t ตามสมการอัตรา อันดับสองเทียมในการดูดซับโลหะทองแดง ด้วย <i>Bradyrhizobium</i> sp. strain DOA9.....	127
6.10 แสดงความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่าง เวลาการดูดซับ กับ t/q_t ตามสมการอัตรา อันดับสองเทียมในการดูดซับโลหะสังกะสีด้วย <i>Bradyrhizobium</i> sp. strain DOA9.....	127

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่	หน้า
6.11 แสดงความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่าง เวลาการดูดซับ กับ t/q_t ตามสมการอัตรา อันดับสองเทียบในการดูดซับ โลหะทองแดงด้วย <i>R. boonkerdii</i> sp. nov. strain NS20	128
6.12 แสดงความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่าง เวลาการดูดซับ กับ t/q_t ตามสมการอัตรา อันดับสองเทียบในการดูดซับ โลหะสังกะสีด้วย <i>R. boonkerdii</i> sp. nov. strain NS20	128
6.13 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างเวลาการดูดซับกับปริมาณของโลหะทองแดง ที่ถูกดูดซับที่ได้จากผลการทดลองการดูดซับ โลหะทองแดงด้วย <i>Bradyrhizobium</i> sp. strain DOA9 และผลการคำนวณด้วยสมการอัตรา อันดับหนึ่งเทียบและสมการอัตราอันดับสองเทียบ	130
6.14 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างเวลาการดูดซับกับปริมาณของโลหะสังกะสี ที่ถูกดูดซับที่ได้จากผลการทดลองการดูดซับ โลหะสังกะสีด้วย <i>Bradyrhizobium</i> sp. strain DOA9 และผลการคำนวณด้วยสมการอัตรา อันดับหนึ่งเทียบและสมการอัตราอันดับสองเทียบ	131
6.15 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างเวลาการดูดซับกับปริมาณของโลหะทองแดง ที่ถูกดูดซับที่ได้จากผลการทดลองการดูดซับ โลหะทองแดงด้วย <i>R. boonkerdii</i> sp. nov. strain NS20 และผลการคำนวณด้วยสมการอัตรา อันดับหนึ่งเทียบและสมการอัตราอันดับสองเทียบ	132
6.16 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างเวลาการดูดซับกับปริมาณของโลหะสังกะสี ที่ถูกดูดซับที่ได้จากผลการทดลองการดูดซับ โลหะสังกะสีด้วย <i>R. boonkerdii</i> sp. nov. strain NS20 และผลการคำนวณด้วยสมการอัตรา อันดับหนึ่งเทียบและสมการอัตราอันดับสองเทียบ	133
7.1 แสดงอิทธิพลของปริมาณ โลหะแคดเมียมที่มีต่อปริมาณการดูดซับโลหะ สังกะสี (Schiewer และ Volesky, 1996)	139

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่	หน้า
7.2 แสดงปริมาณการดูดซับโลหะหนักต่อกรัมของวัสดุดูดซับ (q) ในน้ำเสียที่ไม่ได้ปรับ pH.....	144
7.3 เปรียบเทียบปริมาณการดูดซับโลหะสังกะสีที่ได้จากผลการทดสอบในน้ำเสียที่ไม่ปรับ pH และผลการคำนวณด้วยสมการสมดุลการดูดซับของฟรุนด์ลิช.....	145
7.4 เปรียบเทียบปริมาณการดูดซับโลหะทองแดงที่ได้จากผลการทดสอบในน้ำเสียที่ไม่ปรับ pH และผลการคำนวณด้วยสมการสมดุลการดูดซับของฟรุนด์ลิช.....	146
7.5 เปรียบเทียบปริมาณการดูดซับโลหะสังกะสีที่ได้จากผลการทดสอบในน้ำเสียที่ปรับค่า pH และผลการคำนวณด้วยสมการสมดุลการดูดซับของฟรุนด์ลิช.....	147
8.1 ส่วนประกอบของผนังเซลล์แบคทีเรีย a) ผนังเซลล์ของแบคทีเรียแกรมบวก b) ผนังเซลล์ของแบคทีเรียแกรมลบ (http://www.foodnetworksolution.com).....	150
8.2 แสดงโครงสร้างทางเคมีในหน่วยย่อยของ peptidoglycan (คัดแปลงจาก Wang และ Chen, 2009).....	151
8.3 โครงสร้างทางเคมีของ a) teichoic acid b) lipoteichoic acid (Fournier และ Philpott, 2005).....	152
8.4 แสดงตัวอย่างสูตรทางเคมีในหน่วยย่อยของ phospholipid.....	153
8.5 ตัวอย่างโครงสร้างทางเคมีของ lipopolysaccharide (Abe=abequose; Gal=galactose; Glc=glucose; GlcN=glucosamine; Hep=heptulose; KDO=2-keto-3-deoxyoctonate; Man=mannose; NAG=N-acetylglucosamine; P=phosphate; Rha=L-rhamnose) (คัดแปลงจาก Wang และ Chen, 2009).....	154
8.6 สเปกตรัมรังสีอินฟราเรดจากการวิเคราะห์ <i>Bradyrhizobium</i> sp. strain DOA9 ที่มีชีวิตด้วย FT-IR microscope.....	157
8.7 สเปกตรัมรังสีอินฟราเรดจากการวิเคราะห์ <i>R. boonkerdii</i> sp. nov. strain NS20 ที่มีชีวิตด้วย FT-IR microscope.....	158
8.8 สเปกตรัมรังสีอินฟราเรดจากการวิเคราะห์ <i>Bradyrhizobium</i> sp. strain DOA9 ที่ไม่มีชีวิตด้วย FT-IR microscope.....	159

สารบัญญรูป (ต่อ)

รูปที่	หน้า
8.9	สเปกตรัมรังสีอินฟราเรดจากการวิเคราะห์ <i>R. boonkerdii</i> sp. nov. strain NS20 ที่ไม่มีชีวิตด้วย FT-IR microscope.....
จ.1	หลักการวัดความขุ่นของแบคทีเรียด้วย spectrophotometer.....
จ.2	การสั้นของ โมเลกุลในรูปแบบต่างๆ.....



คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ

1°	=	primary
2°	=	secondary
3°	=	tertiary
θ	=	สัดส่วนของพื้นที่ผิวที่ถูกปกคลุมด้วยโมเลกุลที่ถูกดูดซับ
μm	=	ไมโครเมตร
χ^2	=	ไคสแควร์ (Chi-square)
ΔG	=	การเปลี่ยนแปลงพลังงานอิสระของกิบ
ΔG°	=	การเปลี่ยนแปลงพลังงานอิสระมาตรฐานของกิบ
ΔH°	=	การเปลี่ยนแปลงเอนทาลปีมาตรฐาน
ΔS°	=	การเปลี่ยนแปลงเอนโทรปีมาตรฐาน
AA	=	Amino Acids
AAS	=	atomic absorbance spectrometer
Ag	=	โลหะเงิน
Al	=	โลหะอะลูมิเนียม
As	=	โลหะอาร์เซนิก
a_s	=	แอกติวิตีของโลหะหนักที่ถูกดูดซับบนวัสดุดูดซับที่สมดุล
a_e	=	แอกติวิตีของโลหะหนักที่ละลายอยู่ในสารละลายที่สมดุล
C	=	ความเข้มข้น
C_a	=	ปริมาณโลหะหนักที่ถูกดูดซับบนวัสดุดูดซับที่สมดุล
C_e	=	ความเข้มข้นของโลหะหนักในสารละลายที่สมดุล
$C_{e,a}$	=	ความเข้มข้นที่สมดุลขององค์ประกอบใดๆ
$C_{e,i}$	=	ความเข้มข้นที่สมดุลขององค์ประกอบ i
C_o	=	ความเข้มข้นของโลหะหนักในสารละลายเริ่มต้น
°C	=	องศาเซลเซียส
Ca	=	ธาตุแคลเซียม

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ (ต่อ)

$C_{e,i}$	=	ความเข้มข้นที่สมดุลขององค์ประกอบ i
C_o	=	ความเข้มข้นของโลหะหนักในสารละลายเริ่มต้น
$^{\circ}\text{C}$	=	องศาเซลเซียส
Ca	=	ธาตุแคลเซียม
Cd	=	โลหะแคดเมียม
CFU	=	Colony Forming Units
Cl	=	ธาตุคลอรีน
Cr	=	โลหะโครเมียม
Cu	=	โลหะทองแดง
Cto	=	Chitosan
cm^3	=	ลูกบาศก์เซนติเมตร
DOA9	=	<i>Bradyrhizobium</i> sp. strain DOA9
DOA9/Cu	=	การดูดซับโลหะทองแดงด้วย <i>Bradyrhizobium</i> sp. strain DOA9
DOA9/Zn	=	การดูดซับโลหะสังกะสีด้วย <i>Bradyrhizobium</i> sp. strain DOA9
E	=	ผลการทดลอง
Fe	=	โลหะเหล็ก
FT-IR	=	Fourier transform infrared spectrometer
g	=	กรัม
HM	=	Hepes MES
HP	=	หมู่ฟังก์ชันที่มีประจุบนผิวของวัสดุดูดซับ
$(HP)_o$	=	จำนวนตำแหน่งบนผิววัสดุดูดซับที่ไม่ได้ดูดซับไอออนโลหะหนักที่สมดุล
$(HP)_t$	=	จำนวนตำแหน่งบนผิววัสดุดูดซับที่มีการดูดซับไอออนของโลหะหนักที่เวลา t
h	=	ชั่วโมง
h	=	อัตราการดูดซับเริ่มต้น
ICP-MS	=	Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometry

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ (ต่อ)

J	=	จุด
K	=	ธาตุโพแทสเซียม/องค์ประกอบ
K	=	ค่าคงที่สมดุล
k	=	กิโล
k	=	ค่าคงที่อัตราการดูดซับ/ค่าคงที่อันดับปฏิกิริยา
k_a	=	ค่าคงที่ของการดูดซับ
k_d	=	ค่าคงที่ของการคายการดูดซับ
k_F	=	ค่าคงที่สมดุลการดูดซับของฟรอนด์ลิซ
k_H	=	ค่าคงที่สมดุลการดูดซับของเฮนรี
k_i	=	ค่าคงที่การดูดซับขององค์ประกอบ i
k_L	=	ค่าคงที่สมดุลการดูดซับของแลงมัวร์
L	=	ลิตร/ผลการคำนวณของแลงมัวร์
LPS	=	Lipopolysaccharides
M	=	น้ำหนักของมวลชีวภาพ
Mg	=	โลหะแมกนีเซียม
Mn	=	โลหะแมงกานีส
mg	=	มิลลิกรัม
min	=	minute (นาที)
mL	=	มิลลิลิตร
mmol	=	มิลลิโมล
mol	=	โมล
N	=	ธาตุไนโตรเจน
n	=	ดัชนีหักเห/อันดับของปฏิกิริยา
Na	=	ธาตุโซเดียม
Ni	=	โลหะนิกเกิล
nm	=	นาโนเมตร
NS20	=	<i>Rhodopseudomonas boonkerdii</i> sp. Nov. NS20

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ (ต่อ)

NS20/Cu	=	การดูดซับโลหะทองแดงด้วย <i>Rhodopseudomonas boonkerdii</i> sp. Nov. NS20
NS20/Zn	=	การดูดซับโลหะสังกะสีด้วย <i>Rhodopseudomonas boonkerdii</i> sp. Nov. NS20
OD	=	Optical Density
P°	=	หมู่ฟังก์ชันที่มีประจุบนผิวของวัสดุดูดซับ
$(P)_o$	=	จำนวนตำแหน่งบนผิววัสดุดูดซับที่ไม่ได้ดูดซับไอออนโลหะหนักที่สมดุล
$(P)_t$	=	จำนวนตำแหน่งบนผิววัสดุดูดซับที่มีการดูดซับไอออนของโลหะหนักที่เวลา t
Pb	=	โลหะตะกั่ว
PG	=	Peptidoglycan
PL	=	phospholipids
PS	=	Polysaccharides
ppb	=	หนึ่งในพันล้านส่วน
ppm	=	หนึ่งในล้านส่วน
q	=	ปริมาณโลหะหนักที่ถูกดูดซับต่อกรัมของวัสดุดูดซับ
q_e	=	ปริมาณโลหะหนักที่ถูกดูดซับต่อกรัมของวัสดุดูดซับที่สมดุล
q_t	=	ปริมาณโลหะหนักที่ถูกดูดซับต่อกรัมของวัสดุดูดซับที่เวลา t
$q_{e,e}$	=	ความสามารถในการดูดซับโลหะหนักที่สภาวะสมดุลที่ได้จากผลการทดลอง
$q_{e,i}$	=	ปริมาณการดูดซับขององค์ประกอบ i
$q_{e,m}$	=	ความสามารถในการดูดซับโลหะหนักที่สภาวะสมดุลที่ได้จากผลการคำนวณ
q_{max}	=	ปริมาณการดูดซับสูงสุดต่อหน่วยของวัสดุดูดซับ
$q_{max,i}$	=	ปริมาณการดูดซับสูงสุดขององค์ประกอบ i
r_{ax}	=	อัตราการดูดซับต่อหน่วยพื้นที่ผิว

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ (ต่อ)

rpm	=	รอบต่อนาที
R	=	ค่าคงที่ของก๊าซ
R^2	=	Correlation of determination
R_L	=	ตัวแปรแยก
SD	=	Standard Deviation
SPS	=	Sulfated Polysaccharides
s	=	วินาที
sp.	=	species
T	=	อุณหภูมิ
TA	=	Teichoic Acid
TEM	=	กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน
Temp	=	Temperature (อุณหภูมิ)
t	=	เวลา
t_{eq}	=	เวลาสมดุล
UA	=	Uronic Acids
V	=	โลหะวานาเดียม
V	=	ปริมาตรของสารละลาย
VN	=	Van Niel's
v_a	=	สัมประสิทธิ์แอกติวิตี้ของโลหะหนักที่ถูกดูดซับที่สมดุล
v_e	=	สัมประสิทธิ์แอกติวิตี้ของโลหะหนักที่ไม่ถูกดูดซับที่สมดุล
W	=	โลหะทั้งสแตน/น้ำหนักของวัสดุดูดซับ
Zn	=	โลหะสังกะสี

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหา

การพัฒนาทางวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี และการขยายตัวของภาคอุตสาหกรรม เป็น ต้นเหตุหลักในการปล่อยของเสียออกสู่สิ่งแวดล้อมอย่างต่อเนื่อง ส่งผลให้เกิดปัญหาด้าน สิ่งแวดล้อมที่มีความรุนแรงและ ยากต่อการแก้ไข หนึ่งในปัญหาส่งแวดล้อมที่หลายฝ่ายให้ ความสำคัญเป็นอย่างมากคือ การรั่วไหลปนเปื้อนของโลหะหนักในแหล่งน้ำ ซึ่งถือได้ว่าเป็นมลพิษ ทางสิ่งแวดล้อมที่รุนแรงที่จะก่อให้เกิดอันตรายต่อมนุษย์ และสิ่งมีชีวิตอื่นๆ ดังนั้นจึงมีความจำเป็น ที่จะต้องหาวิธีที่เหมาะสม และมีประสิทธิภาพในการกำจัดโลหะหนักที่ปนเปื้อนอยู่ในของเสีย ก่อนที่จะปล่อยทิ้งออกสู่ธรรมชาติ ซึ่งในปัจจุบันยังไม่มีวิธีที่สามารถกำจัดโลหะหนักในน้ำเสียได้ อย่างสมบูรณ์อันเนื่องมาจากข้อจำกัดทางเทคโนโลยี ด้วยเหตุนี้จึงมีการพัฒนาเทคโนโลยีใหม่ๆ สำหรับการกำจัดโลหะหนักในน้ำเสีย และหนึ่งในวิธีการที่ได้มีการคิดค้น และพัฒนาเรื่อยมาคือ กระบวนการบำบัดโลหะด้วยวิธีทางชีวภาพ ซึ่งเป็นหนึ่งในเทคนิคทางโลหวิทยาสารละลายทาง ชีวภาพ (biohydrometallurgy) โดยพบว่าเป็นเทคโนโลยีที่มีประสิทธิภาพสูง และมีข้อดีกว่า เทคโนโลยีดั้งเดิมอยู่หลายประการ เช่น ต้นทุนต่ำ สามารถกำจัดโลหะในสารละลายที่มีความเข้มข้น ต่ำได้ และที่สำคัญคือ เป็นกระบวนการที่เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม เป็นต้น

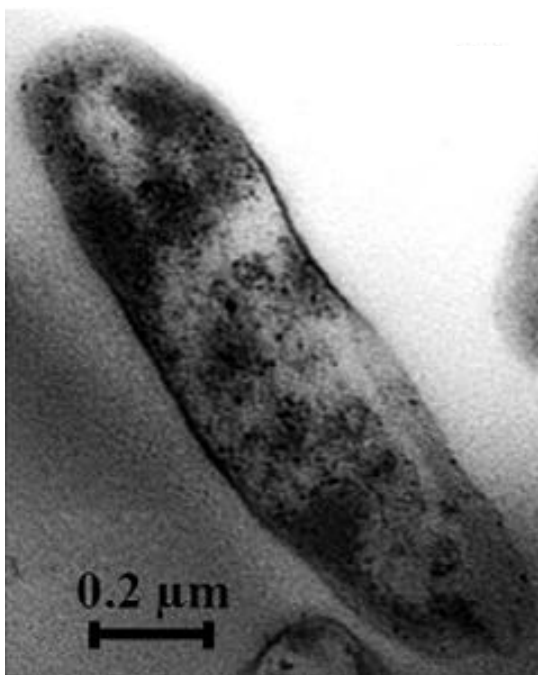
โลหวิทยาสารละลายทางชีวภาพ เป็นการประยุกต์วิธีทางโลหวิทยาสารละลายกับ เทคโนโลยีชีวภาพ โดยเป็นกระบวนการที่เกี่ยวข้องกับการเกิดอันตรกิริยาระหว่างโลหะ หรือแร่กับ จุลชีพต่างๆ เช่น แบคทีเรีย รา ยีสต์ สาหร่าย เป็นต้น โลหวิทยาสารละลายทางชีวภาพได้ถูกนำไปใช้ ในกระบวนการที่เกี่ยวข้องกับการสกัดโลหะจากแร่ การกำจัดโลหะและนำโลหะกลับคืนจากของ เสียอุตสาหกรรม ซึ่งรวมถึงการบำบัดน้ำทิ้งที่ปนเปื้อนโลหะหนักที่มีพิษ โดยอาศัยหลักการดูดซับ ไอออนของโลหะที่ผิวเซลล์ (bioadsorption/biosorption) การดูดซึม หรือการสะสมของโลหะภายใน เซลล์ (bioabsorption/bioaccumulation) จุลชีพ หรืออาจรวมถึงวัสดุเหลือใช้ทางธรรมชาติมี องค์ประกอบทางเคมีที่สามารถทำให้เกิดกลไกการดูดซับ หรือเกิดอันตรกิริยาต่างๆกับไอออนของ โลหะที่อยู่ในสารละลายของเหลว ซึ่งทำให้สามารถลดความเข้มข้นของโลหะภายในสารละลาย ของเหลวได้ การศึกษาทางด้านการกำจัดโลหะหนักทางชีวภาพจึงมุ่งเน้น ในการหามวลชีวภาพ ต่างๆที่สามารถทำหน้าที่เป็นวัสดุดูดซับได้อย่างมีประสิทธิภาพ

แบคทีเรียเป็นหนึ่งในวัสดุชีวมวลที่ถูกนำมาใช้เป็นวัสดุดูดซับไอออนของโลหะในน้ำเสีย นักวิจัยหลายท่านได้ศึกษาการใช้แบคทีเรียสายพันธุ์ต่างๆ ในการบำบัดสารละลายที่มีไอออนของโลหะหนักที่สำคัญเจือปนอยู่ เช่น ปรอท แคดเมียม ตะกั่ว โครเมียม นิกเกิล สังกะสี และทองแดง เป็นต้น ซึ่งแบคทีเรียแต่ละสายพันธุ์มีความสามารถในการกำจัดโลหะหนักแต่ละชนิดที่ต่างกัน ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายๆด้าน เช่น องค์ประกอบของแบคทีเรียแต่ละสายพันธุ์ การเตรียมวัสดุดูดซับ สภาวะทางกายภาพ และเคมีของสารละลายที่มีโลหะหนักเจือปนอยู่ เป็นต้น ปัจจัยต่างๆ เหล่านี้ล้วนเป็นส่วนสำคัญในการควบคุมประสิทธิภาพของการกำจัดโลหะ

ในปี 2553 Noisangiam และคณะนักวิจัยทางเทคโนโลยีชีวภาพ พบว่าแบคทีเรียบางชนิดที่แยกมาจากดินในประเทศไทยมีความทนทาน และสามารถเจริญเติบโตในสภาวะที่มีโลหะหนักได้ โดยสามารถทนต่อความเข้มข้นของโลหะหนักที่สูงมากๆ ได้ ดังแสดงในตารางที่ 1.1 ด้วยเหตุข้างต้น งานวิจัยนี้จึงได้เลือกกลุ่มของแบคทีเรียสายพันธุ์ดังกล่าวมาทดสอบความสามารถในการดูดซับโลหะหนักที่ปนเปื้อนในสารละลายน้ำ โดยได้เลือก *R. boonkerdii* sp. nov. strain NS20 เป็นตัวแทนในการทดสอบ เนื่องจากอยู่ในกลุ่มสายพันธุ์ที่ทนต่อโลหะหนักได้สูงสุด โดย *R. boonkerdii* sp. nov. strain NS20 เป็นแบคทีเรียแกรมลบ มีรูปทรงแบบ แท่งดังแสดงในรูปที่ 1.1 มีความกว้างอยู่ในช่วง 0.2-0.6 μm และยาวประมาณ 1.3-2.2 μm

ตารางที่ 1.1 แสดงความเข้มข้นต่ำสุดของโลหะหนักที่ยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย (Noisangiam และคณะ, 2010)

Strains	Minimum inhibitory concentration ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)						
	Mo	Zn	Cd	Hg	Co	Pb	Cu
NS1	>5000	>4000	>3000	800	>4000	>3000	>5000
NS20	>5000	>4000	>3000	800	>4000	>3000	>5000
NS23	>5000	>4000	>3000	800	>4000	>3000	>5000
NS28	5000	3000	2000	300	>4000	3000	5000
<i>B. japonicum</i> USDA 110	3000	500	100	<10	200	800	200
<i>B. elkanii</i> USDA 94	2000	500	200	<10	400	300	200
<i>Rhs. Palustris</i> DSM 123 ^T	1000	800	100	50	1000	500	200



รูปที่ 1.1 แสดงรูปทรงพื้นฐานของ *R. boonkerdii* sp. nov. strain NS20 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Noisangiam และคณะ, 2010)

นอกจากนี้ยังพบว่า *Bradyrhizobium* sp. strain DOA9 (Noisangiam, 2012) เป็นแบคทีเรียซึ่งผ่านการทดสอบแล้วว่า สามารถทนต่อสถานะที่มีความเข้มข้นของโลหะหนักที่สูงมากๆ ได้เช่นกัน จึงมีความเป็นไปได้ที่จะใช้แบคทีเรียทั้งสองสายพันธุ์ดังกล่าวมาใช้เป็นวัสดุดูดซับสำหรับการกำจัดโลหะหนักที่เจือปนในน้ำ โดยใช้สารละลายน้ำที่เจือปนโลหะสังกะสี และทองแดงเป็นสารละลายตั้งต้นในการทดสอบ เนื่องจากเป็นโลหะหนักสำคัญที่เป็นพิษ และพบได้ในน้ำเสียที่เป็นน้ำทิ้งจากหลากหลายอุตสาหกรรม เช่น อุตสาหกรรมการเคลือบผิวโลหะ อุตสาหกรรมการหลอมและหล่อทองเหลือง เป็นต้น และที่สำคัญคือ จากการทดสอบพบว่า *R. boonkerdii* sp. nov. strain NS20 สามารถทนต่อความเข้มข้นของโลหะทองแดงและ สังกะสีได้สูงถึง 5,000 และ 4,000 mg·L⁻¹ ตามลำดับซึ่งเป็นความเข้มข้นที่สูงมากกว่าโลหะหนักชนิดอื่น เช่นเดียวกับ *Bradyrhizobium* sp. strain DOA9 ก็ผ่านการทดสอบเบื้องต้นในสารละลายที่มีความเข้มข้นของโลหะสังกะสีและทองแดงเท่ากับ 1000 mg·L⁻¹

1.2 วัตถุประสงค์

1.2.1 เพื่อให้ทราบศักยภาพในการดักจับไอออนของโลหะทองแดง และสังกะสี ที่ปนเปื้อนในสารละลายน้ำของแบคทีเรีย 2 สายพันธุ์ที่มีความสามารถในการทนโลหะหนักได้ดี คือ *R. boonkerdii* sp. nov. strain NS20 และ *Bradyrhizobium* sp. strain DOA9

1.2.2 เพื่อศึกษาลักษณะทางเคมีและทางกายภาพของกระบวนการดักจับทางชีวภาพที่ใช้ *R. boonkerdii* sp. nov. strain NS20 และ *Bradyrhizobium* sp. strain DOA9 เป็นวัสดุดักจับโลหะทองแดง และสังกะสี

1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

วัสดุชีวมวลที่นำมาทดสอบมีความสามารถในการทนต่อโลหะหนักได้ที่มีความเข้มข้นสูง จึงมีความเป็นไปได้ที่วัสดุชีวมวลทั้งสองจะมีความสามารถในการดักจับโลหะหนักทั้งทองแดง และสังกะสีได้ ผลการทดลองจากงานวิจัยนี้จะช่วยเติมเต็มองค์ความรู้ทางด้านการดักจับทางชีวภาพซึ่งถือได้ว่าเป็นเทคโนโลยีใหม่ นอกจากนี้ หากวัสดุชีวมวลที่ใช้ในการทดสอบมีประสิทธิภาพในการกำจัดโลหะได้สูง จะเป็นทางเลือกในการเลือกใช้ประโยชน์จากวัสดุชีวมวล ซึ่งเป็นประโยชน์อย่างยิ่งสำหรับการนำไปประยุกต์ใช้ในเทคโนโลยีการดักจับทางชีวภาพต่อไป

1.4 ขอบเขตการวิจัย

1.4.1 วัสดุชีวมวลที่ใช้คือแบคทีเรียที่ทนโลหะหนักได้ดีสองสายพันธุ์ ได้แก่ *R. boonkerdii* sp. nov. strain NS20 และ *Bradyrhizobium* sp. strain DOA9 โดยใช้เป็นวัสดุดักจับทั้งในลักษณะของเซลล์มีชีวิตและเซลล์ตาย

1.4.2 สารละลายโลหะหนักเตรียมขึ้นจากสารประกอบสองชนิดคือ $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ เป็นแหล่งของทองแดง และ $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ เป็นแหล่งของสังกะสี และทดสอบด้วยน้ำเสียจากโรงงานอุตสาหกรรม

1.4.3 ตัวแปรควบคุมในกระบวนการดักจับได้แก่ ปริมาณของวัสดุดักจับ ขนาดของวัสดุดักจับ ความเข้มข้นของสารละลายโลหะหนัก ค่าความเป็นกรดต่างของสารละลายโลหะหนัก เวลาการดักจับ และอุณหภูมิการดักจับ

1.4.4 การทดสอบเป็นแบบไม่ต่อเนื่อง

1.5 ระยะเวลาการดำเนินการวิจัย

ตารางที่ 1.2 แสดงระยะเวลาในการดำเนินการวิจัย

กิจกรรม/ขั้นตอนการ ดำเนินการ	เดือนที่														
	1*	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
1. ศึกษาบทความทางวิชาการ	x														
2. วางแผนการดำเนินงาน	x	x													
3. ทำการทดลองตามแผนงาน		x	x	X	x	x	x	x	x	x	x	x	x		
4. รวบรวมข้อมูล/วิเคราะห์ผล					x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	
5. สรุปผลการทดลอง														x	x

*เริ่มดำเนินการทดลองในเดือน พฤษภาคม

1.6 โครงสร้างของวิทยานิพนธ์

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้ประกอบไปด้วยเนื้อหาทั้งสิ้น 8 บท โดยในแต่ละบทมีรายละเอียดโดยย่อดังต่อไปนี้

บทที่ 1 ได้กล่าวเบื้องต้นถึงความสำคัญและที่มาของการทำวิจัยนี้ โดยแสดงรายละเอียดโดยรวมของการทำวิจัย วัตถุประสงค์ สิ่งที่จะได้รับจากผลการวิจัย รวมทั้งระยะเวลาในการดำเนินงาน

บทที่ 2 กล่าวถึงปัญหาและความสำคัญของโลหะหนัก ข้อจำกัดของกระบวนการต่างๆที่ใช้ในการบำบัดน้ำทิ้งที่ปนเปื้อนโลหะหนัก หลักการต่างๆของการดูดซับทางชีวภาพได้ถูกรวบรวมไว้ในบทนี้เช่นกัน ซึ่งเป็นการอธิบายถึงอันตรกิริยาต่างๆระหว่างเซลล์แบคทีเรียกับไอออนของโลหะในสารละลาย

บทที่ 3 แสดงให้เห็นถึงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณการดูดซับของวัสดุดูดซับกับปัจจัยต่างๆที่มีผลต่อประสิทธิภาพการดูดซับ ได้แก่ ปริมาณวัสดุดูดซับ ความเข้มข้นของโลหะหนักในสารละลายของเหลว เวลาการดูดซับ และค่าความเป็นกรด-ด่างของสารละลายโลหะหนัก โดยใช้วัสดุดูดซับ 2 แบบ คือเซลล์มีชีวิตและเซลล์ตาย

บทที่ 4 อธิบายถึงสมมูลของการดูดซับทางชีวภาพ ซึ่งเป็นความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณการดูดซับที่สมมูลกับความเข้มข้นของโลหะหนักในสารละลายที่สมมูล แบบจำลองการดูดซับของแลงมัวร์และฟรุนด์ลิชได้ถูกนำมาใช้ในการแปรผลการทดลองและหาสมการที่สามารถอธิบายสมมูลของการดูดซับได้ใกล้เคียงที่สุด

บทที่ 5 เป็นการวิเคราะห์ผลการทดลองการดูดซับด้วยตัวแปรทางอุณหพลศาสตร์ที่สำคัญ ได้แก่ พลังงานอิสระ เอนทัลปี และเอนโทรปี นอกจากนี้ยังได้แสดงประสิทธิภาพการดูดซับที่อุณหภูมิต่างๆ

บทที่ 6 กล่าวถึงจลนศาสตร์ของการดูดซับทางชีวภาพ การหาสมการทางคณิตศาสตร์ที่สามารถคำนวณปริมาณการดูดซับที่เวลาใดๆ และการหาอันดับของปฏิกิริยาการดูดซับได้ถูกแสดงไว้อย่างละเอียด

บทที่ 7 เป็นการทดลองใช้วัสดุดูดซับในน้ำเสียอุตสาหกรรม โดยได้เปรียบเทียบปริมาณการดูดซับทางชีวภาพในน้ำเสียอุตสาหกรรมซึ่งมีไอออนอื่นเจือปนกับน้ำเสียที่สังเคราะห์ขึ้นซึ่งเป็นน้ำเสียที่มีโลหะเพียงชนิดเดียว

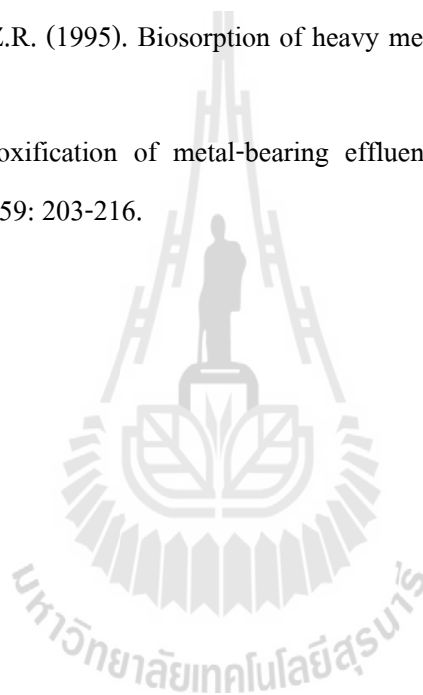
บทที่ 8 เป็นการบ่งลักษณะของวัสดุดูดซับที่ใช้ในการทดลอง โดยเป็นการวิเคราะห์หาหมู่ฟังก์ชันทางเคมีที่ปรากฏในวัสดุดูดซับด้วย FT-IR

บทที่ 9 เป็นการสรุปผลการวิจัยโดยรวม รวมถึงข้อแนะนำเพิ่มเติม

1.7 เอกสารอ้างอิง

- Eduardo, V., and Helena, M.V.M. (2013). Clean up of industrial effluents containing heavy metals: a new opportunity of valorizing the biomass produced by brewing industry. **Applied Microbiology and biotechnology**. 97: 6667-6675.
- Gadd, G.M. (1993). Interactions of fungi with toxic metals. **New Phytologist**. 124: 25-60.
- Noisangiam, R., Nuntaj, A., Pongsilp, N., Boonkerd, N., Denduangboripant, J., Ronson, C., and Teaumroong, N. (2010). Heavy metal tolerant *Metalliresistens boonkerdii* gen. nov., sp. Nov., a new genus in the family *Bradyrhizobiaceae* isolated from soil in Thailand. **Systematic and Applied Microbiology**. 33: 374-382.
- Noisangiam, R., Nuntaj, A., Pongsilp, N., Boonkerd, N., Denduangboripant, J., Ronson, C., and Teaumroong, N. (2011). Erratum to “Heavy metal tolerant *Metalliresistens boonkerdii* gen. nov., sp. nov., a new genus in the family *Bradyrhizobiaceae* isolated from soil in Thailand” [Syst. Appl. Microbiol. 33 (2010) 374–382]. Proposal of *Rhodopseudomonas boonkerdii* sp. nov., a new heavy metal tolerant bacterium isolated from Thailand. **Systematic and Applied Microbiology**. 34: 166-168.
- Noisangiam, R., Teamtisong, K., Tittabutr, P., Boonkerd, N., Toshiki, U., Minamisawa, K., and Teaumroong, N. (2012). Genetic diversity, symbiotic evolution, and proposed infection

- process of *Bradyrhizobium* strains isolated from root nodules of *Aeschynomene americana* L. in Thailand. **Applied and Environmental Microbiology**. 78: 6236-6250.
- Singh, S., Kang, S.H., Mulchandani, A., and Chen, W. (2008). Bioremediation: environmental clean-up through pathway engineering. **Current Opinion in Biotechnology**. 19: 437-444.
- Veglio, F., and Beolchini, F. (1997). Removal of metals by biosorption: a review. **Hydrometallurgy**. 44: 301-316.
- Vijayaraghavan, K., and Yun, Y.S. (2008). Bacterial biosorbents and biosorption. **Biotechnology Advances**. 26: 266-291.
- Volesky, B., and Holan, Z.R. (1995). Biosorption of heavy metals. **Biotechnology Progress**. 11: 235-250.
- Volesky, B. (2001). Detoxification of metal-bearing effluents: biosorption for next century. **Hydrometallurgy**. 59: 203-216.



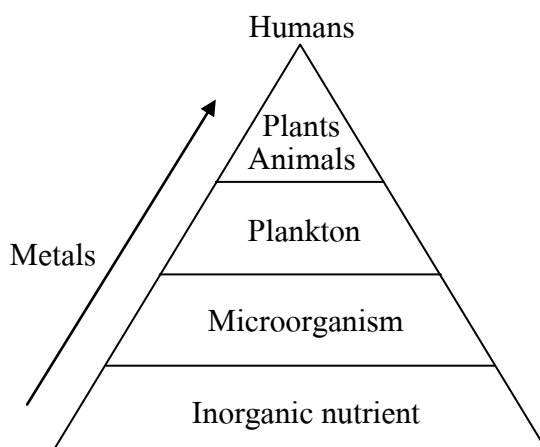
บทที่ 2

ปรัทัศน์วรรณกรรมและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 โลหะหนักกับปัญหาสิ่งแวดล้อม

ในสภาพธรรมชาติ โลหะหนักจะปะปนภายในน้ำเสมอ อันเนื่องมาจากการสลายตัวของหิน และแร่ที่มีโลหะหนักปรากฏอยู่เป็นองค์ประกอบร่วมด้วย แต่ส่วนใหญ่มีปริมาณเจือปนที่น้อยมาก จึงไม่เป็นอันตรายต่อสิ่งมีชีวิตและสิ่งแวดล้อม โลหะหนักที่ทำให้เกิดมลพิษในแหล่งน้ำมักมีแหล่งที่มาจากกิจกรรมของมนุษย์ที่ปล่อยของเสียออกสู่ธรรมชาติ เช่น น้ำทิ้งที่เจือปนสารเคมีจากโรงงานอุตสาหกรรม น้ำทิ้งจากการทำเหมืองแร่ สารเคมีในการเกษตร ของเหลือใช้จากชุมชน และ หลุมฝังกลบขยะ เป็นต้น นอกจากนี้ยังอาจเกิดได้จากสภาวะทางธรรมชาติเอง เช่น การระเบิดของภูเขาไฟ การผุพังของแร่และหิน หรืออาจเกิดจากปัจจัยทั้งสองร่วมกันก็ได้ เช่น ในฤดูมรสุมที่น้ำฝนไหลผ่านชุมชน โดยเฉพาะชุมชนที่มีการคมนาคมหนาแน่น จะมีปริมาณโลหะหนักในน้ำและดินตะกอนในบริเวณนั้นมาก โลหะหนักที่ถูกปล่อยออกสู่สิ่งแวดล้อมจะถูกสะสม และถ่ายทอดไปตามห่วงโซ่อาหารดังแสดงในรูปที่ 2.1 จนกระทั่งถึงมนุษย์ ซึ่งทำให้เกิดอันตรายต่อมนุษย์ถ้าได้รับสะสมโลหะหนักในปริมาณที่มากเกินไป

ของเสียจากอุตสาหกรรมถือได้ว่าเป็นแหล่งที่มาของการปนเปื้อนโลหะที่สำคัญที่สุด เนื่องจากโลหะหนักเป็นวัตถุอันตรายที่ถูกนำมาใช้ในอุตสาหกรรมหลายภาคส่วน เช่น ในด้านอุตสาหกรรมหนัก เราใช้โลหะหนักในการผลิตแบตเตอรี่ ถ่านไฟฉาย และพลาสติก เป็นต้น สำหรับอุตสาหกรรมการเกษตร โลหะหนักเป็นส่วนผสมของยาฆ่าแมลง และปุ๋ย ในขณะที่ทางการแพทย์ใช้โลหะหนักเป็นส่วนผสมของยา และเครื่องสำอาง เป็นต้น ชนิดของโลหะที่ถูกปลดปล่อยออกมาจากอุตสาหกรรมต่างๆก็จะแตกต่างกัน ดังแสดงในตารางที่ 2.1



รูปที่ 2.1 ห่วงโซ่อาหารของโลหะหนักในสิ่งแวดล้อม (Volesky, 2001)

ตารางที่ 2.1 โลหะที่ถูกใช้ในอุตสาหกรรมต่างๆ (Madacha, 2006)

ประเภทของอุตสาหกรรม	ชนิดของโลหะ								
	Ag	Al	As	Cd	Cr	Cu	Ni	Pb	Zn
อุตสาหกรรมการเคลือบผิวโลหะ	X			X	X	X		X	X
อุตสาหกรรมหลอมและปรุงโลหะ	X	X		X		X		X	X
อุตสาหกรรมหมึกและสี		X			X	X		X	
อุตสาหกรรมปิโตรเลียม					X			X	
อุตสาหกรรมการผลิตเหล็กและเหล็กกล้า				X	X	X	X	X	X
อุตสาหกรรมการพิมพ์	X								
อุตสาหกรรมเครื่องหนังและการฟอกหนัง					X				
อุตสาหกรรมไม้			X		X	X		X	
อุตสาหกรรมการผลิตแบตเตอรี่	X			X			X	X	

2.2 โลหะหนักและอันตรายของโลหะหนัก

โลหะหนักจัดอยู่ในกลุ่มธาตุที่มีความถ่วงจำเพาะมากกว่า $4 \text{ g}\cdot\text{cm}^{-3}$ ขึ้นไป และมีน้ำหนักอะตอมมากกว่า 22 ซึ่งในปัจจุบันมีจำนวนทั้งสิ้น 69 ธาตุ เป็นธาตุที่สังเคราะห์ขึ้น 16 ธาตุ โดยโลหะหนักที่สำคัญที่มักจะปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อมและเป็นอันตรายต่อระบบสิ่งมีชีวิตได้แก่ ทองแดง (Cu) สังกะสี (Zn) เงิน (Ag) ตะกั่ว (Pb)ปรอท (Hg) อาร์เซนิก (As) แคดเมียม (Cd) โครเมียม (Cr) สตรอน

เซียม (Sr) ซีเซียม (Cs) โคบอลต์ (Co) นิกเกิล (Ni) ทาลเลียม (Tl) ดีบุก (Sn) และ วานาเดียม (V) (Ahluwalia และ Goyal, 2007)

โลหะหนักเป็นสารคงตัว ไม่สามารถสลายตัวได้ในกระบวนการทางธรรมชาติ จึงมีบางส่วนตกตะกอนสะสมอยู่ในดิน ดินตะกอนในน้ำ และน้ำ เมื่อร่างกายได้รับโลหะหนักโดยทางต่างๆและเกิดการสะสมเป็นปริมาณที่มากพอแล้ว สารโลหะหนักเหล่านั้นไปรบกวนการทำงานของเอนไซม์ของเซลล์ ทำให้การควบคุมการลำเลียงสารต่างๆของเยื่อหุ้มเซลล์ผิดปกติไป ความเป็นพิษของโลหะหนักขึ้นอยู่กับรูปแบบทางเคมีของสารประกอบของโลหะแต่ละชนิด และเส้นทางที่ร่างกายได้รับเข้าไป เช่น ทางระบบหายใจ ระบบทางเดินอาหาร และผิวหนัง เป็นต้น ซึ่งสารพิษเหล่านี้ เมื่อสะสมอยู่ในร่างกายจนถึงระดับหนึ่งก็จะแสดงอาการออกมาให้เห็น ซึ่งผลของความเป็นพิษของโลหะหนักต่อกลไกระดับเซลล์มี 5 แบบ คือ

- ทำให้เซลล์ตาย
- เปลี่ยนแปลงโครงสร้างการทำงานของเซลล์
- เป็นตัวการทำให้เกิดมะเร็ง
- เป็นตัวการทำให้เกิดความผิดปกติทางพันธุกรรม
- ทำความเสียหายต่อโครโมโซม ซึ่งเป็นปัจจัยทางพันธุกรรม

ด้วยความอันตรายของโลหะหนักจึงต้องมีการออกกฎหมายเพื่อควบคุมปริมาณการปล่อยสารพิษเหล่านี้ออกสู่สิ่งแวดล้อม น้ำเสียที่มีไอออนของโลหะหนักอยู่จะต้องถูกบำบัดให้มีความเข้มข้นของโลหะหนักอยู่ในระดับที่กฎหมายกำหนดไว้ สำหรับในประเทศไทยได้มีการออกกฎหมายเพื่อกำหนดค่าความเข้มข้นมาตรฐานของโลหะหนักในน้ำเสียอุตสาหกรรมไว้โดยกระทรวงอุตสาหกรรมในปี พ.ศ. 2525 และกฎหมายโดยกระทรวงวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี ในปี พ.ศ. 2539 โดยรายละเอียดแสดงในตารางที่ 2.2

ทองแดง และสังกะสีเป็นโลหะหนักกลุ่มหนึ่งที่มีการใช้งานมากเป็นลำดับต้นๆของจำนวนโลหะหนักทั้งหมด การปนเปื้อนของโลหะทั้งสองมาได้จากหลายแหล่งที่สำคัญ เช่น อุตสาหกรรมการสกัดโลหะทองแดง และสังกะสี อุตสาหกรรมการหลอม และหล่อโลหะ อุตสาหกรรมการชุบเคลือบผิวโลหะ อุตสาหกรรมการผลิตทองเหลือง เป็นต้น โลหะทั้งสองจัดอยู่ในกลุ่มของโลหะที่มีความจำเป็นต่อกระบวนการดำรงอยู่ของสิ่งมีชีวิต แต่หากร่างกายได้รับสะสมในปริมาณที่มากเกินไปความจำเป็นจะทำให้เป็นพิษได้ งานวิจัยนี้ได้เลือกสารละลายของเหลวที่มีโลหะทองแดง และสังกะสีปนเปื้อนอยู่สำหรับใช้เป็นสารตั้งต้นในการทดสอบ เนื่องจากแบคทีเรียสายพันธุ์ที่เลือกใช้เป็นวัสดุดูดซับสามารถทนต่อโลหะหนักทั้งสองได้ที่มีความเข้มข้นสูงดังได้กล่าวไว้ในบทที่ 1 อีกทั้งน้ำเสียที่นำมาทำการทดสอบเป็นน้ำเสียจากแหล่งที่มีความเข้มข้นของโลหะทั้งสองอยู่ในปริมาณสูง

ตารางที่ 2.2 ค่ามาตรฐานของโลหะหนักในน้ำเสียจากอุตสาหกรรม (Madacha, 2006)

ชนิดของโลหะหนัก	กฎกระทรวงอุตสาหกรรม พ.ศ. 2525 ค่ามากที่สุด ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	กฎกระทรวงวิทยาศาสตร์ฯ พ.ศ. 2539 ค่ามากที่สุด ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)
อาร์เซนิก	0.25	0.25
แบเรียม	1.0	1.0
แคดเมียม	0.03	0.03
ทองแดง	1.0	2.0
โครเมียม	0.5	0.75 สำหรับ Cr^+ , 0.25 สำหรับ Cr^{6+}
ตะกั่ว	0.2	0.2
แมงกานีส	5.0	5.0
ปรอท	0.005	0.005
นิกเกิล	0.2	1.0
ซีเลเนียม	0.02	0.02
สังกะสี	5.0	5.0

2.3 การบำบัดน้ำเสียที่ปนเปื้อนโลหะหนัก

เนื่องจากโลหะหนักมีความเป็นพิษและเป็นอันตรายต่อสิ่งมีชีวิต ดังนั้นจึงมีความจำเป็นอย่างมากในการหาวิธีการ และบำบัดน้ำเสียที่ปนเปื้อนโลหะหนักที่เหมาะสม เพื่อที่จะแยกเอาโลหะหนักออกไปแล้วอาจนำกลับมาใช้ใหม่ได้ในกระบวนการทางอุตสาหกรรม หรือน้ำที่ผ่านการบำบัดสามารถปล่อยออกสู่สิ่งแวดล้อมได้ โดยมีอันตรายน้อยมาก หรือไม่มีอันตรายต่อมนุษย์ และสิ่งแวดล้อม โดยทั่วไปวิธีที่ใช้ในการบำบัดโลหะหนักในน้ำเสียเป็นกระบวนการในทางฟิสิกส์-เคมี เช่น การตกตะกอนทางเคมี (precipitation) การแลกเปลี่ยนประจุ (ion exchange) ออสโมซิสแบบย้อนกลับ (reverse osmosis) และกระบวนการทางไฟฟ้าเคมี (electrochemical) อย่างไรก็ตาม กระบวนการต่างๆที่ใช้ในการบำบัดน้ำเสียที่กล่าวมาทั้งหมดข้างต้น มีข้อจำกัดหลายประการ เช่น ราคาของสารเคมีที่ใช้ในการบำบัดสูง ใช้พลังงานสูง ไม่สามารถกำจัดโลหะหนักได้สมบูรณ์ และก่อให้เกิดของเสียอันตรายซึ่งต้องหาทางในการกำจัดต่อไป ยิ่งไปกว่านั้นเมื่อความเข้มข้นของโลหะหนักต่ำกว่า 100 มิลลิกรัมต่อลิตร วิธีการที่ใช้กันทั่วไปดังที่ได้กล่าวมาข้างต้นอาจไม่มีประสิทธิภาพ ตารางที่ 2.3 ได้แสดงคุณสมบัติต่างๆของเทคโนโลยีที่ใช้ในการบำบัดน้ำเสียที่ปนเปื้อนโลหะหนัก โดยสรุปได้ว่าวิธีการเหล่านี้จะมีประสิทธิภาพต่ำในการกำจัดโลหะหนักที่มีความเข้มข้นต่ำ และไม่สามารถเลือกกำจัดโลหะเฉพาะธาตุได้ การค้นหาเทคโนโลยีเพื่อบำบัดน้ำเสียจากการปนเปื้อนโลหะ

หนักแนวโน้มจึงมุ่งไปที่เทคโนโลยีที่มีประสิทธิภาพ และราคาถูก การดูดซับทางชีวภาพจึงเป็นคำตอบสำหรับเทคโนโลยีแนวโน้มใหม่ดังกล่าว

ตารางที่ 2.3 คุณสมบัติด้านต่างๆของเทคโนโลยีในการบำบัดโลหะหนัก (Veglio และ Beolchini, 1997)

Technology	pH change	Metal selectivity	Influence of Suspended solids	Tolerance of organic molecules	Working level for appropriate metal (mg/l)
Electrochemical	Tolerant	Moderate	Can be engineered to tolerate	Can be accommodated	>10
Ion exchange	Limited tolerance	Chelate-resins can be selective	Fouled	Can be poisoned	<100
Membrane	Limited tolerance	Moderate	Fouled	Intolerant	>10
Precipitation (a) Hydroxide	Tolerant	Non-selective	Tolerant	Tolerant	>10
(b) Sulphide	Limited tolerance	Limited selective pH dependent	Tolerant	Tolerant	>10
Solvent Extraction	Some Systems pH tolerant	Metal selective extractants available	Fouled	Intolerant	>100

2.4 การบำบัดโลหะหนักด้วยวิธีทางชีวภาพ

เทคโนโลยีการกำจัดโลหะหนักในสารละลายโดยอาศัยหลักการทางชีวภาพ ถือเป็นทางเลือกหนึ่งในการควบคุมสิ่งแวดล้อมจากการปนเปื้อนของโลหะหนักในสารละลายของเหลว ซึ่ง ณ ปัจจุบันมีการวิจัย และพัฒนาอย่างจริงจัง เทคโนโลยีทางชีวภาพเป็นการใช้ประโยชน์ของวัสดุทางธรรมชาติ เช่น พืช จุลินทรีย์ หรือของเสียอุตสาหกรรม มาใช้เป็นพาหะในการกำจัดโลหะหนัก พบว่ากระบวนการดังกล่าวสามารถลดข้อจำกัดที่มีในเทคโนโลยีดั้งเดิมได้ นั่นคือ เป็นกระบวนการที่ประหยัด สามารถกำจัดโลหะหนักได้ในช่วงความเข้มข้น และที่สำคัญคือเป็นกระบวนการที่เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม หนึ่งในวิธีบำบัดโลหะหนักด้วยวิธีทางชีวภาพที่มีการศึกษากันอย่างแพร่หลายคือ กระบวนการดูดซับทางชีวภาพ (Biosorption) โดยใช้เซลล์จุลินทรีย์ต่างๆ เช่น แบคทีเรีย รา ยีสต์ หรือสาหร่าย เป็นต้น มาเป็นวัสดุดูดซับ ในช่วงเริ่มต้นของการศึกษา ตั้งแต่ปี 1978 นักวิจัยพบว่า ไอออนของโลหะหนักสามารถถูกสะสมไว้ภายในเซลล์ชีวมวลที่มีชีวิตได้ ซึ่งเป็นกลไกที่ขึ้นกับกระบวนการเมตาบอลิซึมของเซลล์ หรือเรียกว่า Bioaccumulation จนกระทั่งปี 1981 Volesky ได้เสนอกลไกการดูดซับทางชีวภาพ หรือ Biosorption โดยพบว่า ไอออนของโลหะหนักสามารถยึดติดกับผิวของวัสดุชีวมวลที่ไม่มีชีวิตได้ (เซลล์ตาย) หรือเป็นกลไกที่ไม่ขึ้นกับกระบวนการเมตาบอลิซึมของเซลล์ ซึ่งเป็นกลไกที่รวดเร็ว และมีประสิทธิภาพกว่ากลไกการสะสมโลหะภายในเซลล์ การดูดซับโลหะที่ไม่ขึ้นกับกระบวนการเมตาบอลิซึมของเซลล์เป็นกลไกที่สามารถเกิดได้ทั้งกับเซลล์มีชีวิตและเซลล์ตาย โดยเกิดขึ้นที่บริเวณผนังเซลล์ซึ่งเป็นส่วนประกอบแรกของเซลล์ที่สัมผัสกับไอออนของโลหะ จึงเป็นขั้นตอนที่เกิดขึ้นอย่างรวดเร็ว โดยเป็นการแลกเปลี่ยน ไอออนระหว่างโลหะหนักกับหมู่เคมีต่างๆบนผิวของเซลล์ชีวมวล เช่น คาร์บอกซิล (carboxyl) เอมีน (amine) ไฮดรอกซิล (hydroxyl) และฟอสโฟเนต (phosphonate) ซึ่งเป็นส่วนประกอบสำคัญในชั้นผนังเซลล์

2.5 การดูดซับทางชีวภาพ

การดูดซับทางชีวภาพหมายถึง การดูดซับสารปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อมโดยใช้วัสดุดูดซับที่เป็นมวลชีวภาพ การดูดซับทางชีวภาพเป็นกระบวนการที่เกี่ยวข้องกับวัฏภาคของแข็ง ซึ่งคือวัสดุดูดซับที่เป็นวัสดุทางชีวภาพ และวัฏภาคของเหลวอันได้แก่ของเหลวที่มีกลุ่มของโลหะที่มีประจุละลายอยู่ การดูดซับเกิดจากแรงดูดซับระหว่างวัสดุดูดซับกับกลุ่มของไอออนโลหะหนักที่กระทำต่อกันและยึดติดกันด้วยกลไกทางฟิสิกส์และเคมี กระบวนการดูดซับจะดำเนินต่อเนื่องจนถึงจุดสมดุลระหว่างปริมาณของโลหะที่ถูกดูดซับกับปริมาณของโลหะที่ละลายอยู่ในของเหลว การศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างวัสดุดูดซับทางชีวภาพกับไอออนโลหะหนักที่อยู่ในสารละลายของเหลวนั้น อาศัยสิ่งทีเรียกว่า ไอโซเทอมของการดูดซับ (adsorption isotherm) ซึ่งได้กล่าวไว้อย่างละเอียดในบทที่ 4

ข้อได้เปรียบของกระบวนการดูดซับทางชีวภาพเมื่อเปรียบเทียบกับเทคโนโลยีดั้งเดิมสามารถสรุปได้ดังนี้ (Volesky, 1999)

2.5.1 ราคาถูก: ต้นทุนของวัสดุดูดซับมีราคาต่ำเนื่องจากส่วนใหญ่ทำมาจากวัสดุเหลือใช้หรือของเสีย

2.5.2 การเลือกจับโลหะ: วัสดุชีวมวลชนิดต่างกันสามารถที่จะเลือกดูดซับโลหะต่างกันได้ ซึ่งขึ้นอยู่กับหลายปัจจัย เช่น ชนิดของวัสดุชีวมวล, ชนิดของสารละลาย, ลักษณะการเตรียมวัสดุชีวมวล และกระบวนการทางฟิสิกส์-เคมี

2.5.3 การนำกลับมาใช้ใหม่: วัสดุดูดซับสามารถนำกลับมาใช้ใหม่ได้ภายหลังจากนำโลหะที่ถูกดูดซับออก

2.5.4 ไม่เกิดตะกอน: ไม่เกิดปัญหาจากการตกตะกอนของสารในขั้นตอนกระบวนการดูดซับทางชีวภาพ ดังที่เกิดในวิธีอื่นๆ เช่น กระบวนการตกตะกอน (precipitation) ซึ่งตะกอนของสารประกอบโลหะมีอันตรายนและทำการกำจัดได้ยาก

2.5.5 การนำโลหะกลับคืน: สามารถแยกโลหะที่ถูกดูดซับออกจากวัสดุดูดซับได้

2.5.6 มีประสิทธิภาพ: กระบวนการดูดซับทางกายภาพมีประสิทธิภาพในการกำจัดโลหะหนักเทียบเคียงได้กับวิธีที่มีลักษณะคล้ายกันที่สุด คือ การแลกเปลี่ยนประจุ แต่กระบวนการแลกเปลี่ยนประจุมีต้นทุนค่อนข้างสูง

2.5.7 ไม่จำเป็นต้องใส่สารเร่งกระบวนการ หรือสารอาหารใดๆเพิ่มเติม

2.6 วัสดุดูดซับ

การศึกษาการใช้วัสดุชีวมวลเป็นวัสดุดูดซับโลหะหนักเริ่มต้นมาตั้งแต่ราวปี 1980 โดยเริ่มต้นพบว่า วัสดุชีวมวลที่มีชีวิตสามารถเก็บสะสมไอออนของโลหะหนักไว้ได้ด้วยกระบวนการเมตาบอลิซึม (Volesky, 1987) หลังจากนั้นก็พบว่า วัสดุชีวมวลที่ตายแล้วสามารถดูดซับไอออนของโลหะหนักได้เช่นเดียวกันผ่านทางกลไกด้านฟิสิกส์-เคมี กระบวนการดูดซับไม่ได้ขึ้นอยู่กับชนิดหรือส่วนผสมทางเคมีของวัสดุชีวมวลเพียงอย่างเดียวเท่านั้น แต่ยังขึ้นอยู่กับปัจจัยด้านกายภาพภายนอก และคุณสมบัติทางเคมีของสารละลาย โดยกลไกการดูดซับเกี่ยวข้องกับกระบวนการเหล่านี้ คือ การเกิดสารประกอบเชิงซ้อน (complexation) กระบวนการดูดซับทางกายภาพ (adsorption) การประสาน (coordination) การตกตะกอนสารอนินทรีย์ (inorganic microprecipitation) การคีเลชัน (chelation) และการแลกเปลี่ยนประจุ (ion-exchange) ซึ่งอาจเกิดขึ้นเพียงหนึ่งกลไก หรือเกิดจากหลายกลไกร่วมกัน (Veglio และ Beolchini, 1997; Volesky และ Schiewer, 1999) วัสดุชีวมวลที่นิยมใช้เป็นวัสดุดูดซับ ได้แก่ แแบคทีเรีย เชื้อรา ยีสต์ และสาหร่าย นอกจากนี้ยังพบว่า วัสดุเหลือใช้ตาม

ธรรมชาติ และของเสียจากอุตสาหกรรมหรือของเสียจากการเกษตรก็สามารถใช้เป็นวัสดุคูดซับได้ เช่นเดียวกัน อาทิเช่น ขนสัตว์ ฟางข้าว ใยมะพร้าว เปลือกไข่ ฯลฯ วัสดุคูดซับที่ดีควรมีคุณสมบัติ ดังนี้

2.6.1 สามารถคูดซับไอออนโลหะหนักออกจากสารละลายได้ในปริมาณสูง และรวดเร็ว

2.6.2 มีความสามารถในการคูดซับไอออนโลหะหนักได้หลายชนิด ไม่จำเพาะเจาะจงต่อไอออนโลหะหนักชนิดใดชนิดหนึ่งเท่านั้น เพราะในน้ำที่ส่วนใหญ่มีไอออนโลหะหนักหลายชนิดปะปนกันอยู่

2.6.3 สามารถแยกออกจากสารละลายได้ง่าย รวดเร็ว และมีค่าใช้จ่ายที่ต่ำ

2.6.4 กระบวนการชะไอออนโลหะหนักออกจากวัสดุชีวมวล ควรทำได้ง่าย และรวดเร็ว ส่วนสารเคมีที่ใช้ควรมีราคาถูก และหาได้ง่าย

2.6.5 วัสดุชีวมวลที่ถูกชะไอออนโลหะหนักออกแล้ว ควรสามารถนำกลับมาใช้เป็นวัสดุคูดซับได้อีกหลายๆครั้ง

ตัวอย่างของการใช้วัสดุชีวมวลในการคูดซับโลหะสังกะสี และทองแดง และการใช้วัสดุเหลือใช้ตามธรรมชาติเป็นวัสดุคูดซับโลหะหนักแสดงในตารางที่ 2.4 และ 2.5 ตามลำดับ

ตารางที่ 2.4 ตัวอย่างการใช้วัสดุชีวมวลในการคูดซับไอออนของโลหะสังกะสีและทองแดง

Metal	Biomass type	Biomass class	Metal uptake (mg·g ⁻¹)	Reference
Zn	<i>Thiobacillus thiooxidans</i>	Bacteria	43.29	Liu <i>et al.</i> , 2004
	<i>Rhizopus arrhizus</i>	Fungi	2.0	Tobin <i>et al.</i> , 1984
	<i>Sargassum sp.</i>	Brown seaweed	0.50	Lui <i>et al.</i> , 2004
	<i>Ulva sp.</i>	Green seaweed	0.54	Lui <i>et al.</i> , 2004
	<i>Gracillaria sp.</i>	Red seaweed	0.40	Lui <i>et al.</i> , 2004
	<i>Sargassa sp.</i>	Brown algae	70	Davis <i>et al.</i> , 2003
	<i>Sacchromyces cerevisiae</i>	Yeast	14-40	Volesky <i>et al.</i> , 1995
	<i>Candida tropicalis</i>	Yeast	30	Mattuschka <i>et al.</i> , 1993
	<i>Rhizopus arrhizus</i>	Fungus	20	Tobin <i>et al.</i> , 1984
	<i>Pencillium</i>	Fungus	0.2	Nui <i>et al.</i> , 1993

ตารางที่ 2.4 ตัวอย่างการใช้วัสดุชีวมวลในการดูดซับไอออนของโลหะสังกะสีและทองแดง (ต่อ)

Metal	Biomass type	Biomass class	Metal uptake (mg·g ⁻¹)	References
Cu	<i>Pantoea sp. TEM 18</i>	Bacteria	31.3	Ozdemir, 2004
	<i>Pichia guilliermondii</i>	Yeast	11	Mattuschka <i>et al.</i> , 1993
	<i>Scenedesmus obliquus</i>	Algae	10	Mattuschka <i>et al.</i> , 1993
	<i>Pencillium</i>	Fungus	9	Nui <i>et al.</i> , 1993
	<i>Streptomyces noursei</i>	Bacteria	5	Mattuschka <i>et al.</i> , 1993
	<i>sp.</i>	Marine bacterium	6.60	Iyer <i>et al.</i> , 2005
	<i>Enterobacter cloaceae</i>	Marinr green alga	56.3	Vijayaraghavan <i>et al.</i> , 2008
	<i>Ulva reticulate</i>	Blue green algae	6.17	Chojnacka <i>et al.</i> , 2005

ตารางที่ 2.5 ตัวอย่างการใช้วัสดุเหลือใช้ตามธรรมชาติเป็นวัสดุดูดซับไอออนสังกะสีและทองแดง

Metals	Biosorbents (Natural products)	Adsorption Capacity (mg·g ⁻¹) / Efficiency (%)	References
Zn	Coconut shell carbon	90%	Amuda <i>et. al.</i> , 2007
	Coffee beans	5.98×10 ⁻² mmol·g ⁻¹	Katsuya <i>et. al.</i> , 2007
	Husk of Black gram	33.81 (mg·g ⁻¹)	Saeed <i>et. al.</i> , 2005
	Papaya wood	66.8 (%)	Saeed <i>et. al.</i> , 2005
	Waste fruit residues	87	Senthilkumar <i>et. al.</i> , 2000

ตารางที่ 2.5 ตัวอย่างการใช้วัสดุเหลือใช้ตามธรรมชาติเป็นวัสดุดูดซับไอออนสังกะสีและทองแดง (ต่อ)

Metals	Biosorbents (Natural products)	Adsorption Capacity (mg·g ⁻¹) / Efficiency (%)	References
Cu	Coffee beans	5.98×10 ⁻² mmol·g ⁻¹	Katsuya <i>et. al.</i> , 2007
	Crab shell	243.9 mg·g ⁻¹	Vijayaraghavan <i>et. al.</i> , 2006
	Husk of Black gram	25.37 (mg·g ⁻¹)	Saeed <i>et. al.</i> , 2005
	Papaya wood	97.8 (%)	Saeed <i>et. al.</i> , 2005
	Sugarbeet pulp	28.5 mg·g ⁻¹	Aksu <i>et. al.</i> , 2005
	Wheat shell	99%	Basci <i>et. al.</i> , 2004

2.7 การใช้แบคทีเรียเป็นวัสดุดูดซับ

แบคทีเรียเป็นหนึ่งในวัสดุชีวมวลที่นิยมใช้เป็นวัสดุดูดซับ สามารถใช้ได้ทั้งเซลล์ที่มีชีวิตหรือเซลล์ที่ตายแล้ว แบคทีเรียสามารถคัดแยกได้จากวัสดุเหลือใช้ทางธรรมชาติ หรือของเสียจากอุตสาหกรรม จึงทำให้ประหยัดในการผลิตเป็นวัสดุดูดซับ ตัวอย่างสายพันธุ์แบคทีเรียที่มีประสิทธิภาพในการใช้เป็นวัสดุดูดซับ ได้แก่ *Bacillus* (Nakajima และ Tsuruta, 2004; Tunali และคณะ, 2006) *Pseudomonas* (Chang และคณะ, 1997; Uslu และ Tanyol, 2006) และ *Streptomyces* (Mameri และคณะ, 1999; Selatnia และคณะ, 2004) ตารางที่ 2.6 ได้แสดงตัวอย่างงานวิจัยของการใช้แบคทีเรียสายพันธุ์ต่างๆเป็นวัสดุดูดซับโลหะสังกะสีและทองแดง อย่างไรก็ตามไม่สามารถเปรียบเทียบผลการทดลองด้วยกันได้ เนื่องจากในแต่ละงานวิจัยใช้สภาวะในการทดสอบที่ต่างกัน เช่น pH อุณหภูมิ เวลา และปริมาณของมวลชีวภาพ เป็นต้น

2.8 โครงสร้างของแบคทีเรีย

แบคทีเรียคือจุลินทรีย์เซลล์เดียว (unicellular) ถูกจัดอยู่ในกลุ่มเซลล์ชั้นต่ำ (prokaryote) พบได้ทุกหนทุกแห่งในสภาพสิ่งแวดล้อมทั่วไป ทั้งในดิน ในน้ำ ในอากาศ พืช สัตว์ และในคน รูปร่างของแบคทีเรียแบ่งออกได้เป็น 3 จำพวกใหญ่ๆ คือ แบคทีเรียที่มีรูปร่างกลม รูปแท่ง และรูปร่างเป็นเกลียว ผนังเซลล์แบคทีเรียซึ่งเป็นองค์ประกอบที่สำคัญของกระบวนการดูดซับไอออน

ของโลหะ คือ โครงสร้างที่ทำหน้าที่คงรูปร่างของเซลล์ เนื่องจากเป็น โครงสร้างของพอลิเมอร์ที่มีความแข็งแรง มีองค์ประกอบหลักคือ เปปติโดไกลแคน (peptidoglycan)

ผนังเซลล์ คือ ส่วนประกอบที่สำคัญในการจำแนกชนิดของแบคทีเรีย เนื่องจากแบคทีเรียแต่ละชนิดมีองค์ประกอบของผนังเซลล์ที่ต่างกัน สามารถแบ่งออกเป็นสองจำพวกใหญ่ๆ คือ แบคทีเรียแกรมบวก และแบคทีเรียแกรมลบ ดังแสดงในรูปที่ 2.2 และ 2.3 ตามลำดับ สำหรับผนังเซลล์ของแบคทีเรียแกรมบวกมีความหนาประมาณ 20-80 นาโนเมตร ประกอบด้วยสายโมเลกุลเปปติโดไกลแคน 40 ชั้น ซึ่งประกอบกันเป็น 90% ขององค์ประกอบของผนังเซลล์ นอกจากนี้ยังมี โพลีแซ็กคาไรด์ โปรตีน และไลปิด

ผนังเซลล์ของแบคทีเรียแกรมลบมีขนาดบางกว่าแบคทีเรียแกรมบวก แต่มีส่วนประกอบทางเคมี และโครงสร้างซับซ้อนมากกว่า โดยมีเปปติโดไกลแคนเพียงชั้นเดียว ซึ่งประกอบกันเป็น 10-20% ของผนังเซลล์ นอกจากนี้มีส่วนประกอบที่พบเฉพาะในแบคทีเรียแกรมลบคือ ไลโปโพลีแซ็กคาไรด์ ซึ่งเป็นเยื่อหุ้มชั้นนอกของเซลล์

Sherbert (1978) ได้อธิบายว่ากลุ่มไอออนที่มีประจุลบของเปปติโดไกลแคนในแบคทีเรียแกรมบวก และเปปติโดไกลแคนกับ ไลโปโพลีแซ็กคาไรด์ ของแบคทีเรียแกรมลบ คือ ส่วนประกอบหลักที่ทำให้แบคทีเรียสามารถยึดติดกับไอออนของโลหะได้ เนื่องจากไอออนของโลหะส่วนใหญ่มีประจุบวก

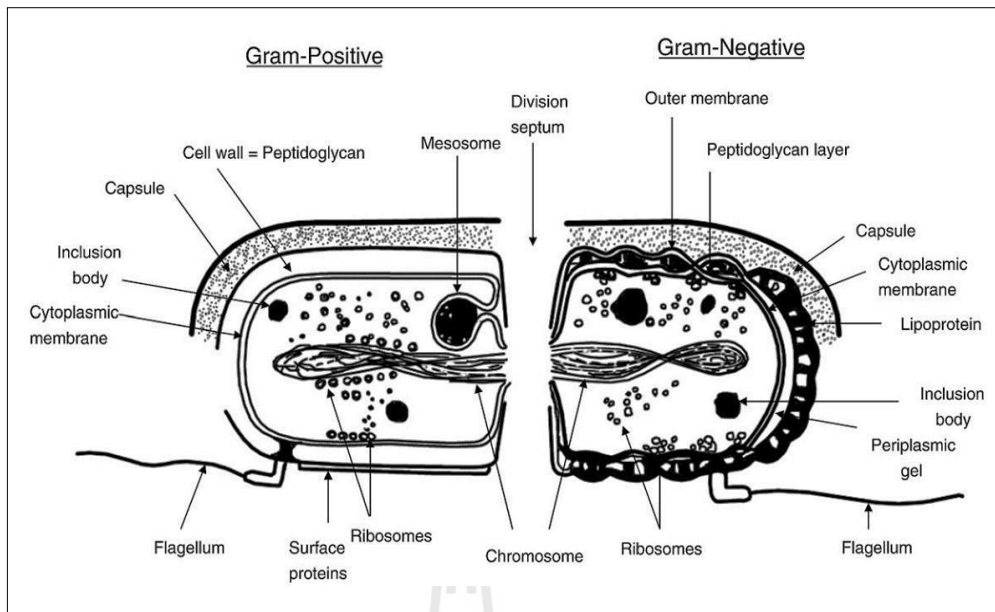


ตารางที่ 2.6 ตัวอย่างงานวิจัยการใช้แบคทีเรียสายพันธุ์ต่างๆเป็นวัสดุดูดซับโลหะหนักและทองแดง

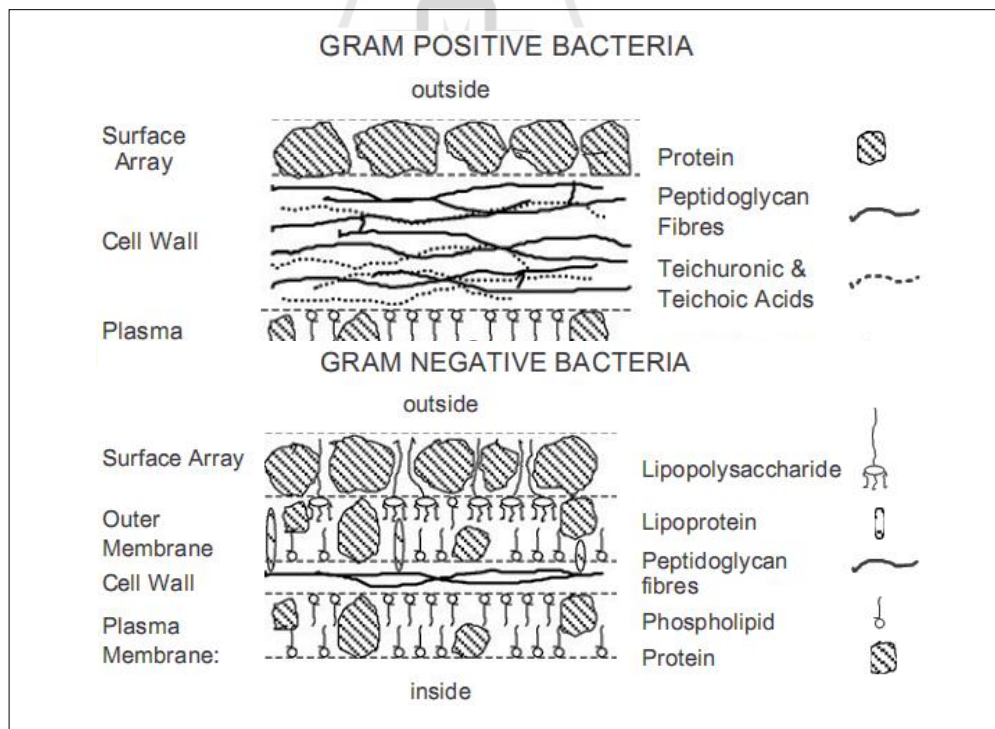
Metals	Organism	Operating conditions			Uptake (mg.g ⁻¹)	Reference	
		pH	Temp	Other information			
Zinc	<i>Aphanothece halophytica</i>	6.5	30	M=0.2 g.L ⁻¹ , t _{eq} =1 h	133.0 (L)	Incharoensakdi and Kitjoharn, 2002	
	<i>Pseudomonas putida</i>	7.0	NA	NA	6.9 (L)	Pardo <i>et al.</i> , 2003	
	<i>Pseudomonas putida</i> CZ1	5.0	30	M=1 g.L ⁻¹ ; t _{eq} =24 h	17.7 (L)	Chen <i>et al.</i> , 2005	
	<i>Streptomyces rimosus</i>	7.5	20	M=3 g.L ⁻¹	30.0 (L)	Mameri <i>et al.</i> , 1999	
	<i>Streptomyces rimosus</i>	7.5	20	M=3 g.L ⁻¹	80.0 (L)	Mameri <i>et al.</i> , 1999	
	<i>Streptoverticillium cinnamomeuma</i>	5.5	28±3	M=2 g.L ⁻¹ , t _{eq} =0.5 h	21.3 (E)	Puranik and Paknikar, 1997	
	<i>Thiobacillus ferrooxidans</i>	6.0	25	M=0.2 g.L ⁻¹ , t _{eq} =2 h	82.6 (L)	Celaya <i>et al.</i> , 2000	
	<i>Thiobacillus ferrooxidans</i>	6.0	40	M=300 g.L ⁻¹ ; t _{eq} =2 h	172.4 (L)	Liu <i>et al.</i> , 2004	
	Copper	<i>Bacillus subtilis</i> IAM 1026	5	25	M=0.5 g.L ⁻¹ , t _{eq} =1 h	20.8 (L)	Nakajima <i>et al.</i> , 2001
		<i>Enterobacter</i> sp. J1	5.0	25	teq=24 h	32.5 (L)	Lu <i>et al.</i> , 2006
<i>Micrococcus luteus</i> IAM 1056		5	25	M=0.5 g.L ⁻¹ , t _{eq} =1 h	33.5 (L)	Nakajima <i>et al.</i> , 2001	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> PU21		5.0	NA	M=1-2 g.L ⁻¹ ; t _{eq} =24 h	23.1 (L)	Chang <i>et al.</i> , 1997	

ตารางที่ 2.6 ตัวอย่างงานวิจัยการใช้แบคทีเรียสายพันธุ์ต่างๆเป็นวัสดุดูดซับโลหะสังกะสีและทองแดง (ต่อ)

Metals	Organism	Operating conditions			Uptake (mg/g)	Reference
		pH	Temp	Other information		
Copper	<i>Pseudomonas cepacia</i>	7	30	NA	65.3 (L)	Savvaidis <i>et al.</i> , 2003
	<i>Pseudomonas putida</i>	6.0	NA	NA	6.6 (L)	Pardo <i>et al.</i> , 2003
	<i>Pseudomonas putida</i>	5.5	30	M=1 g.L ⁻¹ ; t _{eq} =24 h	96.9 (L)	Uslu and Tanyol, 2006
	<i>Pseudomonas putida</i> CZ1	4.5	30	M=1 g.L ⁻¹ ; t _{eq} =24 h	15.8 (L)	Chen <i>et al.</i> , 2005
	<i>Sphaerotilus natans</i>	6	NA	M=3 g.L ⁻¹ ; t _{eq} =0.5 h	60 (E)	Beolchini <i>et al.</i> , 2006
	<i>Sphaerotilus natans</i>	5.5	30	NA	5.4 (L)	Beolchini <i>et al.</i> , 2006
	<i>Streptomyces coelicolor</i>	5.0	25	M=1 g.L ⁻¹ ; t _{eq} =8 h	66.7 (L)	Öztürk <i>et al.</i> , 2004
	<i>Thiobacillus ferrooxidans</i>	6.0	37	M=0.2 g.L ⁻¹ ; t _{eq} =2 h	198.5 (L)	Ruiz-Manriquez <i>et al.</i> , 1997
	<i>Thiobacillus ferrooxidans</i>	5.0	40	M=300 g.L ⁻¹ ; t _{eq} =2 h	39.84 (L)	Liu <i>et al.</i> , 2004



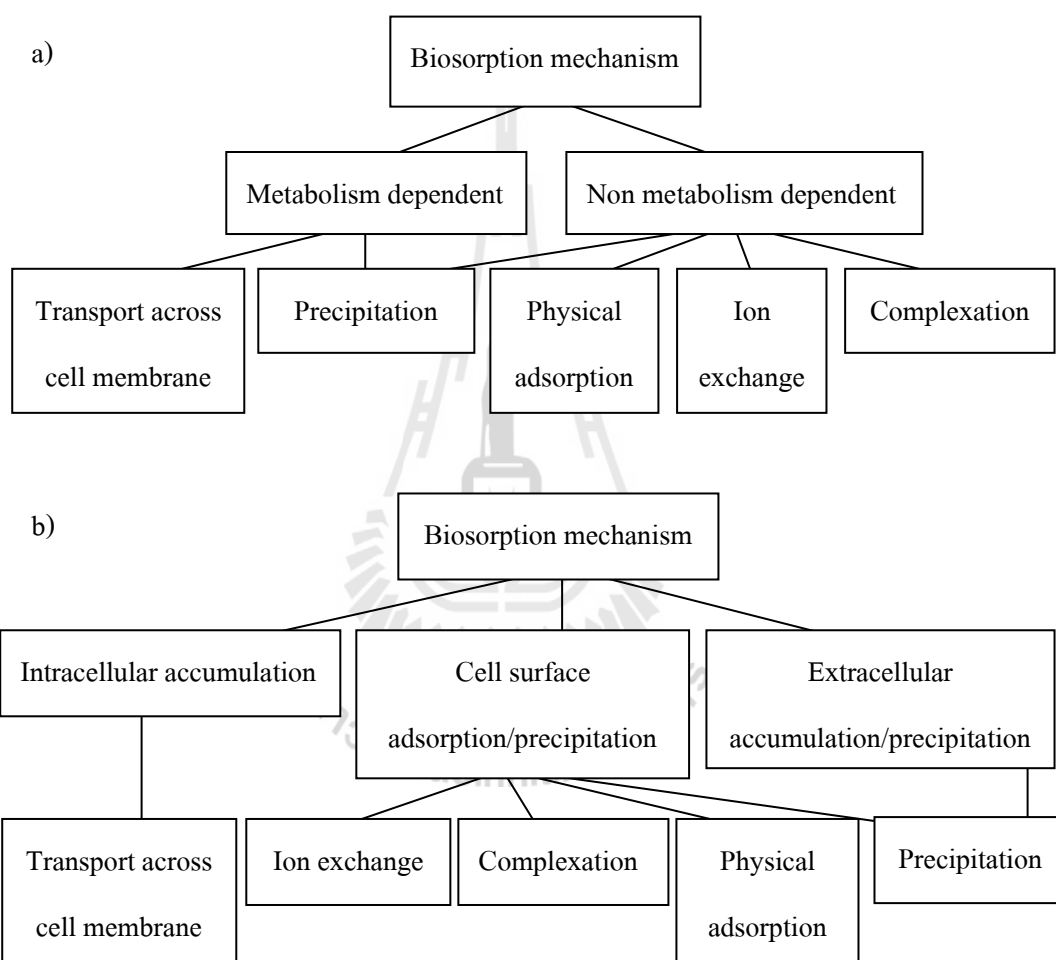
รูปที่ 2.2 โครงสร้างของแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบ (Vijayaraghavan, 2008)



รูปที่ 2.3 โครงสร้างที่ผิวของแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบ (Volesky, 2007)

2.9 กลไกการดูดซับทางชีวภาพของแบคทีเรีย

ด้วยความซับซ้อนในโครงสร้างของแบคทีเรียจึงทำให้มีหลายกลไกที่ไอออนของโลหะจะถูกดูดซับไว้โดยเซลล์แบคทีเรีย ซึ่งอาจสามารถแบ่งประเภทของกลไกการดูดซับโลหะได้ตามลักษณะของกระบวนการเมตาบอลิซึมของเซลล์แบคทีเรียและแบ่งตามตำแหน่งของเซลล์ได้ดังแสดงในรูปที่ 2.4



รูปที่ 2.4 กลไกการดูดซับทางชีวภาพ จำแนกตาม a) กลไกที่ขึ้นและไม่ขึ้นกับกระบวนการเมตาบอลิซึมของเซลล์ b) ตำแหน่งของเซลล์ (Veglio และ Beolchini, 1997)


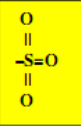

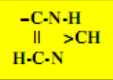
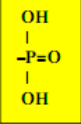

2.9.1 กลไกที่ขึ้นและไม่ขึ้นกับกระบวนการเมตาบอลิซึมของเซลล์

หากจำแนกกลไกการดูดซับโลหะด้วยกระบวนการเมตาบอลิซึมของเซลล์ สามารถแบ่งได้เป็นกลไกที่ไม่ขึ้นกับกระบวนการเมตาบอลิซึม (Non-metabolism dependent) และกลไกที่

ขึ้นอยู่กับกระบวนการเมตาบอลิซึม (Metabolism dependent) การดูดซับไอออนของโลหะที่ไม่ขึ้นกับกระบวนการเมตาบอลิซึมของเซลล์เป็นกลไกที่สามารถเกิดได้ทั้งกับเซลล์มีชีวิต และเซลล์ตาย การดูดซับโลหะในกลไกนี้เกิดขึ้นที่บริเวณผนังเซลล์ เนื่องจากเป็นส่วนประกอบแรกของเซลล์ที่สัมผัสกับไอออนของโลหะ จึงเป็นขั้นตอนที่เกิดขึ้นอย่างรวดเร็วภายในเวลาไม่กี่นาที โดยเป็นการแลกเปลี่ยนไอออนที่บริเวณหมู่เคมีต่างๆ เช่น คาร์บอกซิล (carboxyl) เอมีน (amine) ไฮดรอกซิล (hydroxyl) และ ฟอสโฟเนต (phosphonate) ซึ่งเป็นส่วนประกอบสำคัญในโครงสร้างของแบคทีเรีย ดังแสดงในตารางที่ 2.7 โดยอาจมีกระบวนการอื่นๆ ร่วมด้วย เช่น การตกตะกอนด้วยสาร อนินทรีย์ การเกิดสารประกอบเชิงซ้อน และการดูดซับทางกายภาพ

ส่วนกลไกการดูดซับที่ขึ้นกับกระบวนการเมตาบอลิซึมของเซลล์นั้นเป็นการสะสมโลหะที่อาศัยพลังงานจากกระบวนการเมตาบอลิซึม ซึ่งเกิดขึ้นได้ช้ากว่าขั้นตอนการดูดซับที่ผิว อัตราการนำโลหะเข้าสู่ในเซลล์ขึ้นอยู่กับสภาพทางกายภาพของเซลล์ และองค์ประกอบของสารอาหารที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของเซลล์ กระบวนการสะสมโลหะหนักในขั้นตอนนี้จึงเป็นการนำพาไอออนโลหะข้ามผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ โดยมีพลังงานมาเกี่ยวข้องเพื่อใช้เป็นแรงขับเคลื่อน ไอออนของโลหะ จะไม่มีการเปลี่ยนแปลงทางเคมีระหว่างที่ถูกทำให้เคลื่อนที่จากข้างหนึ่งของเยื่อหุ้มเซลล์ ไปอีกข้างหนึ่ง การเคลื่อนที่ของไอออนโลหะที่ต้องอาศัยแรงขับเคลื่อนจากภายนอก ทำให้สารเคลื่อนที่จากบริเวณที่มีความเข้มข้นสูง ไปยังบริเวณที่มีความเข้มข้นต่ำ ซึ่งแรงขับเคลื่อนนี้ได้มาจากกระบวนการเมตาบอลิซึมของเซลล์ แต่พลังงาน หรือแรงขับเคลื่อนนั้นไม่สามารถนำมาใช้ได้โดยตรง จะมีขั้นตอนมากมายที่เกี่ยวข้องกับการส่งผ่านพลังงาน ปฏิกิริยา หรือกระบวนการที่ใช้พลังงานเพื่อให้เกิดการเคลื่อนที่ของไอออนโลหะ โดยทั่วไป จะได้จากแหล่งพลังงานฟอสเฟต ซึ่งเป็นแหล่งพลังงานของกระบวนการเมตาบอลิซึม (Crist และคณะ, 1992)

ตารางที่ 2.7 หมู่เคมีที่สำคัญบนวัสดุชีวมวล (Volesky, 2007)

Binding group	Structural formula	pK _a	HSAB classif.	Ligand atom	Occurrence in selected biomolecules
Hydroxyl	-OH	9.5-13	Hard	O	PS, UA, SPS, AA
Carbonyl (ketone)	>C=O	-	Hard	O	Peptide bond
Carboxyl		1.7-4.7	Hard	O	UA, AA
Sulfhydryl (thiol)	-SH	8.3-10.8	Soft	S	AA
Sulfonate		1.3	Hard	O	SPS
Thioether	>S	-	Soft	S	AA
Amine	-NH ₂	8-11	Int.	N	Cto, AA
Secondary amine	>NH	13	Int	N	Cti, PG, peptide bond
Amide		-	Int	N	AA
Imine	=NH	11.6-12.6	Int	N	AA
Imidazole		6.0	Soft	N	AA
Phosphonate		0.9-2.1 6.1-6.8	Hard	O	PL
Phosphodiester		1.5	Hard	O	TA, LPS

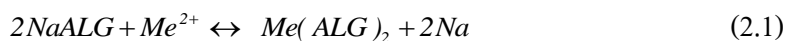
PS = polysaccharides; UA = uronic acids; SPS = sulfated PS; Cto = chitosan; PG = peptidoglycan; AA = amino acids; TA = teichoic acid; PL = phospholipids; LPS = lipoPS.

2.9.2 กลไกที่ขึ้นกับตำแหน่งของเซลล์ชีวมวล

รูปที่ 2.4 b) ได้แสดงประเภทของการดูดซับตามอันตรกิริยาที่เกิดขึ้นระหว่างเซลล์ชีวมวลกับไอออนของโลหะที่ตำแหน่งต่างๆของเซลล์ชีวมวล อันได้แก่ การสะสมภายในเซลล์ การเกิดปฏิกิริยาต่างๆที่ผิวเซลล์ และการเกิดปฏิกิริยาภายนอกเซลล์ สำหรับการสะสมไอออนของโลหะภายในเซลล์นั้นได้กล่าวไว้แล้วในหัวข้อ 2.9.1 ซึ่งเป็นกลไกที่ขึ้นกับกระบวนการเมตาบอลิซึมของเซลล์ ส่วนปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นที่ผิวเซลล์และนอกเซลล์นั้นเป็นกลไกที่ไม่ขึ้นกับกระบวนการเมตาบอลิซึม โดยปรากฏการณ์ที่สำคัญที่เกิดขึ้นระหว่างมวลชีวภาพกับไอออนโลหะได้แก่ การแลกเปลี่ยนไอออน (ion exchange) การดูดซับ (adsorption) และการตกตะกอน (microprecipitation) โดยมีรายละเอียดของแต่ละกลไกดังนี้

การแลกเปลี่ยนไอออน คือกระบวนการที่ไอออนของโลหะหนักซึ่งอยู่ในรูปของโมเลกุล หรืออะตอมที่มีประจุ เกิดปฏิกิริยาแลกเปลี่ยนประจุกับโพลีแซคคาไรด์ (polysaccharides) ซึ่งเป็นส่วนประกอบของผนังเซลล์ชีวมวล จากการศึกษาในรายละเอียดของการแลกเปลี่ยนประจุ

โดย Naja และ Volesky (2006) พบว่ากลุ่มไอออนของโลหะที่มีประจุ +2 สามารถเกิดการแลกเปลี่ยนประจุกับหมู่ฟังก์ชันทางเคมีในโพลีแซกคาไรด์ เช่น อัลจินิก (alginic; ALG) ดังสมการ



อัลจินิกอาจอยู่ในรูปของเกลือแบบอื่น เช่น K^+ Ca^{2+} และ Mg^{2+} การแลกเปลี่ยนไอออนระหว่างกันทำให้เกิดการยึดติดของโลหะบนผิวของมวลชีวภาพ

การยึดติดหรือการดูดซับ คือกระบวนการที่ไอออน หรือโมเลกุลของโลหะหนักเกิดการยึดติดอยู่บนผิวของวัสดุชีวมวลด้วยแรงระหว่างโมเลกุล โดยสามารถจำแนกแรงดังกล่าวได้เป็น 2 ชนิด คือ แรงกายภาพ และแรงเคมี การดูดซับจึงจำแนกออกเป็น 2 ประเภท ตามชนิดของแรง นั่นคือ การดูดซับทางกายภาพ (physisorption) และการดูดซับทางเคมี (chemisorption)

การดูดซับทางกายภาพ คือการดึงดูดไอออน หรือโมเลกุลของตัวถูกดูดซับไว้บนผิวของวัสดุดูดซับ ด้วยแรงทางกายภาพชนิดใดชนิดหนึ่ง หรือหลายชนิดร่วมกัน เกิดขึ้นเนื่องจากแรงดึงดูดระหว่างโมเลกุลของวัสดุดูดซับกับตัวถูกดูดซับ มีค่ามากกว่าแรงดึงดูดระหว่างองค์ประกอบในสารละลายกับตัวถูกดูดซับ แรงทางกายภาพได้แก่ แรงดึงดูดระหว่างขั้ว แรงดึงดูดระหว่างประจุ และแรงดึงดูดระหว่างโมเลกุล การดูดซับประเภทนี้สามารถเกิดขึ้นบนชั้นของโมเลกุลเดียวกันที่ถูกดูดซับไว้ก่อนแล้วได้ ดังนั้นการดูดซับจึงเกิดขึ้นได้หลายชั้น

การดูดซับทางเคมี คือการเกิดพันธะเคมีหรือการใช้อิเล็กตรอนร่วมกันระหว่างไอออนของโลหะหนักกับผิววัสดุดูดซับ ดังนั้นการดูดซับจึงเกิดขึ้นเฉพาะบนผิวของวัสดุดูดซับเท่านั้น การดูดซับประเภทนี้ต้องการพลังงานกระตุ้นเช่นเดียวกับการเกิดปฏิกิริยาเคมีทั่วไป

ความแตกต่างระหว่างการดูดซับทางกายภาพและการดูดซับทางเคมีได้สรุปไว้ในตารางที่ 2.7

ตารางที่ 2.8 ข้อแตกต่างระหว่างการดูดซับทางกายภาพและการดูดซับทางเคมี

Parameter	Physical adsorption	Chemical adsorption
Temperature	Lower	Higher
Heat of adsorption	Lower	Higher
Rate	Fast	Non-activated
Activation energy	Low E	Low E
Coverage	Multilayer possible	Monolayer
Reversibility	Hige	Often irreversible

การตกตะกอนของโลหะ เกิดขึ้นได้เมื่อความสามารถในการละลายของโลหะ ณ ตำแหน่งที่ผิวของมวลชีวภาพมีค่าเกินกว่าค่าความสามารถในการละลาย สภาวะดังกล่าวนี้อาจเกิดขึ้นจากการเปลี่ยนแปลงสภาวะทางกายภาพ ณ ตำแหน่งใดๆ เช่น pH นอกจากนี้ผิวของมวลชีวภาพยังอาจทำให้เกิดเป็นสารประกอบของโลหะหนักที่ไม่ละลายน้ำ จึงตกตะกอนอยู่ในสารละลาย และทำให้ความเข้มข้นของโลหะที่ละลายในสารละลายของเหลวลดลง การตกตะกอนที่เกิดขึ้นนี้ แตกต่างจากกระบวนการตกตะกอนทางเคมีซึ่งเป็นเทคโนโลยีที่ใช้ในการบำบัดน้ำเสียอยู่ ในปัจจุบัน การตกตะกอนทางเคมีกระทำโดยการเติมสารเคมีที่ทำให้เกิดตะกอน เช่น หินปูน สารส้ม สารประกอบเกลือของเหล็ก หรือสารประกอบอินทรีย์อื่นๆ ซึ่งทำให้เกิดปริมาณของตะกอนของเสียที่มีพิษจำนวนมาก จึงเป็นข้อจำกัดของกระบวนการดังกล่าว

2.10 บทสรุป

การขยายตัวของภาคอุตสาหกรรมย่อมหนีไม่พ้นการเพิ่มขึ้นของมลพิษในสิ่งแวดล้อม การปนเปื้อนของโลหะหนักในแหล่งน้ำจัดได้ว่าเป็นปัญหาทางด้านสิ่งแวดล้อมที่อันตรายมากเป็นอันดับต้นๆ เนื่องจากโลหะหนักเป็นอันตรายต่อระบบการทำงานของสิ่งมีชีวิต ฉะนั้นจึงได้มีการกำหนดควบคุมความเข้มข้นของโลหะหนักที่จะปล่อยออกสู่สิ่งแวดล้อม อุตสาหกรรมที่เกี่ยวข้องกับโลหะหนักจึงต้องมีเทคโนโลยีสำหรับการบำบัดน้ำเสีย แต่อย่างไรก็ตาม กระบวนการบำบัดโลหะหนักแบบต่างๆที่ใช้ในปัจจุบัน ยังมีข้อจำกัดที่ไม่อาจสามารถกำจัดโลหะหนักได้สมบูรณ์ อีกทั้งมีราคาการติดตั้งบำรุงสูง ด้วยเหตุนี้จึงได้มีการประยุกต์ใช้วิธีทางชีวภาพในการบำบัดน้ำเสียที่ปนเปื้อนโลหะหนัก หนึ่งในกระบวนการที่มีประสิทธิภาพสูงคือ การดูดซับทางชีวภาพ ซึ่งเป็นกระบวนการที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม มีข้อเด่นกว่าเทคโนโลยีดั้งเดิมคือ สามารถกำจัดโลหะหนักที่มีความเข้มข้นต่ำๆได้ อีกทั้งเป็นกระบวนการที่ใช้ต้นทุนต่ำ เนื่องจากวัสดุดูดซับที่เป็นส่วนสำคัญ

ที่สุดของกระบวนการนั้นสามารถหาได้จากวัสดุเหลือใช้จากธรรมชาติ แบคทีเรียเป็นหนึ่งในมวลชีวภาพที่สามารถใช้เป็นวัสดุดูดซับได้ โดยสามารถใช้ได้ทั้งในลักษณะของเซลล์มีชีวิต และเซลล์ตาย กลไกการดูดซับโลหะหนักของแบคทีเรียจัดได้ว่ามีความซับซ้อน อันเนื่องมาจากความหลากหลายของโครงสร้างแบคทีเรีย อันตรกิริยาต่างๆที่พบว่าเกิดขึ้นระหว่างไอออนของโลหะหนักกับพื้นผิวของแบคทีเรียที่ทำให้เกิดการลดลงของโลหะหนักในสารละลายของเหลวได้แก่ การแพร่ของไอออนโลหะผ่านผนังเซลล์ การแลกเปลี่ยนไอออนของโลหะหนักกับหมู่ฟังก์ชันทางเคมีที่เป็นส่วนประกอบของผนังเซลล์แบคทีเรีย การยึดติดของไอออนโลหะหนักบนพื้นผิวแบคทีเรียด้วยแรงทางกายภาพและแรงทางเคมี หรือการทำให้เกิดการตกตะกอนของสารประกอบโลหะ เป็นต้น

2.11 เอกสารอ้างอิง

- ธีรวิทย์ ทับทอง (2541). การดูดซับไอออนโลหะหนักในน้ำเสียด้วยวัสดุชีวมวลเหลือทิ้งที่ถูกตรึงเป็นเม็ด. *วิทยานิพนธ์วิศวกรรมศาสตรบัณฑิต มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี*.
- ภานูมาศ พรหมเทศ (2550). การดูดซับทองแดงทางชีวภาพออกจากสารละลายด้วยกากองุ่น. *รายงานการวิจัยกองทุนสนับสนุนการวิจัย มหาวิทยาลัยราชภัฏเลย*.
- อัญชุลี เลิศสงคราม (2554). การดูดซับโลหะหนักโดยวิธีทางชีวภาพ. *R&D Newsletter*. 18: 17-22.
- Ahalya, N., Kanamadi, R.D., and Ramachandra, T.V. (2005). Biosorption of chromium (VI) from aqueous solution by the husk of Bengal gram (*Cicer arietinum*). *Electronic Journal of Biotechnology*. 8: 258-264.
- Ahluwalia, S.S., and Goyal, D. (2007). Microbial and plant derived biomass for removal of heavy metals from wastewater. *Bioresource Technology*. 98: 2243-2257.
- Aksu, Z., and Isoglu, I.A. (2005). Removal of copper (II) ions from aqueous solution by biosorption onto agricultural waste sugar beet pulp. *Process Biochemistry*. 40: 3031-3044.
- Amuda, O.S., Giwa, A.A., and Bello, I.A. (2007). Removal of heavy metal from industrial waste water using modified activated coconut shell carbon. *Biochemical Engineering Journal*. 36: 174-181.
- Awasthi, M., and Das, D.N. (2005). Heavy metal stress on growth, photosynthesis and enzymatic activities of free and immobilized *Chlorella vulgaris*. *Annals of Microbiology*. 55: 1-7.
- Basci, N., Kocadagistan, E., and Kocadagistan, B. (2004). Biosorption of copper (II) from aqueous solution by wheat shell. *Desalination*. 164: 135-140.

- Beolchini, F., Pagnanelli, F., Toro, L., and Vegliò, F. (2006). Ionic strength effect on copper biosorption by *Sphaerotilus natans*: equilibrium study and dynamic modelling in membrane reactor. **Water Research**. 40: 144–152.
- Bhattacharya, A.K., Mandal, S.N., and Das, S.K. (2006). Adsorption of Zn(II) from aqueous solution by using difference adsorbents. **Chemical Engineering Journal**. 123: 43-51.
- Break, G. S., Malnes, D., and Jensen, A. (1980). Heavy-metal tolerance of marine phytoplankton. Combined effect of zinc and cadmium on growth and uptake in some marine diatoms. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**. 42: 39-54.
- Celaya, R.J., Noriega, J.A., Yeomans, J.H., Ortega, L.J., and Ruiz-Manriquez, A. (2000). Biosorption of Zn by *Thiobacillus ferrooxidans*. **Bioprocess Engineering**. 22: 539-542.
- Chaichalearm, S. 2006. Cadmium removal by immobilized and free cell of cyanobacteria in a batch system. **Master's thesis, Mahidol University**. Thailand.
- Chang, J.S., Law, R., and Chang, C.C. (1997). Biosorption of lead, copper and cadmium by biomass of *Pseudomonas aeruginosa* PU21. **Water Research**. 31: 1651-1658.
- Chen, X.C., Wang, Y.P., Lin, Q., Shi, J.Y., Wu, W.X., and Chen, Y.X. (2005). Biosorption of copper(II) and zinc(II) from aqueous solution by *Pseudomonas putida* CZ1. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**. 46: 101–107.
- Choi, A., Wang, S., and Lee, M. (2009). Biosorption of cadmium, copper, and lead ions from aqueous solutions by *Ralstonia sp.* and *Bacillus sp.* isolated from diesel and heavy metal contaminated soil. **Geosciences Journal**. 13: 331-341.
- Chojnacka, K. (2005). Biosorption of Cr(III) ions by egg shells. **Journal of Hazardous Materials**. 121: 167-173.
- Chojnacka, K. (2010). Biosorption and bioaccumulation. **Environmental International**. 36: 299 – 307.
- Crist, R.H., Oberholser, K., McGarrity, J., Crist, D.R., Johnson, J.K., and Brittsan, J.M. (1992). Interaction of metals and protons with algae. **Environmental Science and Technology**. 26: 469-502.
- Davis, T.A., Volesky, B., and Mucci, A. (2003). A review of biochemistry of heavy metal biosorption by brown algae. **Water research**. 37: 4311-4330.

- Das, N., Karthika, P., Vimala, R., and Vinodhini, V. (2008). Use of natural products as biosorbent of heavy metals: An overview. **Natural Product Radiance**. 7: 133-138.
- Donmez, G., and Aksu, Z. (2002). Removal of chromium (VI) from saline wastewater by *Dunaliella species*. **Process Biochemistry**. 38: 751-762.
- Duddridge, J.E., and Wainwright, M. (1980). Heavy-metal accumulation by aquatic fungi and reduction in viability of gammarus-pulex fed Cd²⁺ contaminated mycelia. **Water Research**. 14: 1605-1611.
- Eduardo, V., and Helena, M.V.M. (2013). Clean up of industrial effluents containing heavy metals: a new opportunity of valorizing the biomass produced by brewing industry. **Applied Microbiology and biotechnology**. 97: 6667-6675.
- Gadd, M.G., White, C., and Derome, L. (1998). *Biohydrometallurgy*. n.p.: UK.
- Gupta, V.K., and Rastogi, A. (2008). Biosorption of lead from aqueous solutions by green algae *Spirogyra species*: kinetics and equilibrium studies. **Journal of Hazardous Materials**. 152: 407-411.
- Hart, B.A., Bertram, P.E., and Scaife, B.D. (1979). Cadmium transport by *Chlorella pyrenoidosa*. **Environmental Research**. 18: 327-335.
- Ho, Y.S., and McKay, G. (1999). The sorption of lead (II) ions on peat. **Water research**. 33: 578-584.
- Incharoensakdi, A., and Kitjahan, P. (2002). Zinc biosorption from aqueous solution by a tolerant cyanobacterium *Aphanothece halophytica*. **Current Microbiology**. 45: 261-264.
- Katsuya, K., Hoaki, K., Sunada, H., Prasad D.R., and Baba, Y. (2007). Removal characteristics of metal ions using degreased coffee beans: Adsorption equilibrium of cadmium (II). **Bioresource Technology**. 98: 2787-2791.
- Kumita, M., Hossain M.A., Michigami, Y., Mori, S. (2005). Optimization of parameters for Cr (VI) adsorption on used black tea leaves. **Adsorption**. 11: 561-568.
- Iyer, A., and Jha, B. (2005). Biosorption of heavy metals by a marine bacterium. **Marine Pollution Bulletin**. 50: 340-343.
- Liu, H.L., Chen, B.Y., Lan, Y.W., and Cheng, Y.C. (2004). Biosorption of Zn (II) and Cu (II) by the indigenous *Thiobacillus thiooxidans*. **Chemical Engineering Journal**. 97: 195-201.

- Lu, W. B., Shi, J.J., Wang, C.H., and Chang, J.S. (2006). Biosorption of lead, copper and cadmium by an indigenous isolate *Enterobacter* sp. J1 possessing high heavy-metal resistance. **Journal of Hazardous Materials**. 134: 80–86.
- Macka, W., Wihlidal, H., Stehlik, G., Washuttl, J., and Bancher, E. (1979). Uptake of Hg^{++} and Cd^{++} by *Chamydomonas reinhardi* under various conditions. **Chemosphere**. 8: 787-796.
- Madacha, V. (2006). Kinetics of biosorption of heavy metals by *Caulerpa lentillifera*. **Master's thesis, Chulalongkorn University**.
- Malik, A. (2004). Metal bioremediation through growing cell. **Environment International**. 30: 261-278
- Malik, U.R., Hasany, S.M., and Sabhani, M.S. (2005). Sorptive potential of sunflower stem for Cr (III) ions from aqueous solution and its kinetic and thermodynamic profile. **Talanta**. 66: 166-173.
- Mameri, N., Boudries, N., Addour, L., Belhocine, D., Lounici, H., Grib, H., and Paus, A. (1999). Batch zinc biosorption by a bacterial nonliving *Streptomyces rimosus* biomass. **Water Research**. 33: 1347–1354.
- Mattuschka, B., Junghaus, K., and Straube, G., (1993). Biosorption of metal by waste biomass, in Biohydrometallurgical Technologies. **Proceeding of the international biohydrometallurgical symposium, The mineral Metal and Materials Society**. Warrendale, PA.
- Meunier, N., Laroulandie, J., Blais, F., and Tyagi, R.D. (2003). Cocoa shells for heavy metal removal from acidic solutions. **Bioresource Technology**. 90: 255-263.
- Mohamad, O.A., Hao, X., Xie, P., Hatab, S., Lin, Y., and Wei, G. (2012). Biosorption of copper (II) from aqueous solution using non-living *Mesorhizobium amorphae* strain CCNWGS0123. **Microbe and Environments**. 27: 234-241.
- Naja, G., and Volesky, B. (2006). Multi-metal biosorption in a fixed bed flow-through column. *Colloids and Surfaces A. Physicochemical and Engineering Aspects*. 281: 194-201.
- Nakajima, A., Yasuda, M., Yokoyama, H., Ohya-Nishiguchi, H., and Kamada, H. (2001). Copper biosorption by chemically treated *Micrococcus luteus* cells. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**. 17: 343–347.

- Nakajima, A., and Tsuruta, T. (2004). Competitive biosorption of thorium and uranium by *Micrococcus luteus*. **Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry**. 260: 13-18.
- Niu, H., Xu, X.S., and Wang, J.H. (1993). Removal of lead from aqueous solution by penicillium biomass. **Biotechnology and Bioengineering**. 42: 785-787.
- Noisangiam, R., Nuntaj, A., Pongsilp, N., Boonkerd, N., Denduangboripant, J., Ronson, C., and Teaumroong, N. (2010). Heavy metal tolerant *Metalliresistens boonkerdii* gen. nov., sp. Nov., a new genus in the family *Bradyrhizobiaceae* isolated from soil in Thailand. **Systematic and Applied Microbiology**. 33: 374-382.
- Ofomaja, A.E., and Ho, Y.S. (2006). Effect of pH on cadmium biosorption by coconut copra metal. **Journal of Hazardous Materials**. 139: 356-362.
- Ozdemir, o., Armagan, B., Turan, M., and Celik, M.S. (2004). Comparison of the adsorption characteristics of azo-reactive dyes on mesoporous minerals. **Dyes Pigments**. 62: 49-60.
- Öztürk, A., Artan, T., and Ayar, A. (2004). Biosorption of nickel(II) and copper(II) ions from aqueous solution by *Streptomyces coelicolor* A3(2). **Colloids and Surfaces B. Biointerfaces**. 34: 105–111.
- Papageorgiou, S.K., Katsaros, F.K., Kouvelos, E.P., and Kanellopoulos, N.K. (2009). Prediction of binary adsorption isotherms of Cu^{2+} , Cd^{2+} , and Pb^{2+} on calcium alginate beads from single adsorption data. **Journal of Hazardous Materials**. 162: 1347-1354.
- Parameswari, E., Lakshmanan, A., and Thilagavathi, T. (2009). Biosorption of chromium (VI) and nickel (II) by bacterial isolates from an aqueous solution. **Electronic Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry**. 8: 150-156.
- Pardo, R., Herguedas, M., Barrado, E., and Vega, M. (2003). Biosorption of cadmium, copper, lead and zinc by inactive biomass of *Pseudomonas putida*. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**. 376: 26–32.
- Puranik, P.R., and Paknikar, K.M. (1997). Biosorption of lead and zinc from solutions using *Streptoverticillium cinnamoneum* waste biomass. **Journal of Biotechnology**. 55: 113–124.
- Ruiz-Manriquez, A., Magana, P.I., López, V., and Guzmán, R. (1997). Biosorption of Cu by *Thiobacillus ferrooxidans*. **Bioprocess Engineering**. 18: 113–118.

- Saeed, A., Akhtar, M.W., and Iqbal, M. (2005). Removal and recovery of heavy metals from aqueous solution using papaya wood as a new biosorbent. **Separation and Purification Technology**. 45: 25-31.
- Saeed, A., Akhtar, M.W., and Iqbal, M. (2005). Removal and recovery of lead (II) from single and multiple (Cd, Cu, Ni, Zn) solution by crop milling waste (black gram husk). **Journal of Hazardous Materials**. 117: 65-73.
- Savvaidis, I., Hughes, M.N., and Poole, R.K. (2003). Copper biosorption by *Pseudomonas cepacia* and other strains. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**. 19: 117–121.
- Schiewer, S., and Volesky, B. (2000). **Environmental Microbe-Metal Interactions**. New York: ASM Press.
- Selatnia, A., Bakhti, M.Z., Madani, A., Kertous, L., and Mansouri, Y. (2004). Biosorption of Cd²⁺ from aqueous solution by a NaOH-treated bacterial dead *Streptomyces rimosus* biomass. **Hydrometallurgy**. 74: 11-24.
- Senthilkumar, S., Bharathi, S., Nithyanandhi, D., and Subburam, V. (2000). Biosorption of toxic heavy metals from aqueous solution. **Bioresource Technology**. 75: 163-165.
- Sherbert, G. V. (1978). **The biophysical characterization of the cell surface**. Academic Press. London.
- Sivaprakash, A., Aravindhana, R., Raghavarao, J., and Unnair, B. (2007). Kinetics and equilibrium studies on the biosorption of hexavalent chromium from aqueous solutions using *Bacillus subtilis* biomass. **Applied Ecology and Environmental Research**. 7: 45-57.
- Tangaromsuk, J., Pokethitayook, P., and Kruatrachue, M. (2002). Cadmium biosorption by *Sphingomonas paucimobilis* biomass. **Bioresource Technology**. 85: 103-105.
- Tobin, J.M., Copper, D.G., and Neufeld, R.J. (1984). Uptake of metal ions by *Rhizopus arrhizus* biomass. **Applied and Environmental Microbiology**. 47: 821–824.
- Tunali, S., Cabuk, A., and Akar, T. (2006). Removal of lead and copper ions from aqueous solutions by bacterial strain isolated from soil. **Chemical Engineering Journal**. 115: 203-211.
- Tsezos, M., and Volesky, B. (1981). Biosorption of uranium and thorium. **Biotechnology and Bioengineering**. 23: 583-604.

- Uslu, G., and Tanyol, M. (2006). Equilibrium and thermodynamic parameters of single and binary mixture biosorption of lead (II) and copper (II) ions onto *Pseudomonas putida*: effect of temperature. **Journal of Hazardous Materials**. 135: 87–93.
- Veglio, F., and Beolchini, F. (1997). Removal of metals by biosorption: a review. **Hydrometallurgy**. 44: 301-316
- Vijayaraghavan, K., Palanivelu, K., and Velan, M. (2006). Biosorption of copper (II) and cobalt (II) from aqueous solution by crab shell particle. **Journal of Hazardous Materials**. 97: 1411-1419.
- Vijayaraghavan, K., and Yun, Y.S. (2008). Bacterial biosorbents and biosorption. **Biotechnology Advances**. 26: 266-291.
- Volesky, B. (1987). Biosorbents for metal recovery. **TIBTICH**. 5: 96-101.
- Volesky, B., and Holan, Z.R. (1995). Biosorption of heavy metals. **Biotechnology Progress**. 11: 235-250.
- Volesky, B., and Schiewer, S. (1999). **Biosorption of metals**. Wiley. New York.
- Volesky, B. (2001). Detoxification of metal-bearing effluents: biosorption for next century. **Hydrometallurgy**. 59: 203-216.
- Volesky, B. (2007). Biosorption and me. **Water Research**. 41: 4017-4029.
- Weber, W.J.Jr. (1985). **Adsorption theory, concept, and models**. In: Slejko, F.L. (Ed.), **adsorption technology: A step-by-step approach to process evaluation and application**. Marcel Dekker. New York.
- Wong, P.T.S., Chau, Y.K., and Luxon, P.L. (1978). Toxicity of a mixture of metals on freshwater algae. **Journal of Fisheries Research Board of Canada**. 35: 479-481.

บทที่ 3

อิทธิพลของปัจจัยต่างๆที่มีผลต่อกระบวนการดูดซับทางชีวภาพ

3.1 บทคัดย่อ

ทำการศึกษาอิทธิพลของปัจจัยต่างๆที่มีผลต่อการดูดซับโลหะทองแดง และสังกะสีด้วย *R.boonkerdii* sp. nov. strain NS20 และ *Bradyrhizobium* sp. strain DOA9 ทั้งในรูปของเซลล์มีชีวิต และเซลล์ตาย ตัวแปรที่ศึกษาได้แก่ 1) อิทธิพลของการใช้วัสดุดูดซับในปริมาตรที่ต่างกัน 2) การใช้เวลาการดูดซับต่างกัน 3) การดูดซับในสารละลายโลหะหนักที่มีความเข้มข้นของโลหะหนักต่างกัน และ 4) การดูดซับในสารละลายโลหะหนักที่มีค่า pH ต่างกัน สำหรับการใส่เซลล์มีชีวิตเป็นวัสดุดูดซับ ได้ศึกษากระบวนการดูดซับโดยใช้เซลล์เริ่มต้น 1 5 และ 10% ใช้เวลาในการดูดซับนาน 48 96 และ 144 ชั่วโมง ความเข้มข้นเริ่มต้นของสารละลาย $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ และ $\text{ZnSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ เท่ากับ 250 และ 500 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ส่วนการใช้วัสดุดูดซับในลักษณะของเซลล์ตายนั้น ได้ศึกษาการใช้ปริมาณเซลล์เริ่มต้นต่างกันที่สัดส่วน 2 และ 4 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ โดยใช้เวลาการดูดซับที่ 5 10 30 60 720 และ 1440 นาที ใช้ความเข้มข้นของสารละลายโลหะหนักเช่นเดียวกับการทดสอบด้วยเซลล์มีชีวิต แต่ได้มีการศึกษาผลของค่า pH ของสารละลายโลหะหนักที่ต่างกันด้วย โดยกำหนด pH ที่ 4 5.5 และ 7

ผลการทดสอบด้วยเซลล์มีชีวิต พบว่าสภาวะที่กระบวนการดูดซับมีประสิทธิภาพสูงที่สุดคือ การใช้ปริมาณเซลล์เริ่มต้น 10% เป็นวัสดุดูดซับในสารละลายโลหะหนักที่มีความเข้มข้นของสารประกอบโลหะเท่ากับ 250 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ โดยสมมูลการดูดซับเกิดขึ้นภายในเวลา 96 ชั่วโมงสำหรับ *R. boonkerdii* sp. nov. strain NS20 และ 48 ชั่วโมงสำหรับ *Bradyrhizobium* sp. strain DOA9 ส่วนการใช้เซลล์ตายเป็นวัสดุดูดซับ พบว่าปริมาณโลหะหนักที่ถูกดูดซับได้สูงสุดต่อหน่วยน้ำหนักของวัสดุดูดซับ เกิดขึ้นจากการใช้ปริมาณเซลล์สัดส่วน 2 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ และความเข้มข้นของสารละลายสารประกอบโลหะเท่ากับ 500 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ และค่า pH เท่ากับ 7 โดยเกิดสมมูลการดูดซับภายในเวลา 30 นาที ทั้งนี้การใช้ *R. boonkerdii* sp. nov. strain NS20 เป็นวัสดุดูดซับโลหะทองแดงให้ผลการดูดซับที่ดีที่สุด โดยสามารถกำจัดปริมาณทองแดงได้ประมาณ 80% ภายในเวลา 12 ชั่วโมง

3.2 บทนำ

กระบวนการดูดซับทางชีวภาพเป็นกลไกที่ซับซ้อน และขึ้นอยู่กับปัจจัยทางกายภาพและทางเคมีของวัสดุดูดซับ และสารละลายของเหลวที่เกี่ยวข้อง ปัจจัยภายนอกที่ต่างกันส่งผลให้ประสิทธิภาพในการดูดซับโลหะหนักของมวลชีวภาพแตกต่างกัน ตัวแปรหลักที่มีผลต่อกระบวนการดูดซับทางชีวภาพ ได้แก่

3.2.1 ความเป็นกรด-ด่างของสารละลายโลหะหนัก หรือค่า pH ของสารละลายโลหะหนักเป็นตัวแปรที่มีความสำคัญมากที่สุดต่อกระบวนการดูดซับ ค่า pH ส่งผลต่อสมบัติทางเคมีของโลหะหนักในสารละลาย โดยที่ค่า pH ของสารละลายโลหะหนักค่าหนึ่งอาจทำให้โลหะหนักเกิดเป็นสารประกอบที่ไม่ละลายน้ำได้ นอกจากนี้ค่า pH ยังมีผลความสามารถในการยึดติดของกลุ่มฟังก์ชันบนผิวของวัสดุดูดซับ (Friis และ Myers-Keith, 1986; Galun, 1987)

3.2.2 อุณหภูมิของกระบวนการดูดซับ Veglio และ Beolchini (1997) ได้เสนอไว้ว่าอุณหภูมิมีผลต่อกระบวนการดูดซับเพียงเล็กน้อยในช่วงอุณหภูมิ 20-35°C อุณหภูมิที่สูงขึ้นจะช่วยเพิ่มความสามารถในการดูดซับ เนื่องจากการเพิ่มประสิทธิภาพการดูดซับของผิวมวลชีวภาพ และเพิ่มพลังงานจลน์ให้กับไอออนของโลหะหนัก (Sag และ Kutsal, 1989) แต่อย่างไรก็ตามหากอุณหภูมิสูงเกินไป อาจมีผลทำให้มวลชีวภาพเสียหาย หรือเซลล์เสียชีวิตได้ หากใช้เซลล์มีชีวิตเป็นวัสดุดูดซับ

3.2.3 ผลของเซลล์มีชีวิตและเซลล์ตาย การสะสมโลหะหนักของเซลล์มีชีวิตเกิดจากกระบวนการดูดซับทางกายภาพ-เคมี และชีวภาพ ส่วนการสะสมโลหะหนักของเซลล์ไม่มีชีวิตเกิดจากกระบวนการทางกายภาพ-เคมีเพียงอย่างเดียว ด้วยเหตุนี้ทำให้กลไกของการดูดซับโลหะหนักระหว่างเซลล์มีชีวิต และเซลล์ตายแตกต่างกัน ตารางที่ 3.1 ได้แสดงข้อแตกต่างระหว่างการดูดซับโดยใช้เซลล์มีชีวิตและเซลล์ตาย

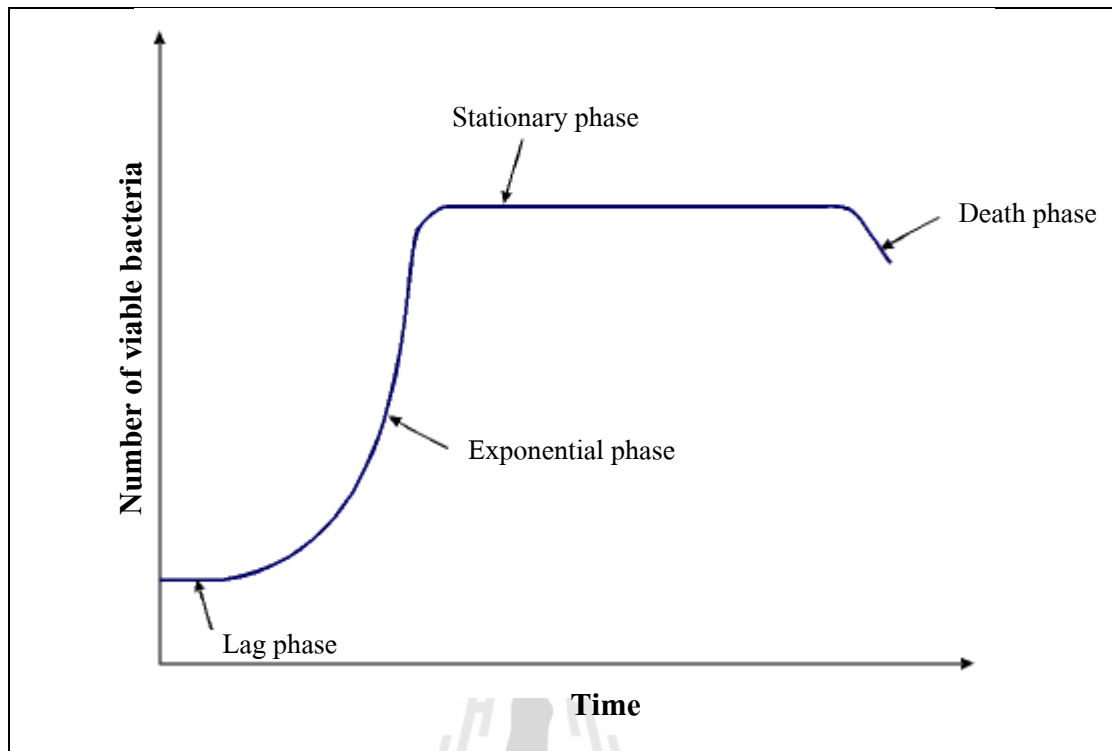
ตารางที่ 3.1 แสดงข้อแตกต่างการหว่างกระบวนการดูดซับด้วยเซลล์มีชีวิตและเซลล์ตาย
(Chojnacka, 2010)

กระบวนการดูดซับด้วยเซลล์มีชีวิต	กระบวนการดูดซับด้วยเซลล์ตาย
Active process	Passive process
Metals are bound with cellular surface and interior	Metal are bound with cellular surface
Absorption	Adsorption
The rate is slow	The rate is quick
Controlled by metabolism	Not controlled by metabolism
Danger of toxic effects caused by contaminant	No danger of toxic effect
Cellular growth occurs	No cellular growth

สำหรับการใช้เซลล์ที่มีชีวิตเป็นวัสดุดูดซับนั้น ปัจจัยหนึ่งที่มีความสำคัญคืออัตราการโตของเซลล์ภายใต้สภาวะของสารละลายที่มีโลหะหนักเจือปน การเพิ่มจำนวนของเซลล์หมายถึงการเพิ่มปริมาณพื้นที่ผิวของวัสดุดูดซับ แต่อย่างไรก็ตาม โลหะหนักอาจส่งผลกระทบต่อความสามารถในการเพิ่มจำนวนเซลล์ นั่นคือหากในสารละลายมีความเข้มข้นของโลหะหนักสูงเกินกว่าปริมาณที่เซลล์ต้องการสำหรับการดำรงชีวิต โลหะหนักอาจส่งผลเป็นพิษต่อเซลล์ ทำให้มีการเพิ่มจำนวนในปริมาณที่น้อยลง

โดยปกติเมื่อนำแบคทีเรียใส่อาหารเลี้ยงเชื้อ เซลล์จะเกิดการแบ่งตัว และเพิ่มจำนวนขึ้น การเจริญเติบโตของแบคทีเรียสามารถแบ่งได้เป็น 4 ระยะ ดังแสดงในรูปที่ 3.1

Lag phase เป็นระยะที่แบคทีเรียกำลังปรับตัวให้เข้ากับสิ่งแวดล้อมใหม่ภายหลังจากใส่แบคทีเรียลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ จำนวนแบคทีเรียยังไม่เพิ่มขึ้นเนื่องจากยังไม่เกิดการแบ่งเซลล์ แต่ขนาดของเซลล์จะเพิ่มขึ้น ส่วนใหญ่เป็นการเพิ่มความยาว ตอนปลายของระยะนี้ แบคทีเรียจะเริ่มแบ่งตัว แต่เนื่องจากแบคทีเรียทุกตัวไม่ได้แบ่งตัวพร้อมกัน ดังนั้นจำนวนประชากรจะค่อยๆเพิ่มขึ้น



รูปที่ 3.1 ช่วงระยะการเจริญของแบคทีเรีย

Exponential phase หรือระยะ Log phase เป็นระยะที่แบคทีเรียแบ่งตัวอย่างรวดเร็วในอัตราคงที่ การแบ่งเซลล์แต่ละครั้งจะใช้เวลาเท่าๆกัน ระยะนี้อัตราการเพิ่มจำนวนเซลล์มากที่สุด สารอาหารถูกนำไปใช้อย่างมากและรวดเร็ว จำนวนแบคทีเรียเพิ่มขึ้นอย่างทวีคูณ จึงทำให้ลักษณะของ curve เป็น exponential

Stationary phase เป็นระยะที่แบคทีเรียมีจำนวนสูงสุดและคงที่ ไม่มีการเพิ่มจำนวนอีก หรืออัตราการแบ่งตัวเท่ากับอัตราการตาย การที่แบคทีเรียเจริญเติบโตแล้วเข้าสู่ระยะ Stationary นี้เพราะอาหารเลี้ยงเชื้อใกล้หมดลง แบคทีเรียจึงเจริญช้าลง

Death phase เป็นระยะสุดท้าย แบคทีเรียที่มีอยู่จะตายลงมากกว่าแบคทีเรียที่เพิ่มจำนวนขึ้น ทั้งนี้เป็นเพราะแหล่งอาหารถูกใช้หมดไป และมีสารพิษสะสมที่เกิดจากกระบวนการเมตาบอลิซึมอยู่เป็นจำนวนมาก

3.2.4 ผลของไอออนโลหะชนิดอื่นที่อยู่ร่วมกัน การดูดซับไอออนโลหะหนักในสารละลายที่มีไอออนโลหะหนักตั้งแต่สองชนิดขึ้นไปอยู่ร่วมกัน อาจแสดงผลในทางเสริมฤทธิ์ (Synergistic) หรือยับยั้งฤทธิ์ (Antagonist) แต่ผลที่เป็นไปได้มากที่สุดคือ การยับยั้งฤทธิ์ (มีผลในลักษณะที่ด้อยกว่าโลหะเพียงชนิดเดียว) ซึ่งเกิดจากการแข่งขันกันจับกับพื้นที่บนกลุ่มฟังก์ชันของผิวเซลล์ หรือ

การลำเลียงผ่านเชื้อหุ้มเซลล์ของไอออนโลหะหนัก อิทธิพลของการเจือปน ไอออนอื่น ได้อธิบายอย่างละเอียดในบทที่ 7

3.2.5 ผลของความเข้มข้นของสารละลายโลหะหนัก ความเข้มข้นของโลหะหนักในสารละลายอาจมีผลต่อกระบวนการแบ่งเซลล์ของมวลชีวภาพ โลหะหนักบางชนิดแสดงผลที่เป็นพิษต่อเซลล์แบคทีเรีย จึงยับยั้งการโตของเซลล์ ด้วยเหตุนี้การใช้วัสดุชีวมวลที่มีชีวิตเป็นวัสดุดูดซับจึงต้องพิจารณาถึงความสามารถของวัสดุชีวมวลดังกล่าวว่าสามารถทน และเจริญได้ในสารละลายของโลหะหนักที่ต้องการกำจัดหรือไม่ ส่วนการใช้เซลล์ตายเป็นวัสดุดูดซับนั้น ความเข้มข้นของสารละลายโลหะหนักอาจจะไม่ส่งผลต่อคุณสมบัติของวัสดุดูดซับ แต่มีผลต่อความสามารถในการดูดซับของวัสดุดูดซับ

ในการวิจัยนี้ได้ศึกษาปัจจัยต่างๆเหล่านี้ที่มีผลต่อการดูดซับโลหะทองแดง และโลหะสังกะสีด้วย *R. boonkerdii* sp. nov. strain NS20 และ *Bradyrhizobium* sp. strain DOA9 แต่ทั้งนี้ไม่ได้รวมเอาปัจจัยทางด้านอุณหภูมิของกระบวนการดูดซับมาศึกษา เนื่องจากอุณหภูมิไม่ส่งผลต่อประสิทธิภาพในการดูดซับมากนัก อีกทั้งในกระบวนการดูดซับจริงนั้น การควบคุมอุณหภูมิในการดูดซับถือเป็นการสิ้นเปลืองพลังงาน ซึ่งเมื่อเทียบกับประสิทธิภาพในการดูดซับแล้วอาจจะไม่คุ้มค่าในเชิงของประสิทธิภาพของกระบวนการ การทดลองนี้จึงเลือกศึกษาที่อุณหภูมิห้อง แต่อย่างไรก็ตามมีงานวิจัยทางการดูดซับโลหะหนักหลายงานที่ได้ศึกษาถึงอิทธิพลของอุณหภูมิ (Yao, Z. Y. และคณะ, 2010; Ho, Y. S. และคณะ, 1999; Bhattacharya A. K. และคณะ, 2006) ผลการทดลองที่ได้ นั้นอาจมีแนวโน้มที่ต่างกันบ้าง ซึ่งขึ้นกับชนิดของวัสดุดูดซับและชนิดของสารละลายโลหะหนัก แต่ผลการทดลองส่วนใหญ่ชี้ให้เห็นไปในทิศทางเดียวกันคือ ประสิทธิภาพในการดูดซับโลหะหนักด้วยวัสดุดูดซับทางชีวภาพเปลี่ยนแปลงเพียงเล็กน้อยในช่วงอุณหภูมิ 20-40°C แต่การทดสอบการดูดซับที่อุณหภูมิต่างกันทำให้สามารถอธิบายกลไกทางด้านอุณหพลศาสตร์ได้ เช่นการดูด หรือคายความร้อน ปริมาณความร้อนที่เกิดขึ้นหรือสูญเสียจากกระบวนการดูดซับ ทิศทางของปฏิกิริยาพลังงานอิสระที่ขับเคลื่อนการดูดซับ ดังได้แสดงในบทที่ 5 ส่วนผลของไอออนอื่นที่มีต่อกระบวนการดูดซับได้ยกไปศึกษาในบทที่ 7 ซึ่งเป็นการศึกษาการดูดซับโดยใช้น้ำเสียจริงจากโรงงานอุตสาหกรรมที่มีไอออนของโลหะมากกว่า 1 ชนิดละลายอยู่ นอกจากนี้ยังมีปัจจัยอื่นๆที่มีผลต่อกระบวนการดูดซับแต่ไม่ได้ทำการศึกษาในครั้งนี้ เช่น ความดันในกระบวนการดูดซับ ความเร็วรอบในการเขย่าเพื่อให้วัสดุดูดซับ และไอออนของโลหะเกิดการสัมผัสกัน ผลของขนาดและรูปร่างของวัสดุดูดซับ ผลของวิธีการเตรียมวัสดุดูดซับ ผลของการเจือปนไอออนอื่นๆในสารละลายโลหะหนัก โดยอิทธิพลของปัจจัยที่กล่าวมานั้นอาจต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมเพื่อให้เข้าใจพฤติกรรมของการดูดซับได้ละเอียดมากขึ้น

3.3 วิธีการดำเนินงานวิจัย

3.3.1 กระบวนการดูดซับด้วยเซลล์มีชีวิต

3.3.1.1 การเตรียมวัสดุชีวมวล

แบคทีเรียทั้งสองสายพันธุ์จะถูกเตรียมโดยการคัดแยกโคโลนีจากจานเลี้ยงเชื้อใส่ในอาหารเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียแบบเหลว VN สำหรับ *R. boonkerdii* sp. nov. strain NS20 และ HM สำหรับ *Bradyrhizobium* sp. strain DOA9 โดยมีปริมาณอาหารเหลว 10 mL บรรจุในหลอดทดลองขนาด 50 mL จากนั้นนำไปปั่นที่อุณหภูมิ 28°C บนเครื่องเขย่าที่ความเร็วรอบ 125 rpm เป็นเวลา 5 วัน (รายละเอียดของอาหารเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียแสดงไว้ในภาคผนวก ก)1

3.3.1.2 การเตรียมสารละลายโลหะหนัก

สารละลายโลหะหนักที่ใช้ในการทดสอบเตรียมจากการละลายสารประกอบ $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ และ $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ในอาหารเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียแบบเหลว โดยเตรียมความเข้มข้นของสารประกอบโลหะหนักที่ 250 และ 500 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$

3.3.1.3 การศึกษากระบวนการดูดซับด้วยปริมาณเซลล์เริ่มต้นต่างกัน

สารละลายโลหะหนักที่มีความเข้มข้นของสารประกอบโลหะหนัก 250 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ และ pH 7 ถูกบรรจุลงในหลอดทดลองขนาด 50 mL ด้วยปริมาตร 10 mL หลังจากนั้นนำเซลล์แบคทีเรียที่มีชีวิตจากเซลล์เริ่มต้นที่เตรียมไว้ใส่ลงในหลอดทดลองด้วยปริมาตร 1% (0.1 mL), 5% (0.5 mL) และ 10% (1.0 mL) ของปริมาตรสารละลายโลหะหนัก จากนั้นทำการเพาะเลี้ยงเชื้อบนเครื่องเขย่าที่อุณหภูมิ 28°C ด้วยความเร็ว 125 รอบต่อนาที เป็นเวลา 144 ชั่วโมง แล้วแยกเซลล์ออกจากสารละลายโดยการกรองด้วยเยื่อกรองขนาดรูพรุน 0.45 μm นำสารละลายที่ผ่านการกรองไปวัดปริมาณโลหะหนักต่อไป

3.3.1.4 การศึกษากระบวนการดูดซับด้วยระยะเวลาการดูดซับต่างกัน

ปริมาตรเซลล์ 5% ของสารละลายโลหะหนัก (0.5 mL) ถูกใส่ลงในสารละลายโลหะหนักปริมาตร 10 mL ที่บรรจุอยู่ในหลอดทดลองขนาด 50 mL โดยมีความเข้มข้นของสารประกอบโลหะหนัก 250 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ และ pH 7 จากนั้นทำการเพาะเลี้ยงเชื้อบนเครื่องเขย่าที่อุณหภูมิ 28°C ด้วยความเร็ว 125 รอบต่อนาที เป็นเวลา 48 96 และ 144 ชั่วโมง

3.3.1.5 การศึกษากระบวนการดูดซับที่ความเข้มข้นของโลหะหนักในสารละลายต่างกัน

ปริมาตรเซลล์ขนาด 5% ของสารละลายโลหะหนัก (0.5 mL) ถูกใส่ลงในสารละลายโลหะหนักปริมาตร 10 mL ที่มีความเข้มข้นของสารประกอบ $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ และ

ZnSO₄·7H₂O ที่ 250 และ 500 mg·L⁻¹ และ pH 7 จากนั้นทำการเพาะเลี้ยงเชื้อบนเครื่องเขย่าที่อุณหภูมิ 28°C ด้วยความเร็ว 125 รอบต่อนาที เป็นเวลา 144 ชั่วโมง

3.3.1.6 การวัดอัตราการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย

สำหรับกระบวนการดูดซับด้วยเซลล์แบคทีเรียที่มีชีวิต ศึกษาโดยการวัดอัตราการเจริญของเซลล์ทุกๆ 24 ชั่วโมง จนกระทั่งครบ 168 ชั่วโมงด้วยเทคนิคการวัดความขุ่น (optical density method หรือ turbidity method) โดยใช้ความยาวคลื่นแสง 600 nm

3.3.1.7 การนับจำนวนโคโลนี

นับจำนวนโคโลนีของเซลล์แบคทีเรียที่มีชีวิตภายหลังกระบวนการดูดซับ โดยทำการเกลี่ยสารละลายโลหะหนักที่มีเซลล์แบคทีเรียในหลอดทดลองที่ทำการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 6 วัน บนอาหารเลี้ยงเชื้อแบบแข็ง หลังจากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 28 °C เป็นเวลา 5 วัน แล้วจึงนับจำนวนประชากรโคโลนี

3.3.2 กระบวนการดูดซับด้วยเซลล์ตาย

3.3.2.1 การเตรียมวัสดุชีวมวล

แบคทีเรียทั้งสองสายพันธุ์ถูกเตรียมในลักษณะเดียวกับการเตรียมเซลล์มีชีวิต โดยภายหลังจากการบ่มเซลล์แบคทีเรีย ได้นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 4000 rpm เป็นเวลา 20 นาที ที่อุณหภูมิ 4°C เพื่อแยกเซลล์ออกจากของเหลว จากนั้นล้างเซลล์ด้วยน้ำกลั่น 3 ครั้ง อบแห้งที่อุณหภูมิ 80 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วบดให้เป็นผงขนาด 200 mesh สำหรับใช้เป็นวัสดุดูดซับ เซลล์แห้งที่ผ่านการบดเป็นผงจะถูกวัดความชื้นก่อนนำไปเป็นวัสดุดูดซับ

3.3.2.2 การเตรียมสารละลายโลหะหนัก

สารละลายโลหะหนักที่ใช้ในการทดสอบเตรียมจากการละลายสารประกอบ CuSO₄·5H₂O และ ZnSO₄·7H₂O ในน้ำกลั่น โดยเตรียมความเข้มข้นของสารประกอบโลหะหนักที่ 250 และ 500 mg·L⁻¹

3.3.2.3 การศึกษากระบวนการดูดซับด้วยปริมาณเซลล์เริ่มต้นต่างกัน

สารละลายโลหะหนักที่มีความเข้มข้นของสารประกอบโลหะหนัก 250 mg·L⁻¹ และ pH 7 ถูกบรรจุลงในหลอดทดลองขนาด 50 mL ด้วยปริมาตร 10 mL หลังจากนั้นเซลล์ตายสัดส่วน 2 และ 4 g·L⁻¹ ถูกใส่ลงในสารละลายโลหะหนัก เขย่าหลอดทดลองที่อุณหภูมิ 28°C ด้วยความเร็ว 125 รอบต่อนาที เป็นเวลา 144 ชั่วโมง แล้วแยกเซลล์ออกจากสารละลายโดยการกรองด้วยเยื่อกรองขนาดรูพรุน 0.45 μm

3.3.2.4 การศึกษากระบวนการดูดซับที่ระยะเวลาการดูดซับต่างกัน

ปริมาณเซลล์สดส่วน $2 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ ถูกใส่ลงในสารละลายโลหะหนักปริมาตร 10 mL ที่บรรจุอยู่ในหลอดทดลองขนาด 50 mL โดยมีความเข้มข้นของสารประกอบโลหะหนัก $250 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ และ pH 7 จากนั้นเขย่าหลอดทดลองที่อุณหภูมิ 28°C ด้วยความเร็ว 125 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 10 30 60 720 และ 1440 นาที

3.3.2.5 การศึกษากระบวนการดูดซับที่ความเข้มข้นของโลหะหนักในสารละลายต่างกัน

ปริมาณเซลล์สดส่วน $2 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ ถูกใส่ลงในสารละลายโลหะหนักปริมาตร 10 mL ที่มีความเข้มข้นของสารประกอบ $\text{CuSO}_4\cdot 5\text{H}_2\text{O}$ และ $\text{ZnSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$ เท่ากับ 250 และ $500 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ และ pH 7 เขย่าหลอดทดลองที่อุณหภูมิ 28°C ด้วยความเร็ว 125 รอบต่อนาที เป็นเวลา 144 ชั่วโมง

3.3.2.6 การศึกษากระบวนการดูดซับที่ค่า pH ของสารละลายโลหะหนักต่างกัน

ปริมาณเซลล์สดส่วน $2 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ ถูกใส่ลงในสารละลายโลหะหนักปริมาตร 10 mL ที่มีค่า pH ของสารละลายเท่ากับ 4 5.5 และ 7 โดยมีความเข้มข้นของสารประกอบโลหะหนักเท่ากับ $250 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ เขย่าหลอดทดลองที่อุณหภูมิ 28°C ด้วยความเร็ว 125 รอบต่อนาที เป็นเวลา 144 ชั่วโมง

3.3.3 การวัดความเข้มข้นของโลหะหนัก

สารละลายใส่ที่ได้จากการกรองเซลล์แบคทีเรียออกด้วยตัวกรองที่มีขนาดรูพรุน $0.45 \mu\text{m}$ ถูกวัดความเข้มข้นของโลหะหนักด้วย atomic absorption spectrometer (AAS) หลักการทำงานของเครื่องมือวิเคราะห์และการเตรียมตัวอย่างทดสอบอธิบายไว้ในภาคผนวก จ.

3.3.4 การประเมินค่าความสามารถในการดูดซับ

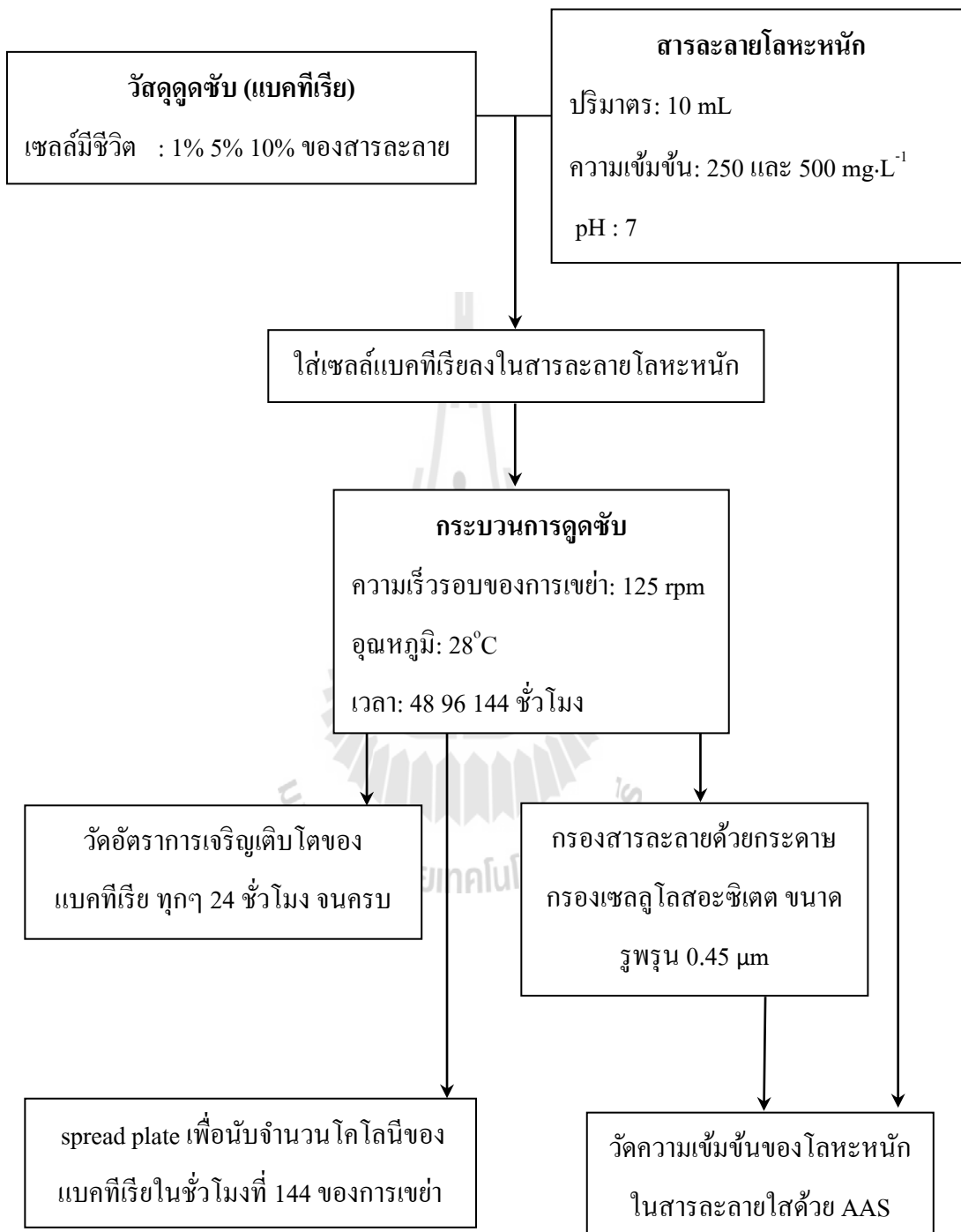
ปริมาณของโลหะหนักที่ถูกดูดซับด้วย *R. boonkerdii sp. nov.* strain NS20 และ *Bradyrhizobium sp.* strain DOA9 หรือวัสดุดูดซับนั้นแสดงในรูปของเปอร์เซ็นต์ของโลหะหนักที่หายไป ดังสมการ

$$\% \text{removal} = \frac{C_o - C_e}{C_o} \times 100 \quad (3.1)$$

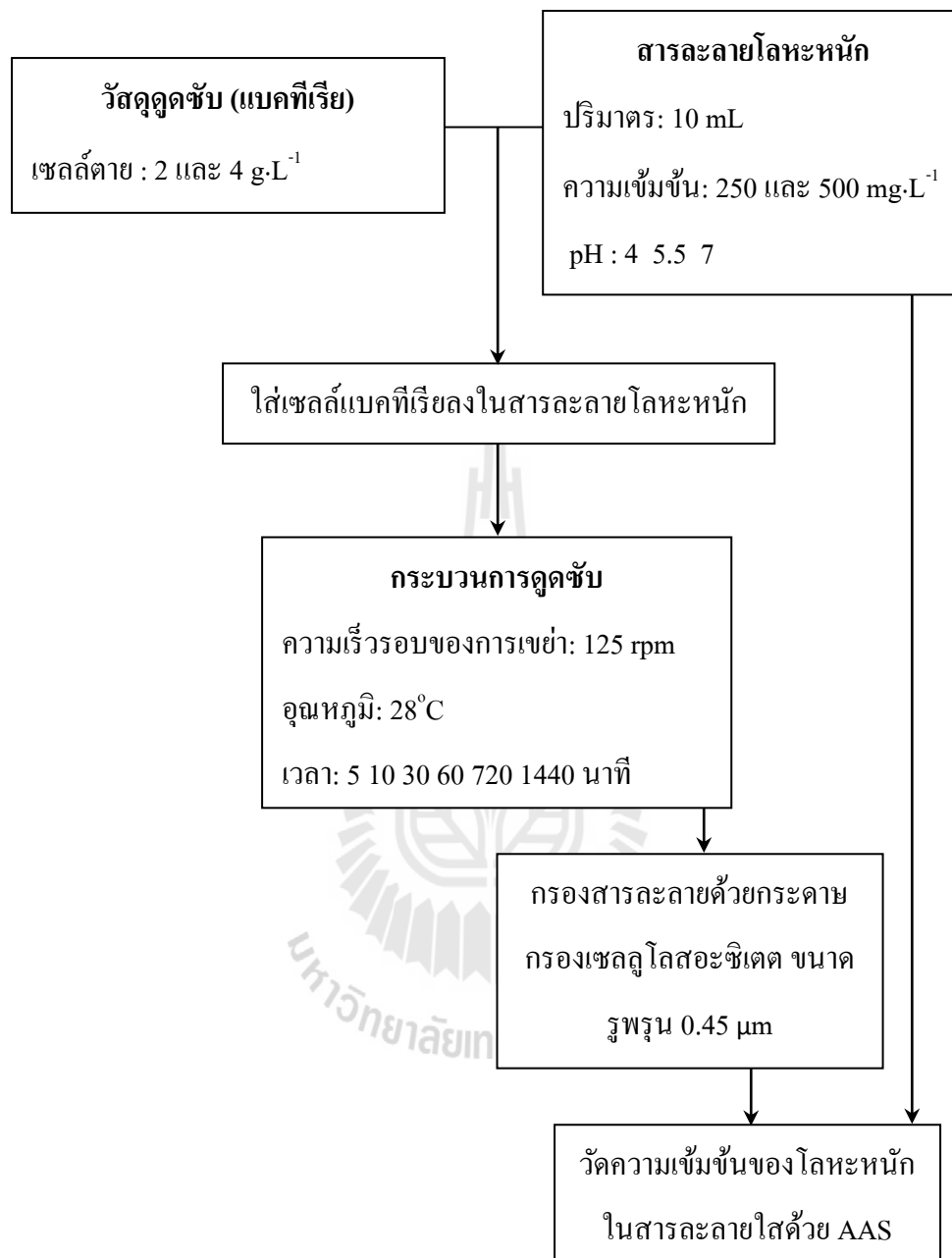
โดยที่ C_o และ C_e คือความเข้มข้นเริ่มต้นและความเข้มข้นที่สมดุลของโลหะหนักตามลำดับ ในส่วนของการดูดซับด้วยเซลล์ตายนั้น มีการประเมินผลของการดูดซับในรูปของปริมาณโลหะหนักที่ถูกดูดซับต่อน้ำหนักของวัสดุดูดซับรวมด้วย โดยจะแสดงผลการคำนวณในรูปของสมการ (4.2)

3.3.5 แผนภาพการดำเนินงานวิจัย

3.3.5.1 แผนภาพกระบวนการดูดซับด้วยเซลล์มีชีวิต



3.3.5.2 แผนภาพกระบวนการดูดซับด้วยเซลล์ตาย



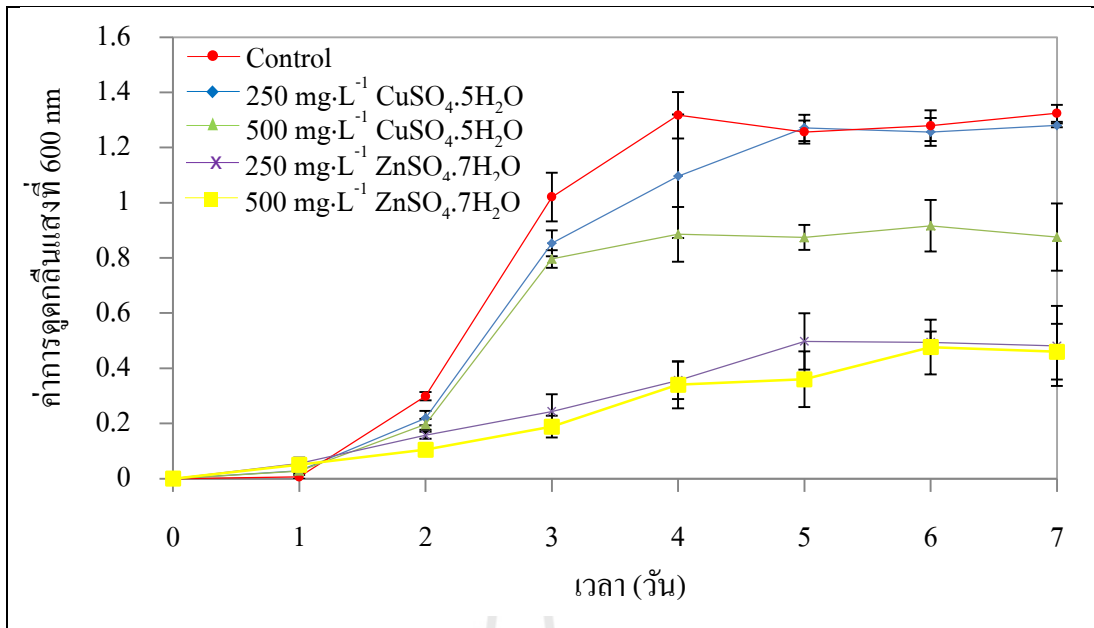
3.4 ผลการทดลองและการอภิปรายผล

3.4.1 กระบวนการดูดซับด้วยเซลล์มีชีวิต

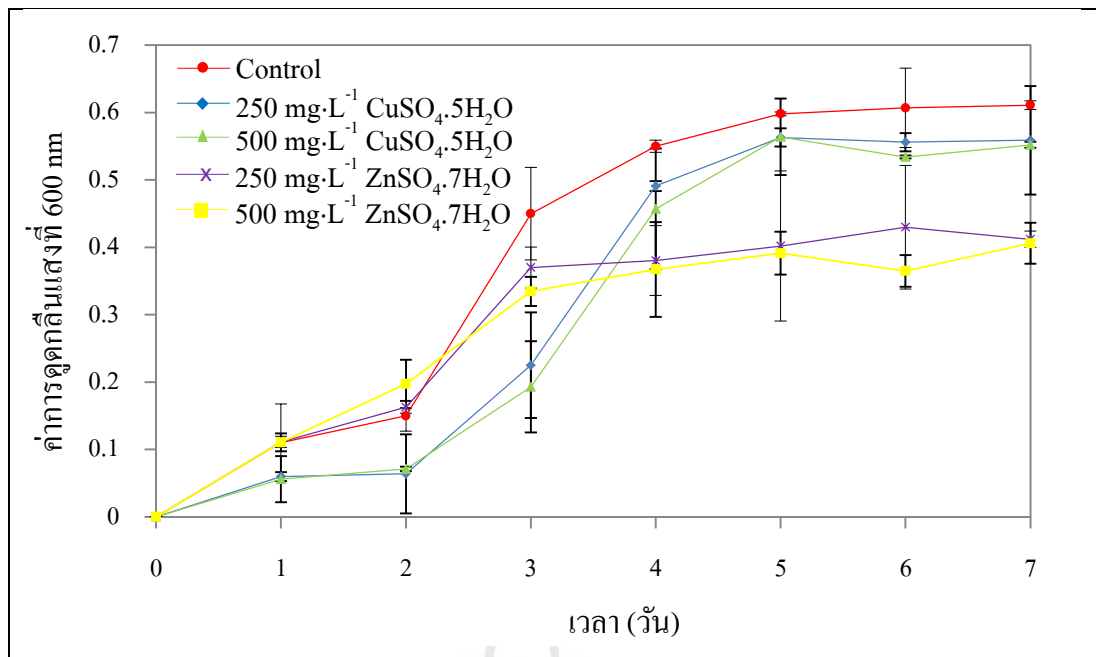
3.4.1.1 ผลของโลหะทองแดงและสังกะสีที่มีต่ออัตราการโตของแบคทีเรีย

แบคทีเรียทั้งสองสายพันธุ์ นั้นคือ *Bradyrhizobium* sp. strain DOA9 และ *R. boonkerdii* sp. nov. strain NS20 สามารถเจริญได้ในสภาวะที่มีไอออนของโลหะทองแดง และสังกะสี ดังแสดงในรูปที่ 3.2 และ 3.3 ตามลำดับ แต่การเจริญของแบคทีเรียทั้งสองสายพันธุ์ดังกล่าวช้ากว่าแบคทีเรียที่โตในสภาวะที่ไม่มีไอออนของโลหะหนัก (control) จากกราฟพบว่าโลหะสังกะสีมีความเป็นพิษต่อเซลล์แบคทีเรียมากกว่าโลหะทองแดง นั่นคือสังกะสีมีผลทำให้แบคทีเรียแบ่งตัวได้ช้าลง เมื่อเปรียบเทียบกับแบคทีเรียที่เติบโตในสภาวะที่มีโลหะทองแดงอยู่ อัตราการเจริญของแบคทีเรียยังขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของโลหะทองแดง และสังกะสีด้วย พบว่าความเข้มข้นของโลหะหนักทั้งสองที่เพิ่มขึ้น มีผลทำให้อัตราการเจริญของแบคทีเรียลดลงเช่นกัน จากการทดลองเพิ่มความเข้มข้นของสารประกอบโลหะหนักจาก $250 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ เป็น $500 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ มีผลทำให้อัตราการเจริญของแบคทีเรียลดลงเล็กน้อย สำหรับ *Bradyrhizobium* sp. strain DOA9 แบคทีเรียมีระยะบ่มตัว (incubation period) เป็นเวลา 1 วัน หลังจากนั้นแบคทีเรียเจริญอย่างรวดเร็วกระทั่งถึงวันที่ 4 และหลังจากนั้นจึงเจริญคงที่จนกระทั่งเข้าสู่สมดุล (stationary phase) ประมาณวันที่ 5 และเช่นเดียวกัน อัตราการเจริญของ *R. boonkerdii* sp. nov. strain NS20 สูงกระทั่งถึงประมาณวันที่ 4 แล้วค่อยเข้าสู่สมดุล ด้วยเหตุดังกล่าวในการทดลองนี้จึงใช้เซลล์แบคทีเรียเริ่มต้นจากเซลล์ที่ทำการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 5 วัน เพื่อให้อยู่ในช่วงสมดุล

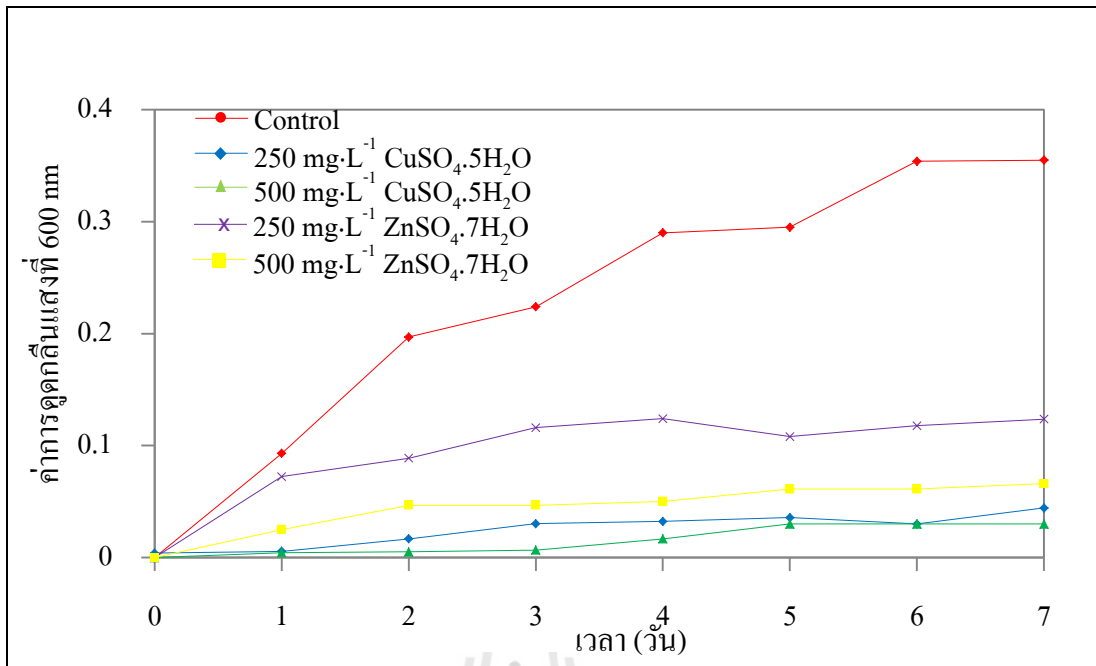
นอกจากนี้ยังได้วัดอัตราการเจริญของแบคทีเรียในสารละลายที่ไม่มีแหล่งอาหารของแบคทีเรีย โดยทำการเตรียมสารละลายที่ไม่มีแหล่งของคาร์บอน และไนโตรเจน ผลการทดสอบพบว่า *Bradyrhizobium* sp. strain DOA9 ยังสามารถโตได้ในสารละลายที่ไม่มีแหล่งอาหาร แต่มีอัตราการเติบโตที่ต่ำ ดังแสดงในรูปที่ 3.4



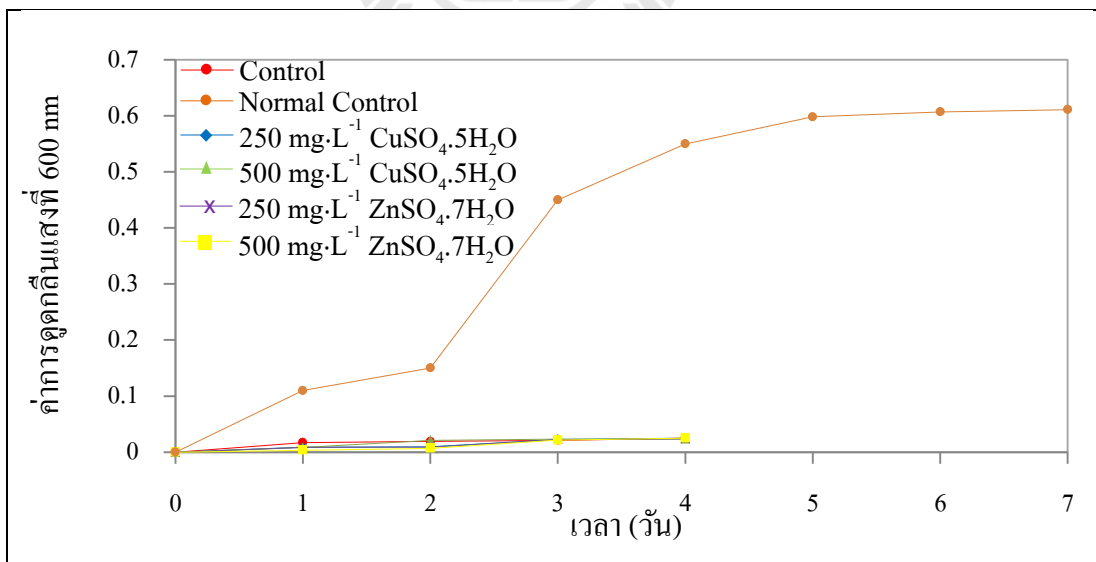
รูปที่ 3.2 แสดงอัตราการเจริญของ *Bradyrhizobium* sp. strain DOA9 ในสารละลายที่ไม่มีโลหะหนัก (control) และสารละลายที่มีความเข้มข้นของ CuSO₄·5H₂O และ ZnSO₄·7H₂O เท่ากับ 250 และ 500 mg·L



รูปที่ 3.3 แสดงอัตราการเจริญของ *R. boonkerdii* sp. nov. strain NS20 ในสารละลายที่ไม่มีโลหะหนัก (control) และสารละลายที่มีความเข้มข้นของ $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ และ $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ เท่ากับ 250 และ $500 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$



รูปที่ 3.4 แสดงอัตราการเจริญของ *Bradyrhizobium* sp. strain DOA9 ในสารละลายที่ไม่มีแหล่งคาร์บอน และไนโตรเจนสำหรับการโตของแบคทีเรีย



รูปที่ 3.5 แสดงอัตราการเจริญของ *R. boonkerdii* sp. nov. strain NS20 ในสารละลายที่ไม่มีแหล่งคาร์บอน และไนโตรเจนสำหรับการโตของแบคทีเรีย

เมื่อในสารละลายมีไอออนของโลหะทองแดง และสังกะสีละลายอยู่ ยังมีผลให้ *Bradyrhizobium* sp. strain DOA9 มีอัตราการโตที่ช้าลง ในทางกลับกัน เซลล์ของ *R. boonkerdii* sp. nov. strain NS20 ไม่พบการเจริญในสารละลายที่ปราศจากแหล่งอาหาร ดังแสดงในรูปที่ 3.5 จากกราฟพบว่า เซลล์แบคทีเรียไม่มีการเจริญเลยเมื่อเทียบกับกราฟการเจริญของแบคทีเรียในสารละลายปกติ (normal control) ฉะนั้นเมื่อพิจารณาถึงความสามารถของแบคทีเรียมีชีวิตในการเลือกใช้เป็นวัสดุคูดซับแล้ว การใช้ *Bradyrhizobium* sp. strain DOA9 มีความเหมาะสมมากกว่าในแง่ของความสามารถในการเจริญได้ในสารละลายที่ไม่มีธาตุอาหารอยู่ ซึ่งถือเป็นการลดต้นทุนของการผลิตวัสดุคูดซับ แต่อย่างไรก็ตาม อัตราการเจริญของ *Bradyrhizobium* sp. strain DOA9 ยังคงช้าอยู่มากเมื่อมีไอออนของโลหะทองแดง และสังกะสีเจือปนอยู่ จึงอาจจะมีประสิทธิภาพในการคูดซับโลหะทั้งสองที่ต่ำภายใต้สภาวะที่ไม่มีอาหารอยู่

3.4.1.2 ผลของโลหะทองแดงและสังกะสีที่มีต่อจำนวนประชากรของแบคทีเรีย

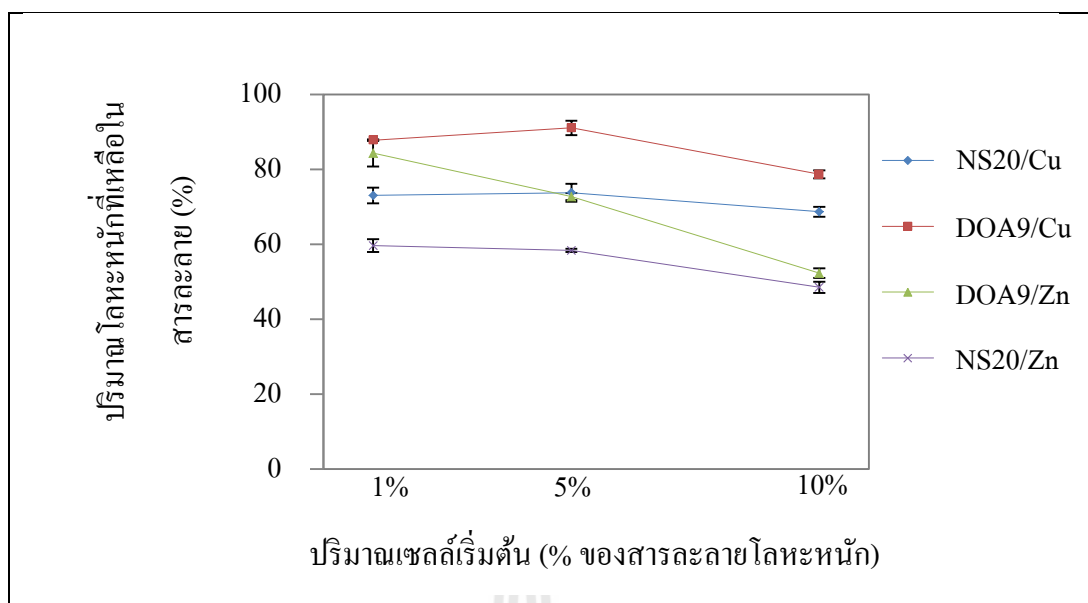
ตารางที่ 3.2 แสดงจำนวนประชากรของแบคทีเรียทั้งสองสายพันธุ์ภายใต้สภาวะที่มี และไม่มีโลหะหนักภายหลังการบ่มเลี้ยงเซลล์เป็นเวลา 6 วัน ผลการทดลองเป็นไปในทิศทางเดียวกับผลการวัดอัตราการเจริญของแบคทีเรีย นั่นคือ จำนวนประชากรของแบคทีเรียมีค่ามากที่สุดในการเจริญที่ไม่มีไอออนของโลหะหนักเจือปนอยู่ และการเพิ่มความเข้มข้นของโลหะทองแดง และสังกะสีในสารละลายทำให้จำนวนประชากรลดลง และหากพิจารณาในภาพรวมพบว่า ประชากรของแบคทีเรียทั้ง *Bradyrhizobium* sp. strain DOA9 และ *R. boonkerdii* sp. nov. strain NS20 ที่เจริญภายใต้สารละลายที่มีโลหะทองแดง มีจำนวนประชากรมากกว่าการเจริญภายใต้สารละลายที่มีโลหะสังกะสีเจือปน ซึ่งเป็นการยืนยันผลของความเป็นพิษของโลหะสังกะสีที่มีต่อเซลล์แบคทีเรียทั้งสองสายพันธุ์มากกว่าโลหะทองแดง

ตารางที่ 3.2 แสดงจำนวนประชากรของแบคทีเรียในสภาวะต่างๆเป็นเวลา 6 วัน

Environment	Population of DOA9 (CFU·mL ⁻¹)	Population of NS20 (CFU·mL ⁻¹)
Control	2.61×10 ⁸	6.28×10 ⁸
250 mg·L ⁻¹ CuSO ₄ ·5H ₂ O	5.85×10 ⁷	1.35×10 ⁸
500 mg·L ⁻¹ CuSO ₄ ·5H ₂ O	2.52×10 ⁷	1.14×10 ⁸
250 mg·L ⁻¹ ZnSO ₄ ·7H ₂ O	1.55×10 ⁷	4.10×10 ⁷
500 mg·L ⁻¹ ZnSO ₄ ·7H ₂ O	6.75×10 ⁶	2.94×10 ⁷

3.4.1.3 การศึกษากระบวนการดูดซับที่ปริมาณเซลล์เริ่มต้นต่างกัน

ผลเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการดูดซับโลหะทองแดง และสังกะสีจากการใช้ปริมาณเซลล์เริ่มต้นต่างกันแสดงในรูปที่ 3.6 การทดลองนี้เป็นการทดสอบเพื่อพิจารณาผลของปริมาณเซลล์แบคทีเรียที่เดิมในสารละลายโลหะหนักเริ่มต้นที่มีต่อความสามารถในการดูดซับโลหะ โดยใช้ปริมาณเซลล์ 1% 5% และ 10% ของปริมาณสารละลายโลหะหนัก และใช้เวลาการดูดซับ 144 ชั่วโมง หากพิจารณาโดยภาพรวมแล้วพบว่า ประสิทธิภาพในการลดความเข้มข้นของโลหะทองแดง และสังกะสีจากการใช้เซลล์แบคทีเรียมีชีวิตเป็นวัสดุดูดซับนั้น มีค่าอยู่ในช่วงระดับต่ำถึงปานกลาง โดยที่ใช้ *R. boonkerdii* sp. nov. strain NS20 สามารถลดความเข้มข้นของสังกะสี (NS20/Zn) ได้มากที่สุดเท่ากับ 52% หากมองแนวโน้มนำถึงผลของปริมาณเซลล์เริ่มต้นที่ต่างกัน พบว่าการใช้ปริมาณเซลล์เริ่มต้นที่ 1% และ 5% ให้ผลไม่แตกต่างกัน ทั้งนี้สามารถพิจารณาได้ว่าเซลล์ที่ใช้เป็นเซลล์มีชีวิต จึงมีการเจริญต่อภายหลังจากการใส่ลงในสารละลายโลหะหนัก และเมื่อเวลาการดูดซับครบ 144 ชั่วโมง ซึ่งเพียงพอที่เซลล์สามารถเจริญถึงปริมาณที่สมดุล การใส่ปริมาณเซลล์เริ่มต้น 1% หรือ 5% จึงไม่มีผล เพราะปริมาณเซลล์ที่สมดุลมีค่าที่ใกล้เคียงกัน นั่นคือมีปริมาณของวัสดุดูดซับที่ใกล้เคียงกัน ส่วนการใช้ปริมาณเซลล์เริ่มต้นที่ 10% นั้นให้ประสิทธิภาพในการดูดซับที่ดีกว่าการใช้เซลล์เริ่มต้นปริมาณต่ำ เนื่องจากการที่มีปริมาณเซลล์เริ่มต้นมาก ทำให้อัตราการเจริญของเซลล์เร็วกว่าการใช้เซลล์เริ่มต้นน้อย เซลล์จึงสามารถเจริญถึงสมดุลได้เร็ว ปริมาณเซลล์ที่สมดุลจึงมีเวลาในการดูดซับโลหะได้นานกว่า ยกเว้นในกรณีของการดูดซับโลหะสังกะสีด้วย *Bradyrhizobium* sp. strain DOA9 (DOA9/Zn) พบว่าความเข้มข้นของโลหะสังกะสีลดลงตามปริมาณเซลล์เริ่มต้นที่เพิ่มขึ้นอย่างชัดเจน ทั้งนี้อาจเป็นไปได้ว่าผลของปริมาณเซลล์เริ่มต้นที่ต่างกัน โดยเฉพาะที่ 1% และ 5% ให้อัตราการโตของเซลล์ที่ต่างกันอย่างชัดเจน

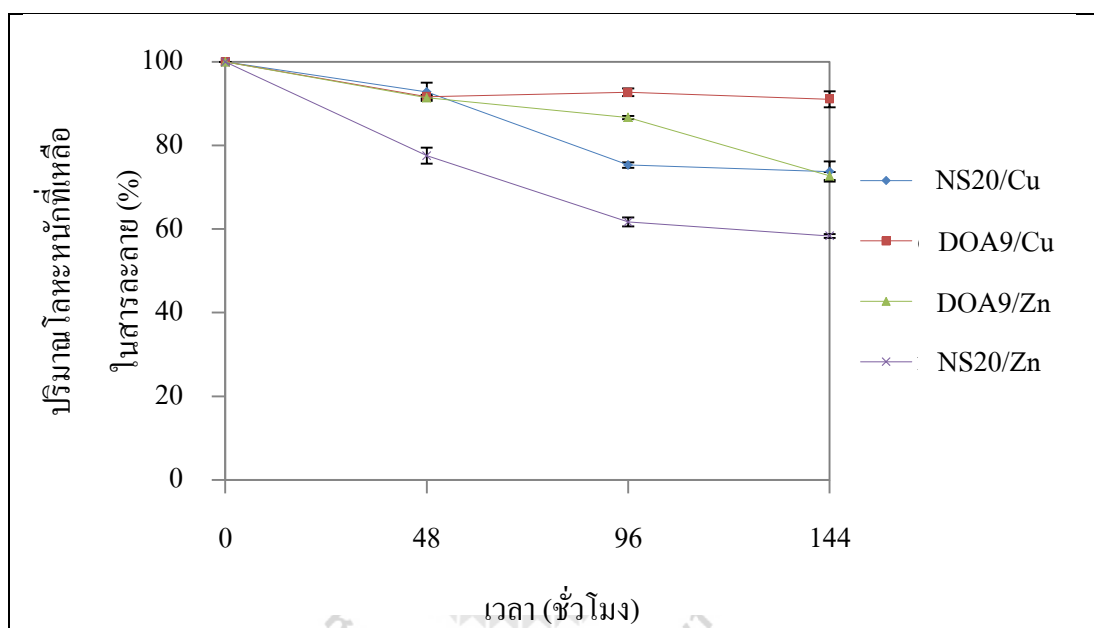


รูปที่ 3.6 แสดงการลดลงของความเข้มข้นของโลหะทองแดงและสังกะสีภายหลังจากการดูดซับด้วย *Bradyrhizobium* sp. strain DOA9 และ *Rhodopseudomonas boonkerdii* sp. Nov. NS20 ที่มีชีวิต โดยใช้ปริมาณเซลล์เริ่มต้นต่างกัน (เวลาการดูดซับ 144 ชั่วโมง ความเข้มข้นของสารประกอบโลหะ 250 mg·L⁻¹ pH ของสารละลายโลหะหนัก 7.0)

3.4.1.4 การศึกษากระบวนการดูดซับที่เวลาการดูดซับต่างกัน

ในการทดลองนี้มีจุดประสงค์เพื่อหาเวลาที่เกิดสมดุลของการดูดซับ และแนวโน้มการลดลงของความเข้มข้นโลหะหนักจากการใช้เวลาการดูดซับที่มากขึ้น โดยกำหนดช่วงของการดูดซับระหว่าง 48-144 ชั่วโมง ผลการทดลองแสดงดังรูปที่ 3.7 จากกราฟแสดงการลดลงของโลหะทองแดงและสังกะสี พบว่าการใช้ *R. boonkerdii* sp. nov. strain NS20 เป็นวัสดุดูดซับนั้น ความเข้มข้นของโลหะทองแดงและสังกะสีจะลดลงอย่างต่อเนื่อง จนกระทั่งถึงชั่วโมงที่ 96 หรืออาจยังลดลงอีกเมื่อเวลาการดูดซับเพิ่มขึ้นเล็กน้อย เนื่องจากความถี่ของการวัดความเข้มข้นยังไม่ครอบคลุมเพียงพอ จึงไม่อาจบอกเวลาที่เกิดสมดุลของการดูดซับได้แม่นยำ แต่เมื่อการดูดซับดำเนินไปจนกระทั่งถึง 144 ชั่วโมง พบว่าความเข้มข้นของโลหะทองแดงและสังกะสีลดลงจากความเข้มข้นที่วัดจากชั่วโมงที่ 96 เพียงเล็กน้อย ในขณะที่การใช้ *Bradyrhizobium* sp. strain DOA9 เป็นวัสดุดูดซับโลหะทองแดง (DOA9/Cu) พบว่าสามารถลดปริมาณของโลหะทองแดงได้เพียงเล็กน้อยเท่านั้นที่ชั่วโมงที่ 48 และปริมาณของโลหะทองแดงไม่ลดลงอีกเมื่อเพิ่มเวลาการดูดซับให้มากกว่า 48 ชั่วโมง ในขณะที่การดูดซับโลหะสังกะสีด้วย *Bradyrhizobium* sp. strain DOA9 (DOA9/Zn) นั้น

ความเข้มข้นของสังกะสีในสารละลายยังมีแนวโน้มลดลง เมื่อเพิ่มเวลาการดูดซับให้มากกว่า 144 ชั่วโมง และสามารถดูดซับโลหะสังกะสีได้มากกว่าโลหะทองแดง ทั้งนี้หากพิจารณาจากอัตราการเจริญและจำนวนประชากรโคโคเนียมของ *Bradyrhizobium* sp. strain DOA9 ในสารละลายที่มีโลหะทองแดง และโลหะสังกะสีแล้ว พบว่าอัตราการโตของเซลล์ในโลหะทองแดงดีกว่า และให้ปริมาณของเซลล์ชีวมวลที่มากกว่าเซลล์ที่โตในสารละลายที่มีสังกะสี ด้วยเหตุนี้จึงสามารถกล่าวได้ว่าปริมาณความเข้มข้นที่ลดลงของโลหะทองแดง และสังกะสีไม่สามารถเปรียบเทียบได้จากปริมาณของเซลล์ชีวมวล

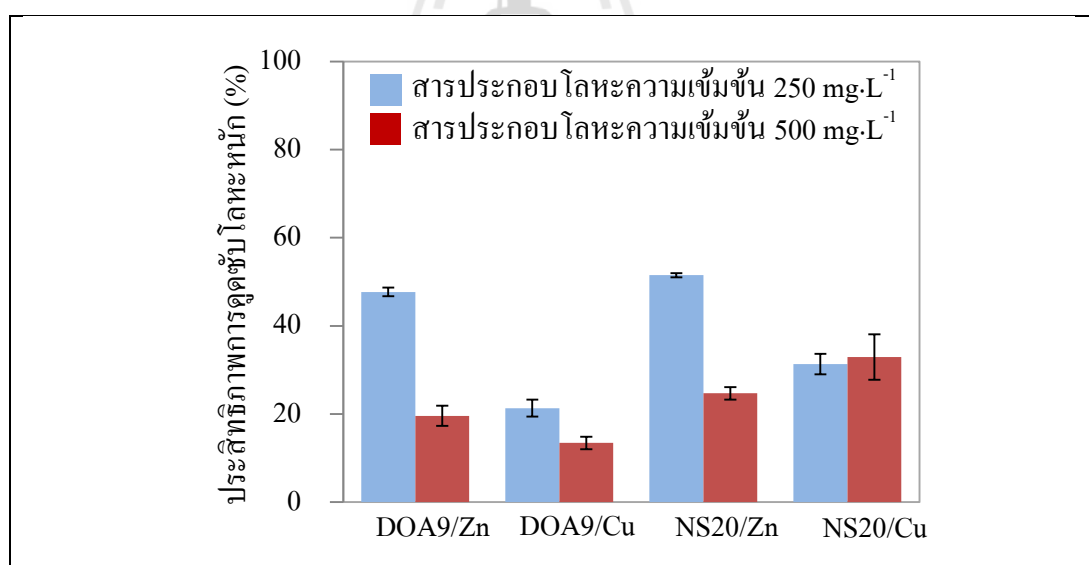


รูปที่ 3.7 แสดงการลดลงของความเข้มข้นของโลหะทองแดงและสังกะสีภายหลังจากการดูดซับด้วย *Bradyrhizobium* sp. strain DOA9 และ *R. boonkerdii* sp. nov. strain NS20 ที่มีชีวิต โดยใช้เวลาในการดูดซับต่างกัน (ปริมาณเซลล์เริ่มต้น 5% ความเข้มข้นของสารประกอบโลหะ $250 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ pH ของสารละลายโลหะหนัก 7.0)

3.4.1.5 การศึกษากระบวนการดูดซับที่ความเข้มข้นของสารละลายโลหะหนักเริ่มต้นต่างกัน

ความเข้มข้นของสารละลายโลหะหนักเป็นปัจจัยหนึ่งที่มีผลต่อประสิทธิภาพของการดูดซับ โดยเฉพาะเมื่อใช้เซลล์ชีวมวลที่มีชีวิตเป็นวัสดุดูดซับ ทั้งนี้เป็นเพราะความเข้มข้นของโลหะหนักนั้นมีผลต่ออัตราการเจริญ และจำนวนของเซลล์ชีวมวล ดังผลที่แสดงใน

ข้อ 3.4.1.1 และ 3.4.1.2 ผลการทดลองนี้แสดงในรูปที่ 3.8 พบว่าประสิทธิภาพในการดูดซับโลหะทองแดง และสังกะสีมีค่าสูงในสารละลายที่มีความเข้มข้นของโลหะทั้งสองต่ำ ยกเว้นในกรณีของการดูดซับทองแดงด้วย *R. boonkerdii* sp. nov. strain NS20 (NS20/Cu) ที่ความเข้มข้นในช่วงที่ศึกษาให้ผลไม่แตกต่างกัน ทั้งนี้หากพิจารณาจากผลของจำนวนประชากรในตารางที่ 3.2 พบว่าจำนวนชีวมวลของ *R. boonkerdii* sp. nov. strain NS20 ที่เจริญในสารละลายที่มีความเข้มข้นของทองแดงเท่ากับ 250 และ 500 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ มีค่าใกล้เคียงกัน หรือกล่าวได้ว่ามีจำนวนของวัสดุดูดซับใกล้เคียงกัน ทำให้ประสิทธิภาพในการดูดซับให้ผลไม่แตกต่างกัน ซึ่งต่างจากการทดลองในชุดอื่นๆ ที่จำนวนประชากรของเซลล์ที่เจริญในสารละลายที่มีความเข้มข้นของโลหะ 250 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ มีค่ามากกว่าเซลล์ที่เจริญในสารละลายที่มีความเข้มข้นของโลหะ 500 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ประมาณ 2 เท่าด้วยกัน นั่นหมายความว่าในสารละลายโลหะหนักที่มีความเข้มข้น 250 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ นั้นมีปริมาณของวัสดุดูดซับมากกว่าประมาณ 2 เท่า จึงทำให้สามารถดูดซับโลหะหนักได้มากกว่า จากกราฟแท่งแสดงประสิทธิภาพในการดูดซับ จะเห็นเช่นกันว่าประสิทธิภาพในการดูดซับโลหะในสารละลายที่มีความเข้มข้นของโลหะเท่ากับ 250 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ มีค่ามากกว่าที่ 500 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ประมาณ 2 เท่าด้วยเช่นกัน



รูปที่ 3.8 แสดงประสิทธิภาพในการดูดซับโลหะทองแดงและสังกะสีด้วย *Bradyrhizobium* sp. strain DOA9 และ *R. boonkerdii* sp. nov. strain NS20 ที่มีชีวิต โดยใช้ความเข้มข้นเริ่มต้นของสารละลายโลหะหนักต่างกัน (ปริมาณเซลล์เริ่มต้น 5% เวลาการดูดซับ 144 ชั่วโมง pH ของสารละลายโลหะหนัก 7.0)

3.4.2 กระบวนการดูดซับด้วยเซลล์ตาย

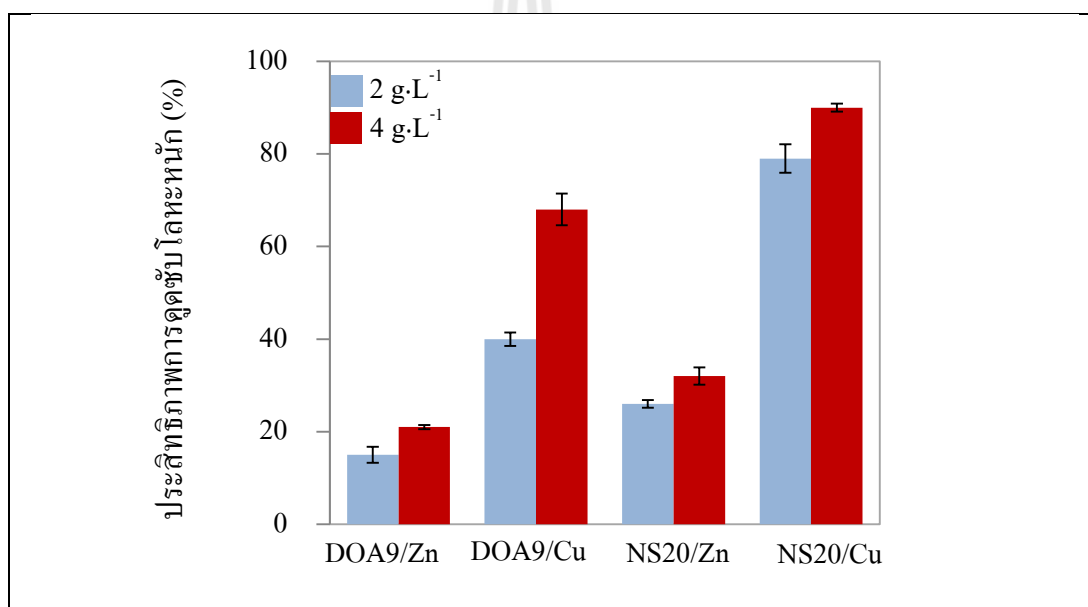
3.4.2.1 การศึกษากระบวนการดูดซับที่ปริมาณเซลล์เริ่มต้นต่างกัน

การศึกษาผลของปริมาณเซลล์เริ่มต้นที่มีต่อประสิทธิภาพในการดูดซับ โดยใช้เซลล์ที่มีชีวิต และเซลล์ตายนั้นมีความแตกต่างกัน โดยสิ้นเชิง เนื่องจากการใช้เซลล์มีชีวิตนั้น วัสดุดูดซับมีการเพิ่มจำนวนขึ้นเรื่อยๆ กระทั่งถึงจำนวนที่สมดุลในสารละลาย ซึ่งในที่สุดแล้วอาจจะ มีปริมาณของเซลล์ชีวมวล หรือปริมาณของวัสดุดูดซับที่ใกล้เคียงกัน แม้จะมีปริมาณเซลล์เริ่มต้น ต่างกัน และเมื่อวัดปริมาณเซลล์แห้งแล้ว พบว่ามีปริมาณที่น้อยมาก โดยมีสัดส่วนของเซลล์ประมาณ ไม่เกิน $0.01 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ ส่วนการใช้เซลล์ตายเป็นวัสดุดูดซับนั้น ปริมาณของวัสดุดูดซับจะมีค่าคงที่เท่ากับ ปริมาณที่เติมลงไป ในสารละลายโลหะหนักในตอนต้น ทำให้สามารถวัดจำนวนวัสดุดูดซับที่ แน่นอ่อนก่อนใส่ลงในสารละลายโลหะหนักได้ ในการทดลองนี้ได้ศึกษาผลของปริมาณเซลล์แห้งที่ สัดส่วน 2 และ $4 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ ซึ่งเป็นสัดส่วนที่มากกว่าการใช้เซลล์มีชีวิตถึงประมาณ 200 และ 400 เท่า ตามลำดับ แต่อาจจะไม่สามารถเปรียบเทียบกันได้โดยตรง เนื่องจากกลไกของการดูดซับด้วยเซลล์มี ชีวิต และเซลล์ตายนั้นแตกต่างกัน

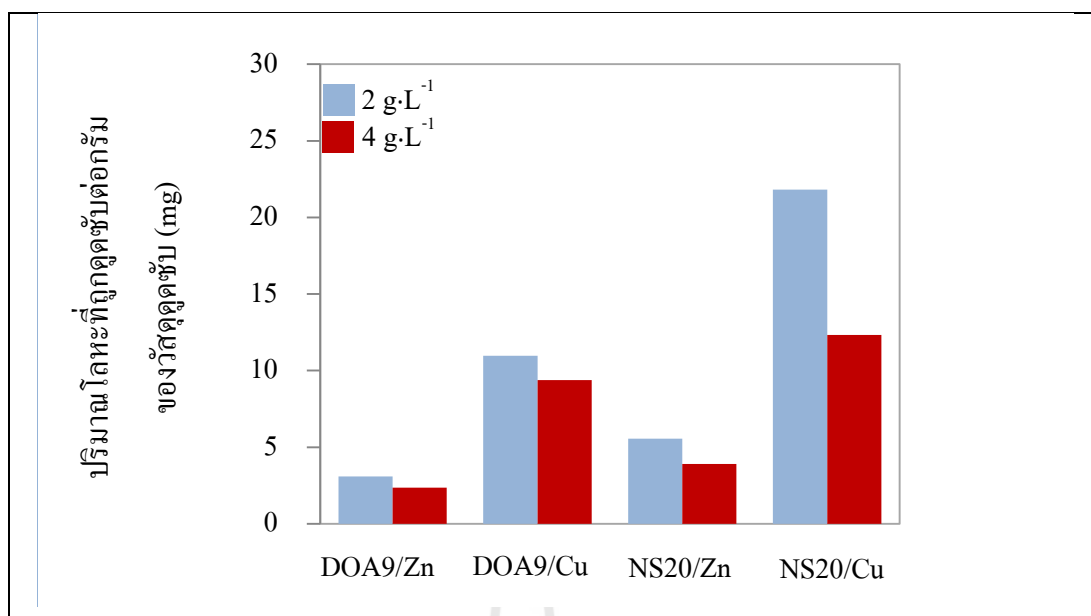
ผลการทดลองการดูดซับด้วยปริมาณวัสดุดูดซับต่างกันแสดงในรูปที่ 3.9 และ 3.10 ซึ่งแสดงผลในรูปของประสิทธิภาพในการดูดซับ และค่าความจุของวัสดุดูดซับ ตามลำดับ จากกราฟในรูปที่ 3.9 พบว่าที่ทุกชุดการทดลองนั้น การใช้ปริมาณเซลล์เริ่มต้น $4 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ มี ประสิทธิภาพในการดูดซับมากกว่าการใช้วัสดุดูดซับ $2 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ ซึ่งเป็นผลที่สอดคล้องกับความน่าจะเป็น เนื่องจากการมีพื้นที่ผิวในการดูดซับมากกว่า ควรจะสามารถดูดซับปริมาณ โลหะหนักได้ มากกว่า แต่มีสิ่งที่น่าสนใจก็คือ การเพิ่มปริมาณเซลล์แห้งเป็น 2 เท่า ไม่ได้ทำให้ประสิทธิภาพในการ ดูดซับเพิ่มขึ้นเป็น 2 เท่าด้วย กลับพบว่าประสิทธิภาพในการดูดซับเพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อยเท่านั้นเมื่อ เพิ่มสัดส่วนของวัสดุดูดซับจาก $2 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ เป็น $4 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ ผลการทดลองจากนักวิจัยหลายๆคน (Mohamad และคณะ, 2012; Donmez, 2002; Gadd และคณะ, 1998; Tangaromsuk และคณะ, 2002) ได้แสดงให้เห็นว่า การเพิ่มปริมาณของวัสดุดูดซับในสารละลายที่มีความเข้มข้นของโลหะหนักค่าหนึ่งนั้น มีผล ทำให้ประสิทธิภาพในการกำจัดโลหะหนักเพิ่มขึ้น และมีค่าประสิทธิภาพการดูดซับสูงสุดที่ปริมาณ ของวัสดุดูดซับค่าหนึ่ง ทั้งนี้ความสามารถในการดูดซับโลหะหนักไม่ได้เพิ่มขึ้นเป็นสัดส่วน เช่นเดียวกับปริมาณของวัสดุดูดซับที่ใส่ลงไป นอกจากนี้ยังมีบางผลการทดลองพบว่า การเพิ่ม ปริมาณวัสดุดูดซับยังอาจทำให้การดูดซับเกิดขึ้นน้อยลง (Mohamad, O. A. และคณะ, 2012) ซึ่งได้ ให้เหตุผลไว้ว่า การเพิ่มขึ้นของวัสดุดูดซับทำให้เกิดการขัดขวางซึ่งกันและกันระหว่างตำแหน่งของ การดูดซับ นอกจากนี้ยังอาจเกิดการรวมกันของวัสดุดูดซับอันเนื่องมาจากอันตรกิริยาทางไฟฟ้าสถิต เป็นผลทำให้พื้นที่ผิวในการดูดซับน้อยกว่าค่าที่เป็นจริง (Donmez, G., 2002; Chaichalearm, S.,

2006) ฉะนั้นการเพิ่มปริมาณของเซลล์แบคทีเรียเป็น $4 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ ทำให้ประสิทธิภาพในการเป็นวัสดุดูดซับของเซลล์แบคทีเรียเองน้อยกว่าการดูดซับด้วยปริมาณเซลล์ $2 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ หรือกล่าวคือ การใส่เซลล์ลงในสารละลายโลหะหนักในสัดส่วน $4 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ ไม่ได้ทำให้ประสิทธิภาพในการเป็นวัสดุดูดซับ 100% อันเนื่องจากการซ้อนทับกันของตำแหน่งการดูดซับ

เมื่อแสดงผลการดูดซับในรูปของปริมาณของโลหะหนักที่ถูกดูดซับต่อกรัมของวัสดุดูดซับ ดังแสดงในรูปที่ 3.10 เห็นว่าการใช้ปริมาณเซลล์เริ่มต้น $4 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ ให้ปริมาณการดูดซับโลหะหนักเปรียบเทียบต่อกรัมของปริมาณเซลล์ น้อยกว่าการใช้ปริมาณเซลล์ $2 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ ซึ่งแสดงให้เห็นอย่างชัดเจนว่า ปริมาณเซลล์ที่เพิ่มขึ้นเป็นสองเท่า ไม่สามารถดูดซับโลหะได้เป็นปริมาณสองเท่าด้วย ฉะนั้นปริมาณการดูดซับต่อกรัมของวัสดุดูดซับจึงน้อยกว่า



รูปที่ 3.9 แสดงประสิทธิภาพในการดูดซับโลหะทองแดงและสังกะสีด้วย *Bradyrhizobium* sp. strain DOA9 และ *R. boonkerdii* sp. nov. strain NS20 ที่ไม่มีชีวิต โดยใช้ปริมาณเซลล์เริ่มต้นต่างกัน (เวลาการดูดซับ 24 ชั่วโมง ความเข้มข้นของสารประกอบโลหะ $250 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ pH ของสารละลายโลหะหนัก 7)



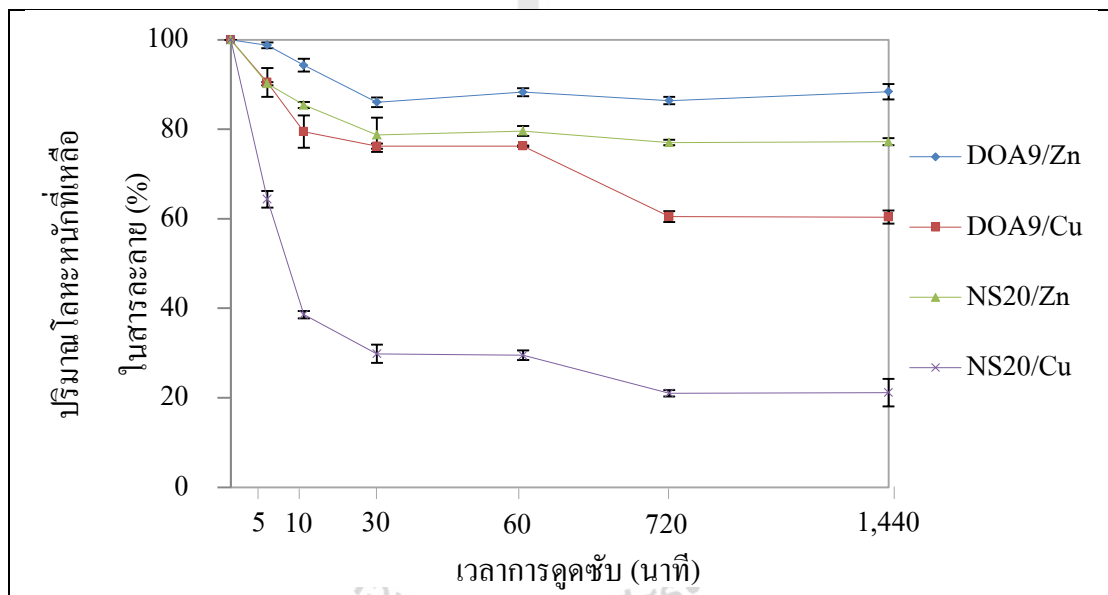
รูปที่ 3.10 ผลการดูดซับโลหะหนักเช่นเดียวกับรูปที่ 3.9 แต่แสดงในรูปของปริมาณโลหะหนักที่ถูกดูดซับต่อกรัมของวัสดุดูดซับ

3.4.2.2 การศึกษากระบวนการดูดซับที่เวลาการดูดซับต่างกัน

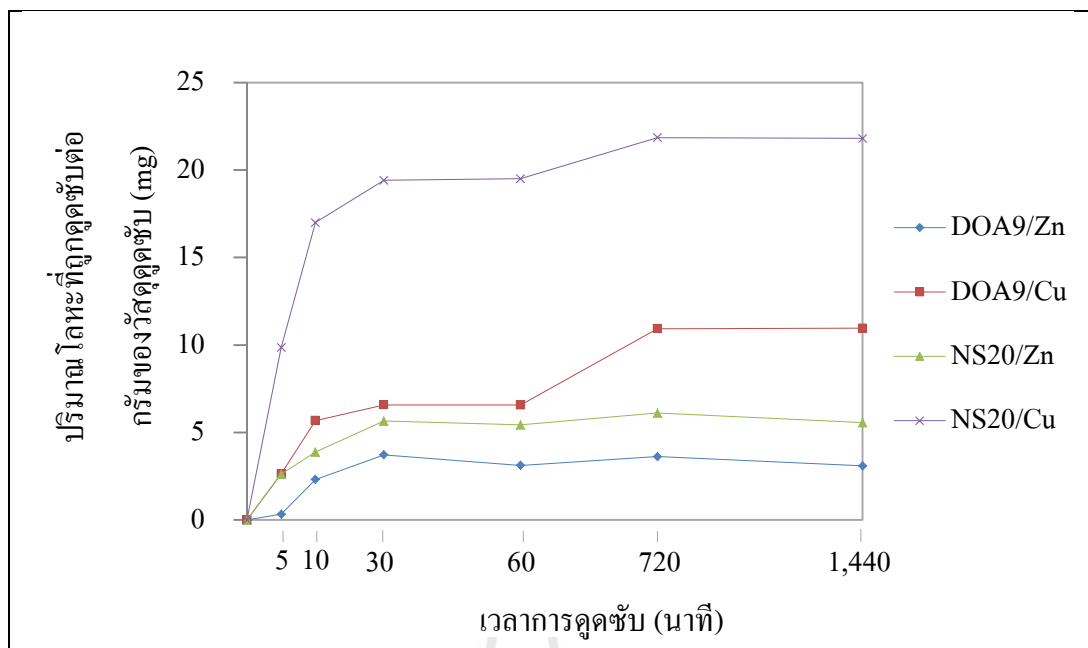
ผลการทดลองการดูดซับโลหะหนักด้วยวัสดุชีวมวลที่ไม่มีชีวิตโดยใช้เวลาในการดูดซับต่างกันแสดงในรูปที่ 3.11 และ 3.12 ซึ่งแสดงผลในรูปของประสิทธิภาพในการดูดซับและค่าความจุของวัสดุดูดซับ ตามลำดับ ซึ่งให้ผลในลักษณะเดียวกันกับกรณีของการใช้เซลล์มีชีวิตเป็นวัสดุดูดซับ แต่การดูดซับเกิดขึ้นในระยะเวลาที่รวดเร็วกว่ามาก เนื่องจากใช้ปริมาณของเซลล์มากกว่าหลายเท่า เมื่อเทียบกับการดูดซับด้วยเซลล์มีชีวิต อีกทั้งอัตราการดูดซับด้วยเซลล์ตายนั้นสูงกว่าการดูดซับด้วยเซลล์มีชีวิต (Chojnacka, K., 2010) จากกราฟของทุกคู่การดูดซับ พบว่าโลหะหนักถูกดูดซับอย่างรวดเร็วภายในช่วงเวลาประมาณ 30 นาที และมีแนวโน้มที่จะเข้าสู่สมดุลของการดูดซับเมื่อเวลาการดูดซับเพิ่มขึ้น การที่การดูดซับเกิดขึ้นอย่างรวดเร็วในช่วงแรกเป็นเพราะตำแหน่งที่ว่างบนผิวของวัสดุดูดซับ (active site) ยังมีอยู่มาก ทำให้อัตราการดูดซับในช่วงแรกมีค่าสูง และมีค่ามากกว่าอัตราการคายการดูดซับ (Kumar, P. S., Kirthika, K., 2009) แต่เมื่อเวลาการดูดซับเพิ่มขึ้นตำแหน่งที่ว่างบนผิวของวัสดุดูดซับลดลง เพราะมีไอออนของโลหะหนักเข้าไปยึดเกาะอยู่ ทำให้เกิดการอิ่มตัวของวัสดุดูดซับ หรืออัตราการดูดซับ และอัตราการคายการดูดซับมีค่าใกล้เคียงกันจนกระทั่งอัตราการดูดซับเท่ากับอัตราการคายการดูดซับ หรือเข้าสู่สมดุลของการดูดซับ โดยผลการ

ทดลองนี้ได้นำไปศึกษาจลนศาสตร์ของการดูดซับในบทที่ 5 ต่อไป ซึ่งทำให้ทราบค่าคงที่อัตราของการดูดซับในแต่ละคู่ของเซลล์ชีวมวล และ โลหะหนัก

จากผลการทดลองนี้ทำให้เห็นอัตราการลดลง หรืออัตราการดูดซับของโลหะทองแดง และสังกะสีได้อย่างละเอียด จากกราฟในรูปที่ 3.11 และ 3.12 นั้น พบว่าการใช้ *R. boonkerdii* sp. nov. strain NS20 เป็นวัสดุดูดซับโลหะทองแดง (NS20/Cu) ให้ผลการดูดซับที่ดีที่สุด โดยสามารถลดปริมาณของทองแดงได้ถึง 78.84% ด้วยเวลาการดูดซับ 24 ชั่วโมง หรือสามารถดูดซับทองแดงได้สูงสุดถึง 21.83 mg ต่อปริมาณวัสดุชีวมวล 1 g ส่วนกระบวนการดูดซับในกลุ่มอื่น ๆ นั้น ให้ผลที่ไม่แตกต่างกันมาก และมีประสิทธิภาพในการกำจัดโลหะหนักไม่ถึง 50%



รูปที่ 3.11 แสดงการลดลงของความเข้มข้นของโลหะทองแดงและสังกะสีภายหลังจากการดูดซับด้วย *Bradyrhizobium* sp. strain DOA9 และ *R. boonkerdii* sp. nov. strain NS20 ที่ไม่มีชีวิต โดยใช้เวลาการดูดซับต่างกัน (ปริมาณเซลล์เริ่มต้น $2 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ ความเข้มข้นของสารประกอบโลหะ $250 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ pH ของสารละลายโลหะหนัก 7)



รูปที่ 3.12 ผลการดูดซับโลหะหนักเช่นเดียวกับรูปที่ 3.10 แต่แสดงในรูปของปริมาณโลหะหนักที่ถูกดูดซับต่อกรัมของวัสดุดูดซับ

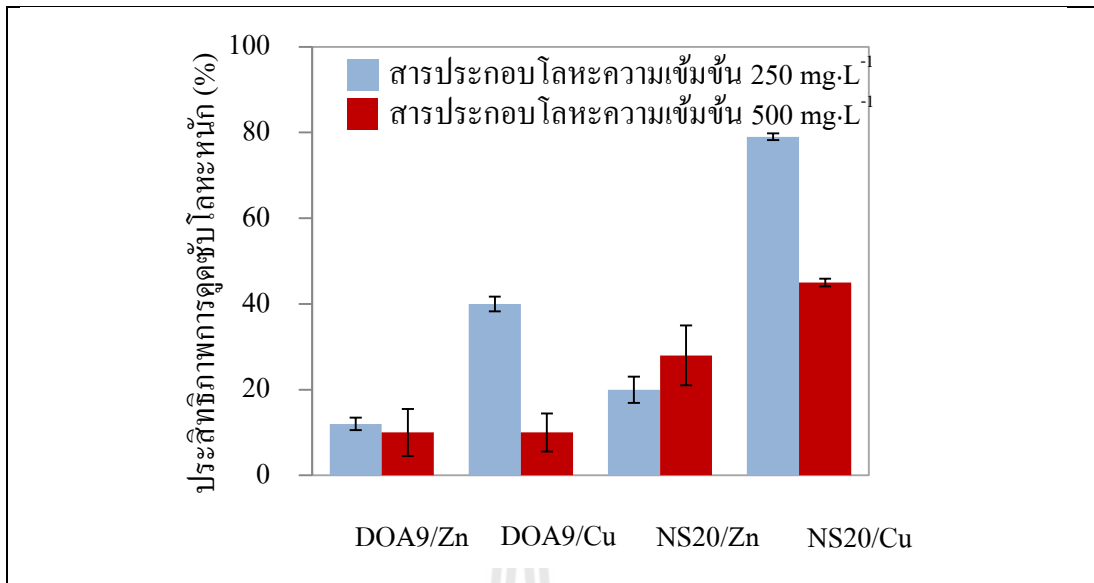
3.4.2.3 การศึกษากระบวนการดูดซับที่ความเข้มข้นของโลหะหนักเริ่มต้นต่างกัน

ในการทดสอบการดูดซับด้วยเซลล์ตายนั้น การเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของโลหะทองแดง และสังกะสีในสารละลายไม่ส่งผลทางด้านชีวภาพต่อวัสดุดูดซับ เนื่องจากวัสดุดูดซับเป็นเซลล์ที่ไม่มีชีวิต จึงไม่มีผลของกระบวนการเมตาบอลิซึมมาเกี่ยวข้อง ซึ่งต่างจากการใช้เซลล์มีชีวิตที่ความเข้มข้นของโลหะหนักมีผลต่อการโตของเซลล์ หรือกล่าวคือ ความเข้มข้นของสารละลายโลหะหนักมีผลต่อการเพิ่มจำนวนของวัสดุดูดซับ

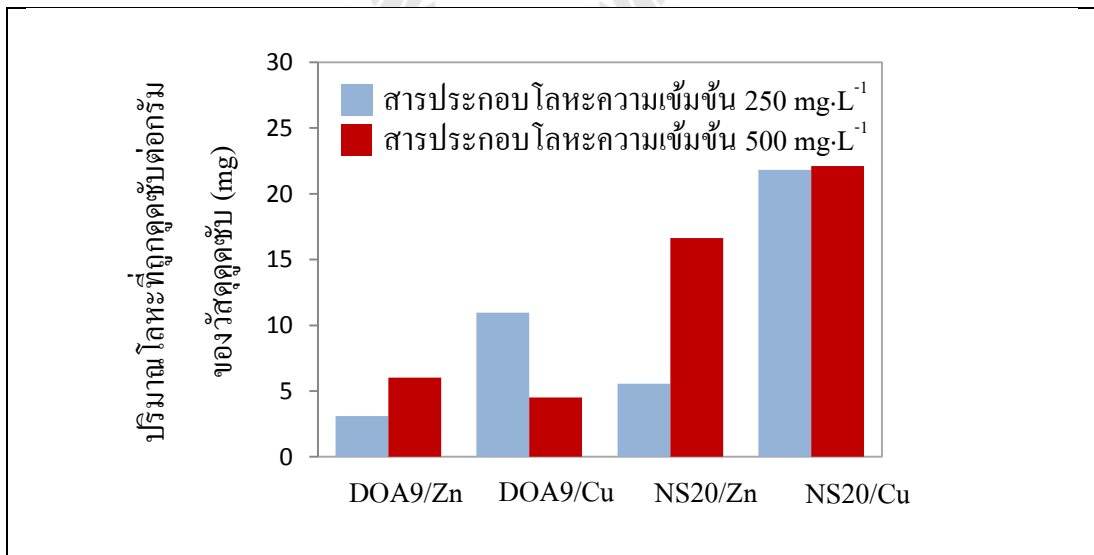
ผลการทดสอบการดูดซับโลหะทองแดง และสังกะสีโดยใช้ความเข้มข้นเริ่มต้นของโลหะหนักทั้งสองที่ต่างกันแสดงในรูปที่ 3.13 และ 3.14 ในรูปของประสิทธิภาพในการดูดซับ และความสามารถในการดูดซับของวัสดุดูดซับตามลำดับ จากรูปทั้งสองนี้ ได้แสดงให้เห็นถึงความแตกต่างในการประเมินผลของการดูดซับในรูปแบบที่ต่างกัน หากพิจารณาผลของการดูดซับในรูปของร้อยละของปริมาณโลหะหนักที่ลดลง หรือประสิทธิภาพในการกำจัดโลหะ พบว่ากระบวนการดูดซับในสารละลายที่มีความเข้มข้นเริ่มต้นของโลหะหนักต่ำกว่า มีประสิทธิภาพในการกำจัดโลหะหนักได้มากกว่า ยกเว้นในกรณีของการดูดซับโลหะสังกะสีด้วย *R. boonkerdii* sp.

nov. strain NS20 ซึ่งการใช้ความเข้มข้นเริ่มต้นที่ $500 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ มีประสิทธิภาพในการกำจัดโลหะหนักมากกว่าการดูดซับในสารละลายโลหะหนักเริ่มต้น $250 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ทั้งนี้มีงานวิจัยหลายฉบับด้วยกันที่ประเมินผลการดูดซับในรูปของร้อยละการลดลงของปริมาณโลหะหนัก (Kumar, P. S., Kirthika, K., 2009; Mohamad, O. A. และคณะ, 2012; Bhattacharya, A. K. และคณะ, 2006; Parameswari, E. และคณะ, 2009) ซึ่งทั้งหมดทำให้ผลการทดลองในทำนองเดียวกันคือ การเพิ่มความเข้มข้นเริ่มต้นของโลหะหนักในสารละลาย มีผลให้ประสิทธิภาพในการกำจัดโลหะหนักลดลง ในทางกลับกัน หากประเมินผลการดูดซับในรูปของความจุของวัสดุดูดซับหรือกล่าวคือความสามารถในการดูดซับโลหะต่อหน่วยน้ำหนักของวัสดุดูดซับ สำหรับการทดลองนี้ พบว่าที่ความเข้มข้นเริ่มต้นของโลหะหนัก $500 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ วัสดุดูดซับสามารถดูดซับโลหะหนักต่อกรัมของวัสดุดูดซับได้มากกว่าการดูดซับในสารละลายโลหะหนักเริ่มต้น $250 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ซึ่งให้ผลที่สอดคล้องกับงานวิจัยในหลายๆฉบับที่ใช้วิธีดังกล่าวในการประเมินผลการดูดซับโลหะหนัก (Demirbas, E. และคณะ, 2003; Sivaprakash, A. และคณะ, 2007; Madacha, V., 2006) การที่วัสดุดูดซับในปริมาณเท่ากันสามารถดูดซับโลหะหนักได้มากกว่าในสารละลายที่มีความเข้มข้นของโลหะหนักสูงกว่านั้น เนื่องจากการที่ในสารละลายมีไอออนของโลหะหนักมากกว่า โดยที่มีวัสดุดูดซับเท่าเดิม ทำให้ความเป็นไปได้ในการเกิดอันตรกิริยาระหว่างหมู่ฟังก์ชันบนผิวของวัสดุดูดซับกับไอออนของโลหะหนักในสารละลายมีมากกว่า (Sivaprakash, A. และคณะ, 2007)

การประเมินผลการดูดซับจากการทดสอบการดูดซับโลหะหนักด้วยความเข้มข้นของโลหะหนักเริ่มต้นต่างกัน ในรูปของความจุของวัสดุดูดซับนั้นมีความเหมาะสมมากกว่าการประเมินในรูปของประสิทธิภาพในการดูดซับ โดย Schiewer, S. และ Volesky, B. (2000) ก็ได้กล่าวไว้ด้วยเช่นกันในเรื่องนี้ว่า ในการวัดประสิทธิภาพของกระบวนการดูดซับทางชีวภาพควรรายงานผลในรูปของปริมาณของโลหะหนักที่ถูกดูดซับในหน่วยมิลลิกรัมหรือมิลลิโมล ต่อกรัมของวัสดุดูดซับ ส่วนการประเมินผลเชิงปริมาณในรูปของร้อยละของการลดลงของโลหะหนักนั้นอาจจะไม่เหมาะสม เนื่องจากการประเมินผลที่หายากเกินไป



รูปที่ 3.13 แสดงประสิทธิภาพในการดูดซับโลหะทองแดงและสังกะสีด้วย *Bradyrhizobium* sp. strain DOA9 และ *R. boonkerdii* sp. nov. strain NS20 ที่ไม่มีชีวิต โดยใช้ความเข้มข้นเริ่มต้นของสารละลายโลหะหนักต่างกัน (ปริมาณเซลล์เริ่มต้น 2 g·L⁻¹ เวลาการดูดซับ 24 ชั่วโมง pH ของสารละลายโลหะหนัก 7)

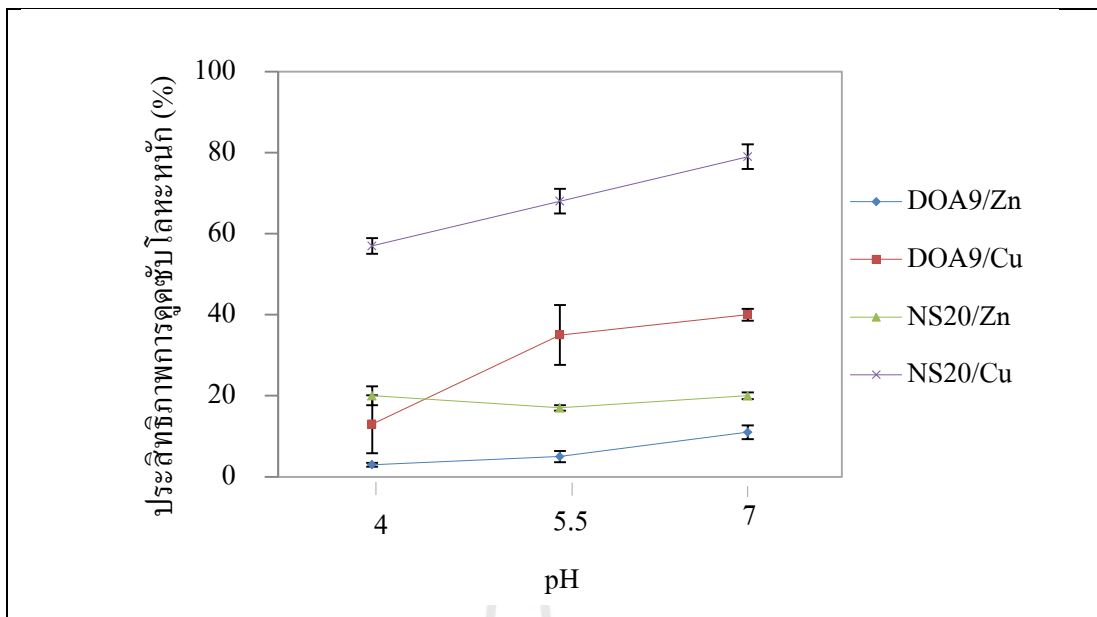


รูปที่ 3.14 ผลการดูดซับโลหะหนักเช่นเดียวกับรูปที่ 3.10 แต่แสดงในรูปของปริมาณโลหะหนักที่ถูกดูดซับต่อกรัมของวัสดุดูดซับ

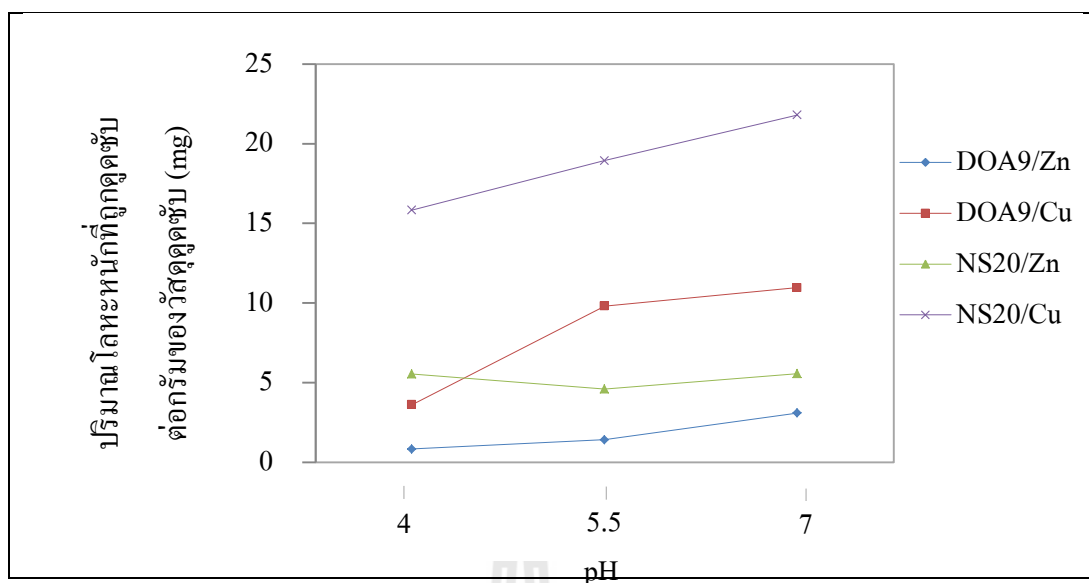
3.4.2.4 การศึกษากระบวนการดูดซับที่ค่า pH ของสารละลายโลหะหนักต่างกัน

ค่า pH ของสารละลายโลหะหนัก และอาจรวมทั้งวัสดุดูดซับเองยังเป็นอีกหนึ่งปัจจัยที่สำคัญที่มีผลต่อประสิทธิภาพของกระบวนการดูดซับทางชีวภาพ ทั้งนี้ในการใช้มวลชีวภาพที่มีชีวิตเป็นวัสดุดูดซับนั้น ไม่อาจทำการทดสอบโดยการแปรเปลี่ยนค่า pH ของสารละลายโลหะหนักได้ เนื่องจากเซลล์ชีวมวลทั้งสองสายพันธุ์ดังกล่าวเจริญได้ดีที่สุดในช่วง pH ของสารละลายใกล้เคียงหรือเท่ากับ 7 เซลล์ชีวมวลจะไม่แสดงการเจริญเลยหรือเจริญได้ช้ามากในสถานะของสารละลายโลหะหนักที่มีค่าความเป็นกรด-ด่าง สูงหรือต่ำเกินไป ซึ่งถือเป็นข้อจำกัดอย่างหนึ่งในการใช้เซลล์มีชีวิตเป็นวัสดุดูดซับ ส่วนการใช้เซลล์ชีวมวลที่ไม่มีชีวิตนั้น สามารถทำการทดสอบที่ค่า pH ของสารละลายต่างๆได้ เนื่องจากค่าความเป็นกรด-ด่างไม่มีผลต่อวัสดุดูดซับ การทดลองนี้ใช้ค่า pH ของสารละลายโลหะหนักเท่ากับ 4 5.5 และ 7 การปรับ pH ของสารละลายโลหะหนักให้มากกว่า 7 มีผลทำให้เกิดการตกตะกอนของสารประกอบโลหะทองแดง และสังกะสี ทำให้ความเข้มข้นของทองแดงและสังกะสีในสารละลายน้อยกว่าค่าที่เป็นจริง

ผลการทดลองการดูดซับในสารละลายโลหะหนักที่มีค่า pH ต่างกันแสดงในรูปที่ 3.15 และ 3.16 พบว่าทุกคู่ของการดูดซับลักษณะที่เหมือนกัน คือ ประสิทธิภาพในการดูดซับมากขึ้นเมื่อค่า pH ของสารละลายโลหะหนักมีค่ามากขึ้น ยกเว้นในกรณีของการดูดซับสังกะสีด้วย *R. boonkerdii* sp. nov. strain NS20 ซึ่งให้ผลการดูดซับที่ไม่แตกต่างกัน การที่ประสิทธิภาพในการดูดซับโลหะหนักลดลงเมื่อสารละลายโลหะหนักมีค่า pH ต่ำ หรือมีความเป็นกรดมากขึ้นนั้น เป็นเพราะเกิดการแย่งกันของโปรตรอน (H^+) และไอออนของโลหะหนักในการจับกับหมู่ฟังก์ชันบนพื้นผิวของวัสดุดูดซับ ยิ่งเมื่อสารละลายโลหะหนักมีความเป็นกรดเพิ่มมากขึ้น จะทำให้หมู่ฟังก์ชันหรือตำแหน่งที่ว่างสำหรับจับโลหะมีน้อยลง (Bhattacharya, A.K. และคณะ, 2006) นอกจากนี้ความเป็นกรดของสารละลายโลหะหนัก ยังทำให้ไอออนของโลหะหนักที่ถูกดูดซับไว้ที่ผิวของวัสดุดูดซับเกิดการหลุดออก หรือเกิดการคายการดูดซับ ซึ่งเป็นวิธีหนึ่งที่ใช้ในการชะไอออนของโลหะหนักออกจากวัสดุดูดซับ (Volesky, B., 2007) ในทางกลับกัน สารละลายที่มีความเป็นด่างสูง จะทำให้เกิดการตกตะกอนของสารประกอบโลหะอันเนื่องมาจากการจับกันของไฮดรอกไซด์ (OH^-) กับไอออนของโลหะหนัก ทำให้ปริมาณของโลหะหนักในสารละลายที่ลดลงนั้น ไม่ได้เกิดจากการดูดซับโดยตรง



รูปที่ 3.15 แสดงประสิทธิภาพในการดูดซับโลหะทองแดงและสังกะสีด้วย *Bradyrhizobium* sp. strain DOA9 และ *R. boonkerdii* sp. nov. strain NS20 ที่ไม่มีชีวิต โดยใช้ pH ของสารละลายโลหะหนักต่างกัน (ปริมาณเซลล์เริ่มต้น $2 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ ความเข้มข้นของสารประกอบโลหะ $250 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ เวลาการดูดซับ 24 ชั่วโมง)



รูปที่ 3.16 ผลการดูดซับโลหะหนักเช่นเดียวกับรูปที่ 3.12 แต่แสดงในรูปของปริมาณโลหะหนักที่ถูกดูดซับต่อกรัมของวัสดุดูดซับ

3.5 สรุปผลการวิจัย

จากการทดลองพบว่าทั้ง *R. boonkerdii* sp. nov. strain NS20 และ *Bradyrhizobium* sp. strain DOA9 สามารถโตได้ในสารละลายของเหลวที่มีความเข้มข้นของ $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ และ $\text{ZnSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ เท่ากับ 250 และ 500 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ และเข้าสู่ปริมาณสมดุล (stationary phase) ในระยะเวลาประมาณ 4 วัน ความเข้มข้นของสารละลายโลหะหนักที่มากขึ้น มีผลให้ปริมาณของเซลล์ชีวมวลที่สมดุลน้อยลง การดูดซับโดยใช้เซลล์เริ่มต้น 1% และ 5% ให้ผลประสิทธิภาพการดูดซับไม่ต่างกัน เนื่องจากเซลล์มีอัตราการโตที่ใกล้เคียงกัน ฉะนั้นที่สมดุลจึงมีปริมาณของเซลล์ชีวมวลที่ทำหน้าที่เป็นวัสดุดูดซับใกล้เคียงกัน ส่วนการใช้ปริมาณเซลล์เริ่มต้น 10% ให้ประสิทธิภาพในการดูดซับที่ดีกว่า การใช้ *Bradyrhizobium* sp. strain DOA9 เป็นวัสดุดูดซับทองแดง และสังกะสีใช้เวลาประมาณ 48 ชั่วโมง ในการเข้าสู่สมดุลการดูดซับ ส่วนการใช้ *R. boonkerdii* sp. nov. strain NS20 เข้าสู่สมดุลการดูดซับ ในระยะเวลาประมาณ 96 ชั่วโมง และการดูดซับในสารละลายโลหะหนักที่มีความเข้มข้นของสารประกอบโลหะหนัก 250 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ มีประสิทธิภาพในการดูดซับที่สูงกว่าการดูดซับที่ความเข้มข้น 500 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ เนื่องจากที่ความเข้มข้นต่ำ เซลล์แบคทีเรียมีอัตราการเจริญและมีจำนวนของเซลล์มากกว่าการใช้เซลล์ตายเป็นวัสดุดูดซับ ให้ผลการดูดซับในทำนองเดียวกันกับการใช้เซลล์มีชีวิต แต่การดูดซับเกิดขึ้นในระยะเวลาที่เร็วกว่ามาก เนื่องจากอัตราการดูดซับของเซลล์ตายนั้น เร็วกว่าการ

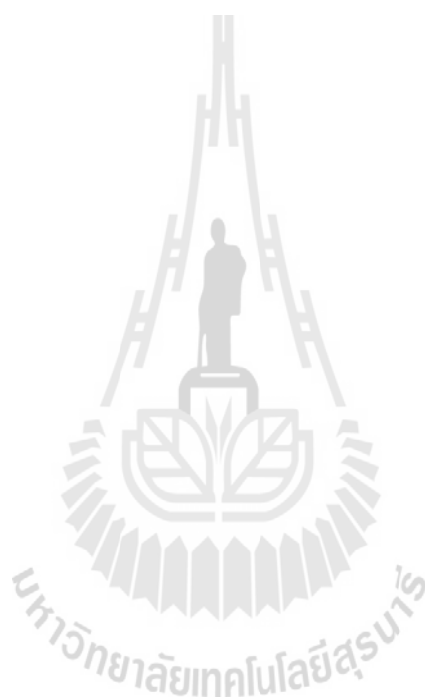
ใช้เซลล์มีชีวิต อีกทั้งใช้ปริมาณของเซลล์มากกว่าเซลล์มีชีวิต การดูดซับโดยใช้เซลล์เริ่มต้นสัดส่วน $4 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ ให้ประสิทธิภาพในการดูดซับสูงกว่าการใช้เซลล์ $2 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ แต่หากเทียบผลการดูดซับในรูปของปริมาณการดูดซับต่อน้ำหนักของวัสดุดูดซับแล้ว พบว่าการใช้เซลล์ที่สัดส่วน $2 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ ให้ผลดีกว่า การดูดซับเข้าสู่สมดุลในช่วงเวลาประมาณ 30 นาที เซลล์แบคทีเรียในปริมาณเท่ากันสามารถดูดซับโลหะหนักในสารละลายที่มีความเข้มข้นของสารประกอบโลหะ $500 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ได้ดีกว่าที่ความเข้มข้น $250 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ค่า pH ของสารละลายโลหะหนักที่เหมาะสมมากที่สุดในการดูดซับด้วยเซลล์ตายของแบคทีเรียทั้งสองสายพันธุ์คือ 7 รองลงมาเป็น 5.5 และ 4 ตามลำดับ

3.6 เอกสารอ้างอิง

- Aksu, Z., and Isoglu, I.A. (2005). Removal of copper (II) ions from aqueous solution by biosorption onto agricultural waste sugar beet pulp. **Process Biochemistry**. 40: 3031-3044.
- Bhattacharya, A.K., Mandal, S.N., and Das, S.K. (2006). Adsorption of Zn (II) from aqueous solution by using difference adsorbents. **Chemical Engineering Journal**. 123: 43-51.
- Chaichalearm, S. 2006. Cadmium removal by immobilized and free cell of cyanobacteria in a batch system. **Master's thesis Mahidol University**.
- Chojnacka, K. (2010). Biosorption and bioaccumulation. **Environmental International**. 36: 299 – 307.
- Chen, X.C., Wang, Y.P., Lin, Q., Shi, J.Y., Wu, W.X., and Chen, Y.X. (2005). Biosorption of copper(II) and zinc(II) from aqueous solution by *Pseudomonas putida* CZ1. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**. 46: 101–107.
- Demirbas, E., Kobya, M., Senturk, E., and Ozkan, T. (2003). Adsorption kinetics for the removal of chromium (VI) from aqueous solutions on the activated carbons prepared from agricultural wastes. **Water SA**. 30: 533-540.
- Donmez, G., and Aksu, Z. (2002). Removal of chromium (VI) from saline wastewater by *Dunaliella species*. **Process Biochemistry**. 38: 751-762.
- Friis, N., and Myers-Keith, P. (1986). Biosorption of uranium and lead by *Streptomyces longwoodensis*. **Biotechnology and Bioengineering**. 28: 21-28.
- Gadd, M. G., White, C., and Derome, L. (1998). **Biohydrometallurgy**. n.p.: UK.
- Galun, M. (1987). Removal of metal ions from aqueous solutions by *Pencillium* biomass: Kinetic and uptake parameters. **Water, Air and Soil Pollution**. 33: 359-371.

- Ho, Y. S., and McKay, G. (1999). Pseudo-second order model for sorption process. **Process Biochemistry**. 34: 451-465.
- Kumar, P. S., and Kirthika, K. (2009). Equilibrium and kinetic study of adsorption of nickel from aqueous solution onto beal tree leaf powder. **Journal of Engineering Science and Technology**. 4: 351-363.
- Madacha, V. (2006). Kinetics of biosorption of heavy metals by *Caulerpa lentillifera*. **Master's thesis, Chulalongkorn University**.
- Mohamad, O.A., Hao, X., Xie, P., Hatab, S., Lin, Y., and Wei, G. (2012). Biosorption of copper (II) from aqueous solution using non-living *Mesorhizobium amorphae* strain CCNWGS0123. **Microbe and environments**. 27: 234-241.
- Parameswari, E., Lakshmanan, A., and Thilagavathi, T. (2009). Biosorption of chromium (VI) and nickel (II) by bacterial isolates from an aqueous solution. **Electronic Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry**. 8: 150-156.
- Sag, Y., and Kutsal, T. (1989). The use of *Zoogloea ramigera* in waste water treatment containing Cr(VI) and Cd(II) ions. **Biotechnology Letters**. 17: 551-556.
- Schiewer, S., and Volesky, B. (2000). **Environmental Microbe-Metal Interactions**. ASM Press. New York.
- Sivaprakash, A., Aravindhan, R., Raghavarao, J., and Unnainair, B. (2007). Kinetics and equilibrium studies on the biosorption of hexavalent chromium from aqueous solutions using *Bacillus subtilis* biomass. **Applied Ecology and Environmental Research**. 7: 45-57.
- Tangaromsuk, J., Pokethitiyook, P., and Kruatrachue, M. (2002). Cadmium biosorption by *Sphingomonas paucimobilis* biomass. **Bioresource Technology**. 85: 103-105.
- Tunali, S., Cabuk, A., and Akar, T. (2006). Removal of lead and copper ions from aqueous solutions by bacterial strain isolated from soil. **Chemical Engineering Journal**. 115: 203-211.
- Veglio, F., and Beolchini, F. (1997). Removal of metals by biosorption: a review. **Hydrometallurgy**. 44: 301-316.
- Vijayaraghavan, K., and Yun, Y.S. (2008). Bacterial biosorbents and biosorption. **Biotechnology Advances**. 26: 266-291.
- Volesky, B. (2007). Biosorption and me. **Water Research**. 41: 4017-4029.

Yao, Z.Y., Qi, J.H., and Wang, L.H. (2010). Equilibrium, kinetic and thermodynamic studies on the biosorption of Cu (II) on to chestnut shell. **Journal of Hazardous Materials**. 174: 137-143.



บทที่ 4

สมดุลของการดูดซับทางชีวภาพ

4.1 บทคัดย่อ

ทำการศึกษาแบบจำลองสมดุลการดูดซับที่อุณหภูมิคงที่ (adsorption isotherm model) ของการดูดซับโลหะทองแดง และสังกะสีที่ละลายในสารละลายน้ำด้วย *R. boonkerdii* sp. nov. strain NS20 และ *Bradyrhizobium* sp. strain DOA9 ที่ไม่มีชีวิต เพื่อหาสภาวะสมดุลของการดูดซับ การทดสอบสมดุลของการดูดซับทำได้โดยใช้เซลล์แห้งในสัดส่วน $2 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ เป็นวัสดุดูดซับในสารละลายโลหะทองแดง และสังกะสีที่มีความเข้มข้นของสารประกอบโลหะเท่ากับ 80 100 200 250 300 400 และ $500 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ค่า pH ของสารละลายโลหะหนักเท่ากับ 7 ใช้เวลาในการดูดซับ 24 ชั่วโมง ซึ่งเป็นเวลาที่กระบวนการดูดซับเข้าสู่สภาวะสมดุลดังที่ได้ทดสอบแล้วในบทที่ 3 จากนั้นหาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณของโลหะหนักที่ละลายในของเหลวที่สมดุล กับปริมาณโลหะหนักที่ถูกดูดซับโดยวัสดุดูดซับ หลังจากนั้นศึกษาความสัมพันธ์ดังกล่าวในเชิงปริมาณโดยการแปรผลการทดลองด้วยแบบจำลองสมดุลการดูดซับของแลงมัวร์ และแบบจำลองสมดุลการดูดซับของฟรอนด์ลิช เพื่อหาค่าคงที่สมดุลการดูดซับ และค่าคงที่ต่างๆซึ่งบอกคุณลักษณะของระบบการดูดซับที่สมดุล จากผลการทดสอบได้แสดงให้เห็นว่า ปริมาณโลหะหนักที่ถูกดูดซับที่สมดุลมีค่าเพิ่มขึ้นตามปริมาณความเข้มข้นของโลหะหนักที่อยู่ในสารละลาย แต่จะมีแนวโน้มคงที่เมื่อความเข้มข้นของโลหะหนักในสารละลายเพิ่มขึ้นถึงค่าหนึ่ง ค่าคงที่สมดุลการดูดซับที่ได้จากแบบจำลองสมดุลการดูดซับของแลงมัวร์แสดงให้เห็นว่า การดูดซับเกิดขึ้นได้ดีเฉพาะการดูดซับทองแดงด้วย *Bradyrhizobium* sp. strain DOA9 เท่านั้น ส่วนค่าคงที่สมดุลการดูดซับที่ได้จากแบบจำลองสมดุลการดูดซับของฟรอนด์ลิชให้ผลการคำนวณที่ถูกต้องกว่า นั่นคือวัสดุดูดซับทั้งสองชนิดมีประสิทธิภาพที่สูงในการดูดซับโลหะทองแดง ซึ่งเป็นผลที่ตรงกับผลการทดสอบ และจากค่าประเมินความถูกต้องของแบบจำลองทั้งค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ และค่าโคสแควร์ ต่างแสดงให้เห็นว่าผลการทดลองที่ได้เป็นไปตามแบบจำลองสมดุลการดูดซับของฟรอนด์ลิช

4.2 บทนำ

ในกระบวนการดูดซับนั้น ตัวถูกละลายหรือไอออนของโลหะหนักเคลื่อนที่ไปเกาะบนผิวของวัสดุดูดซับ โดยที่อัตราการเกาะของตัวถูกละลาย (adsorption) มากกว่าอัตราการคายการดูดซับ (desorption) ทำให้ความเข้มข้นของตัวถูกละลายที่ผิวของวัสดุดูดซับเพิ่มสูงขึ้น จนกระทั่งได้ค่าการดูดซับที่ค่าหนึ่ง หลังจากนั้นอัตราการดูดซับ และอัตราการคายการดูดซับมีค่าเท่ากัน หรืออัตราการดูดซับสุทธิเป็นศูนย์ สภาวะดังกล่าวเรียกว่า การเกิดสมดุลของการดูดซับ แม้ว่าไอออนของโลหะหนักยังคงมีการถ่ายโอนระหว่างวัสดุดูดซับกับของเหลวอยู่ แต่ความเข้มข้นของโลหะหนักบนผิวของวัสดุดูดซับ และในสารละลายจะไม่เปลี่ยนแปลง

สมดุลของการดูดซับทางชีวภาพแปรไปตามชนิดของวัสดุดูดซับ ชนิดของตัวถูกละลาย ความเข้มข้นของตัวถูกละลาย และอุณหภูมิของระบบการดูดซับ สมดุลของการดูดซับแสดงให้เห็นถึงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณของโลหะหนักที่ถูกดูดซับต่อหน่วยน้ำหนักของวัสดุดูดซับ (q) ความเข้มข้นของโลหะหนักที่อยู่ในสารละลายที่สภาวะสมดุล (C_e) และอุณหภูมิสมดุลของระบบดูดซับ (T) แบบจำลองสมดุลการดูดซับจึงจำแนกออกเป็น 3 ประเภท ตามชนิดของตัวแปรที่ควบคุมให้คงที่ ดังนี้

สมดุลการดูดซับที่อุณหภูมิคงที่ (adsorption isotherm) เป็นแบบจำลองการดูดซับแสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณของตัวถูกละลายที่ถูกดูดซับต่อหน่วยน้ำหนักของวัสดุดูดซับ (q) กับความเข้มข้นของตัวถูกละลายที่อยู่ในสารละลายที่สภาวะสมดุล (C_e) ณ อุณหภูมิของระบบดูดซับที่กำหนดไว้

สมดุลการดูดซับที่ความเข้มข้น (หรือความดัน) คงที่ (adsorption isobar) เป็นแบบจำลองการดูดซับแสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณของตัวถูกละลายที่ถูกดูดซับต่อหน่วยน้ำหนักของวัสดุดูดซับ (q) กับอุณหภูมิสมดุลของระบบดูดซับ ณ ความเข้มข้นสมดุล (C_e) ของตัวถูกละลายในของเหลวที่กำหนดไว้

สมดุลการดูดซับที่ปริมาณสมดุลดูดซับจำเพาะคงที่ (adsorption isostere) เป็นแบบจำลองแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของตัวถูกละลายที่อยู่ในสารละลายที่สภาวะสมดุล (C_e) กับอุณหภูมิสมดุลของระบบดูดซับ ณ ปริมาณของตัวถูกละลายที่ถูกดูดซับต่อหน่วยน้ำหนักของวัสดุดูดซับ (q) คงที่

แม้ว่าการดูดซับเป็นปรากฏการณ์ที่มีความร้อนจากการเกิดอัตรกิริยาการดูดซับ แต่ความร้อนที่เกิดขึ้นมีปริมาณน้อยมาก และสามารถระบายออกจากระบบของการดูดซับได้ได้ง่าย อุณหภูมิของระบบการดูดซับจึงเปลี่ยนแปลงน้อย ด้วยเหตุนี้จึงนิยามหาค่าสมดุลของการดูดซับที่อุณหภูมิคงที่ใดๆ

เมื่อสร้างความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณของโลหะหนักที่ถูกดูดซับต่อหน่วยน้ำหนักของวัสดุดูดซับ (q_e) กับความเข้มข้นของตัวถูกละลายที่อยู่ในสารละลายที่สภาวะสมดุล (C_e) ณ อุณหภูมิคงที่ใดๆ มักจะได้ลักษณะของกราฟที่เป็นเส้นโค้ง การอธิบายไอโซเทอมของการดูดซับนิยมเปลี่ยนเส้นโค้งให้อยู่ในรูปเส้นตรง เพื่อคำนวณหาค่าคงที่ต่างๆ ซึ่งเป็นค่าที่ใช้อธิบายพฤติกรรมของการดูดซับตามแบบจำลองนั้นๆ โดยแบบจำลองที่ได้ถูกสร้างขึ้นเพื่อใช้อธิบายปรากฏการณ์การดูดซับนั้นมีหลายแบบ ซึ่งเป็นการสร้างสมการขึ้นจากสมมติฐานที่แตกต่างกัน แบบจำลองที่นิยมในการใช้อธิบายการดูดซับทางชีวภาพคือ แบบจำลองการดูดซับของเฮนรี (Henry adsorption isotherm) แบบจำลองการดูดซับของแลงมัวร์ (Langmuir adsorption isotherm) และแบบจำลองการดูดซับของฟรอนด์ลิช (Freundlich adsorption isotherm)

4.2.1 แบบจำลองการดูดซับของเฮนรี

แบบจำลองนี้เหมาะกับระบบดูดซับที่มีความเข้มข้นของไอออนโลหะหนักต่ำๆ ปริมาณของโลหะหนักที่ถูกดูดซับต่อหน่วยน้ำหนักของวัสดุดูดซับ (q_e) แปรผันเป็นสัดส่วนกับความเข้มข้นของตัวถูกละลายที่สภาวะสมดุล (C_e) ดังนี้

$$q_e = k_H C_e \quad (4.1)$$

ปริมาณโลหะหนักที่ถูกดูดซับต่อกรัมของวัสดุดูดซับ (q_e) สามารถหาได้จาก

$$q_e = \frac{V(C_o - C_e)}{W} \quad (4.2)$$

โดยที่ C_o คือ ค่าความเข้มข้นของโลหะหนักเริ่มต้นในสารละลาย (mg.L^{-1})

C_e คือ ค่าความเข้มข้นของโลหะหนักที่สมดุลในสารละลาย (mg.L^{-1})

V คือ ปริมาตรของสารละลาย (L)

W คือ น้ำหนักของวัสดุดูดซับ (g)

k_H คือ ค่าคงที่สมดุลการดูดซับของเฮนรี ซึ่งเป็นพารามิเตอร์เดียวของแบบจำลองสมดุลการดูดซับแบบเจือจาง

เมื่อปริมาณโลหะหนักในระบบสูงขึ้น อาจมีผลให้ปริมาณโลหะหนักที่ถูกดูดซับต่อหน่วยน้ำหนักของวัสดุดูดซับ หรือ q_e มีค่าเพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อย และมีแนวโน้มเข้าสู่ปริมาณสมดุลการดูดซับ หรือ q_e อาจเพิ่มมากขึ้นอย่างไร้ขีดจำกัด ซึ่งจะทำให้แบบจำลองสมดุลการดูดซับ

ของเฮนรีไม่สามารถใช้อธิบายได้อย่างถูกต้อง จึงได้มีการพัฒนาแบบจำลองสมดุลการดูดซับเส้นโค้งชนิดต่างๆ เพื่อให้สามารถคำนวณค่า q_e ที่มีความเข้มข้นของตัวถูกละลายสูงๆ ได้ อย่างถูกต้องมากขึ้น

4.2.2 แบบจำลองการดูดซับของแลงมัวร์

ในปี ค.ศ. 1916 Irving Langmuir ได้เสนอแบบจำลองสมดุลการดูดซับอย่างง่าย โดยแบบจำลองนี้พัฒนามาจากแนวคิดที่ว่า เมื่อความเข้มข้นของตัวถูกละลายเพิ่มขึ้น จำนวนตัวถูกละลายที่ถูกจับกับตำแหน่งว่างบนผิวของวัสดุดูดซับ (active site) ก็จะมากขึ้น นั่นคือ อัตราการดูดซับขึ้นกับความเข้มข้นของสารถูกละลายกับสัดส่วนพื้นที่ผิวที่ว่างของตัวดูดซับ ส่วนอัตราการคายสารถูกละลายขึ้นกับปริมาณสัดส่วนพื้นที่ผิวของวัสดุดูดซับที่ดูดซับตัวถูกละลายไว้ การดูดซับจึงเกิดขึ้นเพียงชั้นเดียว (monolayer) สมมติฐานของการดูดซับมีดังนี้ (1) การดูดซับมีลักษณะเป็นแบบชั้นเดียว คือ มีจำนวนตำแหน่งที่เกิดการดูดซับแน่นอน และเมื่อเกิดการดูดซับแล้ว ไอออนหรือโมเลกุลจะไม่ซ้อนทับซึ่งกันและกัน (2) เมื่อเกิดการดูดซับ ตัวถูกละลายจะไม่มีการเคลื่อนย้าย หรือเปลี่ยนตำแหน่งกันในพื้นที่ผิวสัมผัส และตัวถูกละลายจะไม่มีผลกระทบต่อกัน และ (3) การดูดซับมีกลไกเหมือนกันที่ทุกตำแหน่งบนพื้นที่ผิวของวัสดุดูดซับ

ถ้าให้ A แทนโมเลกุลของตัวถูกละลาย และ S แทนตำแหน่งแอคทีฟไซต์ (active site) ที่ว่างอยู่บนผิวของวัสดุดูดซับ และ SA แทนโมเลกุลของตัวถูกละลายบนแอคทีฟไซต์ สามารถเขียนสมดุลของการดูดซับได้ดังนี้



สัดส่วนของพื้นที่ผิวที่ถูกปกคลุมด้วยโมเลกุลที่ถูกดูดซับ หรือ θ หาได้จาก

$$\theta = \frac{q}{q_{max}} \quad (4.4)$$

โดยที่ q คือ ปริมาณโลหะหนักที่ถูกดูดซับต่อกรัมของวัสดุดูดซับ ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$)

q_{max} คือ ปริมาณโลหะหนักสูงสุดที่ถูกดูดซับต่อกรัมของวัสดุดูดซับ ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$)

อัตราการดูดซับต่อหน่วยพื้นที่ผิวทั้งหมด (rate of adsorption, r_{ax}) หาได้จาก

$$r_{ax} = k_a C_e (1 - \theta) \quad (4.5)$$

โดยที่ k_d คือ ค่าคงที่ของการดูดซับ ($\text{mg}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$)

C_e คือ ค่าความเข้มข้นของสารละลายที่สมดุล ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)

อัตราการคายการดูดซับต่อหน่วยพื้นที่ผิวทั้งหมด (rate of desorption, r_{dx}) หาได้จาก

$$r_{dx} = k_d \theta \quad (4.6)$$

โดยที่ k_d คือ ค่าคงที่ของการคายการดูดซับ ($\text{mg}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}$)

เมื่อเกิดสถานะสมดุล นั่นคืออัตราการดูดซับมีค่าเท่ากับอัตราการคายการดูดซับ ดังนั้นจึงเขียนเป็นสมการได้ว่า

$$k_a C_e (1 - \theta) = k_d \theta \quad (4.7)$$

กำหนดให้ $k_L = \frac{k_a}{k_d}$ คือค่าคงที่สมดุลการดูดซับของแลงมัวร์ ($\text{L}\cdot\text{mg}^{-1}$) สามารถเขียนสมการ (4.7) ได้ใหม่ดังนี้

$$\frac{\theta}{1 - \theta} = \frac{k_a C_e}{k_d} = k_L C_e \quad (4.8)$$

หรือ

$$\theta = \frac{k_L C_e}{1 + k_L C_e} \quad (4.9)$$

จาก $\theta = \frac{q}{q_{max}}$ จะได้

$$\frac{q}{q_{max}} = \frac{k_L C_e}{1 + k_L C_e} \quad (4.10)$$

หรือจัดเรียงใหม่เป็น

$$q = \frac{q_{max} k_L C_e}{1 + k_L C_e} \quad (4.11)$$

ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณโลหะหนักที่ถูกดูดซับต่อกรัมของวัสดุดูดซับ (q) กับความเข้มข้นที่สมดุลของตัวถูกดูดซับ (C_e) มีลักษณะเป็นเส้นโค้งว่า นั่นคือ ปริมาณโลหะหนักที่ถูกดูดซับต่อกรัมของวัสดุดูดซับเพิ่มขึ้นน้อยกว่าการเพิ่มความเข้มข้นของโลหะหนักที่สมดุล และปริมาณโลหะหนักที่ถูกดูดซับต่อกรัมของวัสดุดูดซับจะเข้าสู่ปริมาณการดูดซับโลหะหนักสูงสุด (q_{max}) เมื่อความเข้มข้นของตัวถูกดูดซับเพิ่มขึ้นสูงมากๆ

สมการ (4.11) สามารถเขียนให้อยู่ในรูปความสัมพันธ์เชิงเส้นได้ดังสมการ (4.12) ดังนี้

$$\frac{1}{q} = \frac{1}{k_L q_{max} C_e} + \frac{1}{q_{max}} \quad (4.12)$$

เมื่อสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่าง $1/q$ และ $1/C_e$ สามารถหาค่าคงที่ q_{max} และ k_L ได้จากค่าจุดตัดแกนตั้งและความชันของเส้นตรง ตามลำดับ

เมื่อความเข้มข้นของสารถูกดูดซับในของเหลวลดลงเหลือน้อยมากๆ หรือระบบดูดซับดังกล่าวมีลักษณะคล้ายกับระบบดูดซับสารเจือจาง จะทำให้แบบจำลองสมดุลการดูดซับของแลงมัวร์เปลี่ยนเป็นแบบจำลองสมดุลการดูดซับของเฮนรี ดังนี้

$$\lim_{C \rightarrow 0} q = \lim_{C \rightarrow 0} \left(\frac{q_{max} k_L C_e}{1 + k_L C_e} \right) = q_{max} k_L C_e \quad (4.13)$$

โดยที่ค่าคงที่สมดุลการดูดซับของเฮนรี (k_H) คือผลคูณของปริมาณโลหะหนักสูงสุดที่ถูกดูดซับต่อกรัมของวัสดุดูดซับ (q_{max}) กับค่าคงที่สมดุลการดูดซับของแลงมัวร์ (k_L)

4.2.3 แบบจำลองการดูดซับของฟรุนด์ลิช

ในปี ค.ศ. 1907 นักเคมี-ฟิสิกส์ ชาวเยอรมันชื่อ Herbert Max Finlay Freundlich ได้สร้างความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณโลหะหนักที่ถูกดูดซับต่อกรัมของวัสดุดูดซับ (q_e) กับค่าความเข้มข้นของสารละลายที่สมดุล (C_e) เพื่ออธิบายระบบการดูดซับที่ไม่เป็นไปตามอุดมคติ โดยการดูดซับไม่ได้เกิดขึ้นเพียงชั้นเดียว และพื้นผิวของวัสดุดูดซับเป็นแบบไม่ต่อเนื่อง

หากพิจารณาอัตราการเกิดปฏิกิริยาอันดับใดๆของการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นสามารถเขียนเป็นสมการได้ว่า

$$\frac{dC}{dt} = kC^n \quad (4.14)$$

เมื่อ C คือความเข้มข้น n คืออันดับของปฏิกิริยา และ k คือค่าคงที่ของปฏิกิริยาอันดับ n เมื่อพิจารณาสมการ (4.14) ทั้งในรูปของสมการไปข้างหน้า (การดูดซับ) และสมการย้อนกลับ (การคายการดูดซับ) จะได้ดังสมการ (4.15)

$$\frac{dC}{dt} = -k_1 C^{n_1} + k_2 q^{n_2} \quad (4.15)$$

ที่สมดุลอัตราการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นคงที่ นั่นคืออัตราการดูดซับและคายการดูดซับมีค่าเท่ากัน ดังนั้นจะได้ว่า

$$q_e = \left(\frac{k_1}{k_2} \right)^{1/n_2} C_e^{n_1/n_2} \quad (4.16)$$

หรือ

$$q_e = k_F C_e^n \quad (4.17)$$

โดยที่ q_e คือ ปริมาณโลหะหนักที่ถูกดูดซับต่อกรัมของวัสดุดูดซับ ($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)

n คือ ดัชนีชี้กำลัง เท่ากับ n_1/n_2

C_e คือ ค่าความเข้มข้นของสารละลายที่สมดุล

k_F คือ ค่าคงที่สมดุลการดูดซับของฟรอนด์ลิช เท่ากับ $(k_1/k_2)^{1/n_2}$

แบบจำลองของฟรอนด์ลิชตั้งอยู่บนสมมติฐานที่ว่า พื้นผิวของวัสดุดูดซับไม่เป็นเนื้อเดียวกัน (heterogeneous surface) และเป็นการดูดซับที่มีพื้นที่ผิวการดูดซับหลายชั้น ดังนั้นความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณโลหะหนักที่ถูกดูดซับต่อกรัมของวัสดุดูดซับ (q) กับความเข้มข้นของสารละลายที่สมดุล (C_e) จึงเป็นไปได้ทั้งในลักษณะของเส้นตรง โค้งคว่ำ หรือ โค้งหงาย ซึ่งบ่งบอกด้วยค่าดัชนีชี้กำลัง (n) หากมีค่ามากกว่า 1 แบบจำลองสมดุลการดูดซับของฟรอนด์ลิชมีลักษณะเป็นเส้นโค้งคว่ำ แต่เมื่อดัชนีชี้กำลังมีค่าน้อยกว่า 1 แบบจำลองสมดุลการดูดซับของฟรอนด์ลิชมีลักษณะ

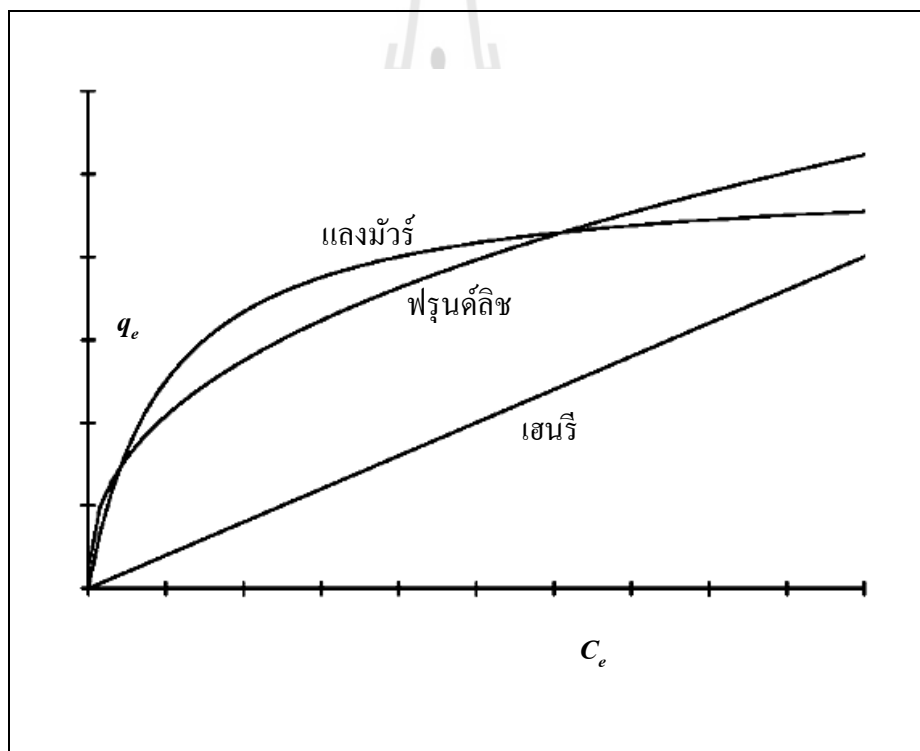
เป็นเส้นโค้งสมดุลการดูดซับชนิดหงาย และแบบจำลองสมดุลการดูดซับของฟรุนด์ลิชมีลักษณะคล้ายกับแบบจำลองสมดุลการดูดซับของเฮนรีเมื่อดัชนีชี้กำลังมีค่าใกล้เคียง 1

สมการ (4.17) สามารถเปลี่ยนให้อยู่ในรูปของสมการเส้นตรงได้ดังนี้

$$\ln q_e = \ln k_F + n \ln C_e \quad (4.18)$$

เมื่อสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่าง $\ln q_e$ และ $\ln C_e$ ทำให้สามารถหาค่าคงที่สมดุลการดูดซับของฟรุนด์ลิชและดัชนีชี้กำลังได้

รูปที่ 4.1 แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง C_e และ q_e ของแบบจำลองสมดุลการดูดซับทั้งสามแบบ



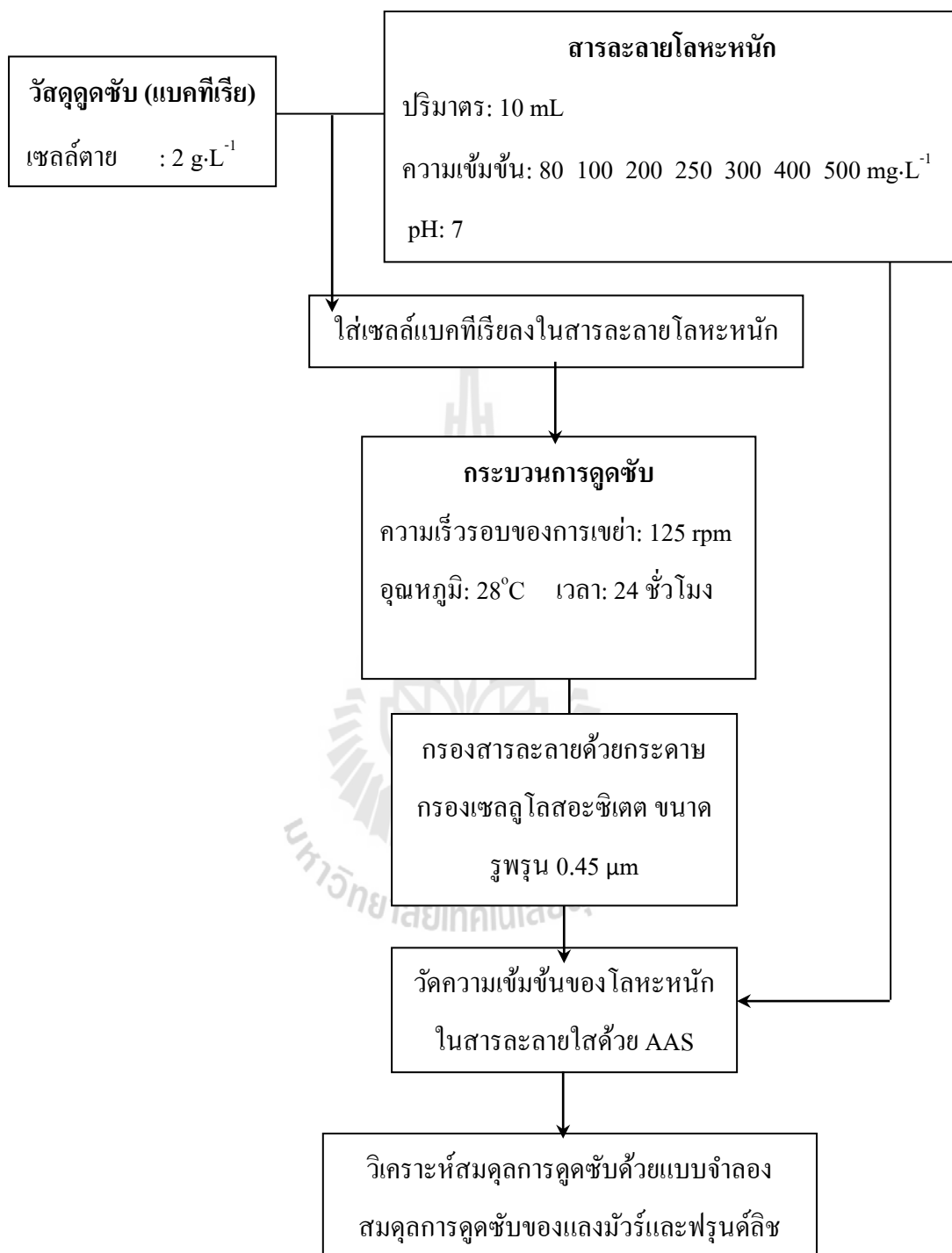
รูปที่ 4.1 แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง C_e และ q_e ของแบบจำลองสมดุลการดูดซับของเฮนรี แลงมัวร์ และฟรุนด์ลิช

4.3 วิธีการดำเนินงานวิจัย

ใส่เซลล์ *R. boonkerdii* sp. nov. strain NS20 และ *Bradyrhizobium* sp. strain DOA9 ที่อยู่ในรูปของเซลล์ตายที่บดเป็นผงละเอียดด้วยสัดส่วน $2 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ ในสารละลายโลหะทองแดง และสังกะสีที่มีความเข้มข้นของสารประกอบโลหะทั้งสองเท่ากับ 80, 100, 200, 250, 300, 400 และ $500 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ปริมาตร 10 mL โดยทำความเข้มข้นละ 3 ชั่วโมง จากนั้นเขย่าสารละลายโลหะหนักบนเครื่องเขย่าที่อุณหภูมิ 28°C ด้วยความเร็ว 125 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วจึงแยกเซลล์ออกจากสารละลายด้วยการกรองด้วยตัวกรองขนาดรูพรุน $0.45 \mu\text{m}$ นำสารละลายที่ผ่านการกรองไปวัดปริมาณโลหะหนักภายหลังกระบวนการดูดซับ (C_e) แล้วคำนวณปริมาณโลหะที่ถูกดูดซับที่สมดุลด้วยสมการที่ (2.1) หลังจากนั้นทำการวิเคราะห์สมดุลของการดูดซับด้วยแบบจำลองสมดุลการดูดซับของแลงมัวร์และแบบจำลองสมดุลการดูดซับของฟรุนด์ลิช



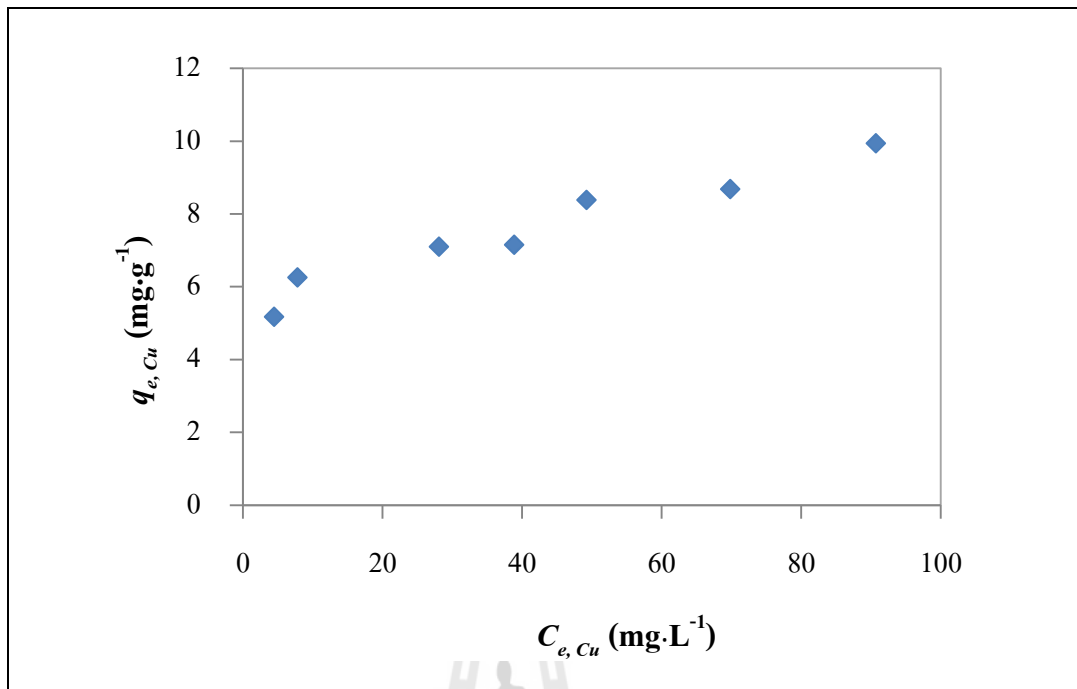
4.3.1 แผนภาพการดำเนินงานวิจัย



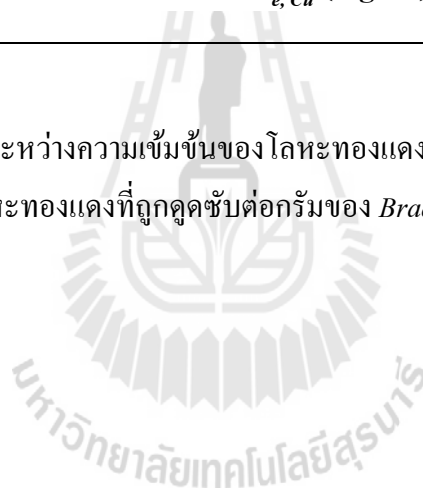
4.4 ผลการทดลองและการอภิปรายผล

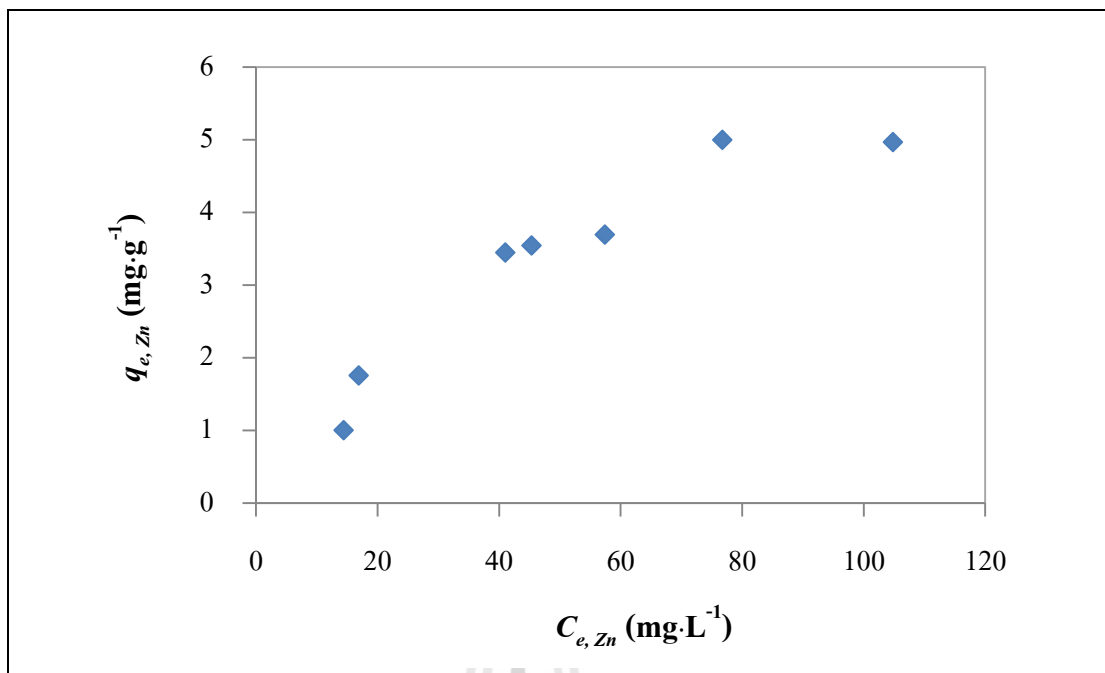
การศึกษาสมดุลของการดูดซับเป็นการหาการกระจายตัวของสารถูกดูดซับ (ไอออนของโลหะหนัก) ในวัสดุดูดซับ และสารละลายของเหลวที่อุณหภูมิคงที่ใดๆ ซึ่งแสดงในรูปของความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของโลหะหนักในสารละลายที่สมดุล (C_e) กับปริมาณของโลหะหนักที่ถูกดูดซับต่อกรัมของวัสดุดูดซับ (q_e) โดยคำนวณค่า q_e ได้จากสมการที่ (4.1) แบบจำลองสมดุลของการดูดซับถูกสร้างขึ้นมาหลายรูปแบบด้วยกันเพื่ออธิบายสมดุลของการดูดซับ ซึ่งแต่ละรูปแบบนั้นถูกสร้างขึ้นมาจากสมมติฐานที่แตกต่างกัน แต่แบบจำลองที่นิยมใช้เพื่ออธิบายสมดุลของการดูดซับทางชีวภาพในระบบที่มีสารถูกดูดซับ 1 ชนิดมี 2 รูปแบบด้วยกัน นั่นคือ แบบจำลองการดูดซับของแลงมีวัวร์ และแบบจำลองการดูดซับของฟรุนด์ลิช ซึ่งผลการทดลองการดูดซับทางชีวภาพส่วนใหญ่สอดคล้องกับแบบจำลองทั้งสองดังกล่าว

ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของโลหะทองแดง และสังกะสีในสารละลายที่สมดุล (C_e) กับปริมาณของโลหะหนักที่ถูกดูดซับต่อกรัมของวัสดุดูดซับ (q_e) แสดงในรูปที่ 4.2 ถึง 4.5 วัสดุดูดซับใช้ในรูปแบบของเซลล์ตายที่ถูกบดให้เป็นผงละเอียด โดยใช้ปริมาณของวัสดุดูดซับในสัดส่วน $2 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ เท่ากันในทุกๆ ความเข้มข้นของสารละลายโลหะหนัก ความเข้มข้นของโลหะทองแดง และสังกะสีในสารละลายถูกเตรียมขึ้นให้อยู่ในช่วง $10\text{-}120 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ และควบคุม pH ของสารละลายโลหะหนักเท่ากับ 7 ซึ่งเป็นค่าที่ผ่านการทดสอบแล้วว่ามีประสิทธิภาพในการดูดซับสูงที่สุด การทดลองนี้ใช้เวลาการดูดซับ 24 ชั่วโมงเพื่อให้สามารถแน่ใจได้ว่าเกิดสมดุลของการดูดซับ ค่าความเข้มข้นที่สมดุลของโลหะหนัก และค่าความสามารถในการดูดซับโลหะหนักของเซลล์แบคทีเรียแสดงในตารางภาคผนวก ง.9 – ง.12



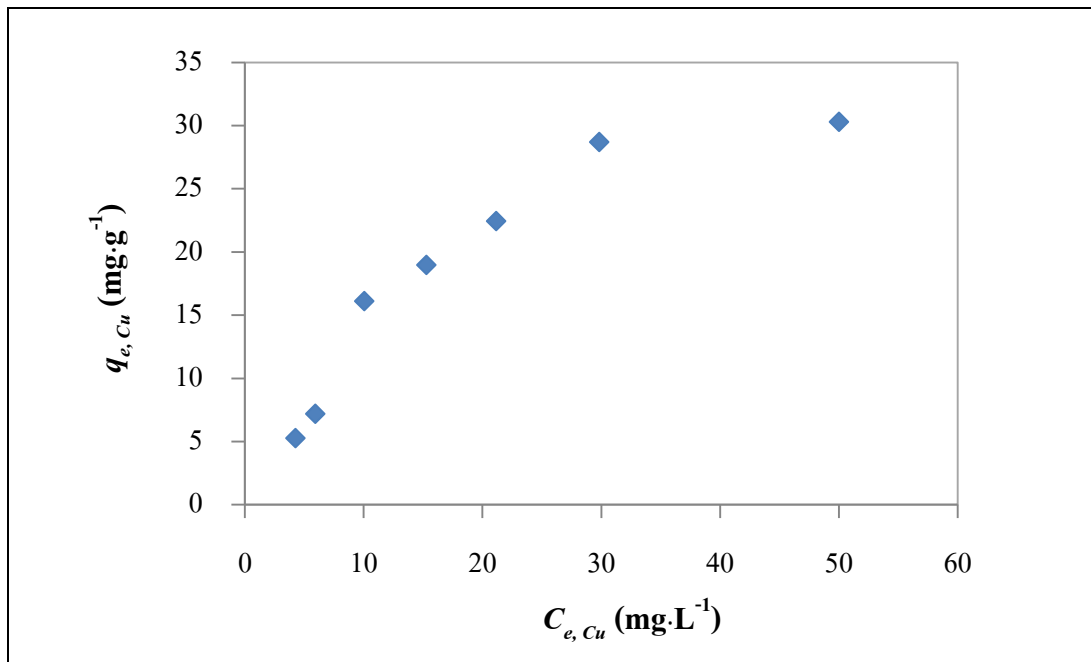
รูปที่ 4.2 ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของโลหะทองแดงในสารละลายที่สมดุล ($C_{e,Cu}$) กับ ปริมาณของโลหะทองแดงที่ถูกดูดซับต่อกรัมของ *Bradyrhizobium* sp. strain DOA9 ($q_{e,Cu}$)





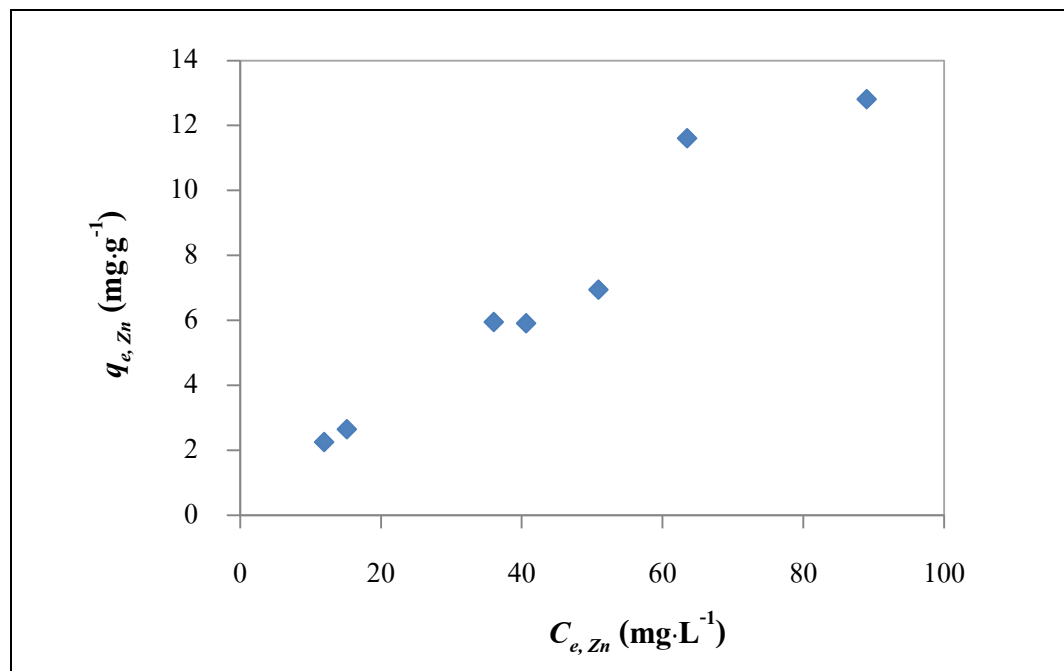
รูปที่ 4.3 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของโลหะสังกะสีในสารละลายที่สมดุล ($C_{e, Zn}$) กับปริมาณของโลหะสังกะสีที่ถูกดูดซับต่อกรัมของ *Bradyrhizobium* sp. strain DOA9 ($q_{e, Zn}$)





รูปที่ 4.4 ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของโลหะทองแดงในสารละลายที่สมดุล ($C_{e,Cu}$) กับ ปริมาณของโลหะทองแดงที่ถูกดูดซับต่อกรัมของ *R. boonkerdii* sp. nov. strain NS20 ($q_{e,Cu}$)





รูปที่ 4.5 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของโลหะสังกะสีในสารละลายที่สมดุล ($C_{e, Zn}$) กับปริมาณของโลหะสังกะสีที่ถูกดูดซับต่อกรัมของ *R. boonkerdii* sp. nov. strain NS20 ($q_{e, Zn}$)



จากกราฟซึ่งแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของโลหะในสารละลายที่สมดุลกับ ปริมาณของโลหะที่ถูกดูดซับทั้ง 4 กราฟ พบว่าปริมาณของโลหะหนักที่ถูกดูดซับเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของโลหะในสารละลายที่สมดุลเพิ่มขึ้น และมีแนวโน้มที่ปริมาณของโลหะที่ถูกดูดซับจะ คงที่ การที่วัสดุดูดซับมีแนวโน้มที่จะดูดซับโลหะได้ในปริมาณคงที่เมื่อความเข้มข้นของสารละลาย เพิ่มขึ้นถึงค่าหนึ่ง แสดงให้เห็นถึงปริมาณอิ่มตัวของวัสดุดูดซับในการดูดซับโลหะนั้นๆ และปริมาณ โลหะหนักที่ถูกดูดซับต่อกรัมของวัสดุดูดซับจะเข้าสู่ปริมาณการดูดซับโลหะหนักสูงสุด (q_{max}) เมื่อ ความเข้มข้นของตัวถูกดูดซับเพิ่มขึ้นสูงมากๆ

4.4.1 แบบจำลองสมดุลการดูดซับของแลงมัวร์

แต่เดิมนั้น แบบจำลองการดูดซับของแลงมัวร์สร้างขึ้นมาเพื่ออธิบายปรากฏการณ์ ของการดูดซับก๊าซด้วยถ่านกัมมันต์ ต่อมาได้มีการพัฒนาแบบจำลองเพื่อใช้วัดค่าความสามารถของ วัสดุดูดซับทางชีวภาพในการดูดซับโมเลกุลของสารที่ละลายในของเหลว (Langmuir, 1916; Foo และ Hameed, 2010) แบบจำลองการดูดซับของแลงมัวร์เสมือนเป็นแบบจำลองอุดมคติ (Ideal model) ตั้งอยู่บนสมมติฐานที่สำคัญคือ มีชั้นการดูดซับเพียงชั้นเดียว และผิวของวัสดุดูดซับมีจำนวน และตำแหน่งของการดูดซับที่แน่นอน สมการทางคณิตศาสตร์ที่อธิบายสมดุลของการดูดซับแสดง ดังสมการที่ (4.11) ดังนี้

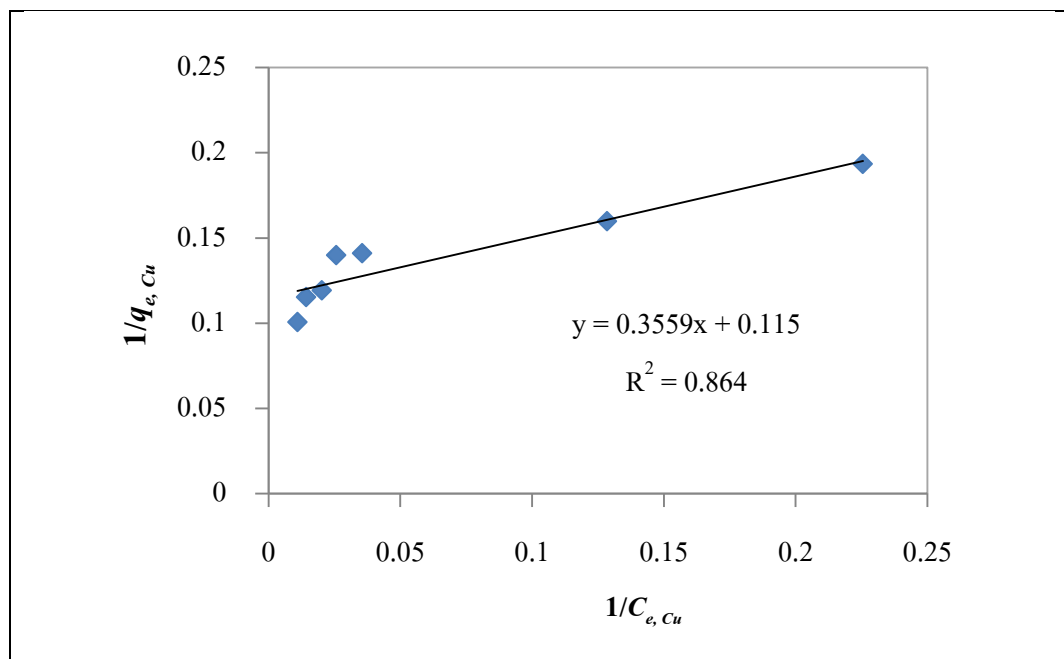
$$q = \frac{q_{max} k_L C_e}{1 + k_L C_e}$$

แบบจำลองการดูดซับของแลงมัวร์เป็นแบบจำลองการดูดซับที่มี 2 ตัวแปรที่ไม่ ทราบค่า คือ q_{max} และ k_L โดยที่ q_{max} บอกค่าความสามารถสูงสุดของวัสดุดูดซับที่สามารถดูดซับ โลหะหนักไว้ได้ ส่วน k_L คือค่าคงที่การดูดซับของแลงมัวร์ เป็นค่าที่บ่งบอกค่าความสามารถในการ ดึงดูดไอออนโลหะหนักของพื้นผิวการดูดซับ (affinity of binding site) และสัมพันธ์กับการ เปลี่ยนแปลงของพลังงานความร้อนจากการดูดซับ ($k_L \propto \exp(-\Delta H/RT)$) ด้วยเช่นเดียวกัน (Gupta และ Rastogi, 2008) ตัวแปรที่ไม่ทราบค่าทั้งสองนี้ สามารถหาได้จากการเปลี่ยนสมการที่ (4.11) ให้ อยู่ในรูปของสมการเส้นตรงดังสมการที่ (4.12) ดังนี้

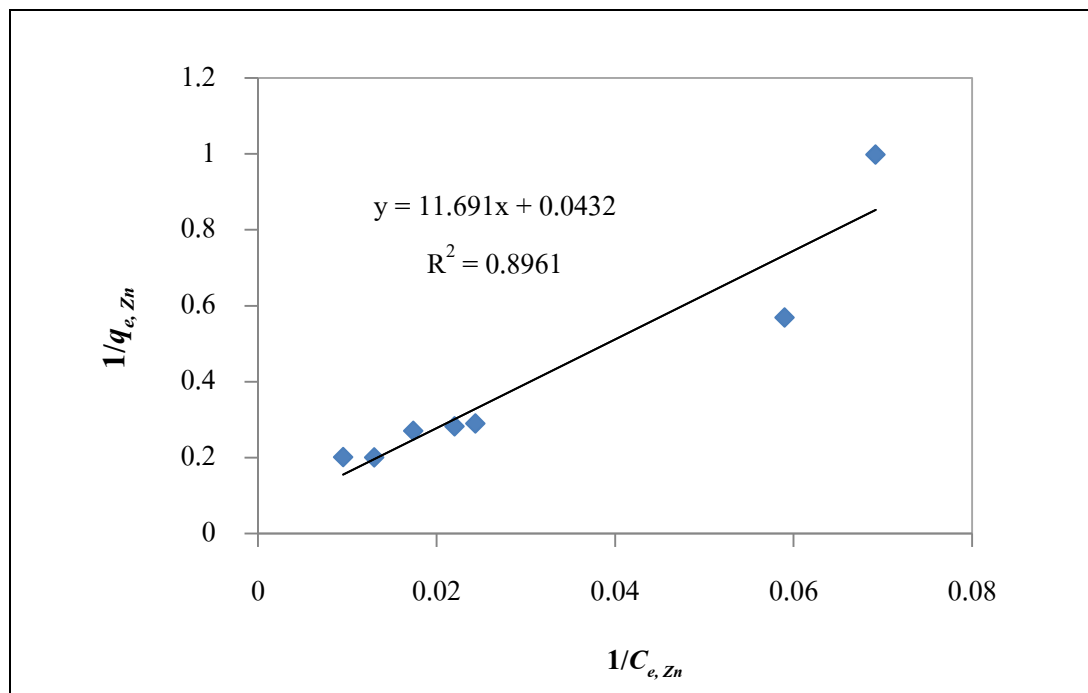
$$\frac{1}{q} = \frac{1}{k_L q_{max} C_e} + \frac{1}{q_{max}}$$

จากความชันของกราฟเส้นตรง และจุดตัดแกนตั้งของเส้นกราฟ ทำให้สามารถถอดค่าตัวแปรทั้งสองได้

จากความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของโลหะหนักในสารละลายที่สมดุล (C_e) กับปริมาณของโลหะหนักที่ถูกดูดซับต่อกรัมของวัสดุดูดซับ (q_e) ดังแสดงในรูปที่ 4.2 – 4.5 เมื่อแปรผลให้อยู่ในรูปของสมการเส้นตรงตามแบบจำลองสมดุลการดูดซับของแลงมัวร์ ดังสมการที่ (4.12) ได้แนวโน้มของเส้นกราฟ สมการเส้นตรงของเส้นกราฟ และค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (R^2) ดังแสดงในรูปที่ 4.6 – 4.9

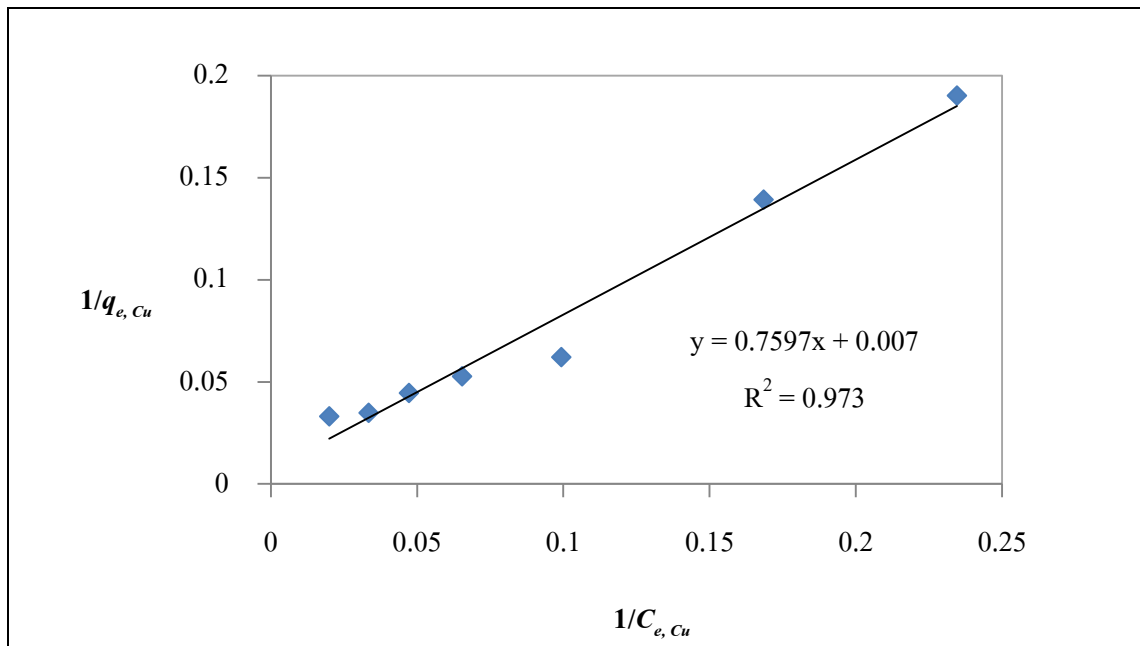


รูปที่ 4.6 แสดงความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่าง $1/C_{e,Cu}$ กับ $1/q_{e,Cu}$ ของแบบจำลองสมดุลการดูดซับของแลงมัวร์ในการดูดซับโลหะทองแดงด้วย *Bradyrhizobium* sp. strain DOA9

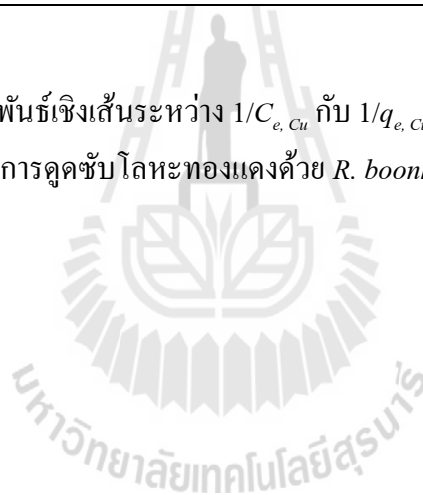


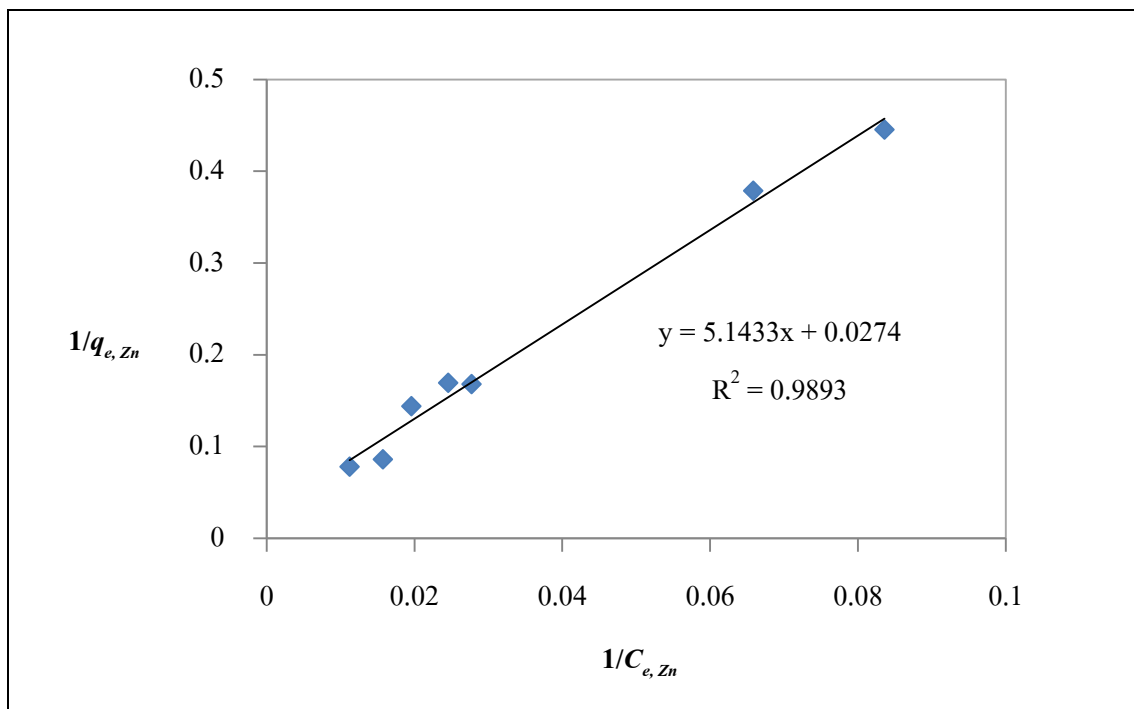
รูปที่ 4.7 แสดงความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่าง $1/C_{e,Zn}$ กับ $1/q_{e,Zn}$ ของแบบจำลองสมดุลการดูดซับของแลงมัวร์ ในการดูดซับโลหะสังกะสีด้วย *Bradyrhizobium* sp. strain DOA9





รูปที่ 4.8 แสดงความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่าง $1/C_{e,Cu}$ กับ $1/q_{e,Cu}$ ของแบบจำลองสมดุลการดูดซับของแลงมัวร์ ในการดูดซับโลหะทองแดงด้วย *R. boonkerdii* sp. nov. strain NS20





รูปที่ 4.9 แสดงความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่าง $1/C_{e,Zn}$ กับ $1/q_{e,Zn}$ ของแบบจำลองสมดุลการดูดซับของแลงมัวร์ ในการดูดซับโลหะสังกะสีด้วย *R. boonkerdii* sp. nov. strain NS20

ค่าที่คงต่างๆที่ไม่ทราบค่าจากสมการแบบจำลองสมดุลการดูดซับของแลงมัวร์ และตัวประเมินค่าความถูกต้องของแบบจำลองการดูดซับของแลงมัวร์แสดงในตารางที่ 4.1 โดยไคสแควร์ (χ^2) ที่แสดงในตารางที่ 4.1 เป็นดัชนีตัวหนึ่งที่ใช้วัดค่าความถูกต้องของแบบจำลอง ซึ่งคำนวณได้จากสมการ

$$\chi^2 = \sum \frac{(q_{e,e} - q_{e,m})^2}{q_{e,m}} \quad (4.19)$$

โดยที่ $q_{e,e}$ คือความสามารถในการดูดซับโลหะหนักที่สภาวะสมดุลที่ได้จากผลการทดลอง และ $q_{e,m}$ คือความสามารถในการดูดซับโลหะหนักที่สภาวะสมดุลที่ได้จากผลการคำนวณ หากค่าไคสแควร์มีค่าเข้าใกล้ศูนย์มากเท่าใด แสดงถึงความถูกต้องของแบบจำลองนั้น

ตารางที่ 4.1 ค่าคงที่การดูดซับและค่าประเมินความถูกต้องของแบบจำลองสมดุลการดูดซับของ แลงมัวร์

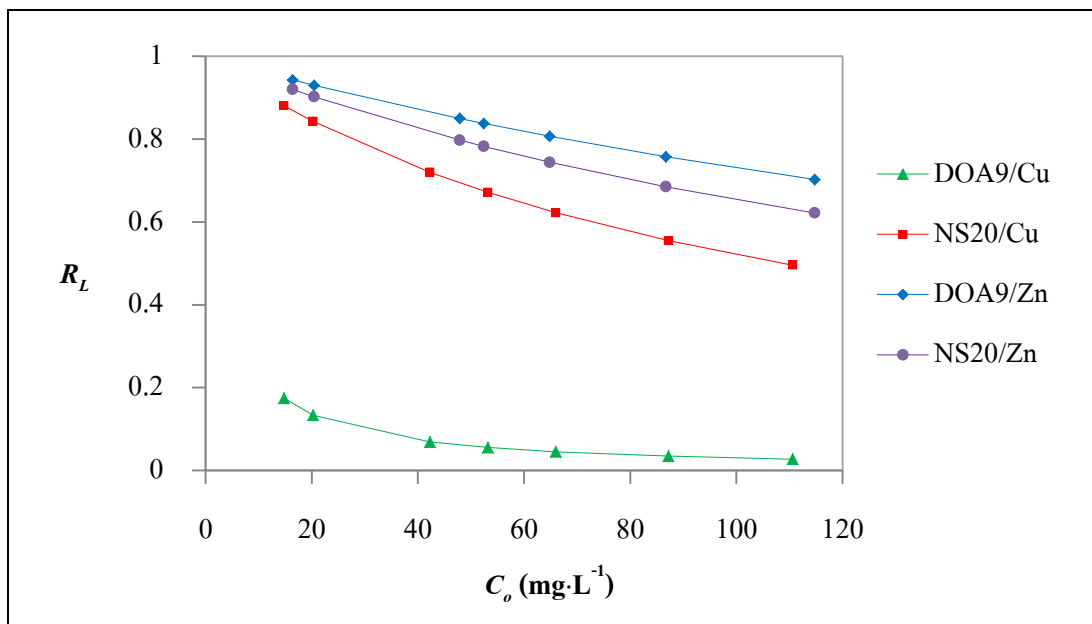
วัสดุดูดซับ/โลหะหนัก	q_{max} ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$)	k_L ($\text{L}\cdot\text{mg}^{-1}$)	R^2	χ^2
DOA9/Cu	8.70	0.3200	0.8640	0.468
DOA9/Zn	23.15	0.0098	0.8961	0.586
NS20/Cu	142.86	0.0092	0.9730	6.437
NS20/Zn	36.50	0.0053	0.9893	0.855

จากตารางที่ 4.1 พบว่าค่าความสามารถสูงสุดในการดูดซับโลหะทองแดงด้วย *R. boonkerdii* sp. nov. strain NS20 มีค่าสูงมาก เมื่อเทียบกับการดูดซับในกรณีอื่นๆ โดยมีขีดจำกัดการดูดซับโลหะทองแดงสูงถึง 142.86 mg ต่อปริมาณเซลล์แห้งของ *Rhodopseudomonas boonkerdii* sp. Nov. strain NS20 จำนวน 1 g ซึ่งเมื่อเทียบกับการดูดซับโลหะทองแดงด้วยแบคทีเรียสายพันธุ์อื่นๆ ดังแสดงในตารางที่ 2.6 แล้วพบว่าค่าที่ได้อยู่ในเกณฑ์ที่สูงมาก

Webber และ Chakkravorti (1974) ได้พัฒนาสมการการจับแรงแสมดุลการดูดซับของแลงมัวร์เพื่อบอกลักษณะของการดูดซับ เรียกว่าค่าคงที่การแยกตัว (separation factor: R_L) ซึ่งเป็นค่าคงที่ที่ไม่มีหน่วย ดังแสดงในสมการที่ 4.20

$$R_L = \frac{1}{1 + k_L C_0} \quad (4.20)$$

โดยที่ k_L คือค่าคงที่การดูดซับของแลงมัวร์ และ C_0 คือความเข้มข้นเริ่มต้นของสารละลายโลหะหนัก ค่าของ R_L ที่มีค่าใกล้ศูนย์แสดงถึงพฤติกรรมของการดูดซับที่เกิดขึ้นได้ดี ผลการคำนวณค่า R_L จากการดูดซับโลหะทองแดง และสังกะสีในสารละลายที่ความเข้มข้นเริ่มต้นต่างกันด้วยวัสดุดูดซับที่ใช้ในการทดลองนี้แสดงในรูปที่ 4.10 พบว่ามีเพียงการดูดซับโลหะทองแดงด้วย *Bradyrhizobium* sp. strain DOA9 เท่านั้นที่แสดงให้เห็นว่าการดูดซับเกิดขึ้นได้ดี นั่นคือ R_L มีค่าต่ำ ส่วนคู่การดูดซับอื่นๆค่า R_L มีค่าใกล้ 1 นอกจากนี้ผลของค่า R_L ยังแสดงให้เห็นว่าการดูดซับเกิดขึ้นได้ดีในสารละลายโลหะหนักที่มีความเข้มข้นเริ่มต้นของโลหะหนักสูง นั่นคือค่า R_L ลดต่ำลงเมื่อความเข้มข้นเริ่มต้นของโลหะหนักสูง ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองกระบวนการดูดซับด้วยเซลล์ตายในสารละลายโลหะหนักเริ่มต้นที่มีความเข้มข้นของโลหะหนักต่างกันในหัวข้อที่ 3.4.2.3



รูปที่ 4.10 แสดงค่าตัวแปรแยก (separation factor) จากค่าคงที่สมดุลการดูดซับของแลงมัวร์ของการดูดซับโลหะทองแดงและสังกะสีด้วย *Bradyrhizobium* sp. strain DOA9 และ *R. boonkerdii* sp. nov. strain NS20 ที่ความเข้มข้นของโลหะหนักทั้งสองเริ่มต้นต่างกัน

4.4.2 แบบจำลองสมดุลการดูดซับของฟรอนด์ลิช

แบบจำลองสมดุลการดูดซับที่อุณหภูมิคงที่ของฟรอนด์ลิชเป็นแบบจำลองแรกทีสร้างขึ้นเพื่ออธิบายการดูดซับที่ไม่เป็นอุดมคติ การดูดซับสามารถเกิดขึ้นได้หลายชั้น และพื้นผิวการดูดซับไม่ต่อเนื่อง แบบจำลองสมดุลการดูดซับของฟรอนด์ลิชแสดงในสมการที่ (4.17) ดังนี้

$$q_e = k_F C_e^n$$

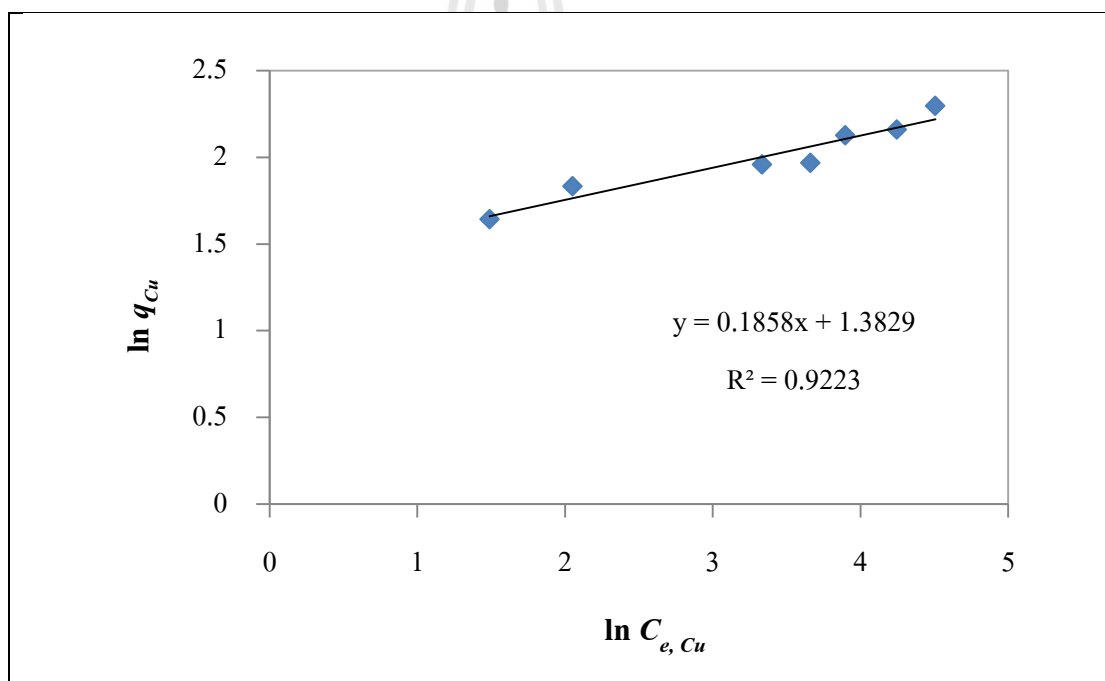
แบบจำลองการดูดซับของฟรอนด์ลิชเป็นแบบจำลองการดูดซับที่มี 2 ตัวแปรที่ไม่ทราบค่าเช่นกัน คือ k_F และ n โดยที่ k_F แสดงถึงค่าความสามารถในการดูดซับของวัสดุดูดซับนั้น (sorption capacity) ส่วน n แสดงถึงค่าความสามารถในการดึงดูดไอออนโลหะหนักของพื้นผิวการดูดซับ (sorption affinity) และคุณลักษณะความไม่เป็นเนื้อเดียวกันของพื้นผิวการดูดซับ (surface heterogeneity) โดยพื้นผิวของการดูดซับแสดงความไม่เป็นเนื้อเดียวกันเมื่อ n มีค่าเข้าใกล้ศูนย์ นอกจากนี้ค่า n สามารถแสดงให้เห็นถึงอิทธิพลของการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของไอออนโลหะ

ที่มีต่อปริมาณการดูดซับ

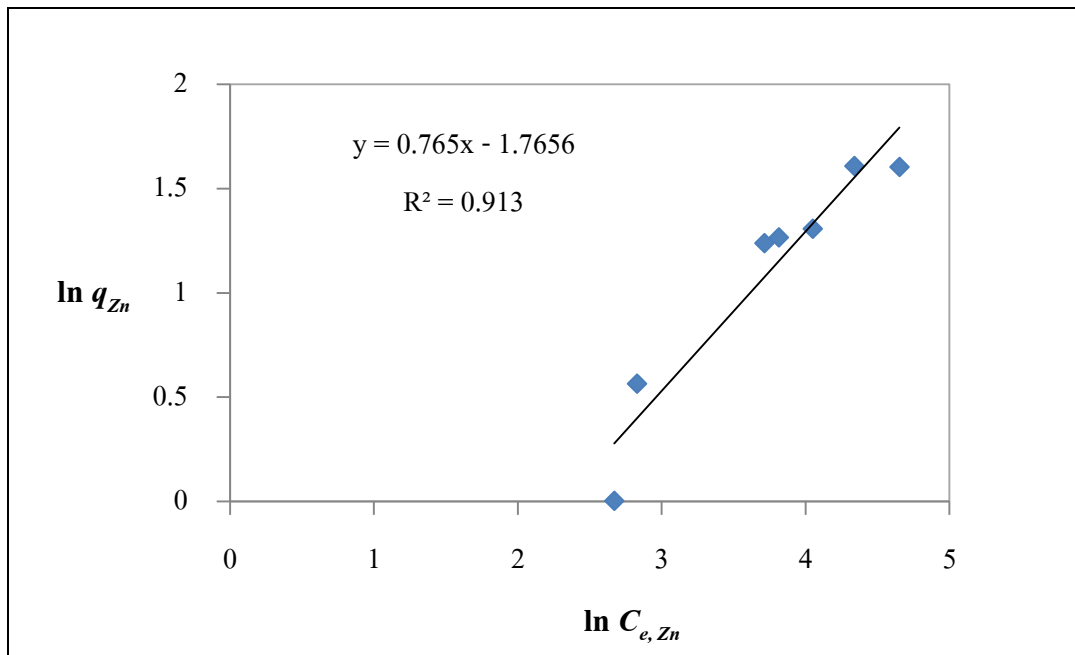
ค่าคงที่ k_F และ n จากแบบจำลองสมดุลการดูดซับของฟรุนด์ลิชสามารถหาได้จากการเปลี่ยนสมการที่ (4.17) ให้อยู่ในรูปของสมการเส้นตรงดังสมการที่ (4.18) ดังนี้

$$\ln q_e = \ln k_F + n \ln C_e$$

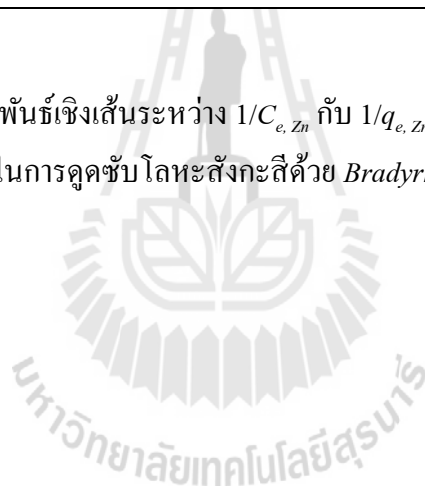
จากความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของโลหะหนักในสารละลายที่สมดุล (C_e) กับปริมาณของโลหะหนักที่ถูกดูดซับ (q_e) ดังแสดงในรูปที่ 4.2 – 4.5 เมื่อทำการแปรผลให้อยู่ในรูปของสมการเส้นตรงตามแบบจำลองสมดุลการดูดซับของฟรุนด์ลิช ดังสมการที่ (4.18) จะได้แนวโน้มของเส้นกราฟ สมการเส้นตรงของเส้นกราฟ และค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (R^2) ดังแสดงในรูปที่ 4.11 – 4.14

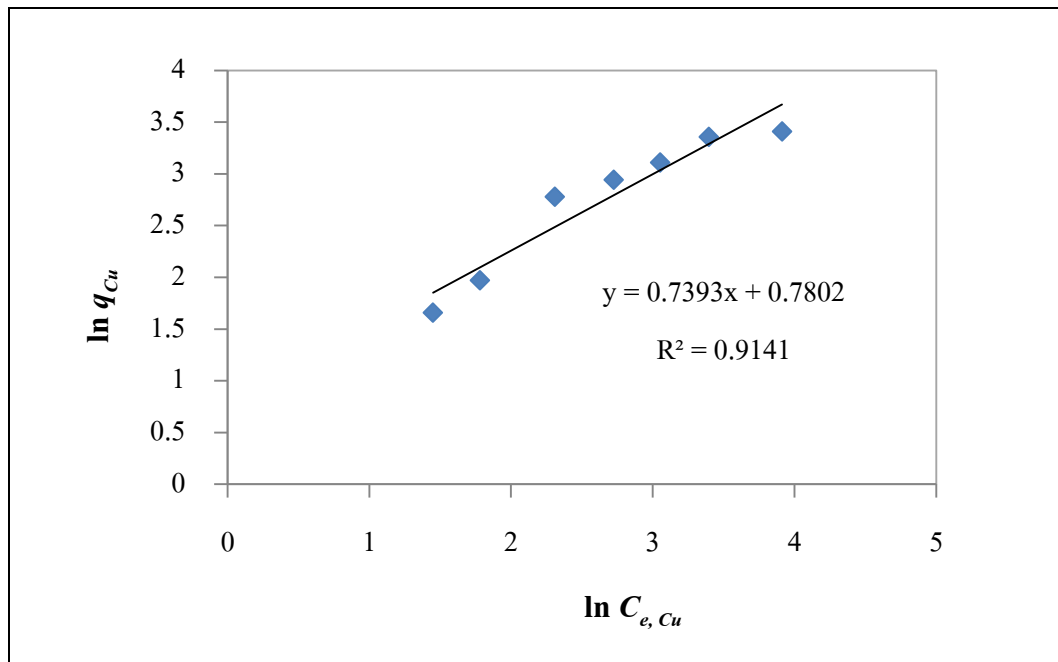


รูปที่ 4.11 แสดงความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่าง $1/C_{e, Cu}$ กับ $1/q_{e, Cu}$ ของแบบจำลองสมดุลการดูดซับของฟรุนด์ลิช ในการดูดซับโลหะทองแดง ด้วย *Bradyrhizobium* sp. strain DOA9

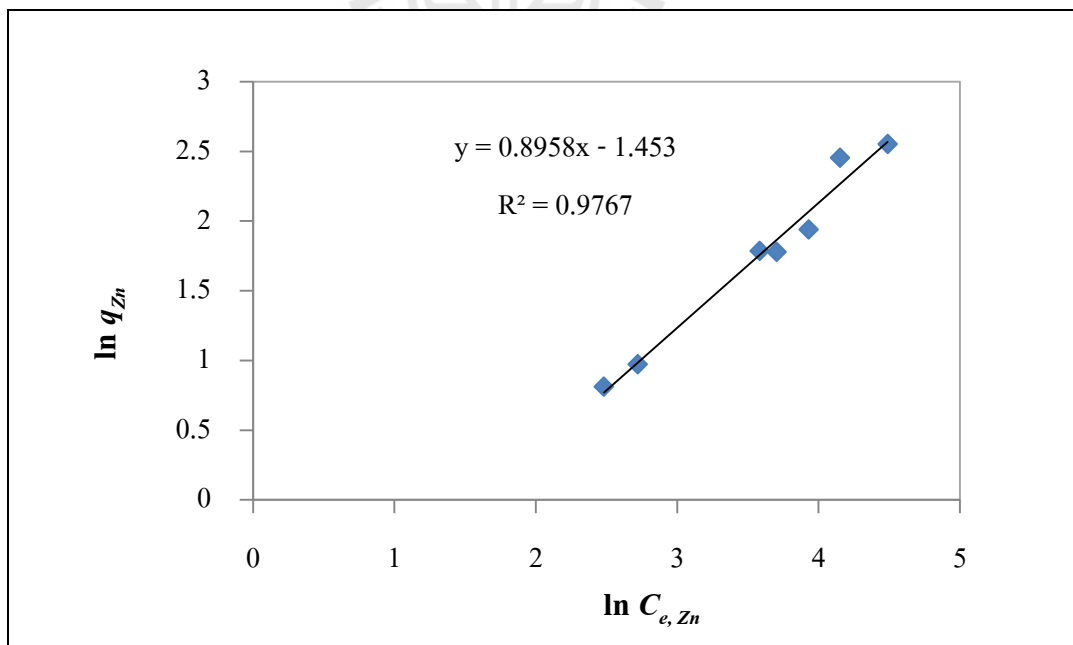


รูปที่ 4.12 แสดงความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่าง $1/C_{e,Zn}$ กับ $1/q_{e,Zn}$ ของแบบจำลองสมดุลการดูดซับของฟรอนด์ลิซ ในการดูดซับโลหะสังกะสีด้วย *Bradyrhizobium* sp. strain DOA9





รูปที่ 4.13 แสดงความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่าง $1/C_{e,Cu}$ กับ $1/q_{e,Cu}$ ของแบบจำลองสมดุลการดูดซับของฟรอนด์ลิซ ในการดูดซับโลหะทองแดงด้วย *R. boonkerdii* sp. nov. strain NS20



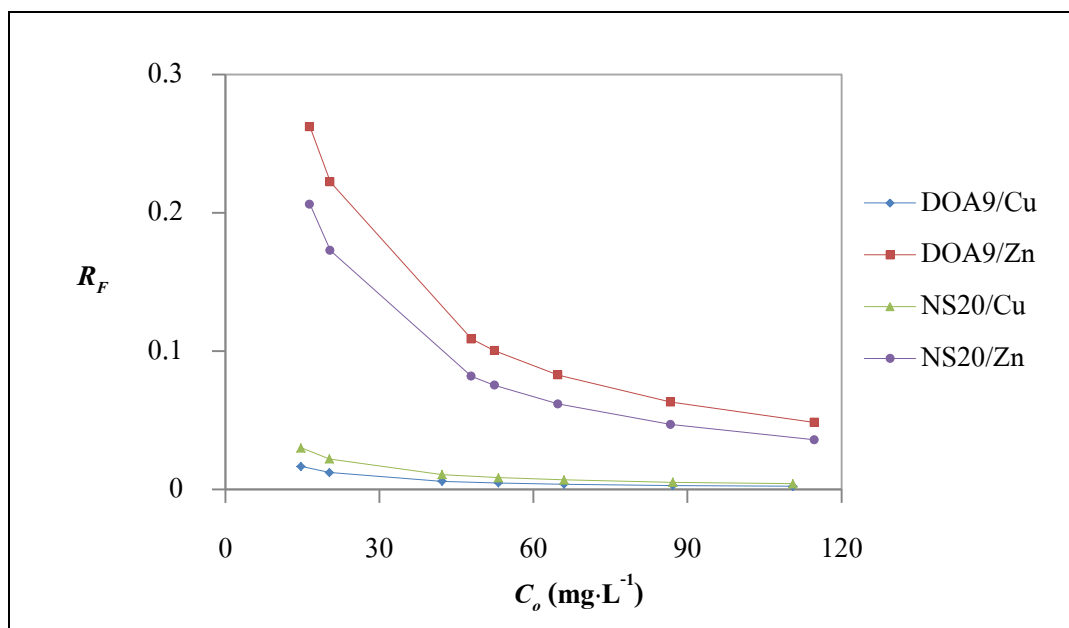
รูปที่ 4.14 แสดงความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่าง $1/C_{e,Zn}$ กับ $1/q_{e,Zn}$ ของแบบจำลองสมดุลการดูดซับของฟรอนด์ลิซ ในการดูดซับโลหะสังกะสีด้วย *R. boonkerdii* sp. nov. strain NS20

ค่าคงที่การดูดซับและค่าประเมินความถูกต้องของแบบจำลองการดูดซับของฟรอนด์
 ลิซแสดงในตารางที่ 4.2 จากตารางพบว่า ค่าคงที่การดูดซับ k_F มีค่ามากสำหรับการดูดซับ
 โลหะทองแดง แสดงให้เห็นถึงความสามารถของเซลล์แบคทีเรียทั้งสองในการดูดซับทองแดงได้
 ดีกว่าสังกะสี นอกจากนี้ยังพบว่าค่าคงที่ n มีค่าใกล้เคียงกัน ยกเว้นในกรณีของการดูดซับทองแดง
 ด้วย *Bradyrhizobium* sp. strain DOA9 ซึ่งค่าคงที่ n มีค่าน้อยกว่ามาก แสดงให้เห็นว่าการ
 เปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของทองแดงในสารละลายที่สมดุล มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณการดูด
 ซึบน้อย หากพิจารณาความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของทองแดงที่สมดุล กับปริมาณของ
 ทองแดงที่ถูกดูดซับด้วย *Bradyrhizobium* sp. strain DOA9 ดังแสดงในรูปที่ 4.2 พบว่าความเข้มข้นที่
 เพิ่มขึ้น มีผลให้ปริมาณการดูดซับเพิ่มขึ้นในสัดส่วนที่น้อยกว่าการดูดซับในกรณีอื่นๆ

ตารางที่ 4.2 ค่าคงที่การดูดซับค่าประเมินความถูกต้องแบบจำลองสมดุลการดูดซับของฟรอนด์ลิซ

วัสดุดูดซับ/โลหะหนัก	n	k_F [(mg·g ⁻¹)(mg·L ⁻¹) ⁿ]	R ²	χ ²
DOA9/Cu	0.186	3.986	0.9223	0.171
DOA9/Zn	0.765	0.171	0.9130	0.458
NS20/Cu	0.739	2.182	0.9141	4.432
NS20/Zn	0.896	0.234	0.9767	0.576

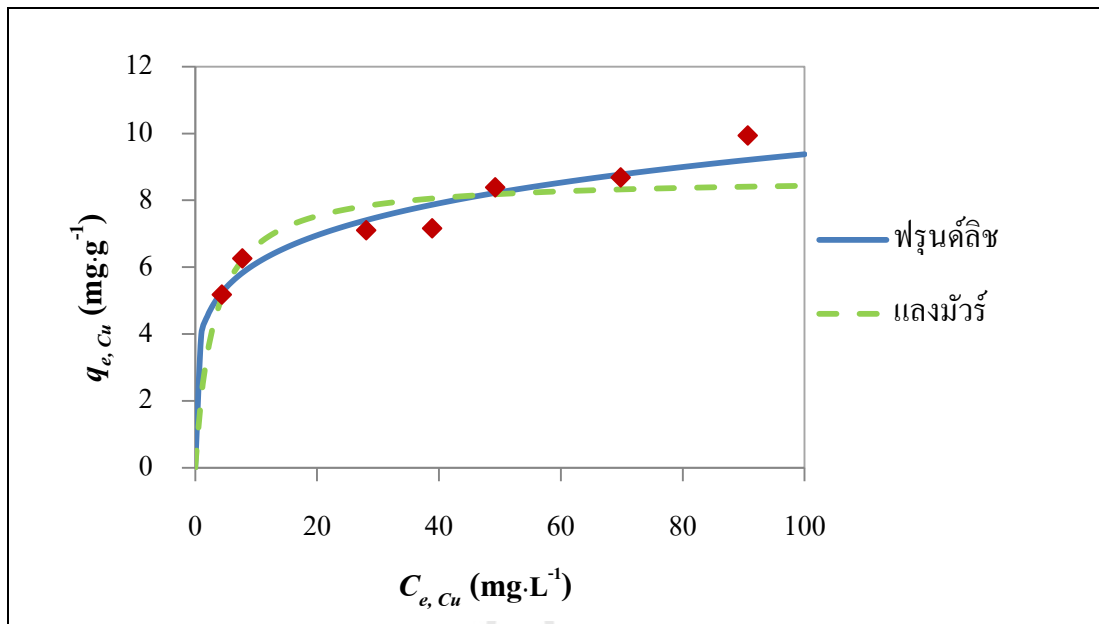
ค่าคงที่การแยกตัว (R_F) จากการคำนวณด้วยค่าคงที่สมดุลการดูดซับของฟรอนด์ลิซแสดงใน
 รูปที่ 4.15 ซึ่งให้ผลที่ไม่สอดคล้องกับค่าคงที่การแยกตัวที่ได้จากค่าคงที่สมดุลการดูดซับของแลง
 มัวร์ดังแสดงในรูปที่ 4.10 จากกราฟแสดงค่าคงที่การแยกตัวที่ค่าความเข้มข้นเริ่มต้นของสารละลาย
 โลหะหนักต่างกัน ในรูปที่ 4.15 พบว่าการดูดซับเกิดขึ้นได้ดีในสารละลายโลหะทองแดงของทั้ง
 แบคทีเรียทั้งสองชนิด ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองที่ได้ เป็นการยืนยันได้ว่าแบบจำลองสมดุลการ
 ดูดซับของฟรอนด์ลิซมีความสอดคล้องกับผลการทดลองมากกว่าแบบจำลองสมดุลการดูดซับของ
 แลงมัวร์ นอกจากนี้ ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (R^2) และค่าไคสแควร์ (χ^2) ที่ได้จากการแปรผลการ
 ทดลองด้วยแบบจำลองการดูดซับของฟรอนด์ลิซ มีค่าความน่าเชื่อถือมากกว่า ซึ่งช่วยยืนยันความ
 ถูกต้องของแบบจำลอง



รูปที่ 4.15 แสดงค่าตัวแปรแยก (separation factor) จากค่าคงที่สมดุลการดูดซับของฟรอนด์ลิซของการดูดซับโลหะทองแดงและสังกะสีด้วย *Bradyrhizobium* sp. strain DOA9 และ *R. boonkerdii* sp. nov. strain NS20 ที่ความเข้มข้นของโลหะหนักทั้งสองเริ่มต้นต่างกัน

4.4.3 เปรียบเทียบแบบจำลองการดูดซับกับผลการทดลอง

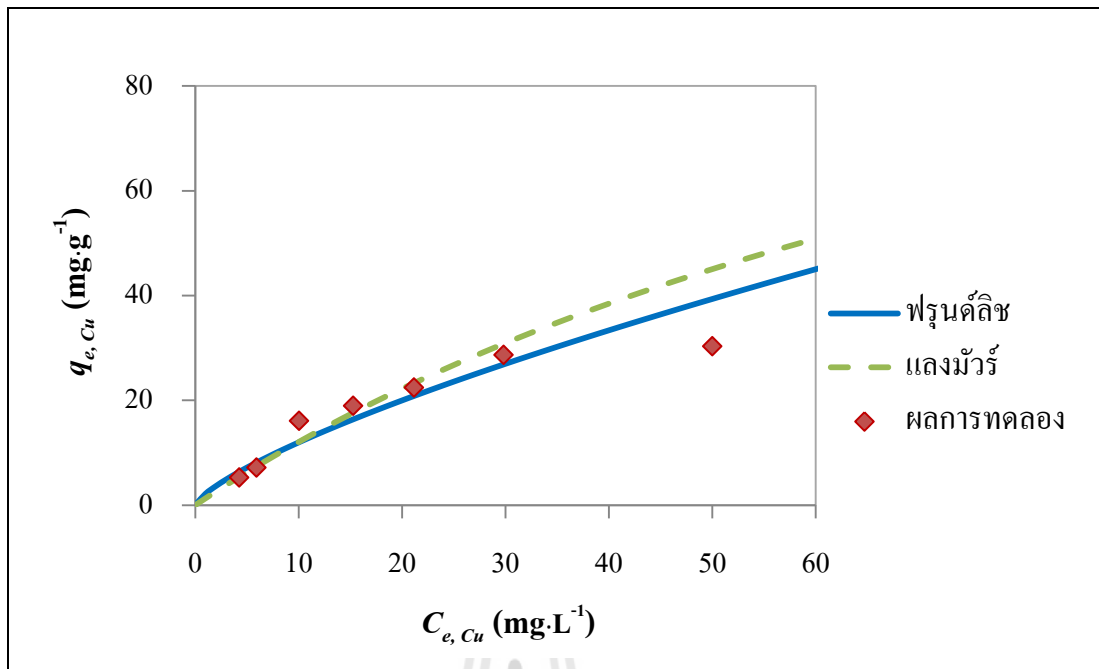
เมื่อเปรียบเทียบความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของโลหะหนักที่สมดุลกับปริมาณของโลหะหนักที่ถูกดูดซับที่ได้จาก 1) ผลการทดลอง 2) สมการจากแบบจำลองของแลงมัวร์ และ 3) แบบจำลองของฟรอนด์ลิซ ดังแสดงในรูปที่ 4.16-4.19 เห็นได้ชัดว่าแบบจำลองสมดุลการดูดซับของฟรอนด์ลิซมีความถูกต้องมากกว่าแบบจำลองการดูดซับของฟรอนด์ลิซ ด้วยเหตุนี้จึงสามารถกล่าวได้ว่า การดูดซับโลหะทองแดงและสังกะสีเป็นการดูดซับหลายชั้น (multilayer) บนพื้นผิวของวัสดุดูดซับที่ไม่เป็นเนื้อเดียวกัน (heterogeneous) ตามสมมติฐานของแบบจำลองสมดุลการดูดซับของ ฟรอนด์ลิซ



รูปที่ 4.16 แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง $C_{e, Cu}$ กับ $q_{e, Cu}$ ที่ได้จากแบบจำลองสมดุลการดูดซับของแลงมัวร์ ฟรุנדลิจ และผลการทดลองการดูดซับโลหะทองแดงด้วย *Bradyrhizobium* sp. strain DOA9

$$\text{สมการสมดุลการดูดซับของแลงมัวร์} \quad q_e = \frac{2.80C_e}{1+0.323C_e} \quad (4.21)$$

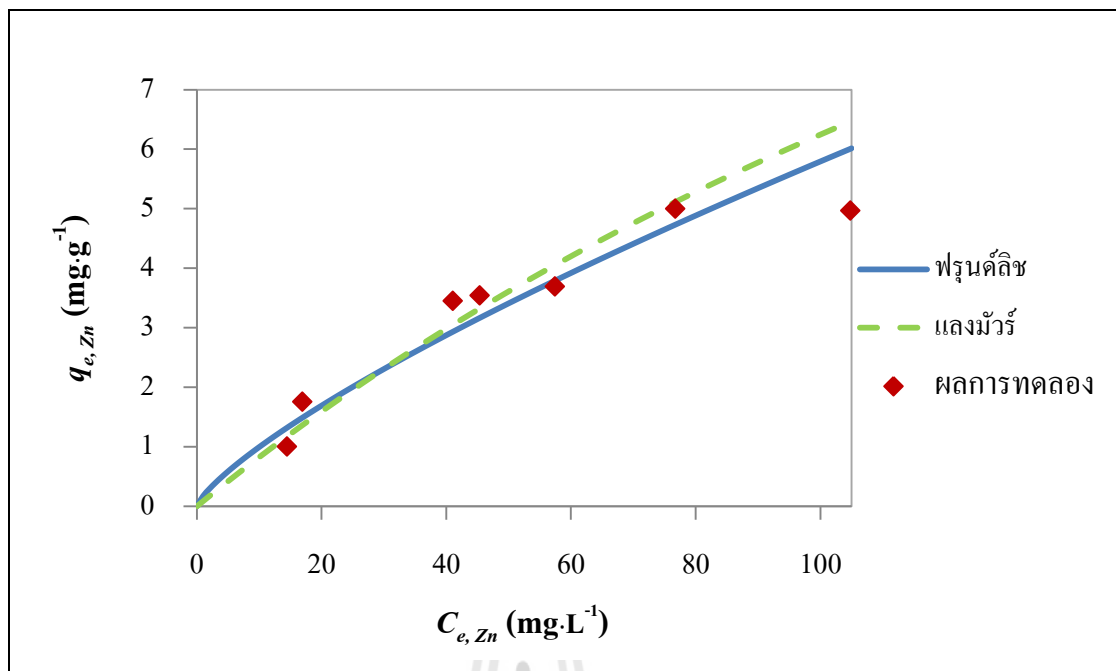
$$\text{สมการสมดุลการดูดซับของฟรุנדลิจ} \quad q_e = 3.986 C_e^{0.186} \quad (4.22)$$



รูปที่ 4.17 แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง $C_{e, Cu}$ กับ $q_{e, Cu}$ ที่ได้จากแบบจำลองสมมูลการดูดซับของแลงมัวร์ ฟรุנדลีช และผลการทดลองการดูดซับโลหะทองแดงด้วย *R. boonkerdii* sp. nov. strain NS20

สมการสมมูลการดูดซับของแลงมัวร์
$$q_e = \frac{0.085C_e}{1+0.0037C_e} \quad (4.23)$$

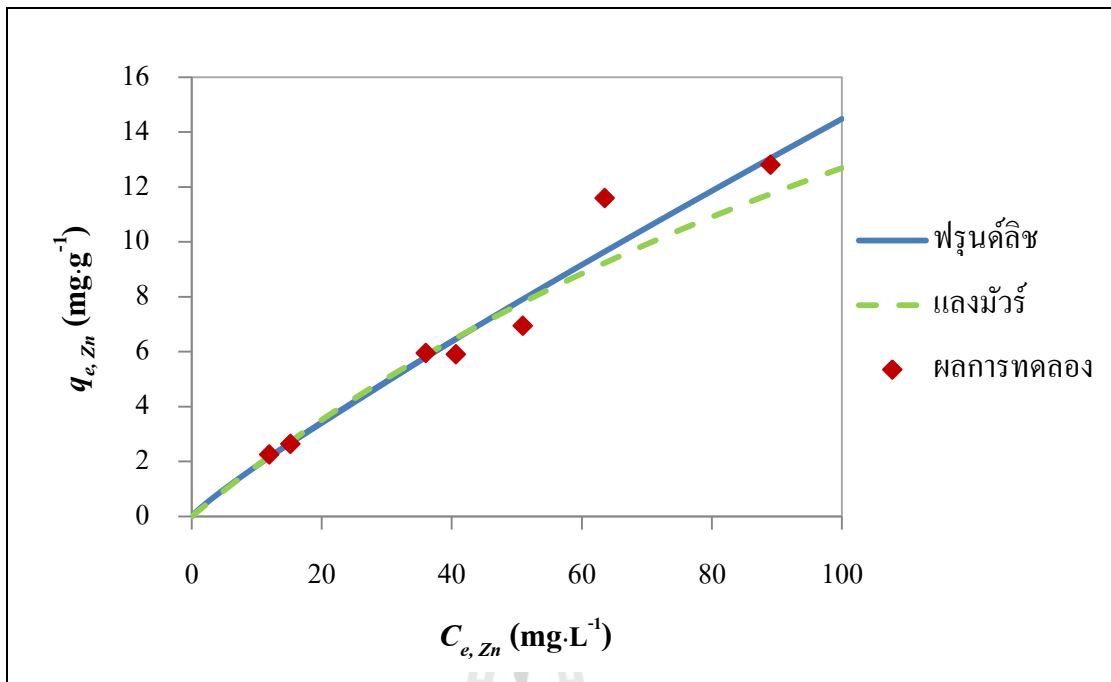
สมการสมมูลการดูดซับของฟรุנדลีช
$$q_e = 2.182 C_e^{0.739} \quad (4.24)$$



รูปที่ 4.18 แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง $C_{e, Zn}$ กับ $q_{e, Zn}$ ที่ได้จากแบบจำลองสมดุลการดูดซับของแลงมัวร์ ฟรุนด์ลิช และผลการทดลองการดูดซับโลหะสังกะสีด้วย *Bradyrhizobium* sp. strain DOA9

$$\text{สมการสมดุลการดูดซับของแลงมัวร์} \quad q_e = \frac{0.23C_e}{1+0.0098C_e} \quad (4.25)$$

$$\text{สมการสมดุลการดูดซับของฟรุนด์ลิช} \quad q_e = 0.171 C_e^{0.765} \quad (4.26)$$



รูปที่ 4.19 แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง $C_{e, Zn}$ กับ $q_{e, Zn}$ ที่ได้จากแบบจำลองสมดุลการดูดซับของแลงมัวร์ ฟรุนคัลลิส และผลการทดลองการดูดซับโลหะสังกะสีด้วย *R. boonkerdii* sp. nov. strain NS20

$$\text{สมการสมดุลการดูดซับของแลงมัวร์} \quad q_e = \frac{0.19C_e}{1+0.0053C_e} \quad (4.27)$$

$$\text{สมการสมดุลการดูดซับของฟรุนคัลลิส} \quad q_e = 0.234 C_e^{0.896} \quad (4.28)$$

4.5 สรุปผลการวิจัย

ปริมาณโลหะหนักที่ถูกดูดซับที่สมดุลมีค่าเพิ่มขึ้นตามปริมาณความเข้มข้นของโลหะหนักที่อยู่ในสารละลาย และมีแนวโน้มคงที่เมื่อความเข้มข้นของโลหะหนักในสารละลายเพิ่มขึ้นถึงค่าหนึ่ง แบบจำลองสมดุลการดูดซับของแลงมัวร์แสดงผลการคำนวณที่ไม่สอดคล้องกับผลการทดลองที่ได้เมื่อเทียบกับแบบจำลองสมดุลการดูดซับของฟรุนคัลลิส ผลการคำนวณค่าความสามารถสูงสุดในการดูดซับโลหะทองแดงด้วย *Rhodopseudomonas boonkerdii* sp. Nov. strain NS20 มีค่าสูงมากเมื่อเทียบกับการดูดซับในกรณีอื่นๆ โดยมีขีดจำกัดการดูดซับโลหะทองแดงสูงถึง 142.86 mg ต่อปริมาณเซลล์แห้งจำนวน 1 g ค่าคงที่สมดุลการดูดซับที่ได้จากแบบจำลองสมดุลการดูดซับของแลงมัวร์

แสดงให้เห็นว่า การดูดซับเกิดขึ้นได้ดีเฉพาะการดูดซับของแดงด้วย *Bradyrhizobium* sp. strain DOA9 เท่านั้น ส่วนค่าคงที่สมดุลการดูดซับที่ได้จากแบบจำลองสมดุลการดูดซับของ ฟรอนด์ลิช ให้ผลการคำนวณที่ถูกต้องกว่า นั่นคือวัสดุดูดซับทั้งสองชนิดมีประสิทธิภาพสูงในการดูดซับ โลหะทองแดง ซึ่งเป็นผลการคำนวณที่ตรงกับผลการทดสอบ ค่าคงที่ยกกำลัง (n) ที่ได้จากระบวนการดูดซับของแดงด้วย *Bradyrhizobium* sp. strain DOA9 แสดงให้เห็นว่าการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของทองแดงในสารละลายที่สมดุล มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณการดูดซับน้อยกว่ากระบวนการดูดซับในกรณีอื่นๆ จากค่าประเมินความถูกต้องของแบบจำลองทั้งค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์และโคสแควร์ ต่างแสดงให้เห็นว่าผลการทดลองที่ได้เป็นไปตามแบบจำลองสมดุลการดูดซับของฟรอนด์ลิช ซึ่งแสดงให้เห็นว่ากระบวนการดูดซับของทุกๆกรณีมีลักษณะของการดูดซับแบบหลายชั้นตามสมมติฐานของฟรอนด์ลิช

4.6 เอกสารอ้างอิง

- เดชา นัตรศิริเวช (2552). กระบวนการดูดซับ. (พิมพ์ครั้งที่ 1). สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. กรุงเทพมหานคร.
- Brunauer, S., Emmet, P.H., and Teller, E. (1938). Adsorption of gases in multimolecular layers. **Journal of the American Chemical Society.** 71: 652-656.
- Demirbas, E., Kobya, M., Senturk, E., and Ozkan, T. (2003). Adsorption kinetics for the removal of chromium (VI) from aqueous solutions on the activated carbons prepared from agricultural wastes. **Water SA.** 30: 533-540.
- Dubin, M.M., and Radushkevich, L.V. (1947). Equation of the characteristic curve of activated charcoal. **Chemisches Zentralblatt.** 1: 875.
- Febrianto, J., Kosasih, A.N., Sunarso, J., Ju, Y.H., Indraswati, N., and Ismadji, S. (2009). Equilibrium and kinetic studies in adsorption of heavy metals using biosorbent: a summary of recent studies. **Journal of Hazardous Materials.** 162: 616-645.
- Foo, K.Y., and Hameed, B.H. (2010). Insights into the modeling of adsorption isotherm systems. **Chemical Engineering Journal.** 156: 2-10.
- Freundlich, H.M.F. (1906). Over the adsorption in solution. **The Journal of Physical Chemistry.** 57: 385-471.

- Gupta, V.K., and Rastogi, A. (2008). Biosorption of lead from aqueous solutions by green algae *Spirogyra* species: kinetics and equilibrium studies. **Journal of Hazardous Materials**. 152: 407-411.
- Jossens, L., Prausnitz, J.M., Fritz, W., Schlunder, U., and Myers, A.L. (1978). Thermodynamics of multisolite adsorption from dilute aqueous solutions. **Chemical Engineering Science**. 33: 1097-1106.
- Kumar, P.S., and Kirthika, K. (2009). Equilibrium and kinetic study of adsorption of nickel from aqueous solution onto beal tree leaf powder. **Journal of Engineering Science and Technology**. 4: 351-363.
- Langmuir, I. (1916). The constitution and fundamental properties of solids and liquids. **Journal of the American Chemical Society**. 38: 2221-2295.
- Mohamad, O.A., Hao, X., Xie, P., Hatab, S., Lin, Y., and Wei, G. (2012). Biosorption of copper (II) from aqueous solution using non-living *Mesorhizobium amorphae* strain CCNWGS0123. **Microbe and Environments**. 27: 234-241.
- Radke, C.J., and Prausnitz, J.M. (1972). Thermodynamics of multisolite adsorption from dilute liquid solutions. **American Institute of Chemical Engineers Journal**. 18: 761.
- Sips, R. (1948). On the structure of a catalyst surface. **Journal of Chemical Physics**. 16: 490-495.
- Skopp, J. (2009). Derivation of the Freundlich adsorption isotherm from kinetics. **Journal of Chemical Education**. 86: 1341-1343.
- Webber, T.W., and Chakkravorti, R.K. (1974). Pore and solid diffusion models for fixed-bed adsorption. **American Institute of Chemical Engineers Journal**. 20: 228-238.
- Yao, Z.Y., Qi, J.H., and Wang, L.H. (2010). Equilibrium, kinetic and thermodynamic studies on the biosorption of Cu (II) on to chestnut shell. **Journal of Hazardous Materials**. 174: 137-143.
- Yu. J.W., Neretnieks, I. (1990). Single component and multicomponent adsorption equilibria on activated carbon of methylcyclohexane, toluene and isobutyl methyl ketone. **Industrial & Engineering Chemistry Research**. 29: 220-231.

บทที่ 5

อุณหพลศาสตร์ของการดูดซับทางชีวภาพ

5.1 บทคัดย่อ

การศึกษาอุณหพลศาสตร์การดูดซับ (adsorption thermodynamic) ของการดูดซับโลหะทองแดง และสังกะสีที่ละลายในสารละลายน้ำด้วย *R. boonkerdii* sp. nov. strain NS20 และ *Bradyrhizobium* sp. strain DOA9 ที่ไม่มีชีวิต มีวัตถุประสงค์เพื่อหาค่าตัวแปรทางอุณหพลศาสตร์อธิบายกลไกของกระบวนการดูดซับที่เกิดขึ้น การศึกษาทำได้โดยการใส่เซลล์แห้งสัดส่วน $2 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ เป็นวัสดุดูดซับโลหะหนักในสารละลายที่มีความเข้มข้นของสารประกอบโลหะเท่ากับ $250 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ โดยให้กระบวนการดูดซับเกิดขึ้นที่อุณหภูมิ 20 24 28 และ 32°C หลังจากนั้นหาความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิและประสิทธิภาพของการดูดซับ แล้วคำนวณค่าตัวแปรทางอุณหพลศาสตร์ได้แก่ค่าพลังงานอิสระมาตรฐาน เอนทัลปี และเอนโทรปี

ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า อุณหภูมิของกระบวนการดูดซับในช่วง $20\text{-}32^{\circ}\text{C}$ ไม่มีผลต่อประสิทธิภาพการดูดซับ ค่าพลังงานอิสระมาตรฐานมีค่าเป็นลบเฉพาะกรณีของการดูดซับโลหะทองแดงด้วย *R. boonkerdii* sp. nov. strain NS20 ด้วยเหตุนี้การดูดซับดังกล่าวจึงมีประสิทธิภาพในการดูดซับสูง ค่าเอนทัลปีมาตรฐานของทุกคู่การดูดซับมีค่าเป็นบวก ซึ่งหมายถึงกระบวนการดูดซับที่เกิดขึ้นนั้นเป็นปฏิกิริยาคูดความร้อน ฉะนั้นการเพิ่มอุณหภูมิการดูดซับทำให้การดูดซับเกิดได้ดีขึ้น ส่วนเอนโทรปีมาตรฐานของการดูดซับมีค่าเป็นบวกในการดูดซับโลหะทองแดง และมีค่าเป็นลบสำหรับการดูดซับโลหะสังกะสี

5.2 บทนำ

การศึกษาอุณหพลศาสตร์ของกระบวนการดูดซับเป็นการพิจารณาว่ากระบวนการดูดซับนั้นดำเนินไปด้วยตัวเอง หรือต้องมีพลังงานจากภายนอกมากระตุ้นให้เกิดการดูดซับระหว่างไอออนของโลหะกับวัสดุดูดซับ การเปลี่ยนแปลงพลังงานอิสระมาตรฐาน (ΔG°) จะเป็นตัวชี้วัดว่าปฏิกิริยาเคมี หรือกระบวนการดูดซับนั้นเกิดขึ้นได้เองหรือไม่ ปฏิกิริยาจะดำเนินไปได้เอง ณ อุณหภูมิคงที่ใดๆ เมื่อการเปลี่ยนแปลงพลังงานอิสระมาตรฐานมีค่าเป็นลบ พลังงานอิสระของกระบวนการดูดซับสัมพันธ์กับค่าคงที่สมดุลตามสมการของ แวนฮอฟ (Van't Hoff) ดังนี้

$$\Delta G = \Delta G^\circ + RT \ln K \quad (5.1)$$

ที่สมดุล การเปลี่ยนแปลงพลังงานอิสระเท่ากับศูนย์ ดังนั้นจะได้

$$\Delta G^\circ = -RT \ln K \quad (5.2)$$

เมื่อ ΔG และ ΔG° คือการเปลี่ยนแปลงพลังงานอิสระของกิบส์ ณ สภาวะใดๆ และสภาวะมาตรฐานตามลำดับ (kJ) R คือค่าคงที่ของก๊าซ มีค่าเท่ากับ $8.314 \text{ J}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{K}^{-1}$ และ T คืออุณหภูมิ (K) ส่วน K คือค่าคงที่สมดุล เนื่องจากเมื่อการดูดซับเข้าสู่สภาวะสมดุลแล้ว นั่นคืออัตราการดูดซับเท่ากับอัตราการคายการดูดซับ ทำให้ความเข้มข้นของโลหะที่ถูกดูดซับบนผิวของวัสดุดูดซับ และที่ละลายในสารละลายมีค่าไม่เปลี่ยนแปลง ฉะนั้นค่าคงที่สมดุลจึงสามารถหาได้จากอัตราส่วนระหว่างปริมาณโลหะที่ถูกดูดซับบนวัสดุดูดซับที่สมดุล และปริมาณ โลหะที่อยู่ในสารละลายที่สมดุล ดังสมการ

$$K = \frac{a_s}{a_e} = \frac{v_s C_a}{v_e C_e} \quad (5.3)$$

เมื่อ a_s และ a_e คือ activity ของโลหะหนักที่ถูกดูดซับบนวัสดุดูดซับ และที่ละลายอยู่ในสารละลายที่สมดุล ตามลำดับ v_a และ v_e คือสัมประสิทธิ์ activity ของโลหะหนักที่ถูกดูดซับ และไม่ถูกดูดซับ C_a และ C_e คือปริมาณ โลหะที่ถูกดูดซับบนวัสดุดูดซับที่สมดุลและปริมาณ โลหะที่อยู่ในสารละลายที่สมดุล ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$) ตามลำดับ

ถ้าให้สัมประสิทธิ์ activity มีค่าเท่ากันเท่ากับหนึ่ง จะได้ค่าคงที่สมดุลตามสมการที่ (5.4)

$$K = \frac{C_a}{C_e} \quad (5.4)$$

งานวิจัยหลายฉบับได้ใช้ค่าคงที่สมดุลที่ได้จากแบบจำลองสมดุลการดูดซับของแลงมัวร์ในการวิเคราะห์ค่าพลังงานอิสระมาตรฐาน (Yao และคณะ, 2010; Aksu และ Isoglu, 2005) หรือคำนวณค่าคงที่สมดุลจากจุดตัดแกนตั้งของกราฟความสัมพันธ์ระหว่าง q_e/C_e และ q_e (Miretzky และคณะ, 2011; Varshney และคณะ, 1995; Gunay และคณะ, 2007) และบางงานวิจัยคำนวณค่าคงที่สมดุลจากความชันของกราฟความสัมพันธ์ระหว่าง q_e และ C_e (Romero-Gonzalez และคณะ, 2005; Sawalha และคณะ, 2006) อย่างไรก็ตาม การนำค่าคงที่สมดุลที่ได้จากการคำนวณด้วยวิธีต่าง ๆ มาใช้ในการหาค่าพลังงานอิสระยังมีความไม่ถูกต้อง ซึ่ง Milonjic (2010) ได้แสดงวิธีการคำนวณค่าคงที่สมดุลที่ถูกต้อง และอธิบายการนำค่าคงที่ไปใช้ในการหาค่าพลังงานอิสระมาตรฐาน

อีกสองตัวแปรทางเทอร์ไดนามิกส์ที่สำคัญในการอธิบายกระบวนการดูดซับคือ การเปลี่ยนแปลงเอนทัลปีมาตรฐาน (ΔH°) และการเปลี่ยนแปลงเอนโทรปีมาตรฐาน (ΔS°) ซึ่งสัมพันธ์กับการเปลี่ยนแปลงพลังงานอิสระมาตรฐานดังสมการ

$$\Delta G^\circ = \Delta H^\circ - T\Delta S^\circ \quad (5.5)$$

จากสมการที่ 6.2 สามารถจัดเรียงใหม่ได้เป็น

$$\ln K = \frac{-\Delta G^\circ}{RT} \quad (5.6)$$

แทนค่าพลังงานอิสระมาตรฐานจากสมการที่ (5.5) ในสมการ (5.6) ได้ความสัมพันธ์ระหว่างค่าคงที่สมดุลกับค่าเอนทัลปีและเอนโทรปีมาตรฐานดังสมการ

$$\ln K = \frac{-\Delta H^\circ}{RT} + \frac{\Delta S^\circ}{R} \quad (5.7)$$

เมื่อสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่าง $\ln K$ และ $1/T$ สามารถถอดค่าเอนทัลปีและเอนโทรปีมาตรฐานได้จากความชันของกราฟ และจุดตัดแกนตั้ง ตารางที่ 5.1 ได้แสดงตัวอย่างผลการคำนวณตัวแปรทางเทอร์โมไดนามิกส์จากการใช้วัสดุดูดซับทางชีวภาพในการดูดซับไอออนของโลหะหนักในสารละลาย

ตารางที่ 5.1 ผลการคำนวณทางเทอร์โมไดนามิกส์ของการดูดซับโลหะหนักด้วยวัสดุดูดซับทางชีวภาพ

วัสดุดูดซับ	โลหะหนัก	T (K)	ΔG° (kJ·mol ⁻¹)	ΔH° (kJ·mol ⁻¹)	ΔS° (J·mol ⁻¹)	อ้างอิง
<i>Hevea brasiliensis</i>	Cu (II)	300	-3.38	-31.96	-95.94	Nghah และ Hanaf, 2008
		310	-2.17			
		320	-1.48			
<i>Penicillium simplicissimum</i>	Cd (II)	293	-18.27	20.3	130.90	Fan และคณะ, 2008
		303	-19.81			
		313	-20.88			
<i>Ceramium Virgatum</i>	Cd (II)	293	-19.5	-31.81	-42.4	Sari และ Tuzen, 2008
		303	-19.0			
		313	-18.7			
		323	-18.2			
<i>Acacia leucocephala</i>	Ni (II)	303	-6.147	10.389	55	Subbaiah และคณะ, 2009
		313	-6.945			
		323	-7.847			
<i>Cladonia furcata</i>	Ni (II)	293	-18.3	-37.5	-71.5	Sari และคณะ, 2007
		303	-14.4			
		313	-14.3			
		323	-14.4			

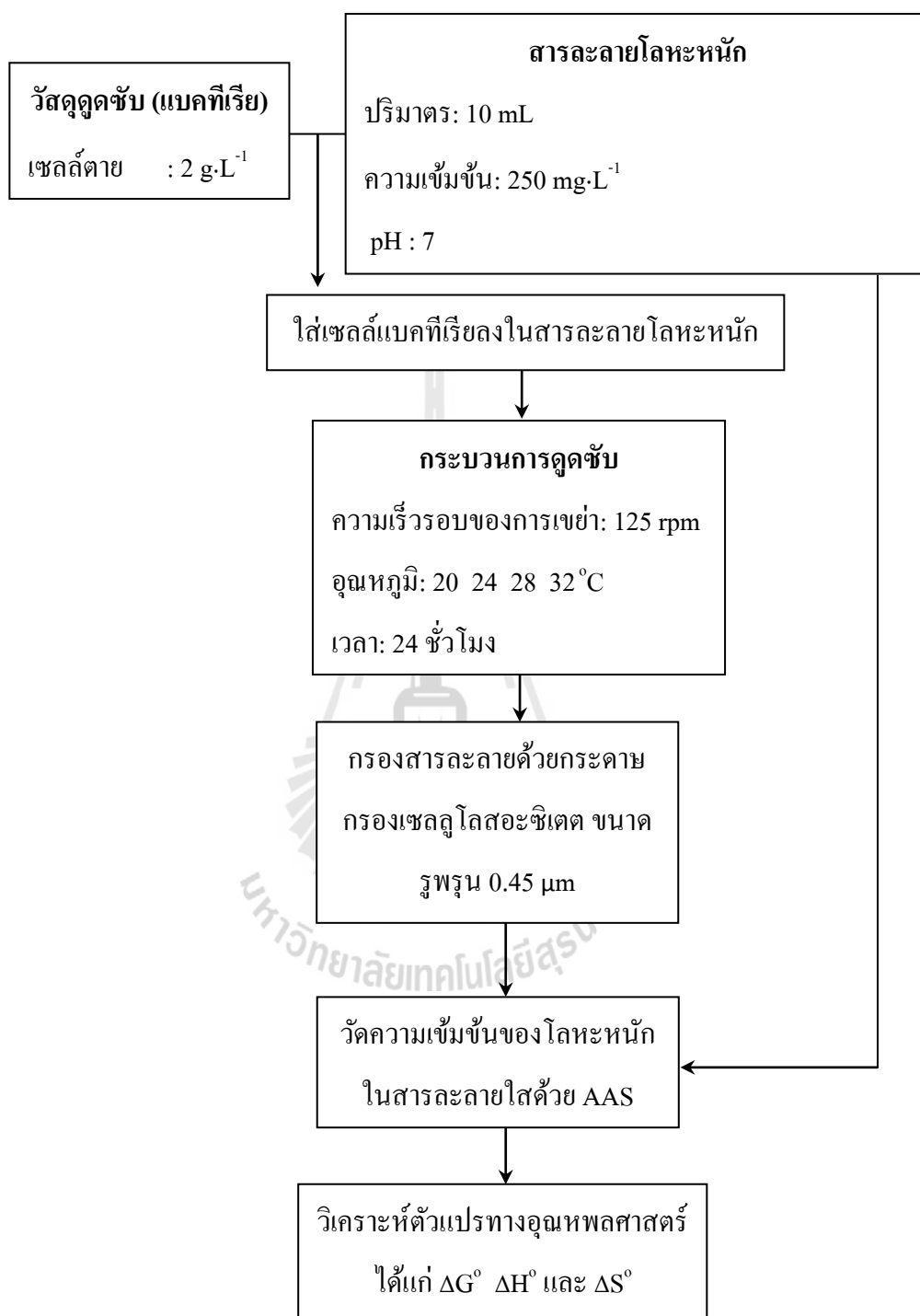
ตารางที่ 5.1 ผลการคำนวณทางเทอร์โมไดนามิกส์ของการดูดซับโลหะหนักด้วยวัสดุดูดซับทางชีวภาพ (ต่อ)

วัสดุดูดซับ	โลหะหนัก	T (K)	ΔG° (kJ·mol ⁻¹)	ΔH° (kJ·mol ⁻¹)	ΔS° (J·mol ⁻¹)	อ้างอิง
<i>Penicillium simplicissimum</i>	Pb (II)	293	-20.04	39.13	202.52	Fan และคณะ, 2008
		303	-22.60			
		313	-24.06			
<i>Acacia leucocephala</i>	Pb (II)	303	-3.876	-21.147	57	Munagapati และคณะ, 2010
		313	-4.379			
		323	-4.997			
<i>Cladonia furcata</i>	Pb (II)	293	-21.2	-35.4	-57.6	Sari และคณะ, 2007
		303	-17.4			
		313	-17.2			
		323	-17.1			
<i>Pinus brutia</i>	Pb (II)	273	-2.74	1.97	17.21	Gundogdu และคณะ, 2009
		283	-2.89			
		293	-3.08			
		303	-3.25			
		313	-3.42			

5.3 วิธีการดำเนินงานวิจัย

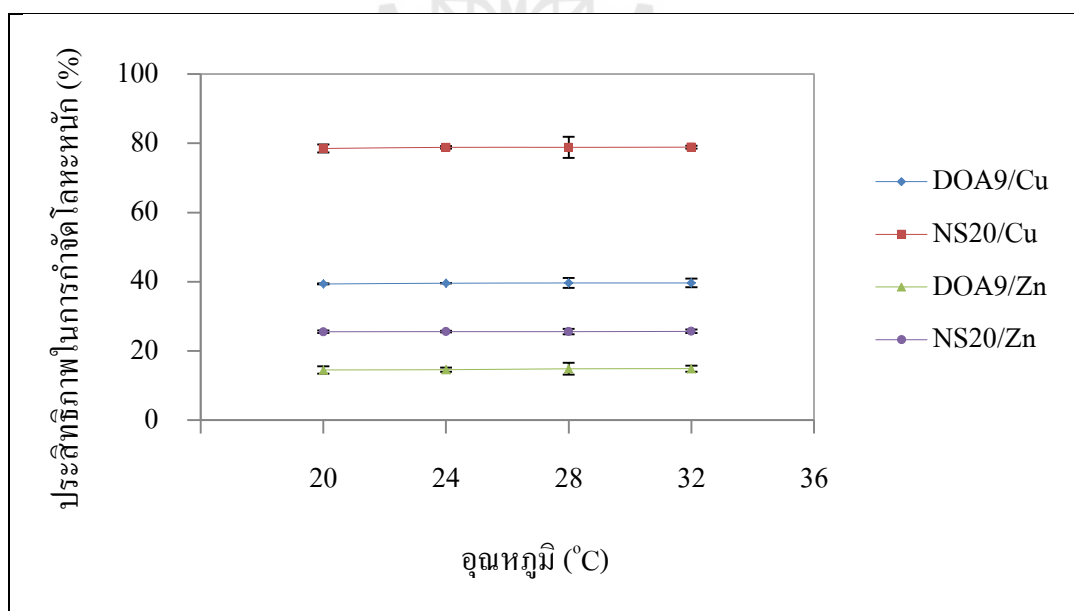
นำเซลล์ตายสัดส่วน 2 g·L⁻¹ ใส่ในสารละลายโลหะหนักที่ได้เตรียมไว้ที่ความเข้มข้นของสารประกอบโลหะเท่ากับ 250 mg·L⁻¹ จากนั้นทำการเขย่าสารละลายบนเครื่องเขย่าที่อุณหภูมิ 20 24 28 และ 32°C ด้วยความเร็ว 125 รอบต่อนาที เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แยกเซลล์ออกจากสารละลายแล้ววัดปริมาณโลหะหนักในสารละลายภายหลังกระบวนการดูดซับ หลังจากนั้นทำการวิเคราะห์ตัวแปรทางด้านอุณหพลศาสตร์

5.3.1 แผนภาพการดำเนินงานวิจัย



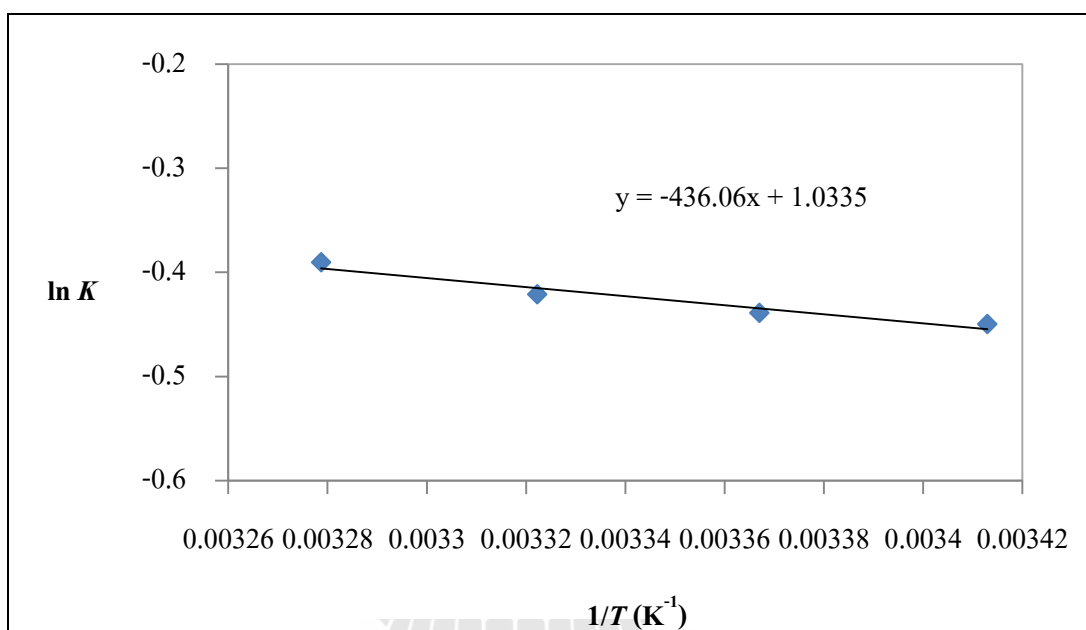
5.4 ผลการทดลองและการอภิปรายผล

ผลการทดสอบประสิทธิภาพการดูดซับโลหะทองแดง และสังกะสีของแบคทีเรียทั้งสองสายพันธุ์ที่อุณหภูมิในช่วง 20-32 °C แสดงในรูปที่ 5.1 ผลการทดสอบแสดงให้เห็นว่าประสิทธิภาพการดูดซับในช่วงอุณหภูมิ 20-32 °C ให้ผลไม่แตกต่างกัน อาจเป็นเพราะอุณหภูมิที่ทำการทดสอบอยู่ในช่วงที่แคบเกินไป จึงไม่เห็นแนวโน้มการเปลี่ยนแปลงความสามารถในการดูดซับของวัสดุดูดซับหรือกล่าวได้ว่าอุณหภูมิในช่วงการทดสอบไม่ส่งผลต่อการดูดซับทางชีวภาพ แต่อย่างไรก็ตามการดูดซับเป็นกระบวนการที่ขึ้นกับอุณหภูมิ เนื่องจากการเกิดปฏิกิริยาการดูดซับย่อมมีการดูดหรือคายความร้อนเกิดขึ้น ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับกลไกของการยึดติดระหว่างไอออนของโลหะหนักกับผิวของวัสดุดูดซับว่าเป็นการดูดซับทางกายภาพ หรือการดูดซับทางเคมี มีงานวิจัยหลายงานได้ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิการดูดซับกับประสิทธิภาพการดูดซับ ดังได้กล่าวไว้ในตอนท้ายของหัวข้อ 3.2 ซึ่งผลการทดลองที่ได้นั้นอาจมีแนวโน้มที่ต่างกันบ้าง ขึ้นกับชนิดของวัสดุดูดซับ และชนิดของสารละลายโลหะหนัก แต่ผลการทดลองส่วนใหญ่ชี้ให้เห็นไปในทิศทางเดียวกันคือประสิทธิภาพในการดูดซับโลหะหนักด้วยวัสดุดูดซับทางชีวภาพเปลี่ยนแปลงเพียงเล็กน้อยในช่วงอุณหภูมิ 20-40 °C

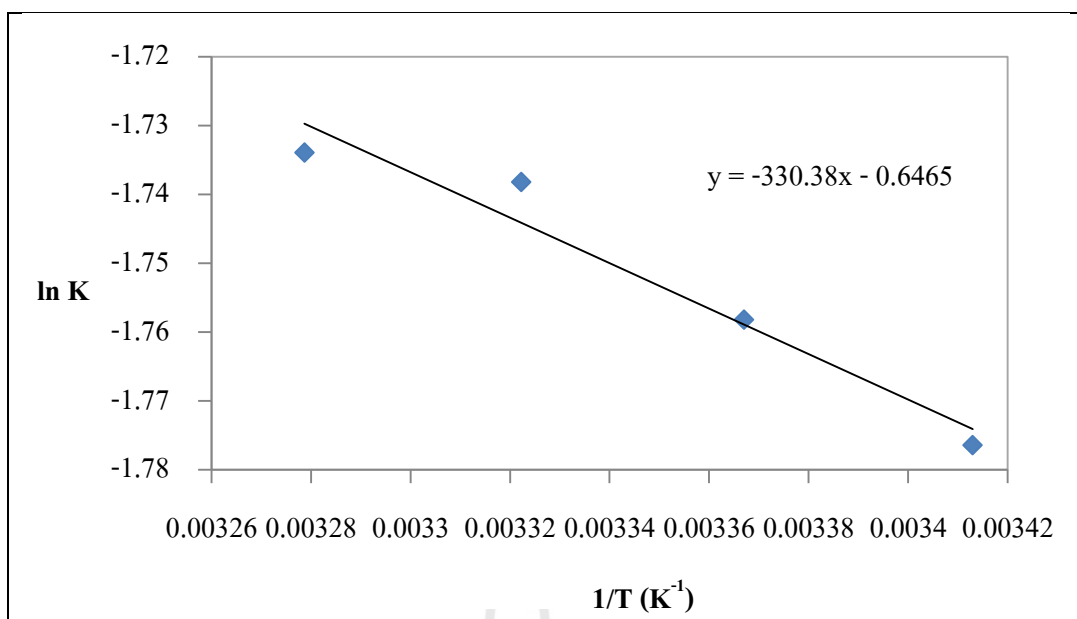


รูปที่ 5.1 แสดงประสิทธิภาพการดูดซับโลหะที่อุณหภูมิต่างๆ

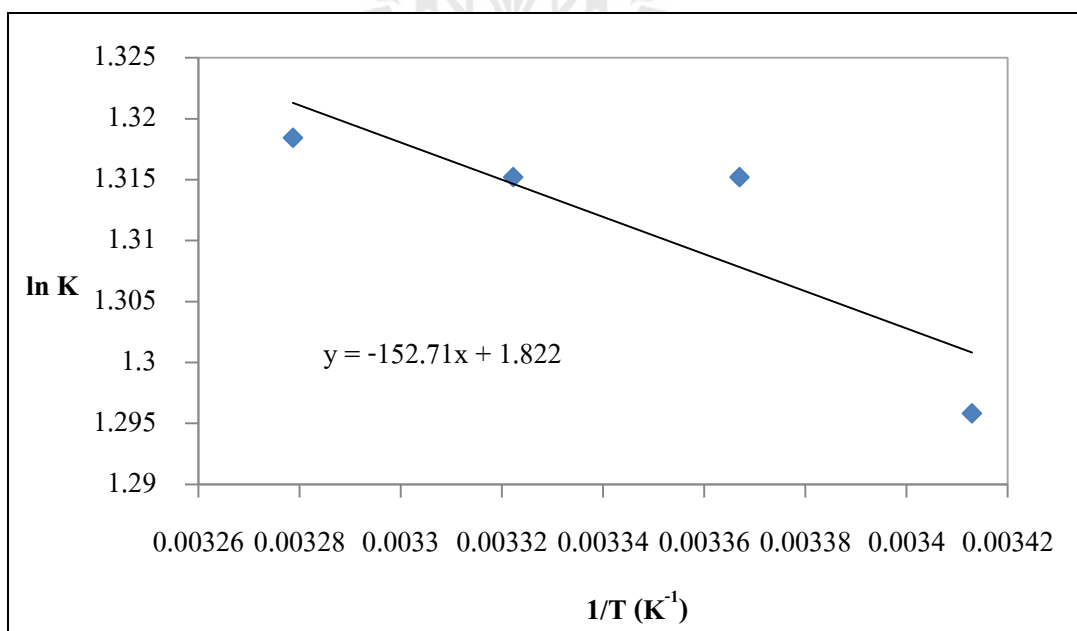
รูปที่ 5.2-5.5 แสดงความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่างค่าคงที่สมดุลกับอุณหภูมิการดูดซับตามความสัมพันธ์ของสมการที่ (5.7) โดยค่าคงที่สมดุลหาได้จากอัตราส่วนระหว่างความเข้มข้นของโลหะหนักที่ถูกดูดซับกับความเข้มข้นของโลหะหนักที่เหลือในสารละลาย ณ เวลาที่เกิดสมดุลการดูดซับ ดังแสดงในสมการ (5.4) สมการเส้นตรงที่ได้จากกราฟใช้เพื่อหาค่าเอนทัลปี และเอนโทรปีมาตรฐานของกระบวนการดูดซับ ผลการคำนวณค่าพลังงานอิสระมาตรฐาน เอนทัลปีมาตรฐาน และเอนโทรปีมาตรฐานแสดงในตารางที่ 5.2



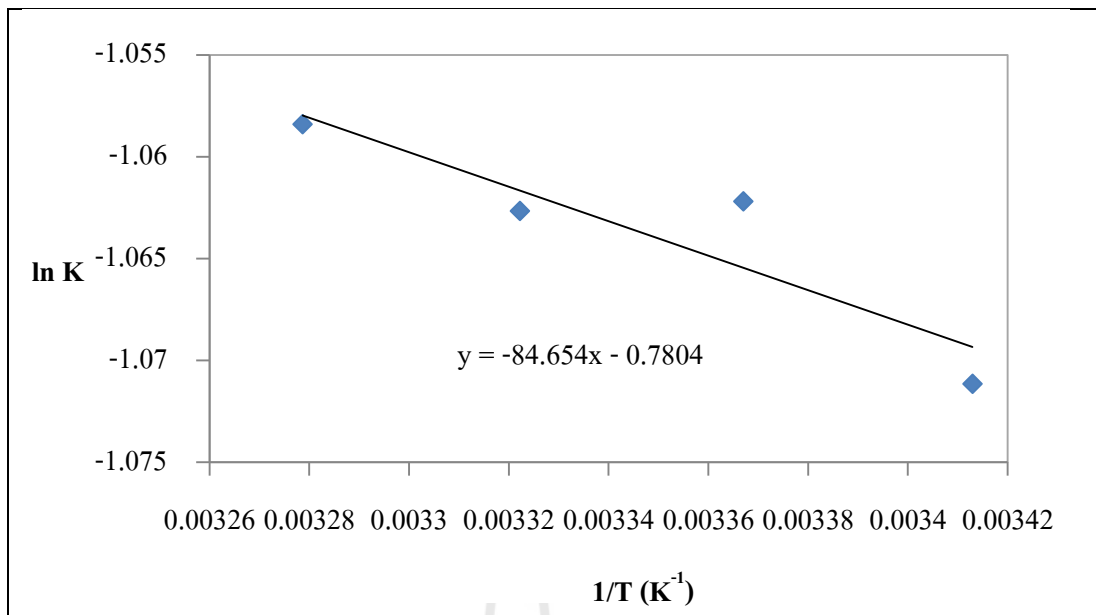
รูปที่ 5.2 แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง $\ln K$ และ $1/T$ จากกระบวนการดูดซับโลหะทองแดง ด้วย *Bradyrhizobium* sp. strain DOA9



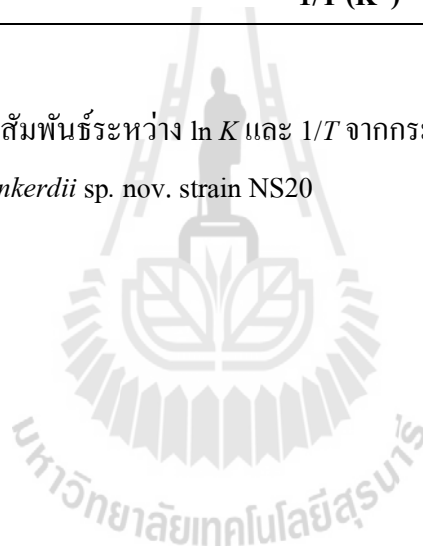
รูปที่ 5.3 แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง $\ln K$ และ $1/T$ จากกระบวนการดูดซับโลหะสังกะสี
ด้วย *Bradyrhizobium* sp. strain DOA9



รูปที่ 5.4 แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง $\ln K$ และ $1/T$ จากกระบวนการดูดซับโลหะทองแดง
ด้วย *R. boonkerdii* sp. nov. strain NS20



รูปที่ 5.5 แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง $\ln K$ และ $1/T$ จากกระบวนการดูดซับ โลหะสังกะสี
ด้วย *R. boonkerdii* sp. nov. strain NS20



ตารางที่ 5.2 แสดงผลการคำนวณตัวแปรทางเทอร์โมไดนามิกส์ของกระบวนการดูดซับ

วัสดุดูดซับ/โลหะหนัก	T (K)	ΔG° (kJ·mol ⁻¹)	ΔH° (kJ·mol ⁻¹)	ΔS° (J·mol ⁻¹)
DOA9/Cu	293	1.096	3.625	8.593
	297	1.084		
	301	1.054		
	305	0.991		
DOA9/Zn	293	4.327	2.746	-5.375
	297	4.341		
	301	4.349		
	305	4.397		
NS20/Cu	293	-3.157	1.269	15.148
	297	-3.248		
	301	-3.291		
	305	-3.343		
NS20/Zn	293	2.609	0.704	-6.488
	297	2.623		
	301	2.659		
	305	2.684		

ค่าพลังงานอิสระมาตรฐานของการดูดซับโลหะทองแดงด้วย *Rhodopseudomonas boonkerdii* sp. nov. strain NS20 (NS20/Cu) ช่วยแสดงให้เห็นถึงความเป็นไปได้ในการดูดซับอย่างมีประสิทธิภาพ เนื่องจากค่าพลังงานอิสระมาตรฐานเป็นค่าลบ ส่วนในกรณีของกลุ่มการดูดซับอื่นๆนั้น มีพลังงานอิสระมาตรฐานเป็นบวก แสดงให้เห็นว่ากระบวนการดูดซับไม่สามารถเกิดขึ้นได้เอง (non-spontaneous) ต้องได้รับพลังงานกระตุ้นจากภายนอกเพื่อขับเคลื่อนการดูดซับ จึงทำให้ดูดซับไอออนของโลหะหนักได้น้อย นอกจากนี้ยังพบว่า ค่าพลังงานอิสระมาตรฐานของกลุ่มการดูดซับ NS20/Cu มีค่าเป็นลบมากขึ้น (ค่าน้อยลง) เมื่ออุณหภูมิการดูดซับเพิ่มสูงขึ้น แสดงให้เห็นว่าการดูดซับเกิดได้ดีเมื่อเพิ่มอุณหภูมิการดูดซับ ซึ่งสามารถอธิบายได้ตามหลักจลนศาสตร์เคมีว่า อุณหภูมิที่เพิ่มสูงขึ้นมีผลให้ไอออน หรือ โมเลกุลที่อยู่ในสารละลายของเหลวเคลื่อนที่เร็วขึ้น จึงมีโอกาสเกิดการชนกันระหว่างวัสดุดูดซับกับไอออนของโลหะหนักได้มากกว่า นอกจากนี้ Saha และ

Chowdhury (2011) ยังได้ให้เหตุผลเพิ่มเติมไว้ว่า อุณหภูมิสูงที่สูงขึ้นทำให้ความสามารถในการดูดซับของพื้นผิววัสดุดูดซับ (affinity of adsorbent) เพิ่มขึ้นเช่นกัน

สิ่งที่ช่วยยืนยันว่าการดูดซับเกิดขึ้นได้ดีเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นคือ ค่าเอนทัลปีมาตรฐาน ผลการคำนวณค่าเอนทัลปีมาตรฐานให้ค่าเป็นบวกในทุกคู่การดูดซับ แสดงให้เห็นว่าการดูดซับที่เกิดขึ้นเป็นกระบวนการดูดความร้อน ตามหลักของอัตราการเกิดปฏิกิริยาเคมีสำหรับปฏิกิริยาดูดความร้อนนั้น ปฏิกิริยาจะเกิดขึ้นได้ดีที่อุณหภูมิสูง ซึ่งสอดคล้องกับผลการคำนวณค่าพลังงานอิสระมาตรฐาน

ผลการคำนวณค่าเอนโทรปีมาตรฐานช่วยให้สามารถอธิบายถึงประสิทธิภาพของการดูดซับโลหะทั้งสองได้เป็นอย่างดี จากตารางพบว่าค่าเอนโทรปีมาตรฐานมีค่าเป็นบวกสำหรับการดูดซับโลหะทองแดง และมีค่าเป็นลบสำหรับการดูดซับโลหะสังกะสี ทั้งนี้ค่าเอนโทรปีมาตรฐานเป็นค่าที่สะท้อนให้เห็นถึงความสามารถในการดูดซับไอออนโลหะของวัสดุดูดซับ เอนโทรปีมาตรฐานที่มีค่าเป็นบวกแสดงให้เห็นถึงความไม่เป็นระเบียบ (randomness) ที่รอยต่อระหว่างผิววัสดุดูดซับกับสารละลาย ซึ่งแสดงให้เห็นถึงการเปลี่ยนแปลงของพื้นผิววัสดุดูดซับ ส่วนเอนโทรปีมาตรฐานที่มีค่าเป็นลบแสดงให้เห็นว่ากระบวนการดูดซับนั้นถูกขับเคลื่อนโดยเอนทัลปี และเป็นกระบวนการที่ลดความไม่เป็นระเบียบที่พื้นผิวของวัสดุดูดซับ เป็นผลให้ไอออนของโลหะหนักที่ถูกดูดซับบนผิวของวัสดุดูดซับละลายกลับลงสู่สารละลายของเหลว ดังนั้น ไอออนของโลหะหนักจึงถูกดูดซับได้ในปริมาณที่น้อย ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่ากระบวนการดูดซับโลหะสังกะสีด้วยเซลล์ตายทั้งสองสายพันธุ์นั้นเกิดขึ้นได้ไม่ดี ซึ่งสอดคล้องกับค่าเอนโทรปีมาตรฐานที่เป็นค่าลบ

5.5 สรุปผลการวิจัย

อุณหภูมิการดูดซับโลหะทองแดงและสังกะสีด้วย *R. boonkerdii* sp. nov. strain NS20 และ *Bradyrhizobium* sp. strain DOA9 ในช่วง 20-32 °C ไม่มีผลต่อประสิทธิภาพการดูดซับ หรือกล่าวได้ว่าปริมาณโลหะหนักที่ลดลงมีค่าใกล้เคียงกันในทุกอุณหภูมิของการทดสอบ ผลการคำนวณพลังงานอิสระมาตรฐานพบว่า มีเฉพาะการดูดซับโลหะทองแดงด้วย *R. boonkerdii* sp. nov. strain NS20 เท่านั้นที่ให้ค่าพลังงานอิสระมาตรฐานเป็นค่าลบ ซึ่งแสดงให้เห็นว่ากระบวนการดูดซับดังกล่าวนั้นเกิดขึ้นได้เอง จึงมีประสิทธิภาพในการดูดซับสูง นอกจากนี้ค่าพลังงานอิสระมาตรฐานยังมีค่าน้อยลงเมื่ออุณหภูมิการดูดซับเพิ่มสูงขึ้น แสดงให้เห็นว่าการดูดซับเกิดขึ้นได้ดีที่อุณหภูมิสูง ค่าเอนทัลปีมาตรฐานของทุกคู่การดูดซับมีค่าเป็นบวก ซึ่งหมายถึงกระบวนการดูดซับที่เกิดขึ้นนั้นเป็นปฏิกิริยาดูดความร้อน การเพิ่มอุณหภูมิของปฏิกิริยาดูดความร้อนให้สูงขึ้นจึงเสมือนเป็นการเร่งอัตราการเกิดปฏิกิริยา ทำให้การดูดซับเกิดขึ้นได้ดี เอนโทรปีมาตรฐานของการดูดซับมีค่าเป็นบวก

ในการดูดซับโลหะทองแดง และมีค่าเป็นลบสำหรับการดูดซับโลหะสังกะสี /อนโทรมปีมาตรฐานที่มีค่าเป็นบวกแสดงถึงการเปลี่ยนแปลงบนผิวของวัสดุดูดซับไปในทางที่ไม่เป็นระเบียบ นั่นคือผิวของวัสดุดูดซับมีการยึดติดของไอออนโลหะหนัก การดูดซับจึงเกิดขึ้นได้ดี

5.6 เอกสารอ้างอิง

- Aksu, Z., and Isoglu, I.A. (2005). Removal of copper (II) ions from aqueous solution by biosorption on to agricultural waste sugar beet pulp. **Process Biochemistry**. 40: 3031-3044.
- Bhattacharya, A.K., Mandal, S.N., and Das, S.K. (2006). Adsorption of Zn(II) from aqueous solution by using difference adsorbents. **Chemical Engineering Journal**. 123: 43-51.
- Deosarkar, S.D. (2012). Thermodynamics of adsorption of Pb(II) and Cd(II) metal ions from aqueous solution by *Punica granatum* L. husk. **Journal of Chemical and Pharmaceutical Research**. 4: 3319-3323.
- Doke, K.M., and Khan, E.M. (2013). Adsorption thermodynamics to clean up wastewater; critical review. *Reviews in Environmental Science and Biotechnology*. 12: 25-44.
- Fan, T., Lui, Y., Feng, B., Zeng, G., Yang, C., Zhou, M., Tan, Z., and Wang, X. (2008). Biosorption of cadmium (II), Zinc (II), and lead (II) by *Penicillium simplicissimum*: Isotherms, kinetics and thermodynamics. **Journal of Hazardous Materials**. 160: 655-611.
- Gunay, A., Arslankaya, E., and Tosun, I. (2007). Lead removal from aqueous solution by natural and pretreated clinoptilolite: adsorption equilibrium and kinetics. **Journal of Hazardous Materials**. 146: 362-371.
- Gundogdu, A., Ozdes, D., Duran, C., Bulut, V.N., Soylak, M., and Senturk, H.B. (2009). Biosorption of Pb(II) ions from aqueous solution by pinr bark (*Pinus bruita* Ten). **Chemical Engineering Journal**. 153: 62-69.
- Ho, Y. S., and McKay, G. (1999). The sorption of lead (II) ions on peat. **Water research**. 33: 578-584.
- Malik, U.R., Hasany, S.M., and Sabhani, M.S. (2005). Sorptive potential of sunflower stem for Cr (III) ions from aqueous solution and its kinetic and thermodynamic profile. **Talanta**. 66: 166-173.

- Milonjic, S.K. (2007). A consideration of the correct calculation of thermodynamic parameters of adsorption. **Journal of the Serbian Chemical Society**. 72: 1363-1367.
- Miretzky, P., Munoz, C., and Cantoral, U.E. (2011). Cd²⁺ adsorption on alkaline-pretreated diatomaceous earth: equilibrium and thermodynamic studies. **Environmental Chemistry Letters**. 9: 55-63.
- Mousavi, H.Z., Hosseinifar, A., and Jahed, V. (2012). Studies of adsorption thermodynamics and kinetics of Cr (II) and Ni (II) removal by polyacrylamide. **Journal of Serbian Chemical Society**. 77: 393-405.
- Munagapati, V.S., Yarramuthi, V., Nadavala, S.K. Alla, S.R., and Abburi, K. (2010). Biosorption of Cu (II), Cd (II) and Pb (II) by *Acacia leucocephala* bark powder: kinetics, equilibrium and thermodynamics. **Chemical Engineering Journal**. 157: 357-365.
- Ngah, W.S. W., and Hanafiah, M.A. K.M. (2008). Adsorption of copper on rubber (*Hevea brasiliensis*) leaf powder: kinetics, equilibrium and thermodynamics studies. **Biochemical Engineering Journal**. 39: 521-530.
- Saha, P., and Chowdhury, S. (2011). *Thermodynamic*. Rijeka, Croatia: InTech.
- Sari, A., and Tuzen, M. (2008). Biosorption of cadmium (II) from aqueous solution by red algae (*Ceramium virgatum*): Equilibrium, kinetic and thermodynamic studies. **Journal of Hazardous Materials**. 157: 448-454.
- Sari, A., Tuzen, M., Uluozlu, O.D., and Soylak, M. (2007). Biosorption of Pb(II) and Ni(II) from aqueous solution by lichen (*Cladonia furcata*) biomass. **Biochemical Engineering Journal**. 37: 151-158.
- Somasundaran, P., Shrotri, S., and Huang, L. (1998). Thermodynamics of adsorption of surfactants at solid-liquid interface. **Pure and Applied Chemistry**. 70: 621-626.
- Subbaiah, M.V., Vijaya, Y., Kumar, N.S., Reddy, A.S., and Krishnaiah, A. (2009). Biosorption of nickel from aqueous solutions by *Acacia leucocephala* bark: kinetics and equilibrium studies. **Colloids and surfaced B: Biointerfaces**. 74: 260-265.
- Varshney, K.G., Gupta, A., and Singhal, K.C. (1995). The adsorption of carbofuran on the surface of antimony (V) arsenosilicate: a thermodynamic study. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**. 104: 7-10.

- Uslu, G., and Tanyol, M. (2006). Equilibrium and thermodynamic parameters of single and binary mixture biosorption of lead (II) and copper (II) ions onto *Pseudomonas putida*: effect of temperature. **Journal of Hazardous Materials**. 135: 87–93.
- Yao, Z.Y., Qi, J.H., and Wang, L.H. (2010). Equilibrium, kinetic and thermodynamic studies on the biosorption of Cu (II) on to chestnut shell. **Journal of Hazardous Materials**. 174: 137-143.



บทที่ 6

จลนศาสตร์ของการดูดซับทางชีวภาพ

6.1 บทคัดย่อ

จลนศาสตร์การดูดซับ (adsorption kinetic) โลหะทองแดง และสังกะสีที่ละลายในสารละลายน้ำด้วย *Rhodopseudomonas boonkerdii* sp. Nov. strain NS20 และ *Bradyrhizobium* sp. strain DOA9 ที่ไม่มีชีวิต ได้ถูกศึกษาเพื่อให้ทราบกลไกทางด้านเวลาของกระบวนการดูดซับ จลนศาสตร์ของการดูดซับเป็นการศึกษาอัตราเร็วของกระบวนการดูดซับ การทดลองทำโดยการใช้เซลล์แห้งสัดส่วน $2 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ ดูดซับโลหะทองแดง และสังกะสีในสารละลายที่มีความเข้มข้นของสารประกอบโลหะทั้งสองเท่ากับ $250 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ และค่า pH เท่ากับ 7 ใช้เวลาการดูดซับนาน 5 10 30 60 720 และ 1440 นาที จากนั้นหาความสัมพันธ์ระหว่างเวลาการดูดซับ และปริมาณของโลหะหนักที่ถูกดูดซับ ณ เวลาต่างๆ เพื่อให้ทราบแนวโน้มของปริมาณการดูดซับตั้งแต่เวลาเริ่มต้น จนกระทั่งถึงเวลาที่เกิดสมดุลการดูดซับ สมการอัตราอันดับหนึ่งเทียม และสมการอัตราอันดับสองเทียมถูกนำมาใช้ในการวิเคราะห์ผลการทดลองเพื่อหาแบบจำลองที่สอดคล้องกับผลการทดลองที่ได้ ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าสมดุลของการดูดซับในทุกคู่การดูดซับเกิดขึ้นภายในเวลา 30 นาที ยกเว้นการดูดซับทองแดงด้วย *Bradyrhizobium* sp. strain DOA9 ที่ใช้เวลาการเกิดสมดุลการดูดซับนานกว่า 60 นาที ผลการคำนวณระบบการดูดซับด้วยสมการอัตราอันดับสองเทียมมีความสอดคล้องกับผลการทดลองที่ได้มากกว่าการคำนวณด้วยสมการอัตราอันดับหนึ่งเทียม ซึ่งแสดงให้เห็นว่าการดูดซับที่เกิดขึ้นเป็นปฏิกิริยาอันดับสอง ฉะนั้นการดำเนินไปของปฏิกิริยาการดูดซับถูกควบคุมโดยทั้งความเข้มข้นของวัสดุดูดซับ และปริมาณโลหะ

6.2 บทนำ

นอกจากความสามารถในการดูดซับของวัสดุดูดซับหนึ่งๆแล้ว การเข้าใจกลไกทางด้านจลน์ศาสตร์ของการดูดซับด้วยวัสดุดูดซับนั้นๆก็มีความจำเป็นมากเช่นกัน โดยเฉพาะอย่างยิ่งเมื่อต้องพัฒนาไปสู่สเกลขนาดใหญ่ การศึกษาจลน์ศาสตร์ของการดูดซับเป็นการหาอัตราการดูดซับของวัสดุดูดซับ ซึ่งวัดได้จากเวลาที่ใช้ในการเกิดปฏิกิริยาการดูดซับจนกระทั่งถึงสมดุลการดูดซับอย่างสมบูรณ์ (Qui, H. และคณะ, 2009) แบบจำลองทางคณิตศาสตร์ต่างๆได้ถูกสร้างขึ้นมาเพื่ออธิบายข้อมูลการดูดซับซึ่งสามารถแบ่งได้เป็น 2 กลุ่มคือ แบบจำลองปฏิกิริยาการดูดซับ และแบบจำลองการดูดซับโดยการแพร่ แบบจำลองการดูดซับทั้งสองกลุ่มดังกล่าวมีข้อแตกต่างจากพื้นฐานของการสร้างสมการทางคณิตศาสตร์ แบบจำลองการดูดซับโดยการแพร่มักจะสร้างขึ้นจากพื้นฐาน 3 ข้อที่ต่อเนื่องกัน คือ 1) การแพร่ผ่านชั้นฟิล์มของเหลวที่อยู่รอบๆวัสดุดูดซับ 2) การแพร่ในของเหลวที่อยู่ในโพรง และ 3) การดูดซับ และการคายการดูดซับของวัสดุดูดซับ ส่วนแบบจำลองปฏิกิริยาการดูดซับนั้นสร้างขึ้นบนพื้นฐานของอัตราการเกิดปฏิกิริยาเคมีของการดูดซับ ซึ่งนิยมใช้ในการอธิบายจลน์ศาสตร์ของกระบวนการดูดซับมากกว่าแบบจำลองการดูดซับโดยการแพร่ แบบจำลองที่นิยมใช้ในการอธิบายการดูดซับไอออนของโลหะหนักในสารละลายน้ำมี 2 แบบจำลองด้วยกัน ได้แก่ สมการอัตราอันดับหนึ่งเทียม (pseudo-first order rate equation) และสมการอัตราอันดับสองเทียม (second-first order rate equation)

6.2.1 สมการอัตราอันดับหนึ่งเทียม (pseudo-first order rate equation)

ในปี 1898 Lagergren ได้เสนอสมการอัตราอันดับหนึ่ง สำหรับการดูดซับกรดออกซาลิกและกรดมาโลนิกบนถ่านไม้ สมการดังกล่าวถือได้ว่าเป็นสมการแรกในการอธิบายจลน์ศาสตร์ของการดูดซับในระบบที่เป็นของแข็ง และของเหลว ต่อมา Yuh-Shan Ho ได้เปลี่ยนชื่อเรียกสมการจลน์ศาสตร์ของ Lagergren ใหม่เป็น สมการอัตราอันดับ 1 เทียม เพื่อจำแนกสมการจลน์ศาสตร์ที่เกี่ยวข้องกับความเข้มข้นของสารละลาย และความสามารถในการดูดซับของของแข็ง (Ho, Y. S., McKay, G., 1998a) ในปัจจุบันสมการดังกล่าวถูกนำมาอธิบายจลน์ศาสตร์ของการดูดซับมลพิษต่างๆ เช่น โลหะหนัก สีย้อม และสารออร์แกนิกที่ละลายในสารละลายน้ำ ที่มาของสมการอัตราอันดับหนึ่งเทียมสามารถอธิบายได้ดังนี้

อัตราการการเปลี่ยนแปลงปริมาณการดูดซับ ณ เวลาใดๆ สามารถเขียนได้ว่า

$$\frac{dq_t}{dt} = k(q_e - q_t) \quad (6.1)$$

หรือ

$$\frac{dq_t}{(q_e - q_t)} = k dt \quad (6.2)$$

โดยที่ q_e และ q_t คือความสามารถในการดูดซับต่อน้ำหนักของวัสดุดูดซับที่สมดุล และที่เวลา t ตามลำดับ และ k (min^{-1}) คือค่าคงที่ของอัตราการดูดซับ

เมื่ออินทิเกรตสมการ (6.2) ด้วยสภาวะขอบเขต $t = 0$ ถึง $t = t$ และ $q_t = 0$ ถึง $q_t = q_t$ จะได้

$$\int_{q_t=0}^{q_t=q_t} \frac{dq_t}{(q_e - q_t)} = k \int_{t=0}^{t=t} dt \quad (6.3)$$

$$\ln \left(\frac{q_e - q_t}{q_e} \right) = -kt \quad (6.4)$$

สมการ (6.4) สามารถจัดเรียงใหม่ได้เป็น

$$\log(q_e - q_t) = \log q_e - \frac{k}{2.303} t \quad (6.5)$$

เมื่อสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่าง $\log(q_e - q_t)$ กับเวลา (t) จะได้กราฟเส้นตรงที่มีความชันเท่ากับ $-k/2.303$ และจุดตัดแกนตั้งที่ $\log q_e$ ซึ่งสามารถหาค่าคงที่อัตราการดูดซับ และค่าความสามารถของวัสดุดูดซับที่สภาวะสมดุลได้

6.2.2 สมการอัตราอันดับสองเทียม (pseudo-second order rate equation)

Yuh-Shan Ho ได้อธิบายกระบวนการทางจลนศาสตร์ของการดูดซับไอออนโลหะที่มี 2 วาเลนซ์บนผิวของ sphagnum moss peat (Ho และ McKay, 1998) บนผิวของวัสดุดูดซับดังกล่าวประกอบไปด้วยกลุ่มฟังก์ชันที่มีประจุ เช่น อัลดีไฮด์ คีโตน และฟีนอลิก กลุ่มฟังก์ชันเหล่านี้สามารถเกิดพันธะทางเคมี หรือเกิดการแลกเปลี่ยนประจุกับไอออนของโลหะหนักได้ ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นระหว่างผิวของวัสดุดูดซับ และไอออนของโลหะที่มี 2 วาเลนซ์ เช่น ทองแดงสามารถแสดงได้ดังนี้



หรือ



เมื่อ P และ HP คือ หมู่ฟังก์ชันที่มีประจุบนผิวของวัสดุคูดซับ

สมมติฐานของปฏิกิริยาที่ (6.6) และ (6.7) คือปฏิกิริยาการคูดซับ หรือการแลกเปลี่ยนไอออนเป็นปฏิกิริยาอันดับสอง อัตราของการเกิดปฏิกิริยาอันดับสองขึ้นอยู่กับปริมาณของไอออนโลหะบนผิวของวัสดุคูดซับที่เวลาใดๆ และปริมาณของไอออนโลหะที่ถูกคูดซับที่สมดุล ดังนั้นอัตราการเกิดการคูดซับสามารถเขียนได้ว่า

$$\frac{d(P)_t}{dt} = k[(P)_o - (P)_t]^2 \quad (6.8)$$

หรือ

$$\frac{d(HP)_t}{dt} = k[(HP)_o - (HP)_t]^2 \quad (6.9)$$

เมื่อ $(P)_t$ และ $(HP)_t$ คือ จำนวนตำแหน่งบนผิววัสดุคูดซับที่มีการคูดซับไอออนของโลหะหนักที่เวลา t ส่วน $(P)_o$ และ $(HP)_o$ คือ จำนวนตำแหน่งบนผิววัสดุคูดซับที่ไม่ได้คูดซับไอออนโลหะหนักที่สมดุล และ k คือค่าคงที่อัตราการคูดซับ มีหน่วยเป็น $\text{g} \cdot \text{mg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$

แรงผลักดันในการเกิดการคูดซับ ซึ่งมีค่าเท่ากับ $q_e - q_t$ จะมีค่าเท่ากับจำนวนตำแหน่งที่ว่าง บนผิวของวัสดุคูดซับ ณ เวลาใดๆ เทียบกับตำแหน่งที่ว่าง ณ สมดุล หรือเท่ากับ $(P)_o - (P)_t$ ดังนั้นสามารถเขียนสมการได้ว่า

$$\frac{dq_t}{dt} = k[q_e - q_t]^2 \quad (6.10)$$

สามารถจัดรูปใหม่ได้เป็น

$$\frac{dq_t}{(q_e - q_t)^2} = k dt \quad (6.11)$$

เมื่ออินทิเกรตสมการ (6.11) ด้วยสถานะขอบเขต $t = 0$ ถึง $t = t$ และ $q_t = 0$ ถึง $q_t = q_t$ จะได้

$$\frac{1}{(q_e - q_t)} = \frac{1}{q_e} + kt \quad (6.12)$$

สามารถจัดเรียงให้อยู่ในรูปของสมการเส้นตรงได้ดังนี้

$$\frac{t}{q_t} = \frac{1}{h} + \frac{1}{q_e} t \quad (6.13)$$

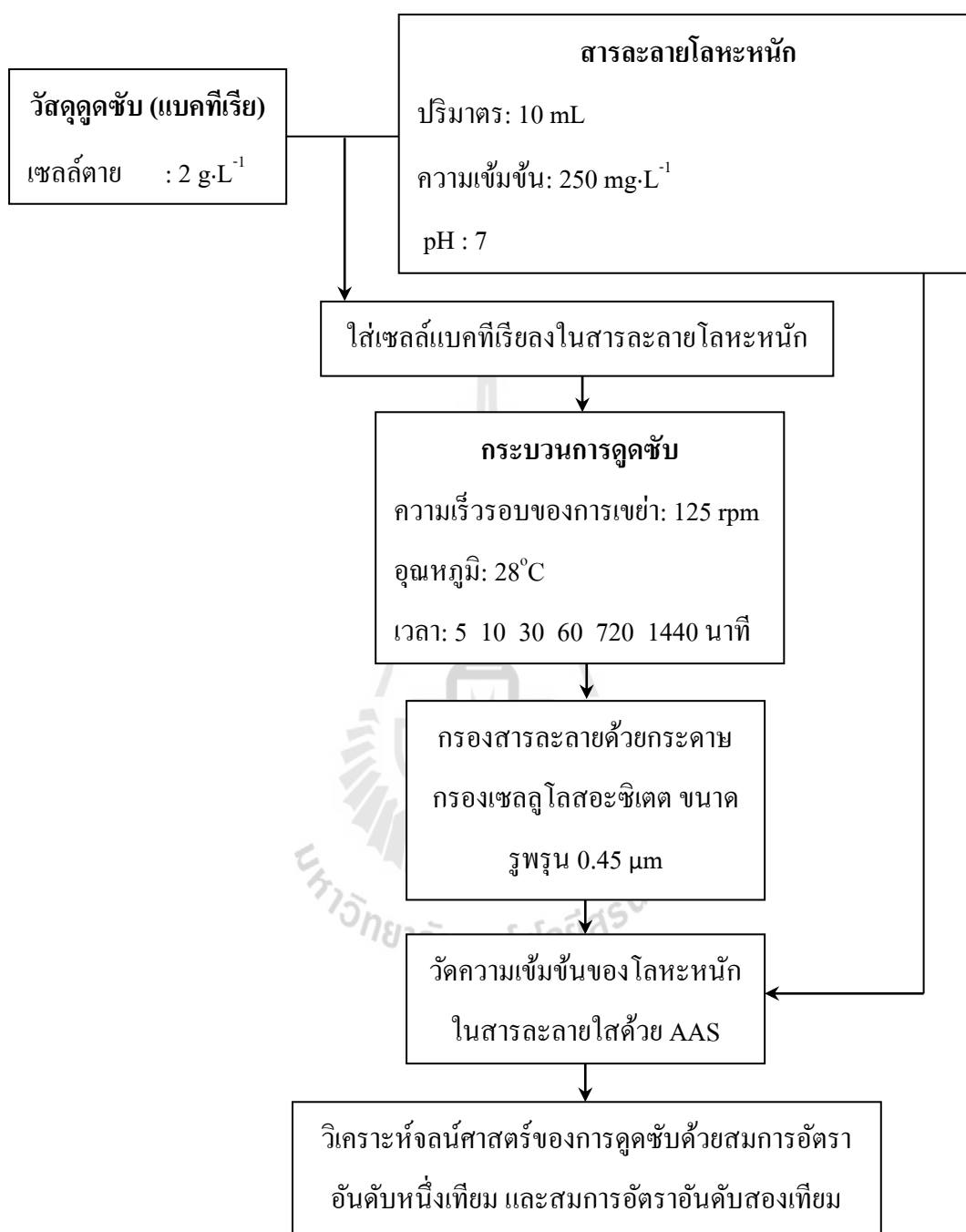
โดยที่ $h = kq_c^2$ ซึ่งคือ อัตราการดูดซับเริ่มต้น ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$) เมื่อทำการสร้างกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง t และ t/q_t สามารถหาค่าความสามารถในการดูดซับ ณ สมดุล และค่าคงที่อัตราการดูดซับได้

6.3 วิธีการดำเนินงานวิจัย

นำเซลล์ตายสัดส่วน $2 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ ใส่ในสารละลายโลหะหนักที่มีความเข้มข้นของสารประกอบโลหะหนักเท่ากับ $250 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ปริมาตร 10 mL จากนั้นทำการเขย่าสารละลายบนเครื่องเขย่าที่อุณหภูมิ 28°C ด้วยความเร็ว 125 รอบต่อนาที เป็นเวลา $5 \ 10 \ 30 \ 60 \ 720$ และ 1440 นาที จากนั้นจึงแยกเซลล์ออกจากสารละลายโดยการกรองด้วยตัวกรองขนาดรูพรุน $0.45 \ \mu\text{m}$ แล้วนำสารละลายที่ผ่านการกรองไปวัดปริมาณโลหะหนักภายหลังกระบวนการดูดซับ หลังจากนั้นทำการวิเคราะห์จลน์ศาสตร์ของการดูดซับด้วยแบบจำลองการดูดซับ 2 แบบจำลอง คือสมการอัตราอันดับหนึ่งเทียม และสมการอัตราอันดับสองเทียม



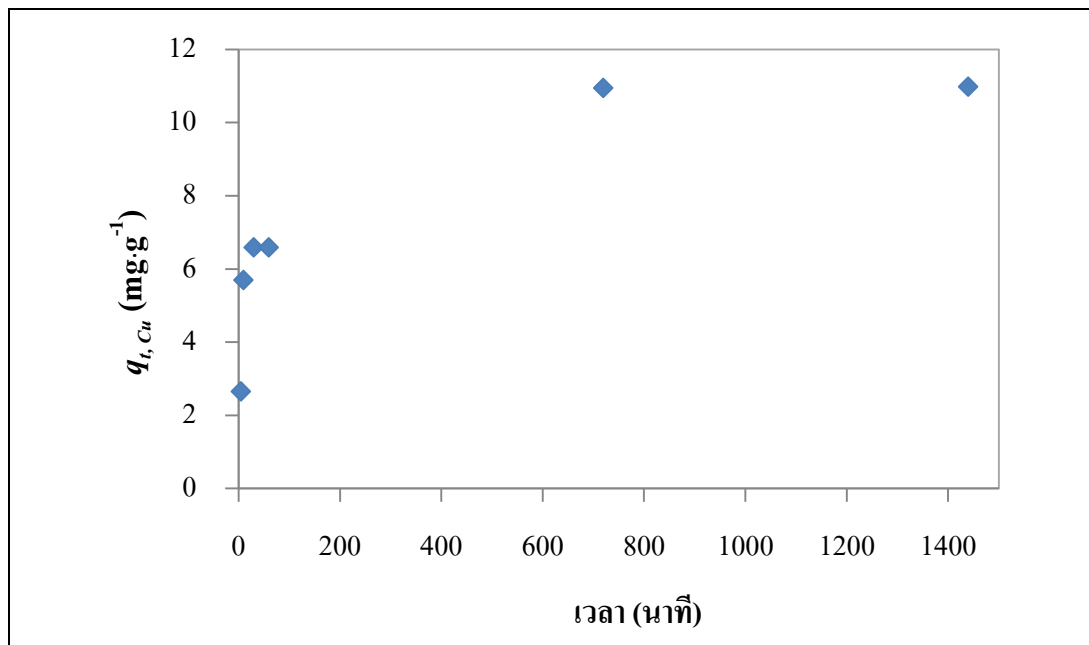
6.3.1 แผนภาพการดำเนินงานวิจัย



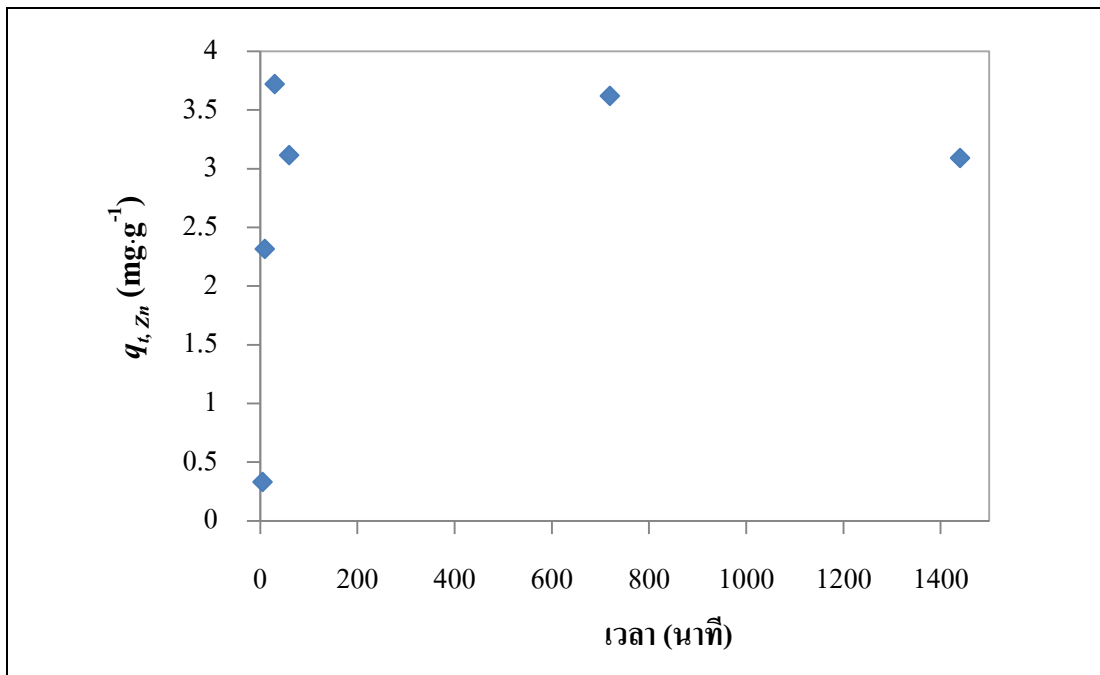
6.4 ผลการทดลองและการอภิปรายผล

ความสัมพันธ์ระหว่างเวลาการดูดซับ และความเข้มข้นของโลหะทองแดง และสังกะสีในที่ถูกดูดซับแสดงในรูปที่ 6.1-6.4 ซึ่งเป็นกราฟผลการทดลองเดียวกับรูปที่ 3.11 แต่แสดงในมาตรา

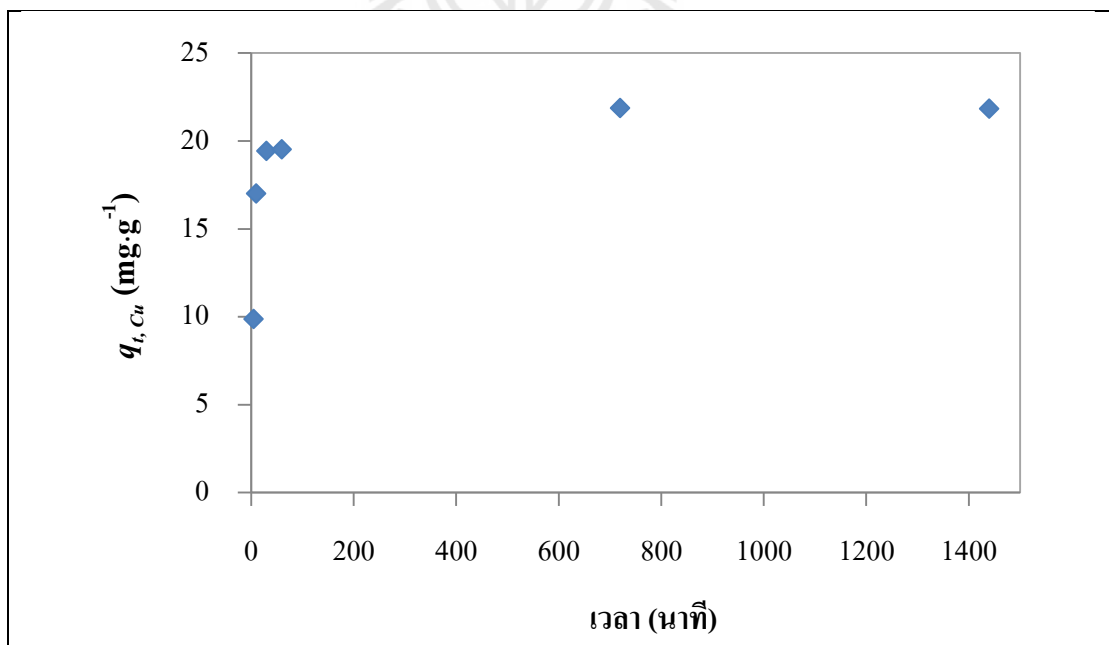
ส่วนที่ละเอียดกว่าเนื่องจากได้แยกแต่ละคู่การดูดซับออกจากกัน จึงเห็นแนวโน้มของผลการทดลองได้ถูกต้องมากขึ้น การทดสอบใช้วัสดุดูดซับในรูปของเซลล์ตายที่ถูกบดให้เป็นผงละเอียด โดยใช้ปริมาณของวัสดุดูดซับในสัดส่วน $2 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ ความเข้มข้นของสารประกอบโลหะทองแดง และสังกะสีในสารละลายเท่ากับ $250 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ และควบคุม pH ของสารละลายโลหะหนักเท่ากับ 7 ใช้เวลาการดูดซับในช่วง 5-1440 นาที



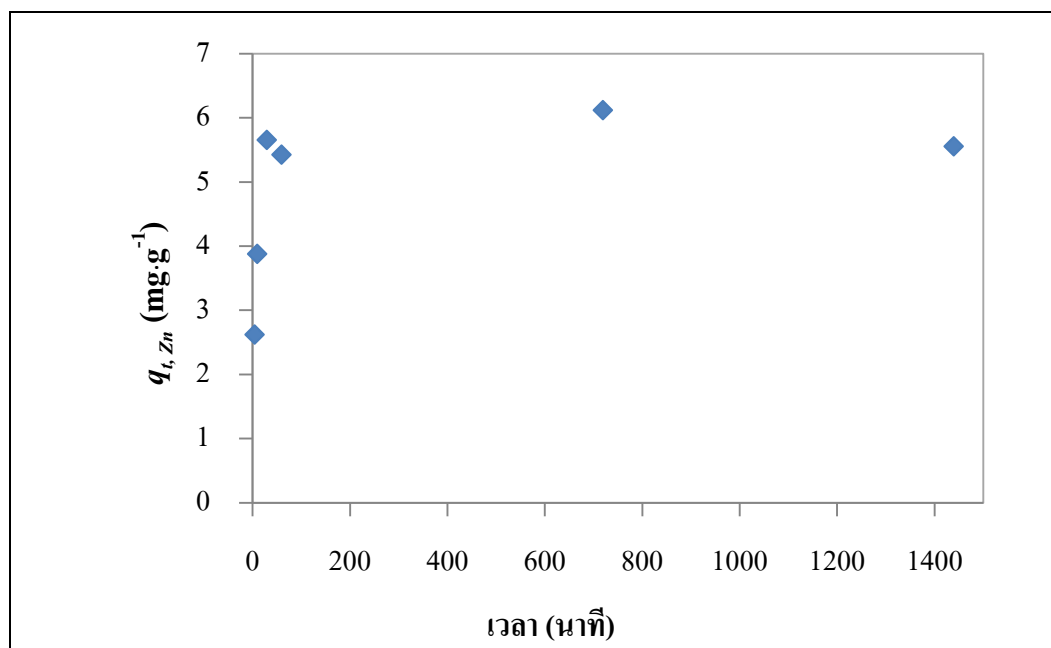
รูปที่ 6.1 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างเวลาการดูดซับกับปริมาณของโลหะทองแดงที่ถูกดูดซับต่อกรัมของ *Bradyrhizobium* sp. strain DOA9 ณ เวลาต่างๆ



รูปที่ 6.2 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างเวลาการดูดซับกับปริมาณของโลหะสังกะสีที่ถูกดูดซับต่อกรัมของ *Bradyrhizobium* sp. strain DOA9 ณ เวลาต่างๆ



รูปที่ 6.3 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างเวลาการดูดซับกับปริมาณของโลหะทองแดงที่ถูกดูดซับต่อกรัมของ *R. boonkerdii* sp. nov. strain NS20 ณ เวลาต่างๆ



รูปที่ 6.4 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างเวลาการดูดซับกับปริมาณของโลหะสังกะสีที่ถูกดูดซับต่อกรัมของ *R. boonkerdii* sp. nov. strain NS20 ณ เวลาต่างๆ

จากกราฟผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าเวลาที่ใช้ในการเกิดสมดุลการดูดซับอยู่ที่ช่วงเวลาประมาณ 30 นาที นั่นคือปริมาณของโลหะหนักที่ถูกดูดซับมีค่าเปลี่ยนแปลงน้อยเมื่อเวลาการดูดซับเพิ่มขึ้นเป็น 60 720 และ 1440 นาที ยกเว้นในกรณีของการดูดซับโลหะทองแดงด้วย *Bradyrhizobium* sp. strain DOA9 ซึ่งปริมาณของโลหะหนักที่ถูกดูดซับที่เวลา 720 นาที มีค่ามากกว่าปริมาณที่ถูกดูดซับที่เวลาการดูดซับ 60 นาที ฉะนั้นสมดุลการดูดซับจึงอาจใช้เวลามากกว่า 60 นาที

6.4.1 สมการอัตราอันดับหนึ่งเทียม (pseudo-first order rate equation)

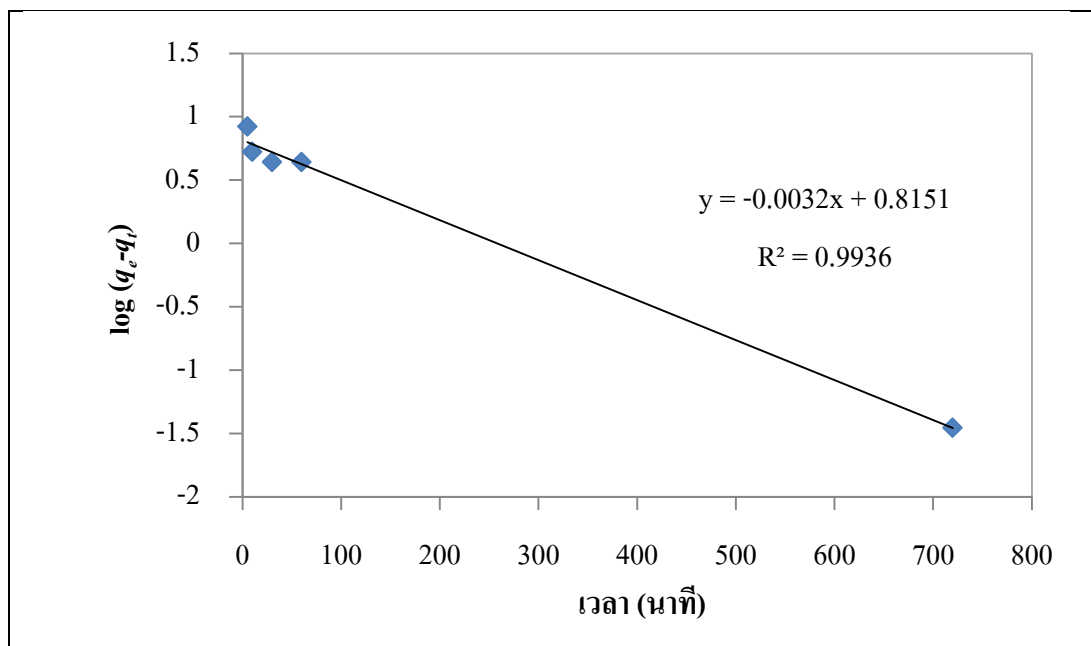
สมการอัตราอันดับหนึ่งเทียมแสดงดังสมการ (6.1) ดังนี้

$$\frac{dq_t}{dt} = k(q_e - q_t)$$

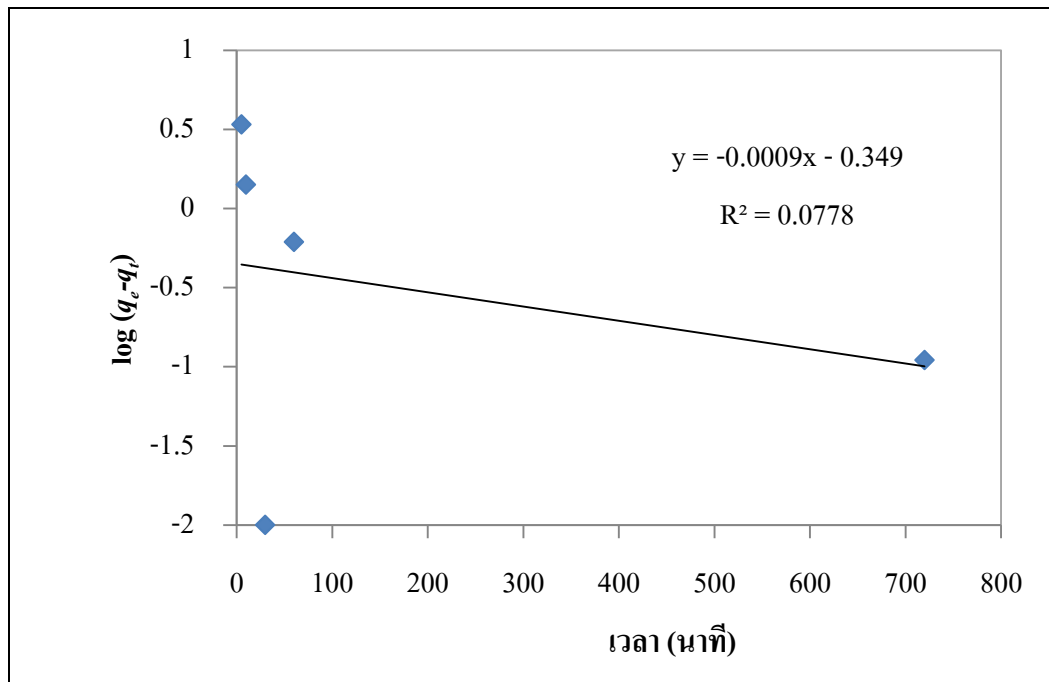
เมื่ออินทิเกรตสมการ (6.1) ด้วยสภาวะขอบเขต $t = 0$ ถึง $t = t$ และ $q_t = 0$ ถึง $q_t = q_t$ แล้วจัดให้อยู่ในรูปของสมการเส้นตรงได้ดังสมการ (6.5)

$$\log(q_e - q_t) = \log q_e - \frac{k}{2.303} t$$

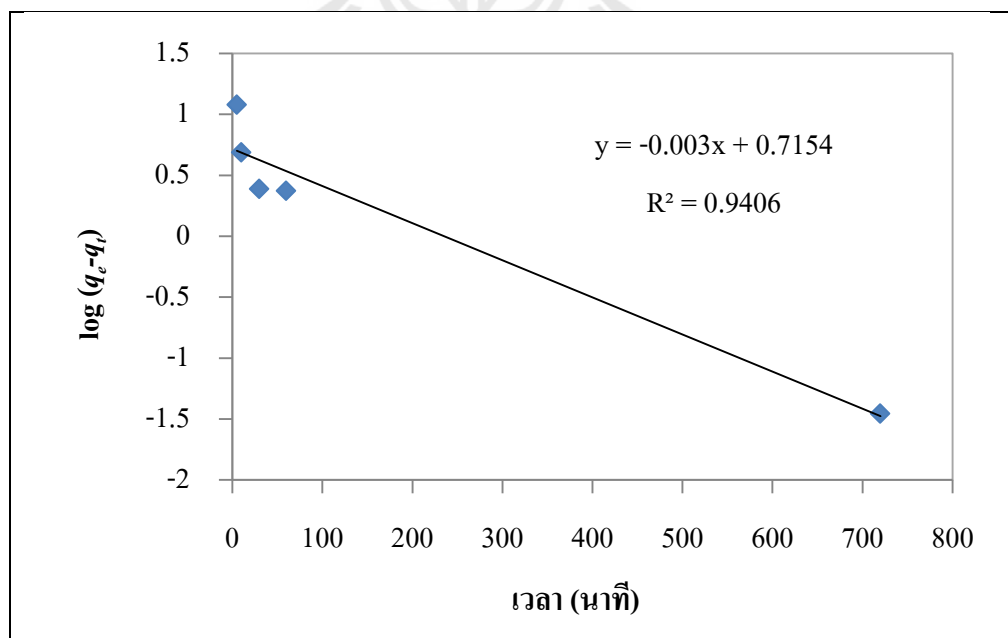
จากความสัมพันธ์ระหว่างเวลาการดูดซับกับปริมาณของโลหะหนักที่ถูกดูดซับดังแสดงในรูปที่ 6.1 – 6.4 เมื่อทำการแปรผลให้อยู่ในรูปของสมการเส้นตรงดังสมการที่ (6.5) โดยการสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่าง $\log(q_e - q_t)$ กับเวลา (t) จะได้แนวโน้มของเส้นกราฟ สมการเส้นตรงของเส้นกราฟ และค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (R^2) ดังแสดงในรูปที่ 6.5 – 6.8



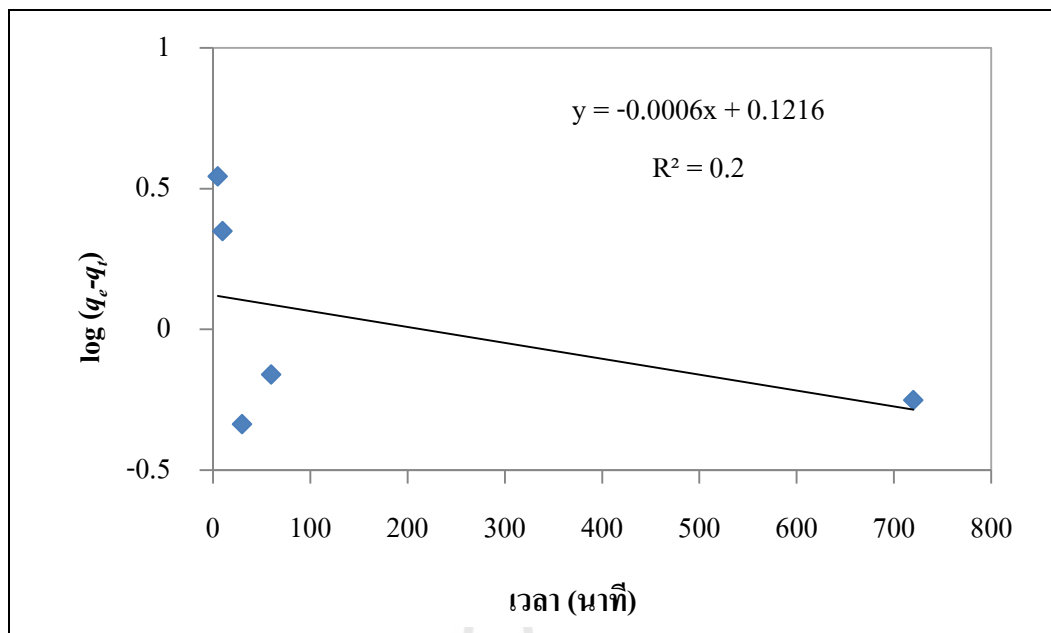
รูปที่ 6.5 แสดงความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่าง เวลา กับ $\log(q_e - q_t)$ ตามสมการอัตราอันดับหนึ่งเทียม ในการดูดซับโลหะทองแดงด้วย *Bradyrhizobium* sp. strain DOA9



รูปที่ 6.6 แสดงความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่าง เวลา กับ $\log(q_e - q_t)$ ตามสมการอัตราอันดับหนึ่ง
 เทียมในการดูดซับ โลหะสังกะสีด้วย *Bradyrhizobium* sp. strain DOA9



รูปที่ 6.7 แสดงความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่าง เวลา กับ $\log(q_e - q_t)$ ตามสมการอัตราอันดับหนึ่ง
 เทียมในการดูดซับ โลหะทองแดงด้วย *R. boonkerdii* sp. nov. strain NS20



รูปที่ 6.8 แสดงความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่าง เวลา กับ $\log(q_e - q_t)$ ตามสมการอัตราอันดับหนึ่ง
 เทียมในการดูดซับ โลหะสังกะสีด้วย *R. boonkerdii* sp. nov. strain NS20

ปริมาณโลหะหนักที่ถูกดูดซับที่สมดุลที่ได้จากการคำนวณ ค่าคงที่อัตราอันดับหนึ่ง และสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ จากการแปรผลการทดลองด้วยสมการอัตราอันดับหนึ่งเทียมตาม สมการที่ (6.5) แสดงในตารางที่ 6.1 กราฟผลการทดลอง และค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์แสดงให้เห็นว่าอัตราการดูดซับของแบคทีเรียทั้งสองสายพันธุ์ที่ใช้ในการทดลอง ไม่เป็นไปตามสมการอัตรา อันดับหนึ่ง โดยเฉพาะการดูดซับ โลหะสังกะสีที่ไม่แสดงความสัมพันธ์ที่เป็นเชิงเส้น อีกทั้งปริมาณ โลหะหนักที่ถูกดูดซับที่สมดุลที่ได้จากการคำนวณ มีค่าน้อยกว่าค่าที่ได้จากการทดลองมาก

ตารางที่ 6.1 ปริมาณ โลหะหนักที่ถูกดูดซับที่สมดุล ค่าคงที่อัตราอันดับหนึ่ง และสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ จากการแปรผลการทดลองด้วยสมการอัตราอันดับหนึ่งเทียม

วัสดุดูดซับ/โลหะหนัก	q_e ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$)	k (min^{-1})	R^2
DOA9/Cu	6.53	0.00737	0.9936
DOA9/Zn	0.45	0.00207	0.0778
NS20/Cu	5.19	0.00691	0.9406
NS20/Zn	1.32	0.00138	0.2000

6.4.2 สมการอัตราอันดับสองเทียม (pseudo-second order rate equation)

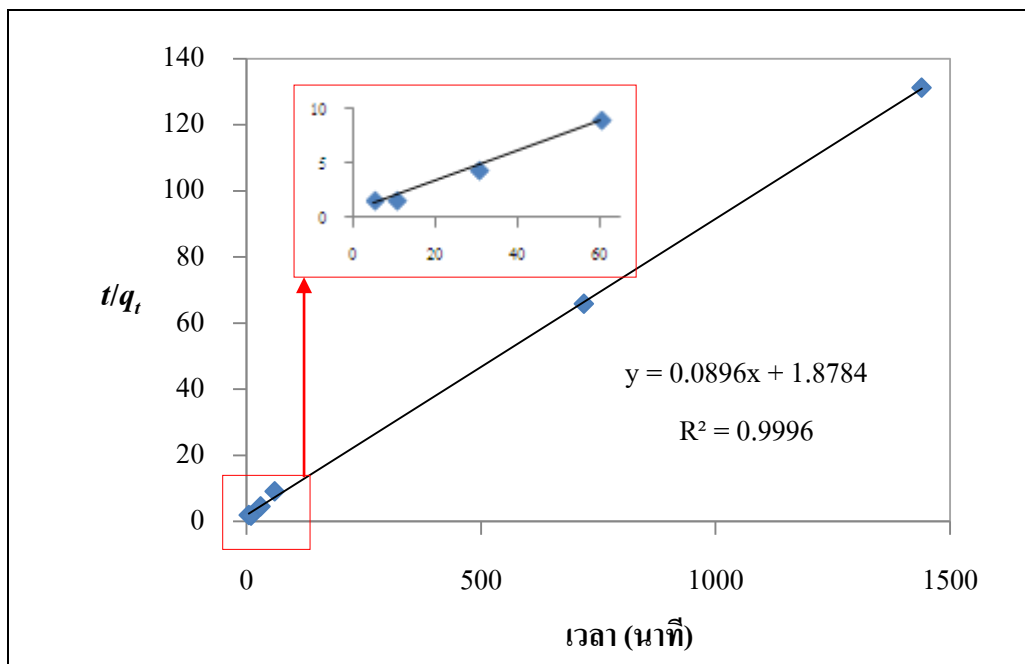
สมการอัตราอันดับสองเทียมแสดงดังสมการ (6.10) ดังนี้

$$\frac{dq_t}{dt} = k(q_e - q_t)^2$$

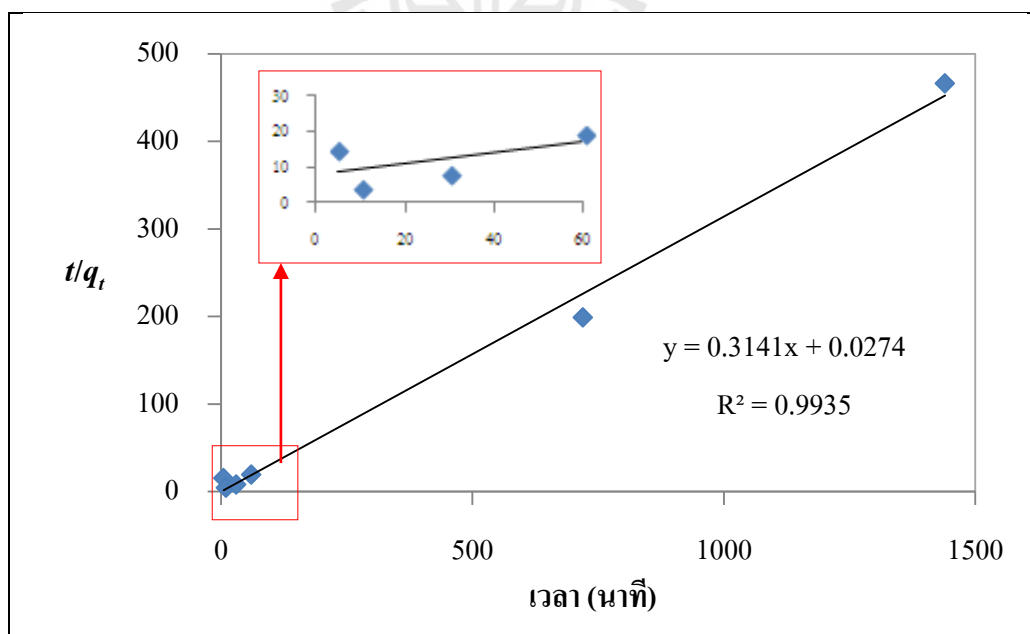
เมื่ออินทิเกรตสมการ (6.10) ด้วยสภาวะขอบเขต $t = 0$ ถึง $t = t$ และ $q_t = 0$ ถึง $q_t = q_t$ แล้วจัดให้อยู่ในรูปของสมการเส้นตรงดังสมการ (6.13) ดังนี้

$$\frac{t}{q_t} = \frac{1}{h} + \frac{1}{q_e} t$$

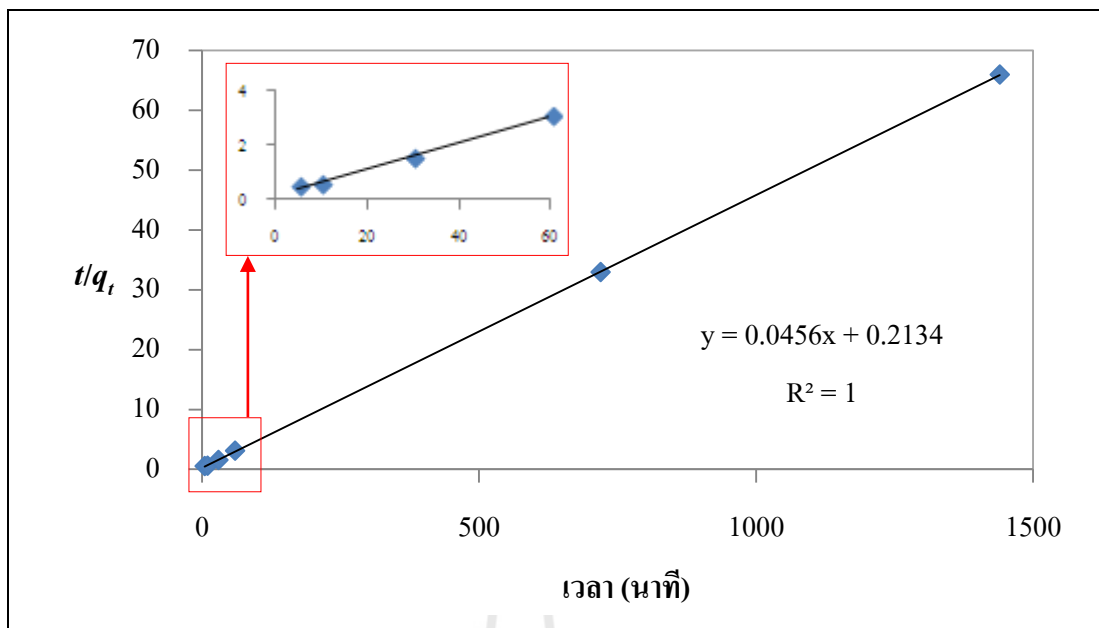
จากความสัมพันธ์ระหว่างเวลาการดูดซับกับปริมาณของโลหะหนักที่ถูกดูดซับดังแสดงในรูปที่ 6.1 – 6.4 เมื่อทำการแปรผลการทดลองให้อยู่ในรูปของสมการเส้นตรงตามสมการอัตราอันดับสอง ดังสมการที่ (6.13) โดยการสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่าง เวลา (t) กับ t/q_t ได้แนวโน้มของเส้นกราฟ สมการเส้นตรงของเส้นกราฟ และค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (R^2) ดังแสดงในรูปที่ 6.9 – 6.12



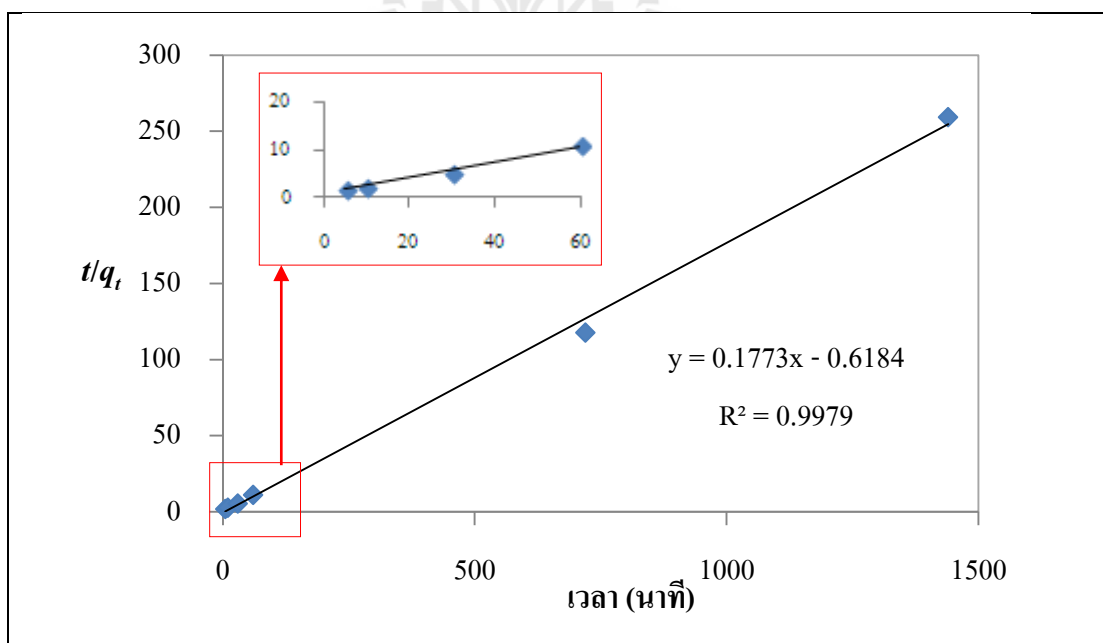
รูปที่ 6.9 แสดงความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่าง เวลาการดูดซับ กับ t/q_t ตามสมการอัตราอันดับสอง เทียมในการดูดซับ โลหะทองแดง ด้วย *Bradyrhizobium* sp. strain DOA9



รูปที่ 6.10 แสดงความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่าง เวลาการดูดซับ กับ t/q_t ตามสมการอัตราอันดับสอง เทียมในการดูดซับ โลหะสังกะสีด้วย *Bradyrhizobium* sp. strain DOA9



รูปที่ 6.11 แสดงความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่าง เวลาการดูดซับ กับ t/q_t ตามสมการอัตราอันดับสอง เทียมในการดูดซับ โลหะทองแดงด้วย *R. boonkerdii* sp. nov. strain NS20



รูปที่ 6.12 แสดงความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่าง เวลาการดูดซับ กับ t/q_t ตามสมการอัตราอันดับสอง เทียมในการดูดซับ โลหะสังกะสีด้วย *R. boonkerdii* sp. nov. strain NS20

ปริมาณโลหะหนักที่ถูกดูดซับที่สมดุลที่ได้จากการคำนวณ ค่าคงที่อัตราอันดับสอง และสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ จากการแปรผลการทดลองด้วยสมการอัตราอันดับสองเทียม แสดงใน ตารางที่ 6.2 ซึ่งเห็นได้อย่างชัดเจนว่าผลการทดลองที่ได้สอดคล้องกับสมการอัตราอันดับสองเทียม มากกว่าสมการอัตราอันดับหนึ่งเทียม ผลการคำนวณปริมาณโลหะหนักที่ถูกดูดซับเมื่อการดูดซับ เข้าสู่สมดุลมีค่าใกล้เคียงกับปริมาณการดูดซับที่ได้จากผลการทดสอบ ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ ช่วยยืนยันความถูกต้องของแบบจำลองสมการอัตราอันดับสองเทียม โดยมีค่าเท่ากับ และใกล้เคียง 1 ในทุกคู่ของการดูดซับ จากสมมติฐานของการสร้างสมการอัตราอันดับสอง แสดงให้เห็นว่าการดูดซับ โลหะทองแดง และสังกะสีด้วยเซลล์แบคทีเรียทั้งสองสายพันธุ์นี้สอดคล้องกับสมการอัตรา อันดับสอง

ตารางที่ 6.2 ปริมาณโลหะหนักที่ถูกดูดซับที่สมดุล ค่าคงที่อัตราอันดับหนึ่ง และสัมประสิทธิ์ สหสัมพันธ์ จากการแปรผลการทดลองด้วยสมการอัตราอันดับสองเทียม

วัสดุดูดซับ/โลหะหนัก	q_e (mg·g ⁻¹)	h (mg·g ⁻¹ ·min ⁻¹)	k^* (g·mg ⁻¹ ·min ⁻¹)	R ²
DOA9/Cu	11.16	0.5324	0.0043	0.9996
DOA9/Zn	3.18	36.4963	3.6091	0.9935
NS20/Cu	21.93	4.6860	0.0097	1.0000
NS20/Zn	5.64	-1.6170	-0.0508	0.9979

$$* h = kq_e^2$$

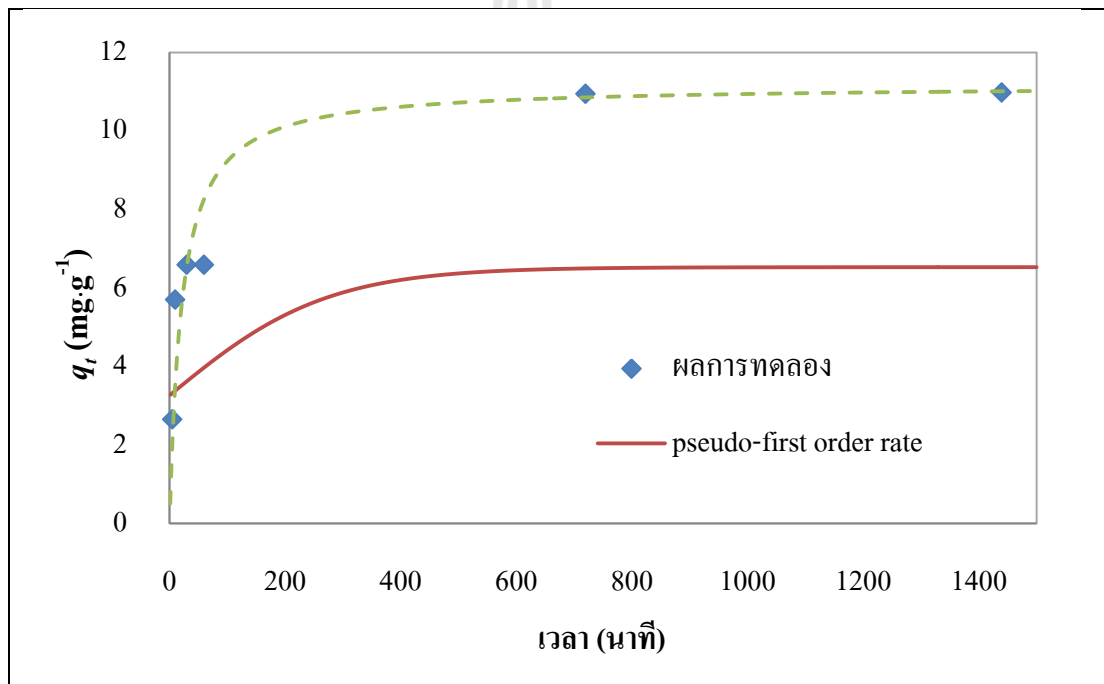
6.4.3 เปรียบเทียบสมการอัตราการดูดซับกับผลการทดลอง

จากสมการอัตราอันดับหนึ่งเทียมและสมการอัตราอันดับสองเทียม สามารถเขียน สมการในรูปทั่วไปแสดงปริมาณโลหะหนักที่ถูกดูดซับ ณ เวลาใดๆ ได้ดังสมการที่ (6.14) และ (6.15) ตามลำดับ

$$q_t = q_e \left(\frac{e^{kt}}{1 + e^{kt}} \right) \quad (6.14)$$

$$q_t = \frac{q_e^2 kt}{1 + q_e kt} \quad (6.15)$$

เมื่อเปรียบเทียบความสัมพันธ์ระหว่างเวลาการดูดซับ และความเข้มข้นของโลหะหนักที่ถูกดูดซับจากผลที่ได้จากการทดลอง สมการอัตราอันดับหนึ่งเทียบกับสมการ (6.14) และสมการอัตราอันดับสองเทียบกับสมการ (6.15) ดังแสดงในรูปที่ 6.13-6.16 จึงเห็นได้ชัดว่าผลการทดลองที่ได้มีความสอดคล้องกับผลการคำนวณจากสมการอัตราอันดับสองเทียบมาก ทั้งนี้ได้แสดงสมการอัตราอันดับหนึ่งเทียบ และสมการอัตราอันดับสองเทียบจากการแทนค่าคงที่ต่างๆที่ได้จากผลการคำนวณลงในสมการ (6.14) และ (6.15) เพื่อสามารถใช้ในการประเมินปริมาณการดูดซับที่เวลาต่างๆได้โดยตรง



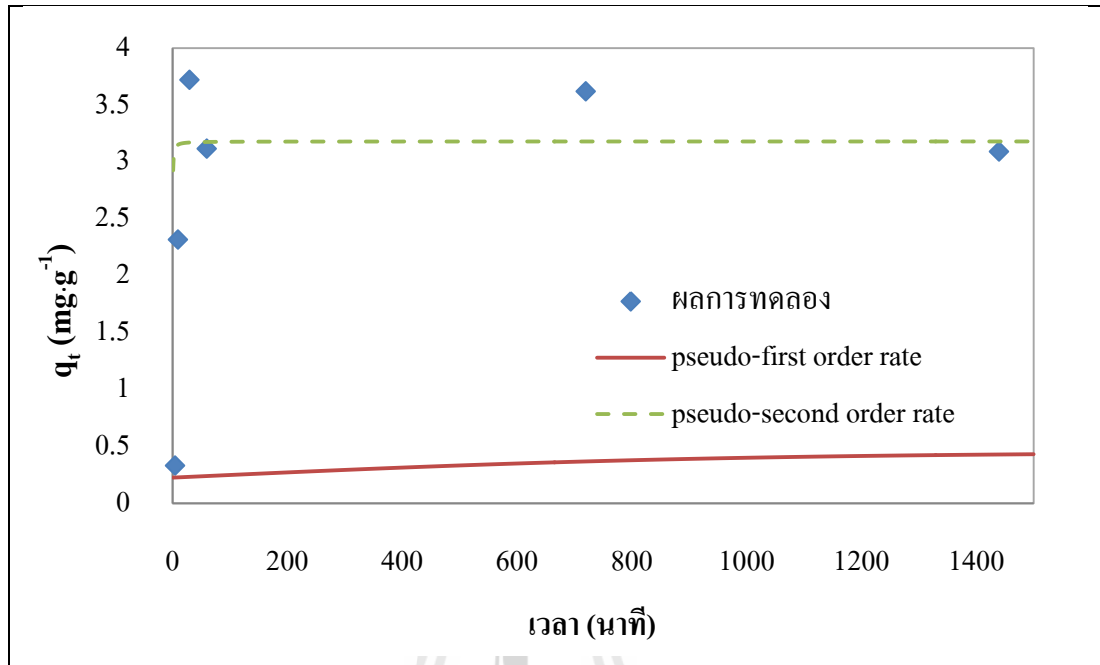
รูปที่ 6.13 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างเวลาการดูดซับกับปริมาณของโลหะทองแดงที่ถูกดูดซับที่ได้จากผลการทดลองการดูดซับโลหะทองแดงด้วย *Bradyrhizobium* sp. strain DOA9 และผลการคำนวณด้วยสมการอัตราอันดับหนึ่งเทียบและสมการอัตราอันดับสองเทียบ

สมการอัตราอันดับหนึ่งเทียบ

$$q_t = 6.53 \left(\frac{e^{0.0073t}}{1 + e^{0.0073t}} \right) \quad (6.16)$$

สมการอัตราอันดับสองเทียม

$$q_t = \frac{0.5324t}{1+0.0476t} \quad (6.17)$$



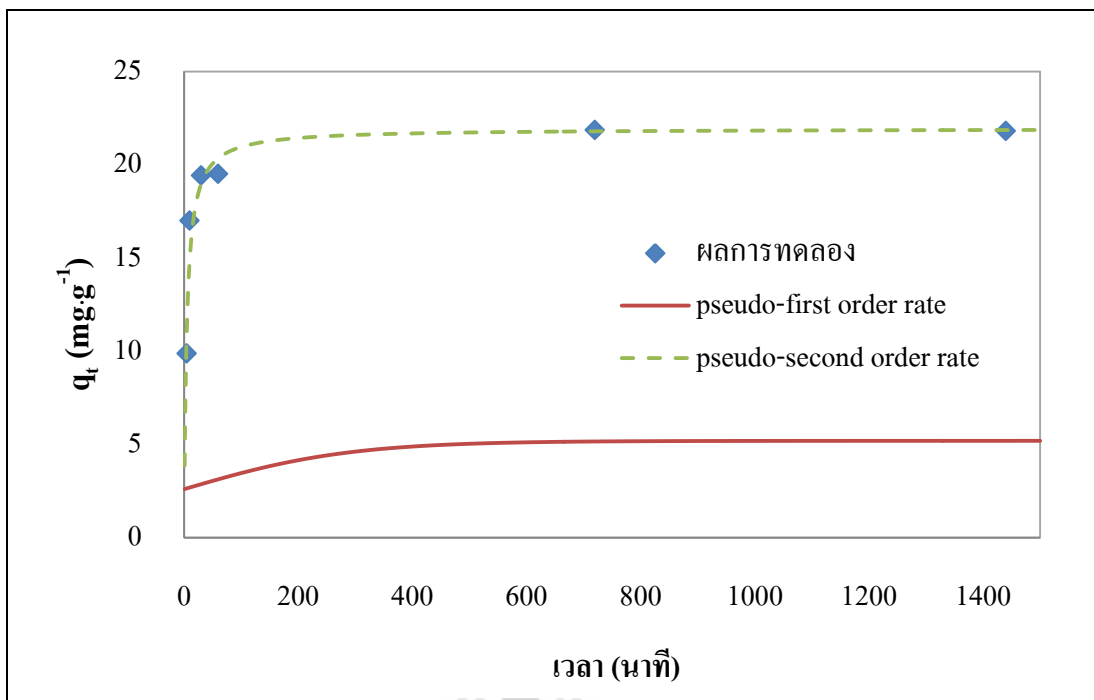
รูปที่ 6.14 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างเวลาการดูดซับกับปริมาณของโลหะสังกะสีที่ถูกดูดซับที่ได้จากผลการทดลองการดูดซับโลหะสังกะสีด้วย *Bradyrhizobium* sp. strain DOA9 และผลการคำนวณด้วยสมการอัตราอันดับหนึ่งเทียมและสมการอัตราอันดับสองเทียม

สมการอัตราอันดับหนึ่งเทียม

$$q_t = 0.45 \left(\frac{e^{0.00207t}}{1 + e^{0.00207t}} \right) \quad (6.18)$$

สมการอัตราอันดับสองเทียม

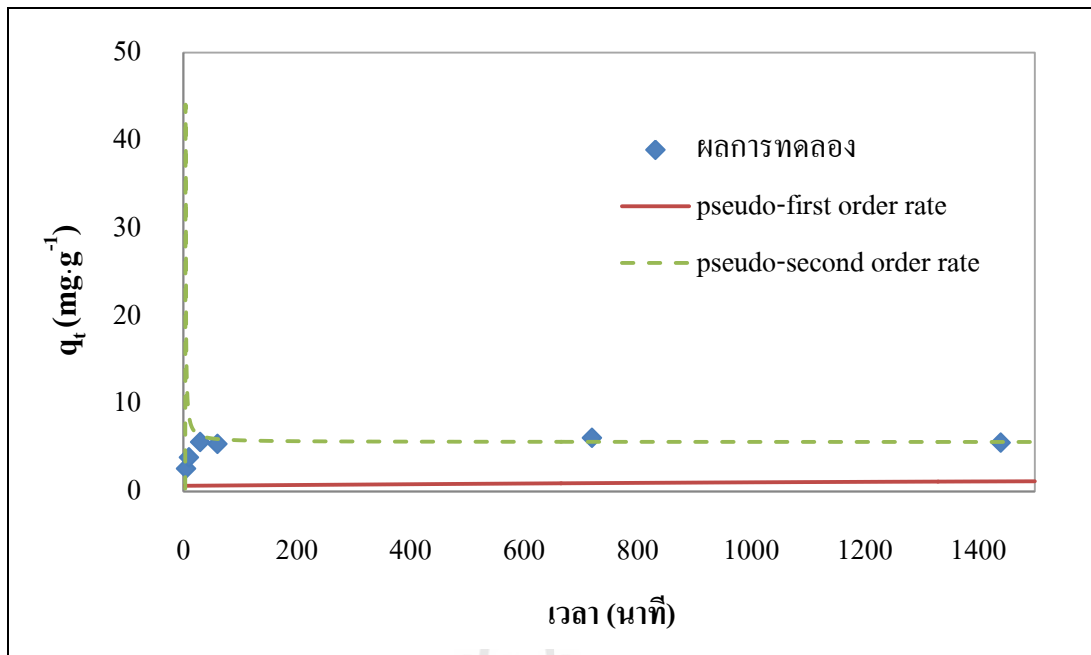
$$q_t = \frac{36.4963t}{1+11.4768t} \quad (6.19)$$



รูปที่ 6.15 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างเวลาการดูดซับกับปริมาณของโลหะทองแดงที่ถูกดูดซับที่ได้จากผลการทดลองการดูดซับโลหะทองแดงด้วย *R. boonkerdii* sp. nov. strain NS20 และผลการคำนวณด้วยสมการอัตราอันดับหนึ่งเทียมและสมการอัตราอันดับสองเทียม

สมการอัตราอันดับหนึ่งเทียม
$$q_t = 5.19 \left(\frac{e^{0.0069t}}{1 + e^{0.0069t}} \right) \quad (6.20)$$

สมการอัตราอันดับสองเทียม
$$q_t = \frac{4.686t}{1 + 0.2136t} \quad (6.21)$$



รูปที่ 6.16 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างเวลาการดูดซับกับปริมาณของโลหะสังกะสีที่ถูกดูดซับที่ได้จากผลการทดลองการดูดซับโลหะสังกะสีด้วย *R. boonkerdii* sp. nov. strain NS20 และผลการคำนวณด้วยสมการอัตราอันดับหนึ่งเทียมและสมการอัตราอันดับสองเทียม

$$\text{สมการอัตราอันดับหนึ่งเทียม} \quad q_t = 1.32 \left(\frac{e^{0.00138t}}{1 + e^{0.00138t}} \right) \quad (6.22)$$

$$\text{สมการอัตราอันดับสองเทียม} \quad q_t = \frac{-1.617t}{1 - 0.2867t} \quad (6.23)$$

6.5 สรุปผลการวิจัย

ปริมาณโลหะทองแดง และสังกะสีที่ถูกดูดซับมีค่าเพิ่มขึ้นตามเวลาการดูดซับที่นานขึ้น และมีแนวโน้มคงที่หรือเข้าสู่สมดุลการดูดซับเมื่อที่เวลาการดูดซับประมาณ 30 นาที ยกเว้นในกรณีของการดูดซับโลหะทองแดงด้วย *Bradyrhizobium* sp. strain DOA9 ที่แสดงเวลาการเกิดสมดุลการดูดซับนานกว่า 60 นาที สมการอัตราอันดับหนึ่งเทียมแสดงผลการคำนวณที่ไม่สอดคล้องกับผลการทดลองที่ได้ เมื่อเทียบกับผลการคำนวณจากสมการอัตราอันดับสองเทียม ผลการคำนวณค่าความสามารถในการดูดซับโลหะหนักที่สมดุลจากสมการอัตราอันดับสองเทียมมีค่าใกล้เคียงกับ

ค่าที่ได้จากผลการทดลองมาก *Rhodospseudomonas boonkerdii* sp. Nov. strain NS20 แสดงความสามารถในการดูดซับโลหะทองแดงได้ในปริมาณที่สูงกว่ากรณีของกลุ่มการดูดซับอื่นๆ โดยที่สมมูล เซลล์แห้งจำนวน 1 g สามารถดูดซับทองแดงได้ 21.83 mg และผลการคำนวณด้วยสมการอัตราอันดับสองเทียมให้ค่าการดูดซับที่สมมูลเท่ากับ 21.93 mg·g⁻¹ จากกราฟเปรียบเทียบผลการทดลองจลนศาสตร์การดูดซับกับผลการคำนวณด้วยสมการอัตราอันดับหนึ่งเทียม และสมการอัตราอันดับสองเทียม ช่วยยืนยันความถูกต้องของการแปรผลการทดลองด้วยสมการอัตราอันดับสองเทียม และจากสมมติฐานของสมการอัตราอันดับสองเทียม สามารถกล่าวได้ว่าแรงขับเคลื่อนของกระบวนการดูดซับเกิดจากความแตกต่างระหว่างปริมาณที่เวลาใดๆกับปริมาณการดูดซับที่สมมูล

6.6 เอกสารอ้างอิง

- เกษราพร สุอรุณ และ โกวิทป์ ปิยะมังกคลา (2012). จลนศาสตร์การดูดซับไอออนเงินโดยเรซินไคโตซาน. วารสารวิทยาศาสตร์มหาวิทยาลัยขอนแก่น. 40: 1285-1300.
- วีรานุช หลาง, ชมวรรณ เดชมา, วันวิสาข์ บูรณบริรักษ์, และ สาโรจน์ ศิริสันสนียกุล (2009). แบบจำลองทางจลนพลศาสตร์ของการดูดซับและการคายสารนอฟินอลด้วยเส้นใยไรโซชีวิตที่เจริญและถูกตรึงในเม็ดไคโตซาน. **Environment and Natural Resources Journal**. 17: 82-97.
- Chowdhury, S., and Saha, P. (2010). Pseudo-second order kinetic for sorption of malachite green onto sea shell: comparison of linear and non-linear methods. **The Institute of Integrative Omics and Applied Biotechnology Journal**. 1: 3-7.
- Demirbas, E., Kobya, M., Senturk, E., and Ozkan, T. (2003). Adsorption kinetics for the removal of chromium (VI) from aqueous solutions on the activated carbons prepared from agricultural wastes. **Water SA**. 30: 533-540.
- Febrianto, J., Kosasih, A.N., Sunarso, J., Ju, Y.H., Indraswati, N., and Ismadji, S. (2009). Equilibrium and kinetic studies in adsorption of heavy metals using biosorbent: a summary of recent studies. **Journal of Hazardous Materials**. 162: 616-645.
- Gupta, V.K., and Rastogi, A. (2008). Biosorption of lead from aqueous solutions by green algae *Spirogyra* species: kinetics and equilibrium studies. **Journal of Hazardous Materials**. 152: 407-411.

- Ho, Y.S., and McKay, G. (1998a). A comparison of chemisorptions kinetic models applied to pollutant removal on various sorbents. **Process Safety and Environmental Protection**. 76: 322-340.
- Ho, Y.S., and McKay, G. (1998b). Sorption of dye from aqueous solution by peat. **Chemical Engineering Journal**. 70: 115-124.
- Ho, Y.S., and McKay, G. (1999). Pseudo-second order model for sorption process. **Process Biochemistry**. 34: 451-465.
- Ho, Y.S., and McKay, G. (1999). The sorption of lead (II) ions on peat. **Water research**. 33: 578-584.
- Ho, Y.S. (2004). Citation review of Lagergren kinetic rate equation on adsorption reaction. **Scientometrics**. 5: 171-177.
- Ho, Y.S. (2006). Review of second order model for adsorption systems. **Journal of hazardous materials B**. 136: 681-689.
- Kumar, P.S., and Kirthika, K. (2009). Equilibrium and kinetic study of adsorption of nickel from aqueous solution onto beal tree leaf powder. **Journal of Engineering Science and Technology**. 4: 351-363.
- Lagergren, S. (1898). About the theory of so-called adsorption of soluble substances. *Kungliga Svenska Vetenskapska kademien*. **Handlingar**. 24: 1-39.
- Loukidou, M.X., Zouboulis, A.I., Karapantsios, T.D., and Matis, K. A. (2004). Equilibrium and kinetic modeling of chromium (VI) biosorption by *Aeromonas caviae*. **Colloids and surfaces A**. 242: 93-104.
- Malik, U.R., Hasany, S.M., and Sabhani, M.S. (2005). Sorptive potential of sunflower stem for Cr (III) ions from aqueous solution and its kinetic and thermodynamic profile. **Talanta**. 66: 166-173.
- Qui, H., Lu, L.V., Pan, B., Zhang, Q.J., Zhang, W.M., and Zhang, Q.X. (2009). Critical review in adsorption kinetic models. **Journal of Zhejiang University Science A**. 10: 716-724.
- Sharma, I., Goyal, D. (2009). Kinetic modeling: Chromium (III) removal from aqueous solution by microbial waste biomass. **Journal of Scientific & Industrial Research**. 68: 640-646.
- Sivaprakash, A., Aravindhana, R., Raghavarao, J., and Unnainair, B. (2007). Kinetics and equilibrium studies on the biosorption of hexavalent chromium from aqueous solutions

- using *Bacillus subtilis* biomass. **Applied Ecology and Environmental Research**. 7: 45-57.
- Yao, Z.Y., Qi, J.H., and Wang, L.H. (2010). Equilibrium, kinetic and thermodynamic studies on the biosorption of Cu (II) on to chestnut shell. **Journal of Hazardous Materials**. 174: 137-143.
- Webber, T.W., and Chakkravorti, R.K. (1974). Pore and solid diffusion models for fixed-bed adsorption. **American Institute of Chemical Engineers Journal**. 20: 228-238.



บทที่ 7

กระบวนการดูดซับทางชีวภาพในน้ำเสียอุตสาหกรรม

7.1 บทคัดย่อ

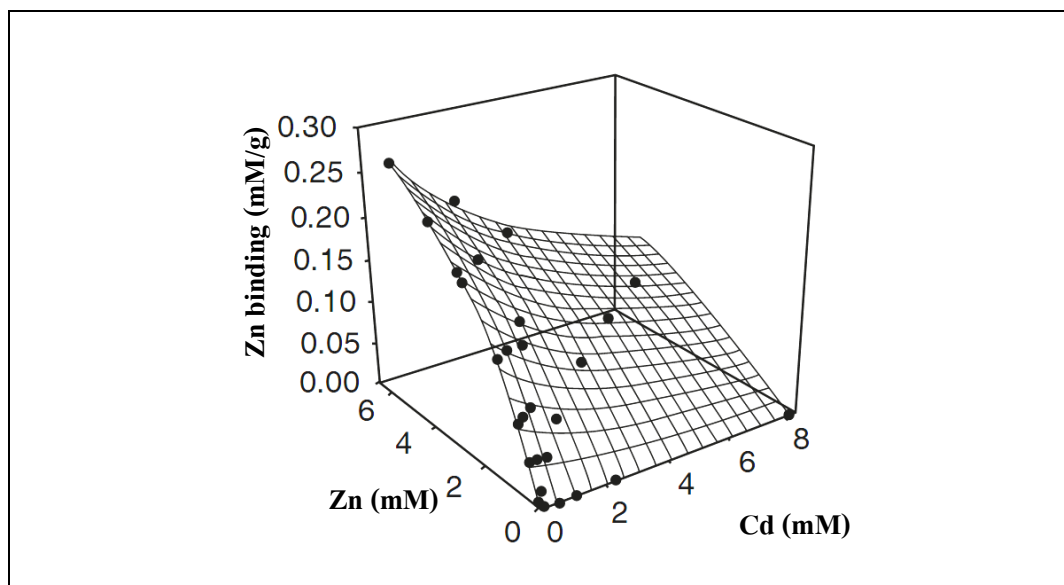
การทดสอบการดูดซับทางชีวภาพในน้ำเสียอุตสาหกรรมนั้นย่อมให้ผลที่แตกต่างจากการทดสอบในน้ำเสียที่สังเคราะห์ขึ้น เนื่องจากในน้ำเสียจริงนั้นมักมีการเจือปนของไอออนต่างๆ มากกว่าหนึ่งชนิด โดยทั้งไอออนบวก และไอออนลบที่เจือปนในน้ำเสียเป็นหนึ่งในปัจจัยหลักที่มีผลต่อประสิทธิภาพการดูดซับ การทดลองนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อให้ทราบศักยภาพของวัสดุดูดซับในการดูดซับโลหะหนักในน้ำเสียอุตสาหกรรมเทียบกับน้ำเสียที่สังเคราะห์ขึ้น น้ำเสียที่ใช้ในการทดสอบเป็นน้ำเสียที่มีการเจือปนของโลหะสังกะสี และโครเมียมสูง และมีค่าความเป็นกรดสูง (pH=2) การทดสอบทำโดยใช้เซลล์ไม่มีชีวิตที่ผ่านการบดเป็นผงละเอียดในสัดส่วน $2 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ เป็นวัสดุดูดซับในน้ำเสียปริมาตร 10 mL ที่ผ่านการกรองอนุภาคของแข็งแขวนลอยด้วยตะแกรงขนาดรูพรุน $38 \mu\text{m}$ ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าปริมาณการดูดซับโลหะทองแดง และสังกะสีมีค่าต่ำมากเมื่อเทียบกับผลการคำนวณปริมาณการดูดซับด้วยแบบจำลองสมดุลการดูดซับของฟรุนด์ลิชในระบบเดี่ยว ทั้งนี้เป็นเพราะปัจจัยหลักสองประการคือ การดูดซับกระทำในระบบหลายองค์ประกอบและสารละลายน้ำเสียมีค่าความเป็นกรดสูง ทั้งสองปัจจัยดังกล่าวส่งเสริมกันทำให้ประสิทธิภาพในการดูดซับต่ำมาก ทั้งนี้ *R. boonkerdii* sp. nov. strain NS20 ยังคงแสดงความสามารถในการดูดซับได้ดีกว่า *Bradyrhizobium* sp. strain DOA9 ด้วยเหตุที่น้ำเสียมีค่า pH ต่ำเกินไปซึ่งส่งผลเสียต่อประสิทธิภาพการดูดซับ จึงได้ปรับ pH ของน้ำเสียให้เท่ากับ 7 ซึ่งน้ำเสียภายหลังการปรับ pH มีความเข้มข้นของโลหะหนักลดลงมากเนื่องจากเกิดการตกตะกอนของสารประกอบโลหะ และเหลือเพียงโลหะสังกะสีเท่านั้นที่มีความเข้มข้นในระดับสูง ผลการทดสอบพบว่าประสิทธิภาพการดูดซับในน้ำเสียที่ผ่านการปรับ pH มีค่าสูงขึ้น และมีค่าใกล้เคียงกับปริมาณการดูดซับในระบบองค์ประกอบเดี่ยว

7.2 บทนำ

การศึกษาวิจัยที่ผ่านมาได้พิสูจน์แล้วว่ากระบวนการดูดซับทางชีวภาพนั้นมีความสามารถในการกำจัดไอออนของโลหะหนักที่ละลายในน้ำ แต่อย่างไรก็ตาม การทดลองส่วนใหญ่เป็นการดูดซับในสารละลายโลหะหนักที่ถูกสังเคราะห์ขึ้น โดยใช้น้ำเป็นตัวทำละลาย การดำเนินการทดสอบภายใต้สถานะของน้ำเสียจริงนั้นยังมีไม่มาก การทดสอบกระบวนการดูดซับในน้ำเสียอุตสาหกรรมนั้นเป็นขั้นตอนสำคัญในการพัฒนาไปสู่กระบวนการดูดซับขนาดใหญ่ หรือการผลิตวัสดุดูดซับใหม่ๆ ในทางการค้า ฉะนั้นแล้วจึงจำเป็นต้องทราบประสิทธิภาพของวัสดุดูดซับในการทำงานในน้ำเสียจริง ซึ่งกลไกของการดูดซับในน้ำเสียจริงนั้นมีความซับซ้อน และยากกว่าการดูดซับในน้ำเสียที่สังเคราะห์ขึ้นเอง เนื่องจากโดยปกติในน้ำเสียอุตสาหกรรมมีไอออนของโลหะมากกว่าหนึ่งชนิดเจือปนอยู่ รวมทั้งมีการเจือปนของสารประกอบอื่นๆ ที่มีประจุ ทั้งประจุบวก และประจุลบ โดยสิ่งเจือปนเหล่านี้มีแนวโน้มทำให้ประสิทธิภาพของวัสดุดูดซับลดลง

7.2.1 อิทธิพลของไอออนบวกต่อการดูดซับทางชีวภาพ

โลหะเบา เช่น โซเดียมและแคลเซียมมักปรากฏอยู่ในน้ำเสีย โดยเฉพาะอย่างยิ่งน้ำเสียที่ผ่านการบำบัดด้วยวิธีการตกตะกอน เนื่องจากสารที่ทำหน้าที่เป็นตัวเร่งให้เกิดการตกตะกอนมักเป็นสารประกอบของโซเดียมและแคลเซียม ไอออนบวกของโลหะเบาเหล่านี้สามารถแทนที่ไอออนโลหะหนักที่ต้องการดูดซับได้เมื่อไอออนของโลหะหนักยึดติดกับผิวของวัสดุดูดซับด้วยแรงยึดติดระหว่างประจุ (electrostatic force) เท่านั้น เนื่องจากแรงยึดติดระหว่างประจุนั้นไม่แข็งแรงเพียงพอ ฉะนั้นจึงอาจเกิดการแย่งพื้นที่ดูดซับกันได้ แต่หากโลหะหนักยึดติดกับวัสดุดูดซับด้วยพันธะโควาเลนต์ ไอออนของโลหะเบาจะไม่สามารถเข้าแทนที่ได้ (Schiewer และ Volesky, 1997) นอกจากนี้ ตามที่ได้กล่าวไว้แล้วเบื้องต้นว่า น้ำเสียจากอุตสาหกรรมอาจมีไอออนโลหะหนักมากกว่าหนึ่งชนิด ไอออนเจือปนเหล่านี้ทำให้เกิดการแข่งขันกันระหว่างไอออนบวกต่างๆ กับไอออนโลหะที่เราสนใจ จึงส่งผลให้ปริมาณการดูดซับลดลงเมื่อมีไอออนบวกชนิดอื่นเจือปน รูปที่ 7.1 เป็นผลการทดลองของ Schiewer และ Volesky (1996) ในการดูดซับโลหะสังกะสีด้วยมวลชีวภาพชนิดหนึ่งในสารละลายของเหลวที่มีไอออนของแคลเซียมเจือปนที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ จากกราฟพื้นผิวในรูปดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าปริมาณการดูดซับโลหะสังกะสีลดลงเมื่อความเข้มข้นของแคลเซียมเพิ่มขึ้น



รูปที่ 7.1 แสดงอิทธิพลของปริมาณ โลหะแคดเมียมที่มีต่อปริมาณการดูดซับ โลหะสังกะสี (Schiewer และ Volesky, 1996)

7.2.2 อิทธิพลของไอออนลบต่อการดูดซับทางชีวภาพ

โดยปกติไอออนลบ เช่น Cl^- , SO_4^{2-} , I^- , CN^- , Br^- มักปรากฏในสารละลายของเหลว ที่มีโลหะเพื่อให้เกิดสมดุลระหว่างประจุ โดยไอออนลบเหล่านี้อาจส่งผลกระทบต่อประสิทธิภาพในการดูดซับเช่นเดียวกัน แต่มีอิทธิพลน้อยกว่าไอออนบวก ไอออนลบเหล่านี้ อาจเกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนกับโลหะ ซึ่งทำให้การดูดซับเกิดได้มากขึ้นน้อยลง ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับว่าสารประกอบเชิงซ้อนที่เกิดขึ้นมีความสามารถในการยึดติด (affinity) กับตำแหน่งการดูดซับได้ดีกว่า หรือด้อยกว่าเมื่อเทียบกับไอออนของโลหะเดี่ยวๆ แต่โดยทั่วไปแล้วปริมาณการดูดซับโลหะจะลดลงเมื่อความเข้มข้นของสารประกอบเชิงซ้อนเพิ่มขึ้น (Green และคณะ, 1986; Tobin และคณะ, 1987) ซึ่งหมายความว่า สารประกอบเชิงซ้อนของโลหะที่เกิดขึ้นโดยส่วนใหญ่มีความสามารถในการยึดติดกับตำแหน่งการดูดซับน้อยกว่าไอออนอิสระ

7.2.3 แบบจำลองการดูดซับในระบบหลายองค์ประกอบ

ดังที่ได้กล่าวมาเบื้องต้นแล้วว่าในน้ำเสียอุตสาหกรรมมักเจือปนด้วยโลหะมากกว่าหนึ่งชนิด รวมทั้งมีสารอินทรีย์ และสารอนินทรีย์อื่นๆ ละลายอยู่ด้วย แบบจำลองสมดุลการดูดซับในระบบหนึ่งองค์ประกอบที่ได้กล่าวไว้ในบทที่ 4 จึงไม่อาจอธิบายผลการดูดซับได้ถูกต้อง ด้วยเหตุ

นี้จึงมีการสร้างสมการแบบจำลองการดูดซับในสารละลายที่มีโลหะมากกว่าหนึ่งชนิดเพื่ออธิบายถึงผลของการดูดซับ แบบจำลองพื้นฐานที่อธิบายการดูดซับในระบบหลายองค์ประกอบได้แก่แบบจำลองของแลงมัวร์ ซึ่งพัฒนามาจากสมการสมดุลการดูดซับในระบบเดียว จึงสามารถเรียกสมการดังกล่าวได้ว่า แบบจำลองขยายของแลงมัวร์ (extended Langmuir model) (Papageorgiou และคณะ, 2009; Al-Asheh และคณะ 2000; Ho และ McKay, 2000) มีสมการดังนี้

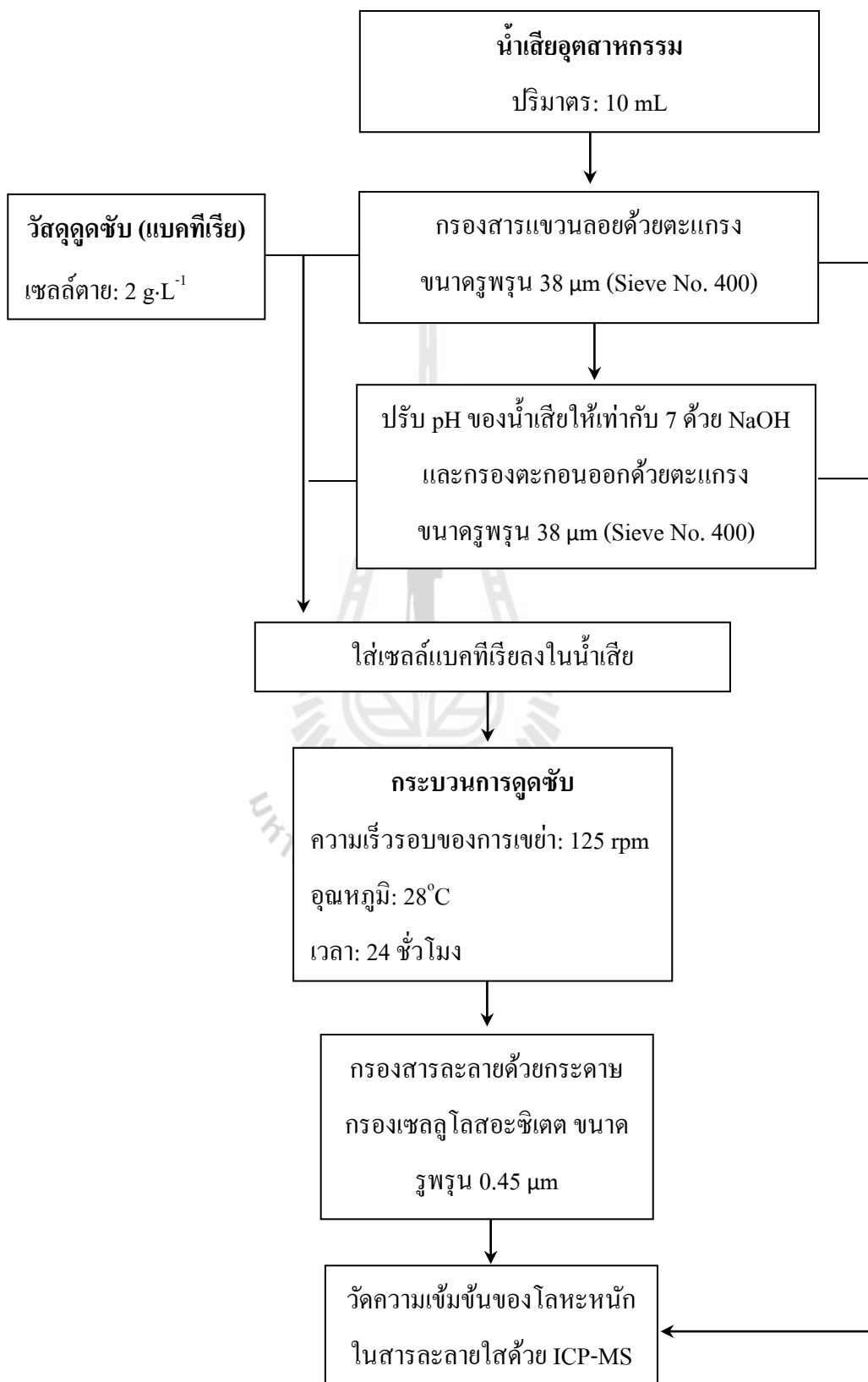
$$q_{e,i} = \frac{q_{max,i} k_i C_{e,i}}{1 + \sum_{a=1}^N k_a C_{e,a}} \quad (7.1)$$

โดยที่ $q_{e,i}$ คือปริมาณการดูดซับขององค์ประกอบ i ในระบบที่มี N องค์ประกอบ $C_{e,i}$ และ $C_{e,a}$ คือความเข้มข้นที่สมดุลขององค์ประกอบ i และองค์ประกอบใดๆในสารละลายตามลำดับ $q_{max,i}$ และ k_i คือปริมาณการดูดซับสูงสุด และค่าคงที่การดูดซับขององค์ประกอบ i ส่วน k_a คือค่าคงที่การดูดซับขององค์ประกอบใดๆที่ได้จากการคำนวณในระบบขององค์ประกอบเดียวของโลหะนั้นๆตามสมการที่ (4.11) จากสมการ (7.1) สามารถอธิบายได้ว่าปริมาณการดูดซับโลหะ i มีค่าลดลงเมื่อในสารละลายของเหลวมีองค์ประกอบอื่นๆมากขึ้น

7.3 วิธีการดำเนินงานวิจัย

การทดลองการดูดซับในน้ำเสียอุตสาหกรรมกระทำเช่นเดียวกับการทดลองในน้ำเสียที่สังเคราะห์ขึ้นดังแสดงในแผนภาพการดำเนินงานวิจัย แต่การวัดความเข้มข้นของโลหะหนักอาศัยเครื่องมือ ICP-MS (รายละเอียดของเครื่องมือแสดงในภาคผนวก จ.) น้ำเสียที่ใช้ในการทดสอบเป็นน้ำเสียจากโรงงานอุตสาหกรรมชุบเคลือบโลหะสังกะสี และโครเมียม

7.3.1 แผนภาพการดำเนินงานวิจัย



7.4 ผลการทดลองและการอภิปรายผล

การทดสอบกระบวนการดูดซับในน้ำเสียอุตสาหกรรมไม่ได้ใช้เซลล์มีชีวิตเป็นวัสดุดูดซับ เนื่องจากไม่สามารถเตรียมสารละลายที่มีสารอาหารของแบคทีเรียได้ (เกิดตะกอนขึ้นเมื่อเติมยีสต์ลงในน้ำเสีย) นอกจากนี้ การทดสอบในห้องต้นพบว่า แบคทีเรียทั้งสองสายพันธุ์ที่ใช้ในการทดสอบสามารถโตได้เพียงเล็กน้อยในน้ำเสียที่ไม่มีแหล่งอาหาร และเนื่องจากในน้ำเสียมีความเข้มข้นของสังกะสีที่สูงมาก มีค่าสูงกว่าปริมาณสังกะสีที่ทดสอบในน้ำเสียสังเคราะห์ถึงประมาณ 6 เท่า และจากผลการทดลองที่ได้กล่าวไว้ในบทที่ 3 แสดงให้เห็นถึงความเป็นพิษของโลหะสังกะสีที่มีต่อเซลล์แบคทีเรีย ด้วยเหตุนี้การใช้เซลล์มีชีวิตเป็นวัสดุดูดซับจึงไม่เหมาะสม ซึ่งถือได้ว่าเป็นข้อด้อยอีกหนึ่งข้อในการใช้เซลล์มีชีวิตเป็นวัสดุดูดซับ

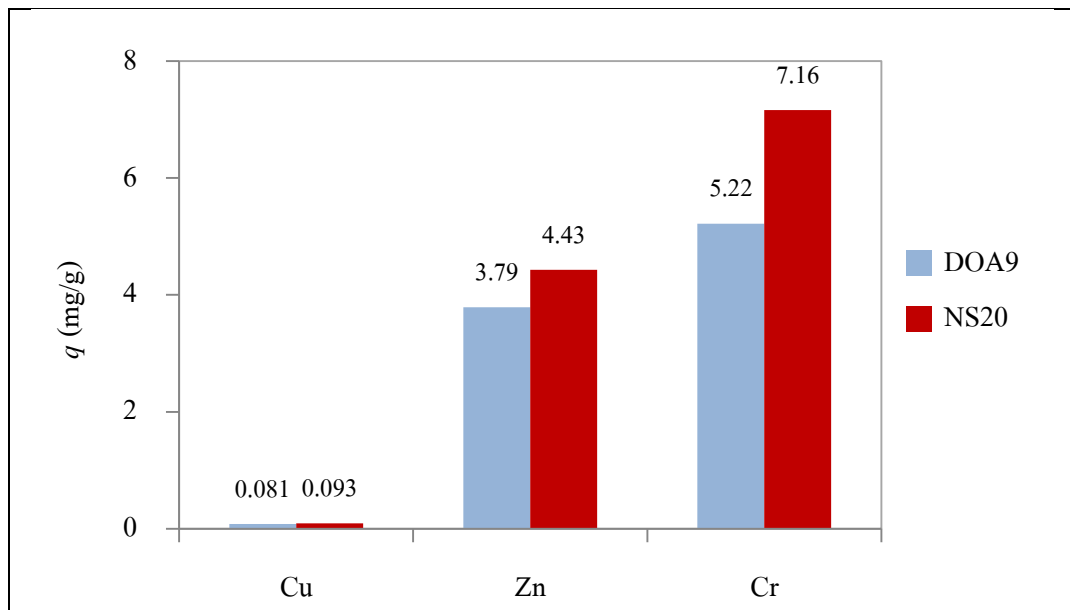
น้ำเสียที่ใช้ในการทดสอบเป็นน้ำเสียก่อนการบำบัดจากอุตสาหกรรมการชุบเคลือบสังกะสีและโครเมียม ฉะนั้นในน้ำเสียจึงมีความเข้มข้นของโลหะหนักทั้งสองที่สูงมาก อีกทั้งน้ำเสียดังกล่าวนี้อาจมีความเป็นกรดสูงมาก วัดค่า pH ได้เท่ากับ 2 ซึ่งค่า pH ที่ต่ำเช่นนี้ มีแนวโน้มที่ทำให้การดูดซับเกิดขึ้นได้ไม่ดี เนื่องจากผลการทดลองในหัวข้อ 3.4.2.4 แสดงให้เห็นว่าปริมาณการดูดซับโลหะทองแดง และสังกะสีของวัสดุดูดซับทั้งสองชนิดนี้มีค่าต่ำเมื่อค่า pH ลดลง ฉะนั้นเพื่อเป็นการเพิ่มประสิทธิภาพในการดูดซับจึงได้ปรับค่าความเป็นกรด-ด่างของน้ำเสียให้เป็นกลางด้วย NaOH ซึ่งสิ่งที่ตามมาคือ เกิดตะกอนของสารประกอบโลหะ เป็นผลให้ความเข้มข้นของโลหะหนักที่ละลายในน้ำเสยลดลงอย่างมาก ดังแสดงในตารางที่ 7.1 ในน้ำเสียก่อนปรับค่า pH วัดความเข้มข้นของโลหะสังกะสี และโครเมียมได้ 809 และ 122 mg·L⁻¹ ตามลำดับ ส่วนโลหะทองแดงมีเจือปนอยู่ในน้ำเสียน้อยมาก โดยสามารถวัดความเข้มข้นของทองแดงได้ 0.706 mg·L⁻¹ เนื่องจากมีทองแดงละลายอยู่ในระดับที่ต่ำมาก จึงไม่สามารถเปรียบเทียบปริมาณการดูดซับโลหะทองแดงในน้ำเสีย และในน้ำเสียสังเคราะห์ที่เป็นองค์ประกอบเดียวได้ ฉะนั้นในการทดลองนี้จึงสามารถแสดงผลการดูดซับได้สมบูรณ์เฉพาะในกรณีของการดูดซับโลหะสังกะสี และเนื่องจากในน้ำเสียมีปริมาณโลหะโครเมียมในระดับสูง จึงได้ทดสอบการลดลงของโลหะโครเมียมจากกระบวนการดูดซับด้วยแบคทีเรียทั้งสองด้วย

ตารางที่ 7.1 เปรียบเทียบความเข้มข้นของโลหะหนักในน้ำเสียก่อนและหลังการปรับ pH

โลหะหนัก	ความเข้มข้น (mg·L ⁻¹)	
	ก่อนปรับ pH (pH = 2)	หลังปรับ pH (pH = 7)
Cu	0.706	0.063
Zn	809.042	91.940
Cr	112.946	0.018

จากตารางที่ 7.1 พบว่าน้ำเสียภายหลังการปรับค่า pH ให้เท่ากับ 7 มีเฉพาะโลหะสังกะสีเท่านั้นที่ยังมีความเข้มข้นที่สูงอยู่ ส่วนโลหะโครเมียมมีความเข้มข้นต่ำลงเหลือเพียง 0.0179 mg·L⁻¹ หรือ 17.9 ppb ซึ่งเป็นค่าที่ต่ำกว่าค่ามาตรฐานที่กฎหมายกำหนดให้มีได้ในน้ำทิ้งอุตสาหกรรม (ตารางที่ 2.2) ฉะนั้นความเข้มข้นของโครเมียมในระดับดังกล่าว สามารถถูกกำจัดออกจากน้ำเสียได้โดยง่ายด้วยวิธีการตกตะกอน ในขณะที่โลหะสังกะสียังคงละลายอยู่ในน้ำเสียในปริมาณที่สูง จึงสามารถนำไปทดสอบด้วยกระบวนการดูดซับทางชีวภาพต่อไป

รูปที่ 7.2 แสดงผลการทดสอบกระบวนการดูดซับในน้ำเสียที่ไม่ได้ปรับ pH พบว่า *R. boonkerdii* sp. nov. strain NS20 มีความสามารถในการดูดซับทั้งโลหะสังกะสีและโครเมียมได้ดีกว่า *Bradyrhizobium* sp. strain DOA9 ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองในระบบบ่งชี้ประกอบเดี่ยวของโลหะสังกะสี แต่ทั้งนี้ไม่สามารถเทียบประสิทธิภาพการดูดซับกับระบบบ่งชี้ประกอบเดี่ยวได้โดยตรง เนื่องจากมีความเข้มข้นเริ่มต้นต่างกัน แต่สามารถเปรียบเทียบปริมาณการดูดซับได้จากสมการสมดุลการดูดซับที่ได้สร้างไว้ในบทที่ 4



รูปที่ 7.2 แสดงปริมาณการดูดซับโลหะหนักต่อกรัมของวัสดุดูดซับ (q) ในน้ำเสียที่ไม่ได้ปรับ pH

สำหรับการทำนายปริมาณการดูดซับด้วยสมการสมดุลการดูดซับนั้น อาศัยสมการสมดุลการดูดซับของฟรอนด์ลิช ซึ่งได้แสดงให้เห็นในบทที่ 4 แล้วว่ามีความสอดคล้องกับผลการทดลองมากกว่าสมการสมดุลการดูดซับของแลงมัวร์ สมการสมดุลการดูดซับของฟรอนด์ลิชแสดงในสมการที่ (4.4) (4.6) (4.8) และ (4.10) ซึ่งได้จากการวิเคราะห์ผลการดูดซับในแต่ละคู่การดูดซับ จากสมการทั้ง 4 ทำให้สามารถทำนายปริมาณการดูดซับในระบบบ่งค์ประกอบเดียวได้เมื่อทราบความเข้มข้นที่สมดุลของโลหะที่เราต้องการดูดซับ

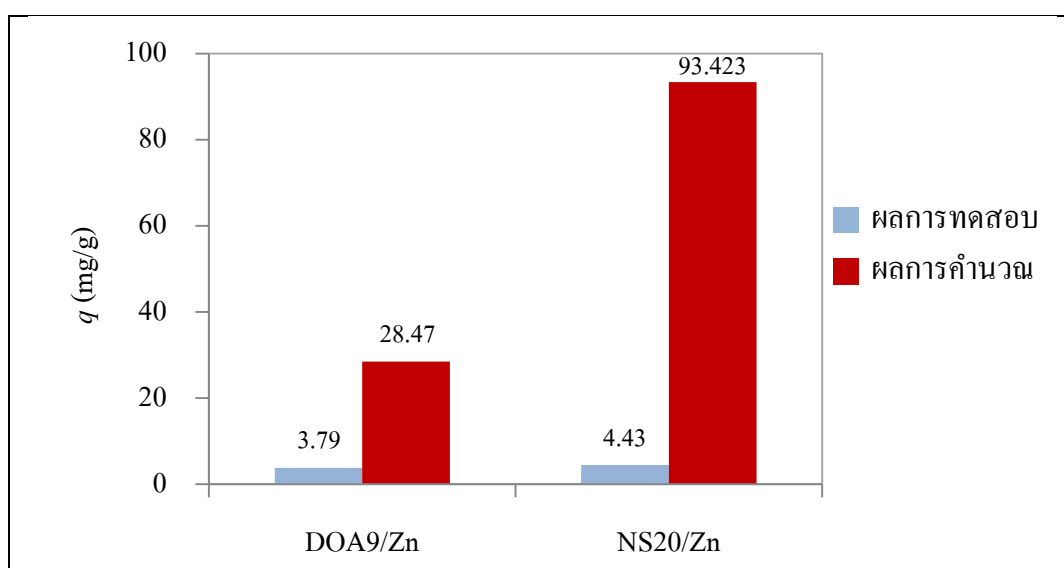
$$\text{DOA9/Cu} \quad q_e = 3.986 C_e^{0.186} \quad (4.4)$$

$$\text{NS20/Cu} \quad q_e = 2.182 C_e^{0.739} \quad (4.6)$$

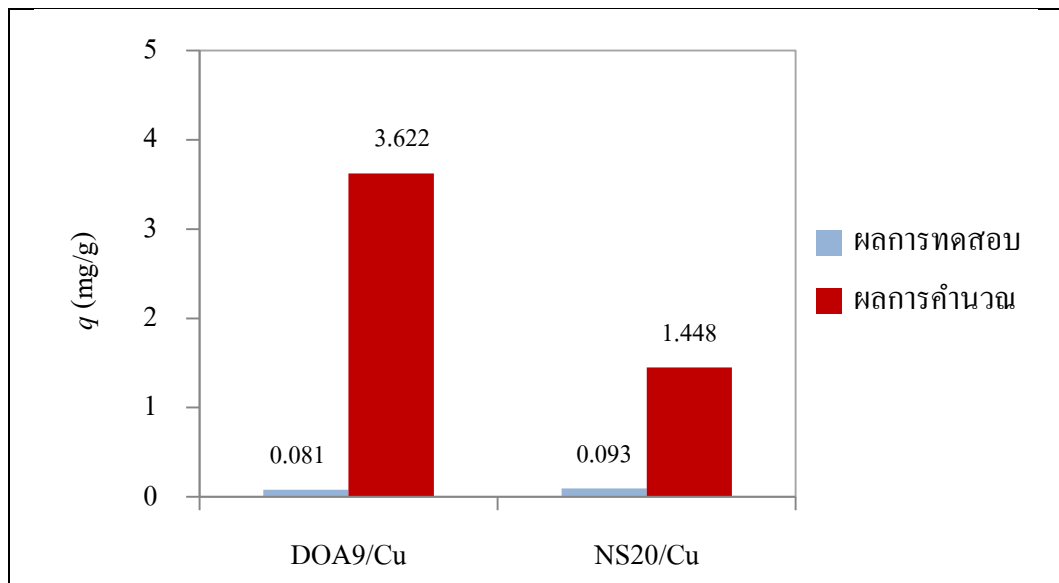
$$\text{DOA9/Zn} \quad q_e = 0.171 C_e^{0.765} \quad (4.8)$$

$$\text{NS20/Zn} \quad q_e = 0.234 C_e^{0.896} \quad (4.10)$$

ผลการเปรียบเทียบปริมาณการดูดซับโลหะสังกะสี และทองแดงในน้ำเสียดอุตสาหกรรมที่ไม่ปรับ pH กับผลการคำนวณด้วยสมการสมดุลการดูดซับของฟรอนด์ลิชแสดงในรูปที่ 7.3 และ 7.4 ตามลำดับ จากรูปทั้งสองเห็นได้อย่างชัดเจนว่า ปริมาณการดูดซับโลหะที่ได้จากการคำนวณด้วยสมการสมดุลการดูดซับของฟรอนด์ลิชมีค่าสูงกว่าผลการทดสอบการดูดซับจริงมาก ซึ่งช่วยยืนยันให้เห็นถึงอิทธิพลของไอออนเจือปนอื่นๆที่ส่งผลให้ความสามารถในการดูดซับลดลง นอกจากนี้ในน้ำเสียดจริงยังมีค่าความเป็นกรดที่สูงมาก จึงช่วยส่งเสริมให้การดูดซับเกิดขึ้นน้อยลง เมื่อเทียบกับการดูดซับในระบบที่มีโลหะเพียงชนิดเดียว

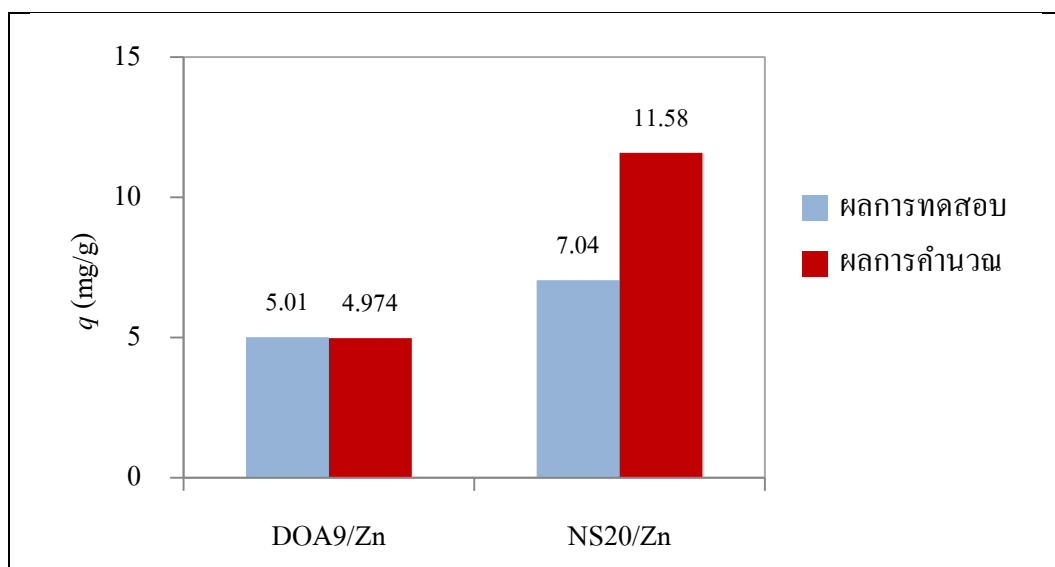


รูปที่ 7.3 เปรียบเทียบปริมาณการดูดซับโลหะสังกะสีที่ได้จากผลการทดสอบในน้ำเสียดที่ไม่ปรับ pH และผลการคำนวณด้วยสมการสมดุลการดูดซับของฟรอนด์ลิช



รูปที่ 7.4 เปรียบเทียบปริมาณการดูดซับโลหะทองแดงที่ได้จากผลการทดสอบในน้ำเสียที่ไม่ปรับ pH และผลการคำนวณด้วยสมการสมดุลการดูดซับของฟรอนด์ลิช

น้ำเสียที่ผ่านการปรับค่า pH ให้เป็นกลาง มีผลทำให้ความเข้มข้นของโลหะที่ปรากฏในสารละลายลดลง โดยเฉพาะโลหะโครเมียมที่ลดลงเหลือแค่ระดับ ppb นั่นคือสภาวะของสารละลายน้ำเสียมีลักษณะคล้ายกับน้ำเสียที่สังเคราะห์สำหรับการทดสอบมากขึ้น ด้วยเหตุนี้ทำให้วัสดุดูดซับมีความสามารถในการกำจัดโลหะได้ดีขึ้น และปริมาณการดูดซับจริงกับผลการคำนวณปริมาณการดูดซับมีค่าใกล้เคียงกันมากขึ้น รูปที่ 7.5 ได้แสดงให้เห็นว่าปริมาณการดูดซับโลหะสังกะสีที่เหลืออยู่ภายในน้ำเสียกับผลการคำนวณปริมาณการดูดซับด้วยสมการสมดุลของฟรอนด์ลิชมีค่าใกล้เคียงกัน โดยเฉพาะอย่างยิ่งในกรณีของการดูดซับด้วย *Bradyrhizobium* sp. strain DOA9 ซึ่งพบว่ามีค่าใกล้เคียงกันมาก



รูปที่ 7.5 เปรียบเทียบปริมาณการดูดซับโลหะสังกะสีที่ได้จากผลการทดสอบในน้ำเสียที่ปรับค่า pH และผลการคำนวณด้วยสมการสมดุลการดูดซับของฟรอนด์ลิช

7.5 สรุปผลการวิจัย

น้ำเสียอุตสาหกรรมที่ใช้ในการทดสอบมีความเข้มข้นของโลหะสังกะสี และโครเมียมสูง และมีสภาพที่เป็นกรดสูง ซึ่งเป็นสภาวะที่ไม่เหมาะสมในการดูดซับด้วยวัสดุดูดซับที่เป็นเซลล์มีชีวิต การทดสอบนี้จึงเลือกใช้เซลล์ไม่มีชีวิตเป็นวัสดุดูดซับ ผลการทดสอบการดูดซับในน้ำเสียสภาพปกติที่มีความเข้มข้นโลหะ และความเป็นกรดสูงแสดงให้เห็นว่าวัสดุดูดซับทั้งสองชนิดมีประสิทธิภาพในการดูดซับโลหะทองแดง และสังกะสีต่ำมากเมื่อเทียบกับปริมาณการดูดซับในสารละลายโลหะสังกะสีที่สังเคราะห์ขึ้น ทั้งนี้เนื่องจากอิทธิพลของค่า pH ที่ต่ำมาก และการปนเปื้อนของสารต่างๆทำให้เกิดการแย่งกันจับกับตำแหน่งดูดซับ ทั้งนี้ *R. boonkerdii* sp. nov. strain NS20 ยังคงแสดงความสามารถในการดูดซับได้ดีกว่า *Bradyrhizobium* sp. strain DOA9 เช่นเดียวกับการทดสอบในระบบบ่งคับประกอบเดี่ยว การเพิ่มประสิทธิภาพในการดูดซับทำได้โดยการปรับค่า pH ให้สูงขึ้น แต่มีผลทำให้เกิดตะกอนของสารประกอบโลหะ ซึ่งทำให้ความเข้มข้นของโลหะหนักภายหลังการปรับ pH ลดลง จากการวิเคราะห์ความเข้มข้นของโลหะหนักในน้ำเสียภายหลังการปรับ pH เท่ากับ 7 พบว่ามีเฉพาะโลหะสังกะสีที่ยังมีความเข้มข้นอยู่ในระดับสูง เมื่อนำน้ำเสียดังกล่าวมาทดสอบกระบวนการดูดซับ พบว่ามีประสิทธิภาพในการดูดซับสูงขึ้น โดยให้ปริมาณการดูดซับใกล้เคียงกับผลการทำนายด้วยแบบจำลองการดูดซับของฟรอนด์ลิช

7.6 เอกสารอ้างอิง

- Al-Asheh, S., Banat, F., Al-Omari, R., and Duvnjak, Z. (2000). Predictions of binary sorption isotherms for the sorption of heavy metal by pine bark using single isotherm data. **Chemosphere**. 41: 659-665.
- Eduardo, V., and Helena, M.V.M. (2013). Clean up of industrial effluents containing heavy metals: a new opportunity of valorizing the biomass produced by brewing industry. **Applied Microbiology and biotechnology**. 97: 6667-6675.
- Greene, B., Hosea, M., McPherson, R., Henzl, M., Alexander, M.D., and Darnall, D.W. (1986). Interaction of gold(I) and gold(III) complexes with algae biomass. **Environmental Science & Technology**. 20: 627-632.
- Ho, Y.S., and McKay, G. (2000). Correlative biosorption equilibria model for a binary batch system. **Chemical Engineering Science**. 55: 817-825.
- Papageorgiou, S.K., Katsaros, F.K., Kouvelos, E.P., and Kanellopoulos, N.K. (2009). Prediction of binary adsorption isotherms of Cu²⁺, Cd²⁺, and Pb²⁺ on calcium alginate beads from single adsorption data. **Journal of Hazardous Materials**. 162: 1347-1354.
- Schiewer, S., and Volesky, B. (1997). Ionic strength and electrostatic effects in biosorption of divalent metal ions and protons. **Environmental Science & Technology**. 31, 2478-2485.
- Schiewer, S., and Volesky, B. (1996). Modeling of multi-metal ion exchange in biosorption. **Environmental Science & Technology**. 30: 2921-2927.
- Tobin, J.M., Cooper, D.G., and Neufeld, R.J. (1987). Influence of anions on metal adsorption by *Rhizopus arrhizus* biomass. **Biotechnology and Bioengineering**. 30: 882-886.
- Vijayaraghavan, K., and Yun, Y.S. (2008). Bacterial biosorbents and biosorption. **Biotechnology Advance**. 26: 266-291.

บทที่ 8

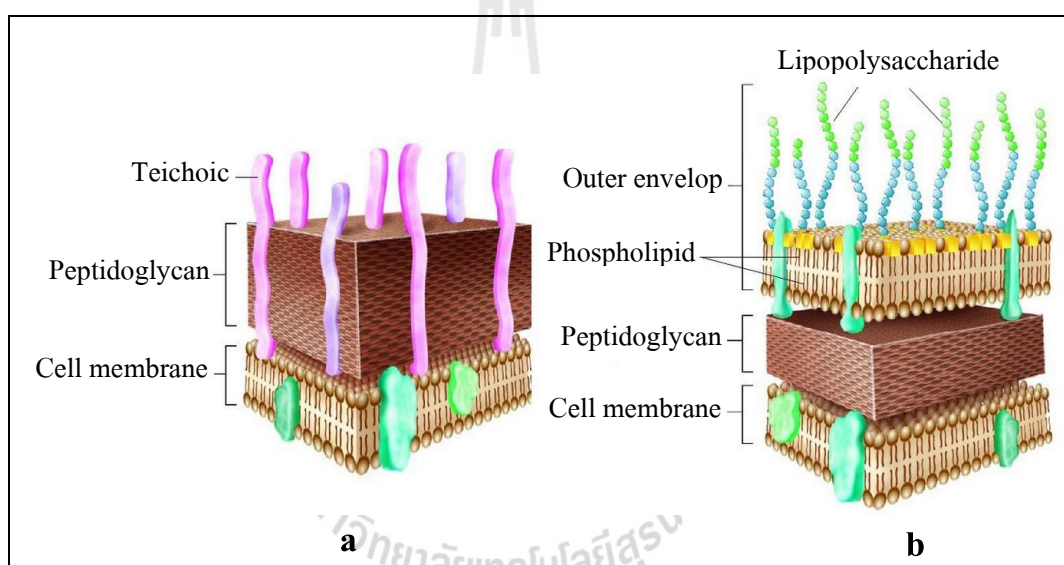
การบ่งลักษณะของวัสดุคูดซั้บ

8.1 บทคัดย่อ

องค์ประกอบทางเคมีอินทรีย์ของวัสดุคูดซั้บได้ถูกอธิบายในบทนี้ โดยการนำแบคทีเรียที่ใช้เป็นวัสดุคูดซั้บทั้งในรูปของเซลล์มีชีวิต และเซลล์ตายมาวิเคราะห์ด้วยการฉายรังสีอินฟราเรดผ่านวัสดุคูดซั้บเพื่อหาช่วงของเลขคลื่นที่สอดคล้องกับการสั่นของพันธะต่างๆ นอกจากการหาหมู่ฟังก์ชันที่เป็นองค์ประกอบของวัสดุคูดซั้บแล้ว ยังได้เปรียบเทียบผลของโลหะทองแดง และสังกะสีที่มีต่อการเปลี่ยนแปลงลักษณะของหมู่ฟังก์ชันนั้นๆด้วย พบว่าสเปกตรัมที่ได้จากการวิเคราะห์ *Bradyrhizobium* sp. strain DOA9 และ *R. boonkerdii* sp. nov. strain NS20 ทั้งในรูปของเซลล์มีชีวิต และเซลล์ตายให้ผลไม่แตกต่างกัน หรือกล่าวคือ มีองค์ประกอบที่เหมือนกัน ผลการวิเคราะห์แสดงให้เห็นว่า วัสดุคูดซั้บประกอบด้วย เอมีน เอไมด์ คาร์บอกซิล ไฮดรอกซิล และฟอสเฟต ซึ่งเป็นองค์ประกอบในส่วนต่างๆของแบคทีเรีย เช่น โพรตีน และเปปติโดไกลแคน ที่มีหมู่ฟังก์ชันดังกล่าวเป็นส่วนประกอบ ส่วนฟอสเฟตคือ หมู่ฟังก์ชันที่เป็นองค์ประกอบของฟอสโฟไลปิด และไลโปโพลีแซคคาไรด์ เป็นต้น

8.2 บทนำ

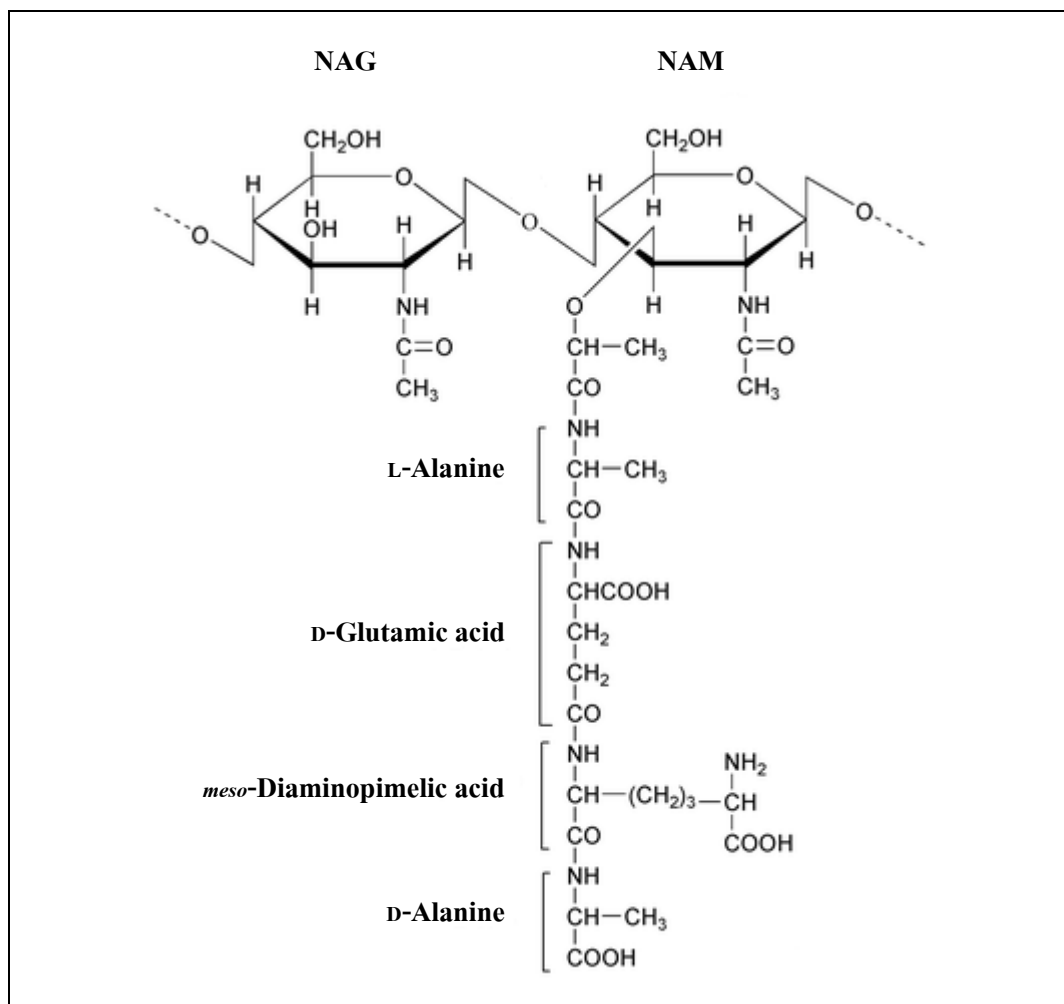
ผนังเซลล์ของแบคทีเรียแต่ละสายพันธุ์มีลักษณะของโครงสร้างที่ต่างกัน ทำให้สามารถจำแนกแบคทีเรียตามลักษณะของผนังเซลล์ได้เป็นสองชนิด คือ แบคทีเรียแกรมบวก และแบคทีเรียแกรมลบ ดังได้กล่าวไว้เบื้องต้นในหัวข้อ 2.8 รูปที่ 7.1 แสดงให้เห็นโครงสร้างหลักของผนังเซลล์แบคทีเรียแกรมบวกและแบคทีเรียแกรมลบในแบบสามมิติ ผนังเซลล์ของแบคทีเรียแกรมลบมีความซับซ้อนในเชิงองค์ประกอบ และโครงสร้าง มากกว่าแบคทีเรียแกรมบวก แต่มีความแข็งแรงน้อยกว่า ผนังเซลล์ซึ่งเป็นส่วนที่สำคัญของกระบวนการดูดซับ มีหน้าที่หลักในการคงรูปร่างของเซลล์ เนื่องจากเป็นโครงสร้างที่มีคุณสมบัติเป็นพอลิเมอร์ จึงมีความแข็งแรง มีองค์ประกอบที่สำคัญคือ เปปติโดไกลแคน



รูปที่ 8.1 ส่วนประกอบของผนังเซลล์แบคทีเรีย a) ผนังเซลล์ของแบคทีเรียแกรมบวก
b) ผนังเซลล์ของแบคทีเรียแกรมลบ (<http://www.foodnetworksolution.com>)

เปปติโดไกลแคนเป็นพอลิเมอร์ขนาดใหญ่ มีองค์ประกอบสามส่วน คือ ส่วนที่เป็นองค์ประกอบหลัก ซึ่งเป็น โพลีแซคคาไรด์สายยาว ประกอบด้วยหน่วยย่อยของ N-acetyl glucosamine (NAG) ต่อสลับกันกับ N-acetyl muramic acid (NAM) ดังแสดงในรูปที่ 8.2 ส่วนที่สองคือ เปปไทด์ จำนวน 1 ชุดซึ่งประกอบด้วยกรดอะมิโน 4 โมเลกุล (tetrapeptide) ห้อยต่ออยู่กับ N-acetyl muramic acid และส่วนที่สามเป็นเปปไทด์อีกชุดหนึ่งซึ่งเปปติโดไกลแคนสายที่อยู่ติดกัน

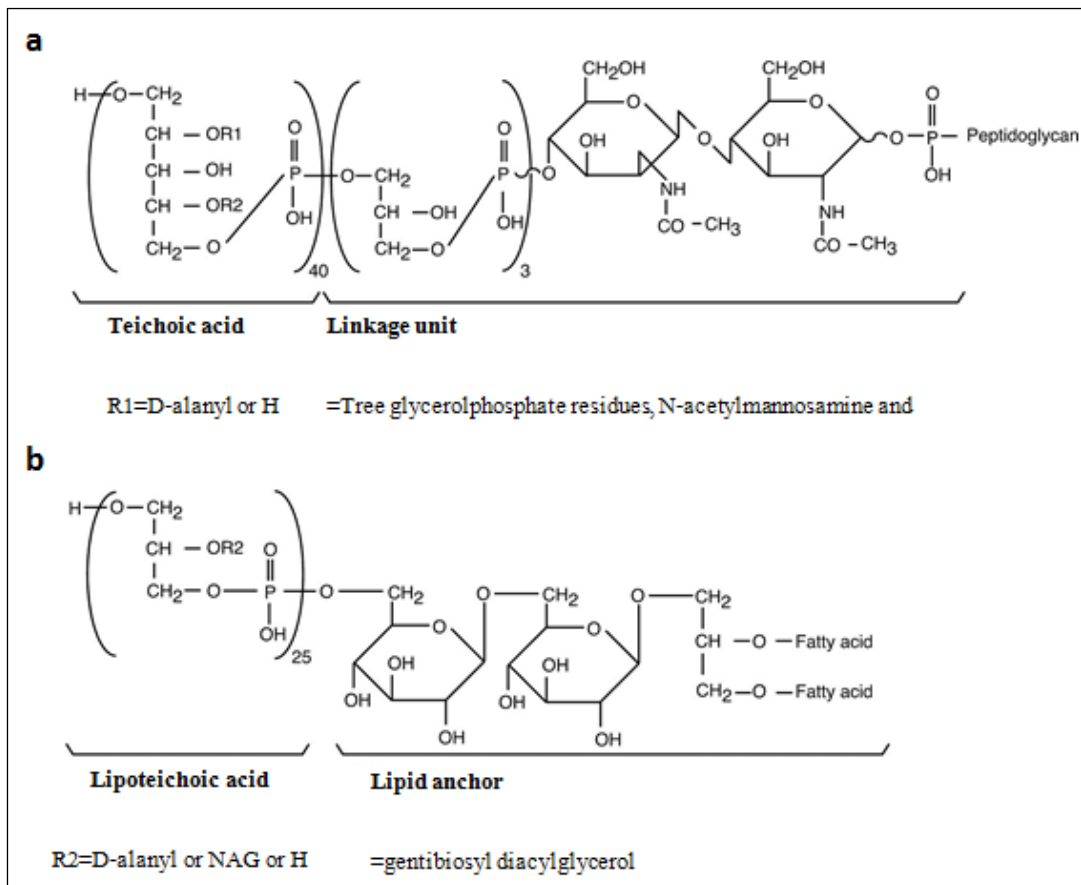
ในทางขวาง ภายในโครงสร้างของเปปติโดไกลแคนมีหมู่ฟังก์ชันทางเคมีที่สามารถดูดซับไอออนของโลหะได้ คือ เอมีน (NH) เอไมด์ (NH₂CO) และกลุ่มโปรตีน



รูปที่ 8.2 แสดงโครงสร้างทางเคมีในหน่วยย่อยของเปปติโดไกลแคน
(ดัดแปลงจาก Wang และ Chen, 2009)

แบคทีเรียแกรมบวกมีผนังเซลล์หนาประมาณ 20-80 นาโนเมตร คิดเป็น 20-40% ของน้ำหนักเซลล์แห้ง องค์ประกอบส่วนใหญ่คือ เปปติโดไกลแคน คิดเป็น 60-100 % ของชั้นผนังเซลล์ ในแบคทีเรียแกรมบวกมีอีกหนึ่งองค์ประกอบของผนังเซลล์ที่มีความสำคัญต่อการดูดซับโลหะ ได้แก่ กรดไทคูอิก (teichoic acid) โดยมีฟังก์ชันทางเคมีที่สำคัญคือหมู่ฟอสโฟไดเอสเทอร์ (phosphodiester: POOH) ดังแสดงในตารางที่ 2.7 และเป็นส่วนสำคัญที่ทำให้พื้นผิวรอบเซลล์มีประจุลบ (Wal, 1997) กรดไทคูอิกเป็นพอลิเมอร์ที่ละลายน้ำได้ ประกอบด้วย ribitol (sugar alcohol

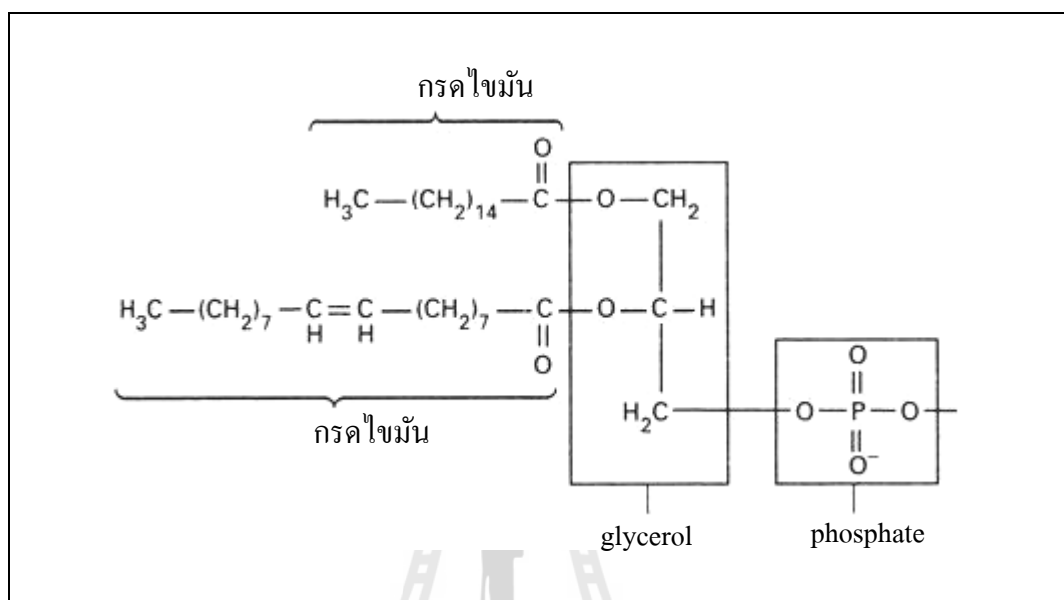
ที่มีคาร์บอน 5 อะตอม) หรือ glycerol (sugar alcohol ที่มีคาร์บอน 3 อะตอม) เชื่อมต่อกันด้วยพันธะ phosphodiester linkage โดยกรดไทคูลิกเชื่อมต่อกับเปปติโดไกลแคนด้วยพันธะโควาเลนต์ นอกจากนี้ยังมีกรดไลโปไทคูลิก (lipoteichoic acid) ซึ่งเชื่อมต่อกับ glycolipid ของเยื่อหุ้มเซลล์ด้วยพันธะโควาเลนต์



รูปที่ 8.3 โครงสร้างทางเคมีของ a) กรดไทคูลิก b) กรดไลโปไทคูลิก
(Fournier และ Philpott, 2005)

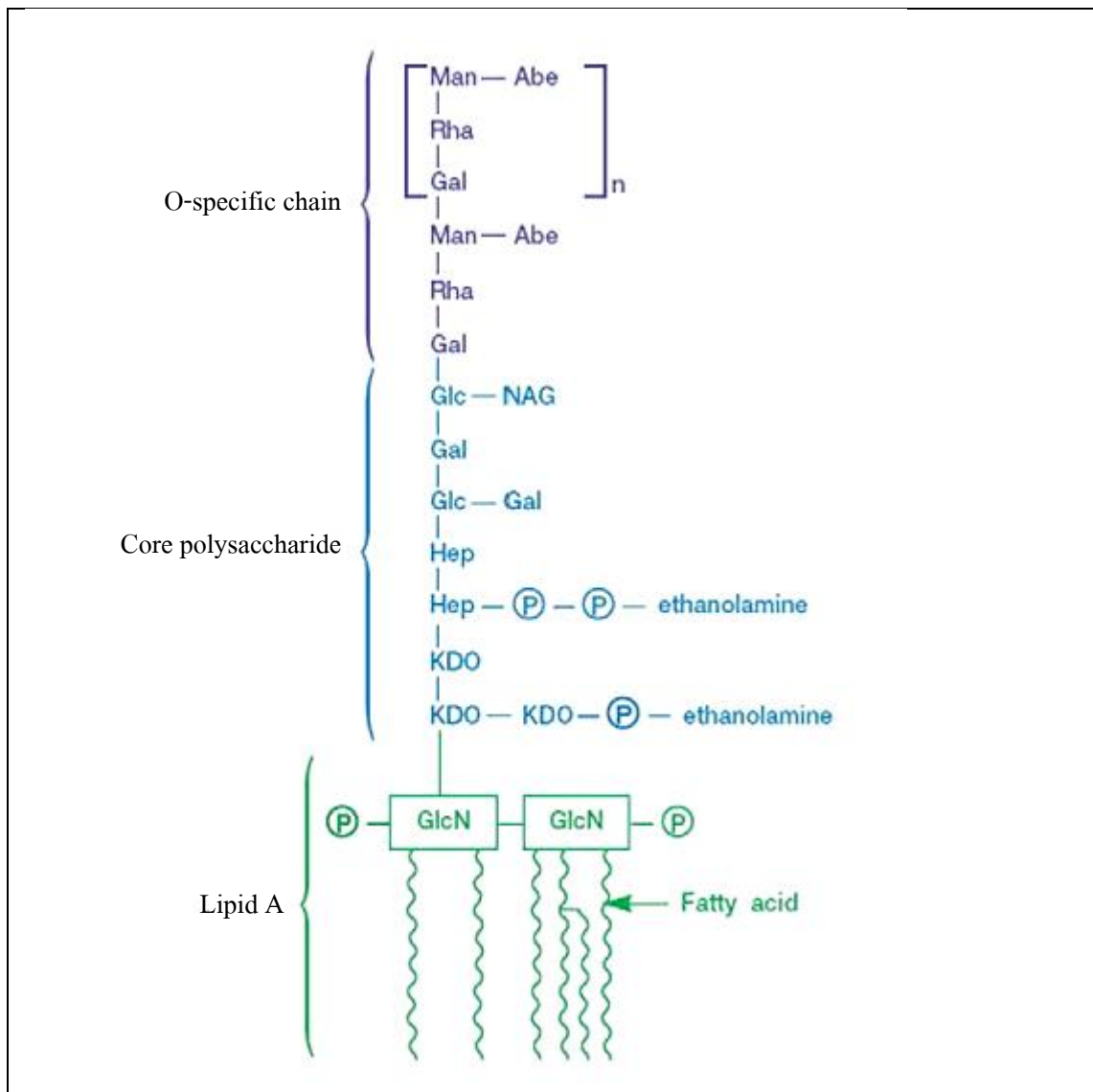
ชั้นเปปติโดไกลแคนของเซลล์แบคทีเรียแกรมลบมีขนาดบางกว่าแบคทีเรียแกรมบวก แต่มีส่วนประกอบทางเคมี และโครงสร้างซับซ้อนมากกว่า ผนังเซลล์ของแบคทีเรียแกรมลบมีเยื่อหุ้มชั้นนอกปกคลุมชั้นเปปติโดไกลแคนไว้ เยื่อหุ้มชั้นนอกมีองค์ประกอบที่สำคัญต่อการดูดซับ คือ ฟอสโฟลิปิด (phospholipid) และไลโปโพลีแซคคาไรด์ (lipopolysaccharide)

ฟอสโฟไลปิดเป็นไขมันที่ประกอบด้วยหมู่ฟอสเฟต โดยใน 1 โมเลกุลของฟอสโฟไลปิด เกิดจากการรวมตัวของ glycerol 1 โมเลกุล กรดไขมัน 2 โมเลกุล และฟอสเฟตอีกหนึ่งหมู่ ดังแสดง ในรูปที่ 8.4



รูปที่ 8.4 แสดงตัวอย่างสูตรทางเคมีในหน่วยย่อยของฟอสโฟไลปิด

สำหรับไลโปโพลีแซคคาร์ไรด์เป็นส่วนประกอบที่มีเฉพาะในผนังเซลล์แบคทีเรียแกรมลบ เท่านั้น ประกอบด้วยส่วนที่เป็นไลปิด หรือ lipid A ต่ออยู่กับโพลีแซคคาร์ไรด์ ที่เป็นแกนกลาง (core polysaccharide) ซึ่งจะเหมือนกันสำหรับแบคทีเรียในสกุลเดียวกัน และส่วนปลายที่เป็น specific polysaccharide ซึ่งเป็นหน่วยซ้ำๆของน้ำตาลที่มีคาร์บอนในโมเลกุลสามอะตอม (triose) หรือห้าอะตอม (pentose) ต่อกันเป็นสาย ยื่นออกมาจากเยื่อหุ้มชั้นนอก เรียกว่า O-specific chains ดังแสดงในรูปที่ 8.5 ไลโปโพลีแซคคาร์ไรด์เป็นองค์ประกอบที่ทำให้ผิวของแบคทีเรียแกรมลบมีประจุ โดยรวมเป็นลบ (Wang และ Chen, 2009) หมู่ฟอสเฟต และไฮดรอกซิล ที่อยู่ภายในไลโปโพลีแซคคาร์ไรด์ และฟอสโฟไลปิด โมเลกุลเหล่านี้มีหมู่ฟังก์ชันหลักในการเกิดอันตรกิริยาต่างๆกับไอออนของโลหะ (Moat และคณะ, 2002; Prescott และคณะ, 2002; Remacle, 1990; Urrutia, 1997)



รูปที่ 8.5 ตัวอย่างโครงสร้างทางเคมีของ lipopolysaccharide (Abe=abequose; Gal=galactose; Glc=glucose; GlcN=glucosamine; Hep=heptulose; KDO=2-keto-3-deoxyoctonate; Man=mannose; NAG=N-acetylglucosamine; P=phosphate; Rha= L-rhamnose) (ดัดแปลงจาก Wang และ Chen, 2009)

ผนังเซลล์แบคทีเรียเป็นส่วนประกอบแรกที่สัมผัสกับไอออนของโลหะ โดยที่ไอออนของโลหะสามารถยึดติดผิวเซลล์ แพร่ผ่านผนังเซลล์ หรือเกิดอันตรกิริยาอื่นๆได้ สำหรับการดูดซับโลหะด้วยเซลล์ตายเป็นกระบวนการที่เกิดขึ้นภายนอกเซลล์ หรือเกิดขึ้นที่ผิวเซลล์ กลุ่มฟังก์ชันทางเคมีที่ผนังเซลล์จึงมีบทบาทสำคัญในกระบวนการดูดซับ Sherbert (1978) ได้แสดงให้เห็นว่า เปปติ

โคไกลแคน และ กรดไทคูอิก ของผนังเซลล์แบคทีเรียแกรมบวก และ เปปติโคไกลแคน ฟอสโฟไลปิด และ ไลโปโพลีแซคคาร์ไรด์ ของผนังเซลล์แบคทีเรียแกรมลบ จึงเป็นส่วนสำคัญที่มีผลต่อการเกิดอันตรกิริยากับไอออนของโลหะ โดยประกอบไปด้วยหมู่ฟังก์ชันที่สำคัญ เช่น คาร์บอกซิล ฟอสโฟเนต เอมีน และกลุ่มไฮดรอกซิล (Doyle และคณะ, 1980; Wal และคณะ, 1997)

แบคทีเรียเป็นมวลชีวภาพที่มีขนาดเล็ก และมีโครงสร้างซับซ้อน โดยทั่วไปแบคทีเรียจะมีขนาดความกว้างประมาณ 1.1-1.5 μm และยาวประมาณ 2.0-6.0 μm การตรวจสอบโครงสร้างของแบคทีเรียจึงต้องใช้อุปกรณ์ที่มีกำลังขยายสูง สำหรับแบคทีเรียที่ถูกใช้เป็นตัวดูดซับไอออนของโลหะนิยมใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน (TEM) ในการตรวจสอบโครงสร้าง นอกจากนี้อุปกรณ์เชื่อมต่อ ได้แก่ energy dispersive spectrometry (EDS) สามารถให้ข้อมูลเกี่ยวกับการกระจายตัวของโลหะตลอดโครงสร้างของแบคทีเรียได้ นักวิจัยที่ศึกษาในเรื่องของวัสดุดูดซับนิยมตรวจสอบคุณลักษณะของพื้นผิววัสดุดูดซับ เนื่องจากข้อมูลทางด้านองค์ประกอบทางเคมีหรือลักษณะทางกายภาพของผิววัสดุดูดซับช่วยให้สามารถอธิบายกลไกของการดูดซับได้อย่างถูกต้องมากขึ้น โดยอุปกรณ์สำคัญที่ช่วยในการวิเคราะห์ทางด้านพื้นผิว ได้แก่ x-ray photoelectron spectrometry (XPS) ซึ่งให้ข้อมูลด้านสมบัติทางเคมีของพื้นผิววัสดุดูดซับ โครงสร้างทางเคมี ชนิดพันธะทางเคมี และสถานะออกซิเดชันของอะตอม เป็นต้น นอกจากนี้ยังรวมถึงสภาพทางเคมีของผิวที่เปลี่ยนไปภายหลังการดูดซับไอออนของโลหะหนัก อีกหนึ่งอุปกรณ์ที่มีความสำคัญในการวิเคราะห์เชิงเคมี ได้แก่ fourier-transform infrared (FT-IR) ซึ่งสามารถให้ข้อมูลเกี่ยวกับโครงสร้างของสารอินทรีย์ หรือหมู่ฟังก์ชันต่างๆบนผิวของวัสดุดูดซับ อันจะเป็นข้อมูลสำคัญในการพิจารณา รูปแบบของอันตรกิริยาระหว่างไอออนโลหะหนักกับวัสดุดูดซับ

8.3 วิธีการดำเนินงานวิจัย

ทำการศึกษาเฉพาะกลุ่มฟังก์ชันทางเคมีที่เป็นองค์ประกอบของแบคทีเรียที่ใช้เป็นวัสดุดูดซับ โดยการหาหมู่ฟังก์ชันที่อาจทำให้เกิดอันตรกิริยากับไอออนของโลหะในสารละลายของเหลว เซลล์แบคทีเรียทั้งในรูปของเซลล์มีชีวิตปริมาณ 5% และเซลล์ตายสัดส่วน 2 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ที่ถูกใช้ในการดูดซับไอออนโลหะทองแดง และสังกะสีที่มีความเข้มข้นของสารประกอบโลหะทั้งสองเท่ากับ 250 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 4000 rpm นาน 15 นาที เพื่อแยกเอาเฉพาะเซลล์แบคทีเรียออกจากสารละลายโลหะหนัก จากนั้นล้างเซลล์แบคทีเรียด้วยน้ำกลั่น หยดสารละลายแบคทีเรีย ปริมาตร 5 μL ลงบนแผ่นสไลด์ชนิดเฉพาะสำหรับวิเคราะห์ด้วย FT-IR แล้วนำไปวิเคราะห์ด้วย FT-IR microscope หลักการของเครื่องมือวิเคราะห์แสดงในภาคผนวก จ

8.4 ผลการทดลองและการอภิปรายผล

ผลการวิเคราะห์หมู่ฟังก์ชันทางเคมีที่เป็นองค์ประกอบของเซลล์แบคทีเรียก่อนและหลังการดูดซับโลหะแสดงในรูปที่ 8.6-8.9 พบว่าลักษณะของสเปกตรัมโดยรวมที่ได้จากการวิเคราะห์ *Bradyrhizobium* sp. strain DOA9 และ *R. boonkerdii* sp. nov. strain NS20 ให้ผลไม่แตกต่างกันมาก เนื่องจากทั้งสองสายพันธุ์ดังกล่าวเป็นแบคทีเรียแกรมลบ จึงอาจมีโครงสร้างที่คล้ายกัน นอกจากนี้ หากเทียบระหว่างเซลล์ที่มีชีวิต และเซลล์ตาย พบเช่นกันว่าตำแหน่งของสเปกตรัมมีลักษณะใกล้เคียงกัน ซึ่งแสดงให้เห็นว่าขั้นตอนการเตรียมวัสดุดูดซับที่เป็นเซลล์ตายนั้น ไม่ได้ทำให้หมู่ฟังก์ชันใดสูญเสียดังกล่าวจากการอบเซลล์แบคทีเรียที่อุณหภูมิ 80°C นาน 24 ชั่วโมง ผลของโลหะทองแดงและสังกะสีทำให้รูปทรง และตำแหน่งของสเปกตรัมเบี่ยงเบนเล็กน้อย ในขณะที่แต่ละแถบของสเปกตรัมบ่งบอกถึงการสั่นของพันธะต่างๆ ดังต่อไปนี้

ทุกรูปแสดงแถบสเปกตรัมในช่วงกว้างระหว่าง 3500-3200 cm^{-1} ซึ่งเป็นช่วงการสั่นของพันธะ -OH stretch และ N-H stretch ของกลุ่มฟังก์ชัน ไฮดรอกซิล และเอมีน ตามลำดับ

แถบสเปกตรัม ณ ตำแหน่งเลขคลื่นในช่วง 3000-2900 cm^{-1} แสดงการสั่นของหมู่ CH_3 , CH_2 และ CH stretch ที่เป็นโซ่ของอัลเคน

ในสเปกตรัมของ DOA9 ที่มีชีวิตปรากฏแถบการดูดซับที่ตำแหน่ง 1737 cm^{-1} ซึ่งเป็นตำแหน่งที่มีการสั่นของพันธะ C=O stretch ในหมู่เอสเทอร์

ทุกสเปกตรัมแสดงแถบการดูดซับที่เล็ก และแคบอย่างชัดเจนในช่วง 1621-1654 cm^{-1} พันธะที่เกิดการสั่นในช่วงนี้คือ C=O stretch และ N-H bend ซึ่งแสดงถึงหมู่ 1° เอไมด์

ถัดจากนั้นพบแถบการดูดซับที่ตำแหน่งในช่วง 1552-1517 cm^{-1} ซึ่งเป็นตำแหน่งที่แสดงการสั่นแบบ N-H bend ของหมู่ฟังก์ชัน 2° เอไมด์

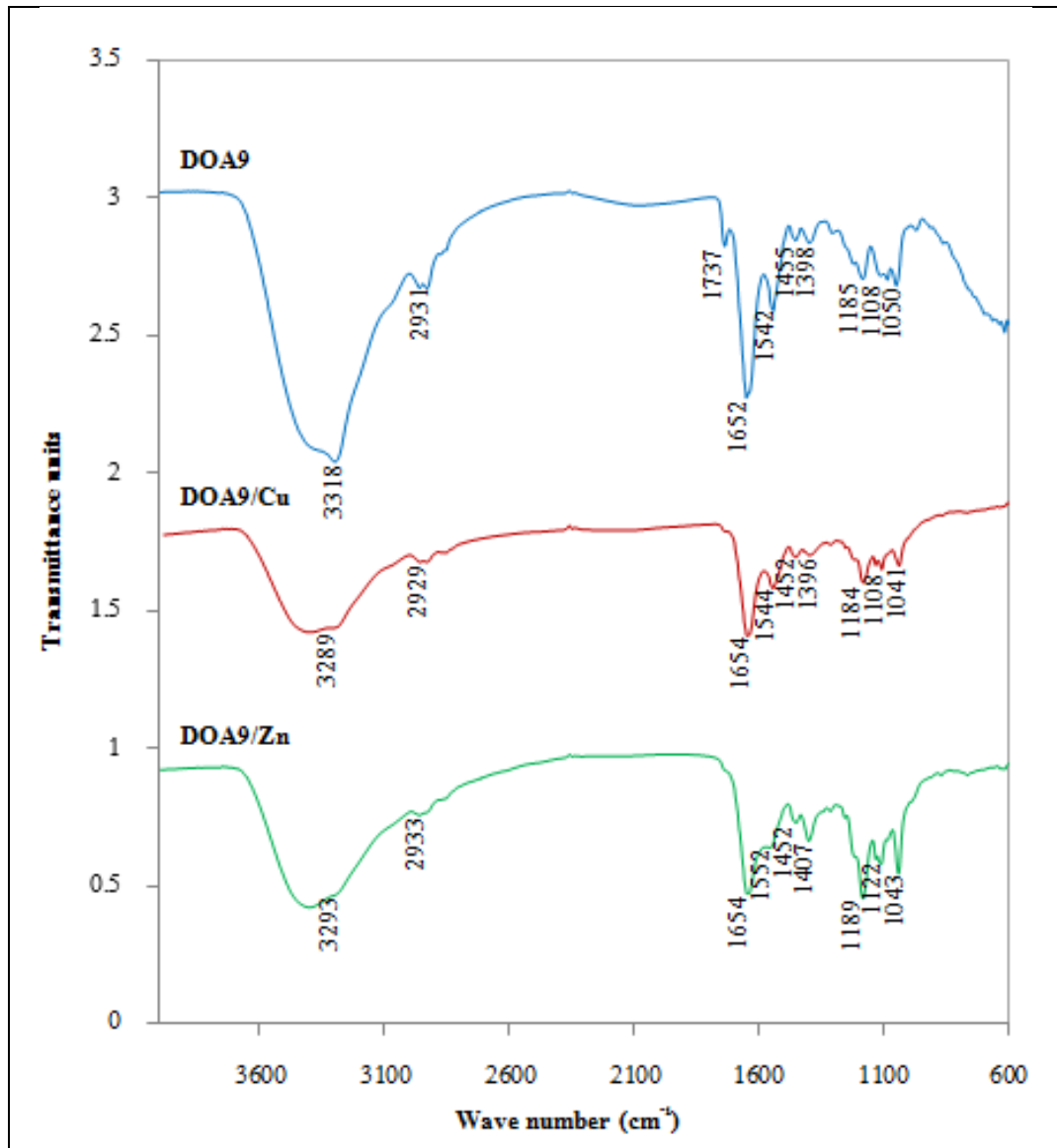
แถบความเข้มต่ำในช่วง 1463-1452 cm^{-1} แสดงถึงการสั่นของพันธะ -CH ในหมู่คาร์บอกซิล

3° เอไมด์ ปรากฏที่ตำแหน่ง 1407-1382 cm^{-1} ซึ่งโดยปกติแล้วในช่วงดังกล่าวมีการซ้อนทับกับ COO^- ของหมู่คาร์บอกซิล

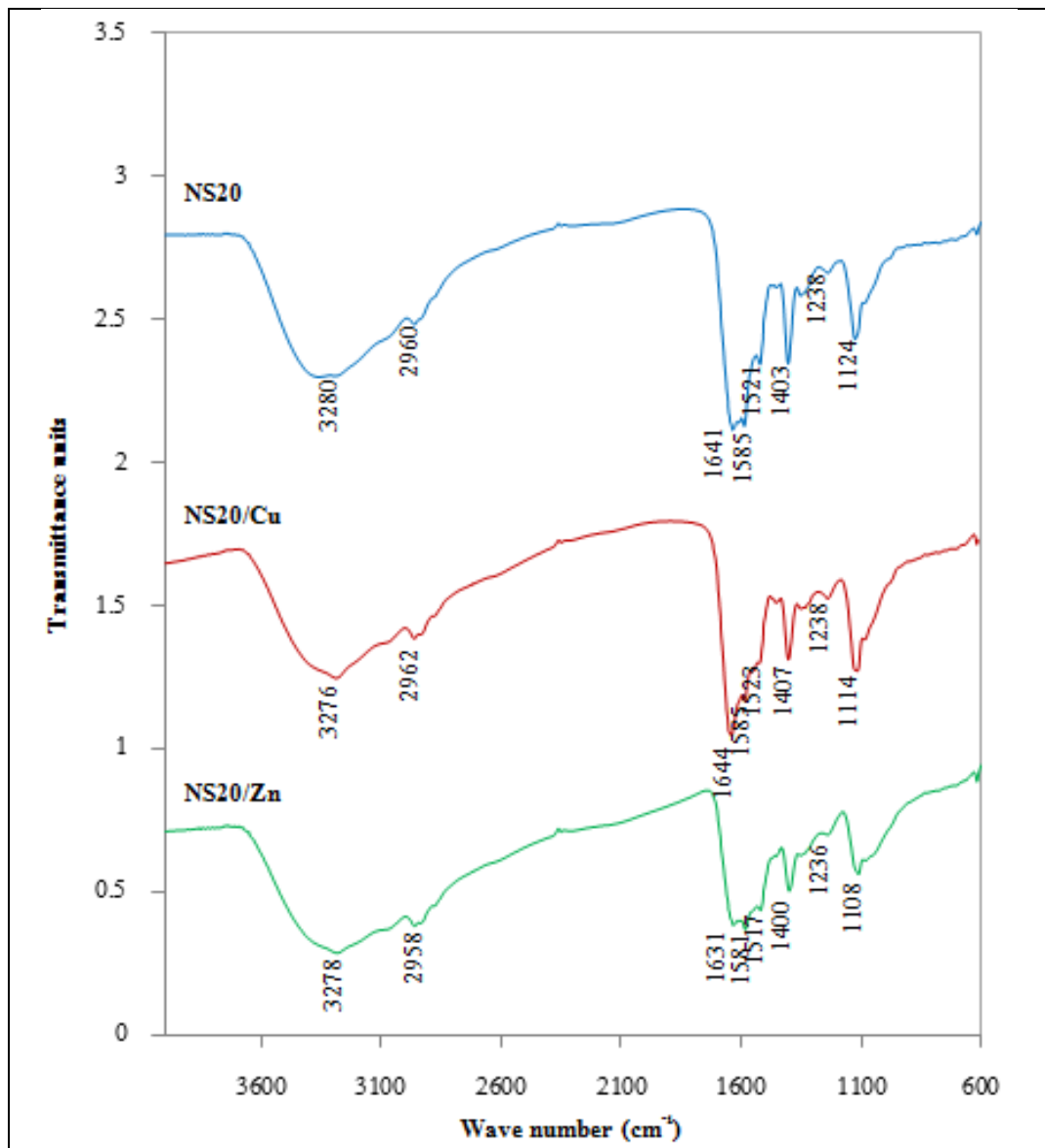
สำหรับ DOA9 ที่มีชีวิตนั้นพบแถบการดูดซับที่ตำแหน่ง 1189-1185 cm^{-1} ซึ่งเป็นตำแหน่งของ 3° เอไมด์เช่นกัน โดยเป็นการสั่นของพันธะ C-N stretch

ส่วนตำแหน่งการดูดซับที่เหลือในช่วง 1124-1041 cm^{-1} แสดงตำแหน่งการสั่นของ C-N stretch และกลุ่มพันธะของหมู่ฟอสเฟต ได้แก่ P-O-C และ P-O

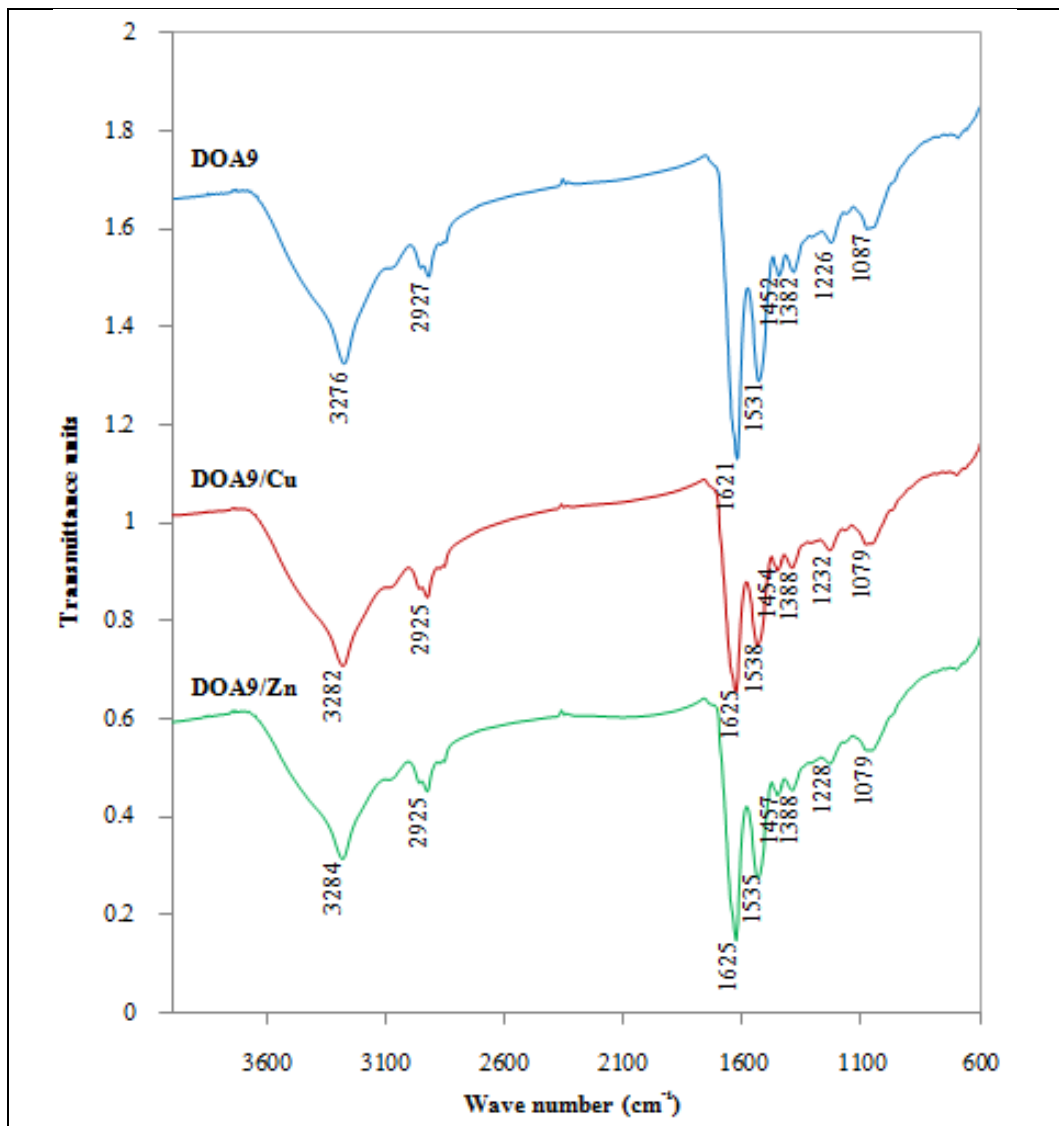
โลหะหนักมีผลทำให้แถบการดูดซับเบี่ยงเบนเล็กน้อย นอกจากนี้การเตรียมวัสดุดูดซับที่เป็นเซลล์คายส่งผลให้รูปทรงของแถบการดูดซับเปลี่ยนแปลงเช่นกัน ซึ่งได้สรุปอย่างละเอียดในตารางที่ 8.1 และ 8.2



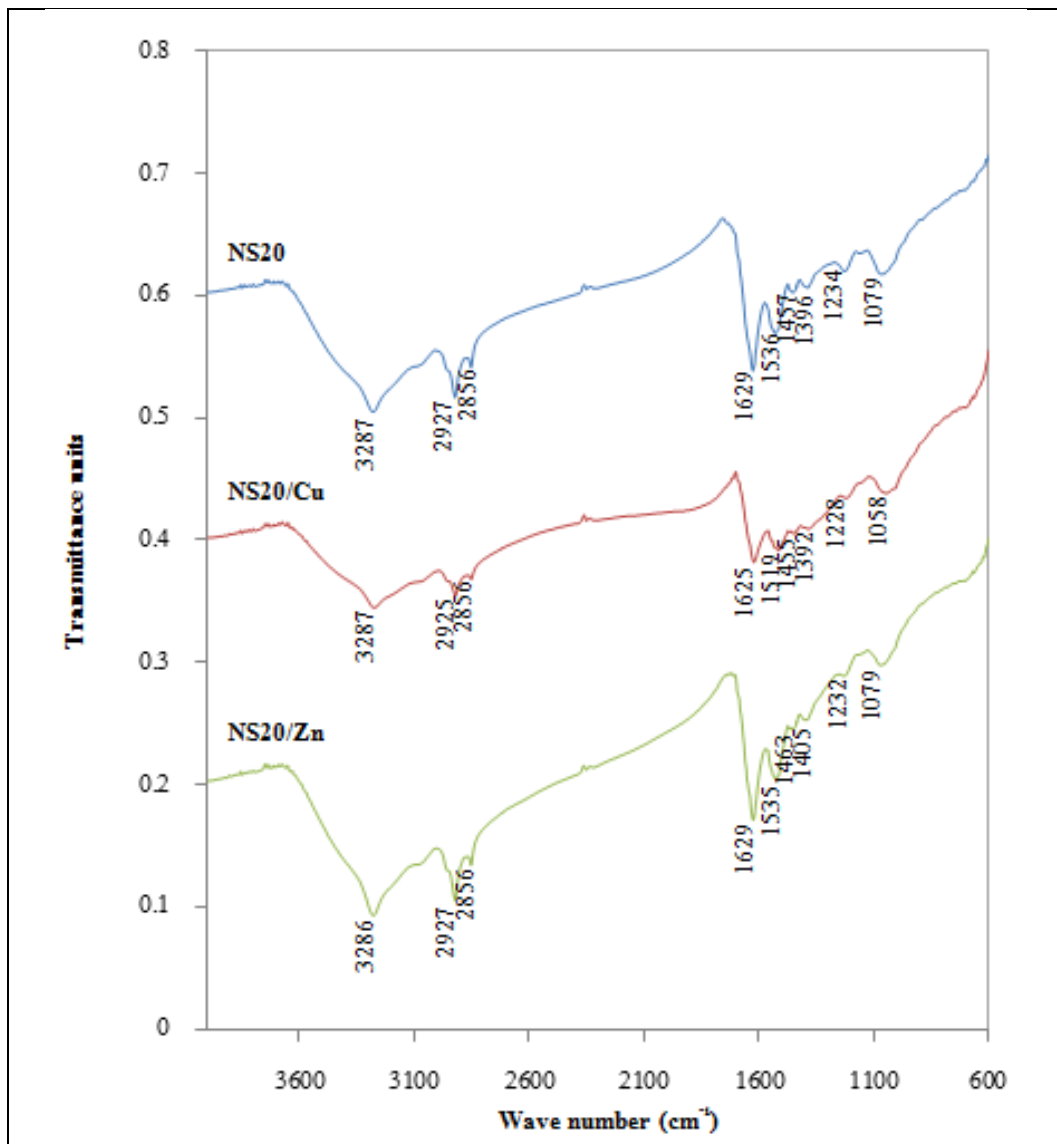
รูปที่ 8.6 สเปกตรัมรังสีอินฟราเรดจากการวิเคราะห์ *Bradyrhizobium* sp. strain DOA9 ที่มีชีวิตด้วย FT-IR microscope



รูปที่ 8.7 สเปกตรัมรังสีอินฟราเรดจากการวิเคราะห์ *R. boonkerdii* sp. nov. strain NS20 ที่มีชีวิตด้วย FT-IR microscope



รูปที่ 8.8 สเปกตรัมรังสีอินฟราเรดจากการวิเคราะห์ *Bradyrhizobium* sp. strain DOA9 ที่ตายด้วย FT-IR microscope



รูปที่ 8.9 สเปกตรัมรังสีอินฟราเรดจากการวิเคราะห์ *R. boonkerdii* sp. nov. strain NS20 ที่ตายด้วย FT-IR microscope

ตารางที่ 8.1 แสดงตำแหน่งของแถบการดูดซับที่สอดคล้องกับหมู่ฟังก์ชันทางเคมีของวัสดุดูดซับที่เป็นเซลล์มีชีวิตร

Frequency (cm ⁻¹)						Structure formular	Functional group
DOA9	DOA9/ Cu	DOA9/ Zn	NS20	NS20/ Cu	NS20/ Zn		
3318	3289	3293	3280	3276	3278	-OH N-H	ไฮดรอกซิล เอมีน
2931	2929	2933	2960	2962	2958	-CH	คาร์บอกซิล
1737	-	-	-	-	-	C=O	เอสเทอร์
1652	1654	1654	1641	1644	1631	C=O, N-H	1° เอไมด์
1542	1544	1552	1521	1523	1517	N-H	2° เอไมด์
1455	1452	1452	-	-	-	-CH	คาร์บอกซิล
1398	1396	1407	1403	1407	1400	C-N COO ⁻	3° เอไมด์ คาร์บอกซิล
1185	1184	1189	-	-	-	C-N	3° เอไมด์
1108	1108	1122	1124	1114	1108	C-N	3° เอไมด์
1050	1041	1043	-	-	-	P-O-C, P-O	ฟอสเฟต

ตารางที่ 8.2 แสดงตำแหน่งของแถบการดูดซับที่สอดคล้องกับหมู่ฟังก์ชันทางเคมีของวัสดุดูดซับที่เป็นเซลล์ตาย

Frequency (cm ⁻¹)						Structure formular	Functional group
DOA9	DOA9/ Cu	DOA9/ Zn	NS20	NS20/ Cu	NS20/ Zn		
3276	3282	3284	3287	3287	3286	-OH N-H	ไฮดรอกซิล เอมีน
2927	2925	2925	2927	2925	2927	-CH	คาร์บอกซิล
-	-	-	2856	2856	2856		
1621	1625	1625	1629	1625	1629	C=O, N-H	1° เอไมด์
1531	1538	1535	1536	1519	1535	N-H	2° เอไมด์
1452	1454	1457	1457	1455	1463	-CH	คาร์บอกซิล
1382	1388	1388	1396	1392	1405	C-N COO ⁻	3° เอไมด์ คาร์บอกซิล
1226	1232	1228	1234	1228	1232	C-N	3° เอไมด์
1087	1079	1079	1079	1058	1079	C-N P-O-C, P-O	3° เอไมด์ ฟอสเฟต

ผลการวิเคราะห์ห้วงค์ประกอบทางเคมีของวัสดุดูดซับพบว่า มีหมู่ฟังก์ชันหลักคือ ไฮดรอกซิล คาร์บอกซิล เอมีน เอไมด์ และ ฟอสเฟต ซึ่งเป็นหมู่ฟังก์ชันทางเคมีที่พบในโครงสร้างต่างๆของแบคทีเรีย ไฮดรอกซิล และคาร์บอกซิล เป็นหมู่ย่อยของ กรดอะมิโน ซึ่งเป็นหน่วยที่เล็กที่สุดของโปรตีน พบได้ทั่วไปในโครงสร้างของแบคทีเรีย โปรตีนพบมากในส่วนของเยื่อหุ้มชั้นนอกโดยยึดติดอยู่กับเปปติโดไกลแคนด้วยพันธะโควาเลนต์ สำหรับ เอมีน และเอไมด์ คือสารที่มีหมู่ อะมิโน (-NH₂) เป็นองค์ประกอบ ทั้ง เอมีน และเอไมด์ สามารถแบ่งได้เป็น primary secondary และ tertiary ขึ้นอยู่กับจำนวนของหมู่คาร์บอนที่มากาะกับอะตอมของไนโตรเจน เอมีน และเอไมด์ เป็นองค์ประกอบของโปรตีน และเปปติโดไกลแคน ส่วนฟอสเฟตคือหมู่ฟังก์ชันที่เป็นองค์ประกอบของไขมัน พบในฟอสโฟไลปิด และไลโปโพลีแซคคาไรด์

8.5 สรุปผลการวิจัย

ผลการวิเคราะห์แถบการดูดซับรังสีอินฟราเรดของวัสดุดูดซับทั้งในรูปของเซลล์ที่มีชีวิตและตาย รวมทั้งเซลล์ที่ผ่านกระบวนการดูดซับและไม่ผ่านกระบวนการดูดซับโลหะ แสดงให้เห็นว่าวัสดุดูดซับมีหมู่ฟังก์ชันทางเคมีหลักประกอบด้วย 1) เอมีน ปรากฏแถบการดูดซับในช่วง $3500-3200\text{ cm}^{-1}$ 2) เอไมด์ ซึ่งปรากฏทั้งในรูปของ primary secondary และ tertiary เกิดแถบการดูดซับในช่วง $1621-1654\ 1552-1517\ 1407-1382$ และ $1189-1185\text{ cm}^{-1}$ 3) ไฮดรอกซิล ปรากฏแถบการดูดซับในช่วง $3500-3200\text{ cm}^{-1}$ 4) คาร์บอกซิล ปรากฏแถบการดูดซับในช่วง $1463-1452$ และ $1407-1382\text{ cm}^{-1}$ และ 5) ฟอสเฟต ที่ปรากฏแถบการดูดซับในช่วง $1124-1041\text{ cm}^{-1}$ นอกจากนี้ยังเกิดแถบการดูดซับที่พบเฉพาะการวิเคราะห์เซลล์มีชีวิตของ *Bradyrhizobium* sp. strain DOA9 ได้แก่ หมู่เอสเทอร์ ที่เกิดแถบการดูดซับ ณ ตำแหน่งเลขคลื่นเท่ากับ 1737 cm^{-1} และหมู่ 3° เอไมด์ ที่ปรากฏแถบการดูดซับในช่วง $1189-1185\text{ cm}^{-1}$

8.6 เอกสารอ้างอิง

- Doyle, R.J., Matthews, T.H., and Streips, U.N. (1980). Chemical basis for selectivity of metals ions by *Bacillus subtilis* cell wall. **Journal of Bacteriology**. 143: 471-480
- Fournier, B., and Philpott, D.J. (2005). Recognition of *Staphylococcus aureus* by the Innate Immune System. **Clinical Microbiology Reviews**. 18: 521-540.
- Hua, P.J., Xia, L.R., and Xiao, T.H. (2007). Surface reaction of *Bacillus cereus* biomass and its biosorption for lead and copper ions. **Journal of Environmental Science**. 19: 403-408.
- Lameiras, S., Quintelas, C., and Tavares, T. (2008). Biosorption of Cr(VI) using a biofilm supported on granular activated carbon and on zeolite. **Bioresource Technology**. 99: 801-806.
- Moat, A.G., Foster, J.W., and Spector, M.P. (1987) *Microbial physiology*. New York: Wiley-Liss, Inc.
- Mohamad, O.A., Hao, X., Xie, P., Hatab, S., Lin, Y., and Wei, G. (2012). Biosorption of copper (II) from aqueous solution using non-living *Mesorhizobium amorphae* strain CCNWGS0123. **Microbes and Environments**. 27: 234-241.
- Prescott, L.M., Harley, J.P., and Klein, D.A. (1986). *Microbiology*. New York: McGraw-Hill.
- Remacle, J. (1990). **Biosorption of heavy metals**. Boca Raton: CRC Press.

- Singha, B., Naiya, T.K., Bhattacharya, A.K., and Das, S.K. (2011). Cr(VI) ions removal from aqueous solutions using natural adsorbents-FTIR studies. **Journal of Environmental Protection**. 2: 729-735.
- Sherbert, G.V. (1978). *The biophysical characterization of the cell surface*. London: Academic press.
- Ngo-Thi, N.A., Kirschner, C., and Naumann, D. (2003). Characterization and identification of microorganism by FT-IR microscopospectrometry. **Journal of Molecular structure**. 661: 371-380.
- Urrutia, M.M. (1997). *Biosorbents for metal ions*. London, UK: CRC Press.
- Wal, V.D., Norde, W., Zehnder, A.J.B., and Lyklema, J. (1997). Determination of the total charge in the cell walls of gram-positive bacteria. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**. 9: 81-100.
- Wang, J., and Chen, C. (2009). Biosorbents for heavy metals removal and their future. **Biotechnology advances**. 27: 195-226.
- บัญญัติ สุขศรีงาม. (2534). *จุลชีววิทยาทั่วไป* (พิมพ์ครั้งที่ 3). กรุงเทพมหานคร: สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์.
- พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์, นิธิยา รัตนานนท์. (ไม่ปรากฏปีพิมพ์). *Cell wall (ผนังเซลล์)*. ค้นเมื่อ 15 กรกฎาคม 2556, จาก <http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/4077/cell-wall>.
- สุวณีย์ สุขเวชัย, มาลัย วรจิตร. (2536). *แบคทีเรียพื้นฐาน* (พิมพ์ครั้งที่ 1). กรุงเทพมหานคร: โรงพิมพ์ศิริยอด.

บทที่ 9

บทสรุปและข้อเสนอแนะ

9.1 ประสิทธิภาพการดูดซับ

สำหรับงานวิจัยนี้พบว่าวัสดุดูดซับ *R. boonkerdii* sp. nov. strain NS20 และ *Bradyrhizobium* sp. strain DOA9 อาจยังมีประสิทธิภาพไม่สูงพอที่จะนำไปประยุกต์ใช้ในการบำบัดน้ำเสียที่ปนเปื้อนโลหะทองแดง และสังกะสีเมื่อพิจารณาจากผลการทดสอบภายใต้สภาวะขอบเขตที่กำหนด การดูดซับทองแดงด้วย *R. boonkerdii* sp. nov. strain NS20 ที่ไม่มีชีวิตเท่านั้นที่ ให้ปริมาณการดูดซับสูงเพียงพอต่อการนำไปประยุกต์ใช้จริง อย่างไรก็ตามยังมีปัจจัยอื่น ๆ ที่มีผลต่อการดูดซับที่ยังไม่ได้ศึกษาในงานวิจัยนี้ ซึ่งตัวแปรเหล่านี้อาจส่งผลให้ประสิทธิภาพของการดูดซับสูงขึ้นได้ เช่น อิทธิพลของขนาดวัสดุดูดซับที่เป็นเซลล์ไม่มีชีวิต (Vijayaraghavan และ Yun, 2008; Dhankhar และคณะ, 2011) ซึ่งในการทดลองนี้ควบคุมขนาดของเซลล์แห้งไว้เพียงขนาดเฉลี่ย ลักษณะรูปร่างของวัสดุดูดซับก็เป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่มีความสำคัญ วัสดุดูดซับที่มีสัดส่วนพื้นที่ผิวต่อปริมาตรมากกว่า ย่อมมีประสิทธิภาพในการดูดซับที่ดีกว่า นอกจากนี้การทำให้วัสดุดูดซับมีลักษณะเป็นโพรง หรือมีรูพรุนมากก็เป็นการเพิ่มความสามารถในการดูดซับเช่นกัน ฉะนั้นขั้นตอนการเตรียมวัสดุดูดซับจึงมีความสำคัญ ซึ่งยังไม่ได้นำมาพิจารณาในการทดลองครั้งนี้

9.2 ลักษณะทางเคมีและกายภาพของการดูดซับทางชีวภาพ

การสร้างความสัมพันธ์ทางคณิตศาสตร์ที่สอดคล้องกับผลการดูดซับทางชีวภาพนั้นเป็นสิ่ง ที่จำเป็นมากเมื่อต้องพัฒนาขนาดของระบบดูดซับ ไปสู่การทำงานจริง ความสัมพันธ์ทางคณิตศาสตร์สามารถช่วยในการทำนายปริมาณการดูดซับ และการควบคุมระบบการดูดซับให้มี ประสิทธิภาพ แบบจำลองสมดุลการดูดซับ และแบบจำลองจลนศาสตร์ของการดูดซับเป็นสอง แบบจำลองพื้นฐานที่สามารถใช้ประเมินลักษณะของการดูดซับได้เป็นอย่างดี สำหรับการทดลองนี้ พบว่าผลการดูดซับ โลหะทองแดง และสังกะสีด้วยวัสดุดูดซับที่เป็นเซลล์ตายทั้งสองสายพันธุ์ ดังกล่าวสอดคล้องกับสมการสมดุลการดูดซับของฟรุนด์ลิช และสมการอัตราอันดับสอง ซึ่งเป็นการ บ่งชี้ว่าพฤติกรรมดูดซับอาจเกิดขึ้นได้จากการยึดเหนี่ยวด้วยแรงทางเคมี และแรงทางกายภาพ ส่วนปฏิกิริยาการดูดซับที่พิสูจน์ได้ว่าเป็นสมการอัตราอันดับสอง แสดงให้เห็นว่าการดำเนินไปของ ปฏิกิริยาการดูดซับถูกควบคุมด้วยความเข้มข้นของทั้งโลหะหนัก และวัสดุดูดซับ อย่างไรก็ตาม

การจะนำแบบจำลองทางคณิตศาสตร์เหล่านี้ไปควบคุมระบบการดูดซับนั้น ต้องมีการทดลองที่มีข้อมูลมากกว่านี้เพื่อให้สามารถทำนายผลการดูดซับได้ถูกต้องมากที่สุด เช่น การสร้างสมการสมดุลการดูดซับ ควรมีสมการที่แสดงการเปลี่ยนแปลงปริมาณวัสดุดูดซับ ในการทดลองนี้ได้ศึกษาเพียงการใช้วัสดุดูดซับที่ $2 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ เท่านั้น เช่นเดียวกันกับการสร้างสมการอัตราการดูดซับ ควรแสดงผลการเปลี่ยนแปลงทั้งปริมาณวัสดุดูดซับ และความเข้มข้นของโลหะหนักในสารละลายของเหลว เนื่องจากในการทดลองศึกษาเฉพาะสถานะที่ใช้วัสดุดูดซับในสัดส่วน $2 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ และความเข้มข้นของสารประกอบโลหะเท่ากับ $250 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$

การดูดซับใดๆเป็นกระบวนการที่ขึ้นกับอุณหภูมิ (Somasundaran และคณะ, 1998) แต่ในการทดลองนี้พบว่า อุณหภูมิที่เปลี่ยนไปไม่ส่งผลต่อปริมาณการดูดซับอย่างมีนัยสำคัญ ทั้งนี้เนื่องจากอุณหภูมิที่ใช้ในการทดลองอยู่ในช่วงที่แคบเกินไป จึงไม่เห็นการเปลี่ยนแปลงปริมาณการดูดซับได้ชัดเจน แต่ผลการคำนวณค่าเอนทัลปีระบุได้ว่ากระบวนการดูดซับนี้เป็นปฏิกิริยาคูดความร้อน ฉะนั้นตามหลักสมดุลปฏิกิริยาเคมีแล้ว การดูดซับน่าจะเกิดขึ้นได้ดีเมื่อเพิ่มอุณหภูมิของระบบการดูดซับให้สูงขึ้น นอกจากนี้พบว่าค่าการเปลี่ยนแปลงเอนทัลปีมีค่าต่ำกว่า $20 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ จึงบ่งบอกได้ว่าแรงยึดเหนี่ยวระหว่างไอออนของโลหะหนักกับวัสดุดูดซับเป็นแรงทางกายภาพ (Saha และ Chowdhury, 2011) ซึ่งเป็นแรงยึดเหนี่ยวที่อ่อน จึงสามารถเกิดการผันกลับของกระบวนการได้ง่าย จึงอาจเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้ประสิทธิภาพการดูดซับลดลง สอดคล้องกับผลการวิเคราะห์สมดุลการดูดซับที่เป็นไปตามแบบจำลองสมดุลการดูดซับของฟรันทซ์ลิช ตามสมมติฐานของฟรันทซ์ลิชนั้นอธิบายได้ว่า ไอออนของโลหะหนักสามารถยึดติดกับผิวของวัสดุดูดซับได้มากกว่า 1 ชั้น ซึ่งการยึดติดของวัสดุดูดซับกับวัสดุถูกดูดซับ โดยไม่สัมผัสกันโดยตรงนั้น เกิดขึ้นจากแรงยึดเหนี่ยวทางกายภาพ แต่อย่างไรก็ตามผลการวิเคราะห์ทางจุลศาสตร์ให้ผลกลับกัน นั่นคือปฏิกิริยาการดูดซับ สอดคล้องกับสมการอัตราอันดับสอง ซึ่งตามสมมติฐานของสมการอัตราอันดับสองนั้น การดูดซับเกิดขึ้นจากอันตรกิริยาระหว่างไอออนของโลหะหนักกับผิววัสดุดูดซับโดยตรง ฉะนั้นจึงมีแนวโน้มที่จะเกิดเป็นแรงยึดเหนี่ยวทางเคมี (Kumar และ Kirthika, 2009) แต่การเกิดพันธะทางเคมีขึ้นนั้นต้องการพลังงานทางความร้อนมากถึง $50\text{-}400 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ (Saha และ Chowdhury, 2011) จึงเป็นไปได้ว่าการยึดติดกันระหว่างไอออนของโลหะหนักกับผิวแบบที่เรียกระบุจากการแลกเปลี่ยนไอออนระหว่างกัน หรือยึดติดกันด้วยแรงสถิตย์ทางไฟฟ้า (electrostatic force) ซึ่งในการพิสูจน์หาแรงยึดเหนี่ยวที่แท้จริงนั้นอาจต้องใช้เทคนิคขั้นสูงในการวิเคราะห์ต่อไป

ส่วนหมู่ฟังก์ชันทางเคมีที่เป็นองค์ประกอบของวัสดุดูดซับที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วย FT-IR นั้นยังเป็นเพียงการวิเคราะห์เบื้องต้น ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าวัสดุดูดซับประกอบด้วยหมู่ฟังก์ชันที่สำคัญคือ ไฮดรอกซิล คาร์บอกซิล เอมีน เอไมด์ และฟอสเฟต ซึ่งสามารถทำนายได้เพียง

ว่าหมู่ฟังก์ชันเหล่านี้เป็นส่วนที่เกิดอันตรกิริยากับไอออนของโลหะหนัก แต่ยังไม่ทราบแน่ชัดว่าเกิดอันตรกิริยาในลักษณะใด

9.3 ประสิทธิภาพของการดูดซับโลหะหนักในน้ำเสียอุตสาหกรรม

การทดลองใช้วัสดุดูดซับในน้ำเสียอุตสาหกรรมให้ปริมาณการดูดซับที่ต่ำมากเมื่อเทียบกับความสามารถของวัสดุดูดซับที่ทำงานภายใต้สารละลายโลหะหนักที่สังเคราะห์ขึ้น ทั้งนี้เนื่องจากสองเหตุผลสำคัญคือ ในน้ำเสียอุตสาหกรรมมีค่าความเป็นกรดสูงมาก และการมีสารเจือปนอื่นๆ โดยทั้งสองเหตุผลดังกล่าว มีผลทำให้เกิดการแย่งชิงตำแหน่งการดูดซับกัน แต่ภายหลังการปรับค่าความเป็นกรดต่างของน้ำเสียให้เป็นกลาง พบว่าประสิทธิภาพการดูดซับสูงขึ้น (พิจารณาเฉพาะการดูดซับโลหะสังกะสี) ทั้งนี้เนื่องจากการลดอิทธิพลของสองปัจจัยดังกล่าวลง โดยปกติแล้ว การบำบัดน้ำเสียที่ปนเปื้อนโลหะหนักด้วยวิธีการดูดซับทางชีวภาพมักไม่นิยมใช้เป็นกระบวนการตั้งต้น เนื่องจากข้อจำกัดของอัตราการทำงานเป็นสำคัญ แต่การดูดซับทางชีวภาพจะมีประโยชน์ในการบำบัดซ้ำ (post-treatment) จากน้ำที่ผ่านการลดความเข้มข้นของโลหะหนักมาในระดับหนึ่งแล้ว (pre-treatment) (Schiewer และ Volesky, 2000) เนื่องจากจุดเด่นของกระบวนการดูดซับทางชีวภาพที่สามารถกำจัดโลหะหนักในสารละลายที่มีความเข้มข้นต่ำได้ดี โดยเฉพาะในสารละลายที่มีความเข้มข้นของโลหะหนักต่ำกว่า 100 ppm ฉะนั้นการดูดซับทางชีวภาพจึงเสมือนขั้นตอนการบำบัดซ้ำเพื่อลดปริมาณของโลหะหนักให้เหลือน้อยที่สุด

9.4 เอกสารอ้างอิง

- Dhankhar, R., Hooda, A., Solanki, R., and Sainger, P.A. (2011). *Svcharomyces cerevisiae*: a potential biosorbent for biosorption of uranium. **International Journal of Engineering and Technology**. 3: 5397-5407.
- Kumar, P.S., and Kirthika, K. (2009). Equilibrium and kinetic study of adsorption of nickel from aqueous solution onto beal tree leaf powder. **Journal of Engineering Science and Technology**. 4: 351-363.
- Saha, P., and Chowdhury, S. (2011). Insight into adsorption thermodynamics, Thermodynamic, Prof. Tadashi M. (Ed.), ISBN: 978-953-307-544-0, InTech.
- Schiewer, S., and Volesky, B. (2000). *Environmental Microbe-Metal Interactions*. New York: ASM Press.

Somasundaran, P., Shrotri, S., and Huang, L. (1998). Thermodynamics of adsorption of surfactants at solid-liquid interface. **Pure and Applied Chemistry**. 70: 621-626.

Vijayaraghavan, K., and Yun, Y.S. (2008). Bacterial biosorbents and biosorption. **Biotechnology Advances**. 26: 266-291.



ภาคผนวก ก

อาหารเลี้ยงมอดชีวภาพและการเตรียม

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

1. Van Niel's (VN) สำหรับเลี้ยงเชื้อ *R. boonkerdii* sp. nov. strain NS20

ปริมาณต่อลิตร

K ₂ HPO ₄	1.0 g
MgSO ₄ ·7H ₂ O	0.5 g
Yeast extract	10.0 g
Agar (สำหรับอาหารแข็ง)	15.0 g

การเตรียม

- ละลายสารลงในน้ำกลั่นปริมาตร 1000 mL และเติม agar ปริมาณ 15 g หากต้องการเตรียมอาหารแข็ง
- ควบคุม pH ที่ 7.0
- ฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดัน (autoclave) ที่อุณหภูมิ 121°C เป็นเวลา 15 นาที

2. Arabinose-Gluconate Medium สำหรับเลี้ยงเชื้อ *Bradyrhizobium* sp. strain DOA9

ปริมาณต่อลิตร

Hepes-MES (HM) buffer ¹	10.0 mL
Salt solution ²	10.0 mL
arabinose	1.0 g
Na glutamate	1.0 g
Yeast extract	1.0 g
Agar (สำหรับอาหารแข็ง)	15.0 g

การเตรียม

- เติม buffer และ salt solution อย่างละ 10 mL ลงในน้ำกลั่นปริมาตร 930 mL และเติม agar ปริมาณ 15 g หากต้องการเตรียมอาหารแข็ง
- ควบคุม pH ที่ 6.6
- ฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดัน (autoclave) ที่อุณหภูมิ 121°C เป็นเวลา 15 นาที

¹การเตรียม Hepes-MES (HM) buffer

Hepes (Sigma NO. H-3375)	130.0 g
MES (Sigma NO. M-8250)	110.0 g

- ละลาย Hepes และ MES ในน้ำกลั่นปริมาตร 1 L
- ปรับ pH เท่ากับ 6.6 ด้วย NaOH

²การเตรียม Salt solution

$\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0.67 g
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	18.00 g
$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	1.30 g
Na_2SO_4	25.00 g
NaCl	32.00 g
Na_2HPO_4	12.50 g

- ละลายเกลือลงในน้ำกลั่นปริมาตร 1 L และเก็บไว้ที่ 4°C



ii

ภาคผนวก ข

สารประกอบโลหะหนักและการเตรียมสารละลาย

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

สารละลายโลหะหนักที่ใช้ในการทดลองนี้ได้จากการละลายสารประกอบของโลหะทองแดงและสังกะสีในน้ำกลั่น โดยปริมาณธาตุมลทินของสารประกอบโลหะทองแดงและสังกะสีแสดงในตารางภาคผนวก ข.1

ตารางภาคผนวก ข.1 ปริมาณมลทินในสารประกอบโลหะทองแดงและสังกะสี

ธาตุมลทิน	ปริมาณธาตุมลทินในสารประกอบ $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (Max)	ปริมาณธาตุมลทินในสารประกอบ $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (Max)
Fe	0.003%	0.0005%
Ca	0.005%	0.001%
K	0.01%	0.001%
Na	0.02%	0.005%
Ni	0.005%	-
As	-	0.00005%
Cd	-	0.0002%
Cu	เป็นสารประกอบหลัก	0.0005%
Mg	-	0.001%
Mn	-	0.0002%
Pb	-	0.0005%
Cl	0.001%	0.0005%
N	0.002%	0.0005%



ภาคผนวก ค

ผลการวัดอัตราการโตของเซลล์ชีวมวลด้วยเทคนิคการวัดความขุ่น



ตาราง ก.1 อัตราการโตของ *Bradyrhizobium* sp. strain DOA9 ในสารละลายที่ไม่มีโลหะหนัก

วันที่	ผลการวัดความขุ่น (OD)				
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ค่าเฉลี่ย	ค่าเบี่ยงเบน (SD)
1	0.015	0.003	0.000	0.006	0.007
2	0.287	0.316	0.293	0.299	0.015
3	0.920	1.061	1.081	1.021	0.088
4	1.221	1.375	1.356	1.317	0.084
5	1.210	1.291	1.268	1.256	0.041
6	1.220	1.286	1.331	1.279	0.056
7	1.349	1.289	1.334	1.324	0.031

ตาราง ก.2 อัตราการโตของ *Bradyrhizobium* sp. strain DOA9 ในสารละลายโลหะทองแดง

วันที่	ผลการวัดความขุ่น (OD)									
	สารละลายสารประกอบทองแดง 250 mg·L ⁻¹					สารละลายสารประกอบทองแดง 500 mg·L ⁻¹				
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย	SD	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย	SD
1	0.025	0.036	0.023	0.028	0.007	0.003	0.045	0.034	0.027	0.027
2	0.203	0.249	0.206	0.219	0.026	0.174	0.204	0.211	0.196	0.019
3	0.864	0.801	0.894	0.853	0.047	0.788	0.769	0.832	0.796	0.032
4	1.256	0.840	1.192	1.096	0.224	0.790	0.989	0.877	0.885	0.099
5	1.272	1.224	1.319	1.272	0.048	0.878	0.918	0.827	0.874	0.045
6	1.235	1.220	1.314	1.256	0.051	0.809	0.973	0.968	0.917	0.094
7	1.272	1.284	1.284	1.280	0.007	0.745	0.894	0.987	0.875	0.122

ตาราง ก.3 อัตราการโตของ *Bradyrhizobium* sp. strain DOA9 ในสารละลายโลหะสังกะสี

วันที่	ผลการวัดความขุ่น (OD)									
	สารละลายสารประกอบสังกะสี 250 mg·L ⁻¹					สารละลายสารประกอบสังกะสี 500 mg·L ⁻¹				
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย	SD	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย	(SD)
1	0.057	0.052	0.058	0.056	0.003	0.052	0.050	0.050	0.051	0.001
2	0.158	0.170	0.144	0.157	0.013	0.112	0.094	0.108	0.105	0.009
3	0.255	0.177	0.299	0.244	0.062	0.150	0.186	0.229	0.188	0.039
4	0.284	0.419	0.365	0.356	0.068	0.433	0.322	0.266	0.340	0.085
5	0.528	0.581	0.383	0.497	0.103	0.316	0.476	0.289	0.360	0.101
6	0.519	0.515	0.449	0.494	0.039	0.369	0.565	0.497	0.477	0.010
7	0.473	0.485	0.485	0.481	0.007	0.459	0.428	0.493	0.460	0.033

ตาราง ก.4 อัตราการโตของ *Bradyrhizobium* sp. strain DOA9 ในสารละลายที่ไม่มีโลหะหนักและไม่มีแหล่งคาร์บอนและไนโตรเจน

วันที่	ผลการวัดความขุ่น (OD)				
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ค่าเฉลี่ย	ค่าเบี่ยงเบน (SD)
1	0.119	0.087	0.073	0.093	0.024
2	0.098	0.214	0.279	0.197	0.091
3	0.152	0.196	0.324	0.224	0.089
4	0.191	0.353	0.326	0.290	0.087
5	0.239	0.368	0.401	0.354	0.066
6	0.275	0.386	0.401	0.354	0.069
7	0.320	0.367	0.378	0.355	0.031

ตาราง ก.5 อัตราการโตของ *Bradyrhizobium* sp. strain DOA9 ในสารละลายโลหะทองแดงที่
ปราศจากแหล่งคาร์บอนและไนโตรเจน

วันที่	ผลการวัดความขุ่น (OD)									
	สารละลายสารประกอบทองแดง 250 mg·L ⁻¹					สารละลายสารประกอบทองแดง 500 mg·L ⁻¹				
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย	SD	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย	(SD)
1	0.006	0.006	0.005	0.006	0.001	0.002	0.005	0.006	0.004	0.002
2	0.00	0.015	0.026	0.017	0.009	0.006	0.007	0.002	0.005	0.003
3	0.024	0.030	0.037	0.030	0.007	0.000	0.004	0.016	0.007	0.008
4	0.018	0.012	0.067	0.032	0.030	0.025	0.020	0.005	0.017	0.011
5	0.029	0.040	0.038	0.036	0.006	0.032	0.033	0.025	0.030	0.004
6	0.026	0.019	0.046	0.030	0.014	0.024	0.036	0.030	0.030	0.006
7	0.011	0.036	0.086	0.044	0.038	0.036	0.012	0.042	0.029	0.016

ตาราง ก.6 อัตราการโตของ *Bradyrhizobium* sp. strain DOA9 ในสารละลายโลหะสังกะสีที่
ปราศจากแหล่งคาร์บอนและไนโตรเจน

วันที่	ผลการวัดความขุ่น (OD)									
	สารละลายสารประกอบสังกะสี 250 mg·L ⁻¹					สารละลายสารประกอบสังกะสี 500 mg·L ⁻¹				
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย	SD	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย	(SD)
1	0.090	0.093	0.034	0.072	0.033	0.028	0.019	0.028	0.025	0.005
2	0.094	0.066	0.106	0.089	0.021	0.049	0.048	0.043	0.047	0.003
3	0.139	0.089	0.120	0.116	0.025	0.044	0.062	0.034	0.047	0.014
4	0.100	0.098	0.174	0.124	0.044	0.047	0.031	0.072	0.050	0.020
5	0.076	0.124	0.124	0.108	0.028	0.032	0.081	0.070	0.061	0.026
6	0.157	0.084	0.112	0.118	0.037	0.074	0.035	0.078	0.061	0.024
7	0.121	0.111	0.139	0.124	0.014	0.094	0.084	0.020	0.066	0.040

ตาราง ค.7 อัตราการโตของ *R. boonkerdii* sp. nov. strain NS20 ในสารละลายที่ไม่มีโลหะหนัก

วันที่	ผลการวัดความขุ่น (OD)				
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ค่าเฉลี่ย	ค่าเบี่ยงเบน (SD)
1	0.152	0.158	0.153	0.154	0.003
2	0.198	0.281	0.189	0.223	0.051
3	0.587	0.614	0.563	0.588	0.026
4	0.713	0.635	0.638	0.662	0.044
5	0.704	0.652	0.546	0.634	0.080
6	0.611	0.608	0.635	0.618	0.015
7	0.639	0.655	0.644	0.647	0.011

ตาราง ค.8 อัตราการโตของ *R. boonkerdii* sp. nov. strain NS20 ในสารละลายโลหะทองแดง

วันที่	ผลการวัดความขุ่น (OD)									
	สารละลายสารประกอบทองแดง 250 mg·L ⁻¹					สารละลายสารประกอบทองแดง 500 mg·L ⁻¹				
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย	SD	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย	(SD)
1	0.053	0.061	0.066	0.060	0.007	0.022	0.090	0.056	0.056	0.034
2	0.027	0.132	0.033	0.064	0.059	0.074	0.073	0.067	0.071	0.003
3	0.171	0.314	0.19	0.225	0.078	0.203	0.120	0.256	0.193	0.067
4	0.493	0.483	0.497	0.491	0.007	0.409	0.402	0.560	0.457	0.089
5	0.572	0.548	0.569	0.563	0.013	0.498	0.599	0.595	0.564	0.057
6	0.568	0.554	0.546	0.556	0.014	0.537	0.532	0.533	0.534	0.002
7	0.553	0.478	0.646	0.559	0.080	0.551	0.557	0.548	0.552	0.005

ตาราง ก.9 อัตราการโตของ *R. boonkerdii* sp. nov. strain NS20 ในสารละลายโลหะสังกะสี

วันที่	ผลการวัดความขุ่น (OD)									
	สารละลายสารประกอบสังกะสี 250 mg·L ⁻¹					สารละลายสารประกอบสังกะสี 500 mg·L ⁻¹				
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย	SD	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย	(SD)
1	0.119	0.103	0.112	0.111	0.008	0.118	0.118	0.095	0.110	0.013
2	0.167	0.152	0.169	0.163	0.009	0.204	0.158	0.230	0.197	0.036
3	0.405	0.366	0.339	0.370	0.033	0.310	0.349	0.345	0.335	0.021
4	0.365	0.338	0.438	0.380	0.052	0.314	0.341	0.447	0.367	0.070
5	0.525	0.307	0.374	0.402	0.112	0.357	0.420	0.397	0.391	0.031
6	0.494	0.472	0.324	0.430	0.092	0.341	0.365	0.389	0.365	0.024
7	0.400	0.412	0.424	0.412	0.012	0.435	0.409	0.374	0.406	0.031

ตาราง ก.10 อัตราการโตของ *R. boonkerdii* sp. nov. strain NS20 ในสารละลายที่ไม่มีโลหะหนัก และไม่มีแหล่งคาร์บอนและไนโตรเจน

วันที่	ผลการวัดความขุ่น (OD)				
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ค่าเฉลี่ย	ค่าเบี่ยงเบน (SD)
1	0.014	0.019	0.018	0.017	0.003
2	0.024	0.019	0.014	0.019	0.005
3	0.022	0.025	0.016	0.021	0.005
4	0.027	0.024	0.024	0.025	0.002
5	-	-	-	-	-
6	-	-	-	-	-
7	-	-	-	-	-



ภาคผนวก ง

ผลการวัดปริมาณโลหะหนัก

ตาราง ง.1 ผลการดูดซับโลหะทองแดงด้วย *Bradyrhizobium* sp. strain DOA9 ที่มีชีวิต

สภาวะการดูดซับ			ผลการวัดความเข้มข้นของทองแดงภายหลังการดูดซับ				
ความเข้มข้นเริ่มต้น (mg·L ⁻¹)	ปริมาณเซลล์เริ่มต้น	เวลาการดูดซับ (ชั่วโมง)	ครั้งที่ 1 (mg·L ⁻¹)	ครั้งที่ 2 (mg·L ⁻¹)	ครั้งที่ 3 (mg·L ⁻¹)	เฉลี่ย (mg·L ⁻¹)	ค่าเบี่ยงเบน (SD)
53.28	1%	48	50.44	50.80	51.20	50.81	0.38
		96	49.32	46.74	46.10	48.76	1.70
		144	46.96	46.56	46.76	46.76	0.20
	5%	48	49.32	48.64	48.56	48.84	0.42
		96	50.48	48.85	48.87	49.40	0.94
		144	47.48	50.84	47.56	48.62	1.91
	10%	48	45.04	46.35	46.85	46.08	0.93
		96	44.36	45.56	44.01	44.64	0.81
		144	41.44	43.12	41.20	41.92	1.05
107.96	1%	48	105.48	105.24	105.36	105.36	0.12
		96	109.08	108.32	109.24	108.88	0.49
		144	102.68	103.40	101.39	102.49	1.02
	5%	48	101.08	101.50	100.12	100.90	0.70
		96	102.03	100.19	102.34	101.52	1.30
		144	91.44	94.21	92.87	92.84	1.39
	10%	48	94.40	93.80	95.00	94.40	0.60
		96	98.48	98.35	92.88	96.57	3.19
		144	92.64	91.44	96.36	93.48	2.57

ตาราง ง.2 ผลการดูดซับโลหะสังกะสีด้วย *Bradyrhizobium* sp. strain DOA9 ที่มีชีวิต

สถานะการดูดซับ			ผลการวัดความเข้มข้นของสังกะสีภายหลังการดูดซับ				
ความเข้มข้นเริ่มต้น (mg·L ⁻¹)	ปริมาณเซลล์เริ่มต้น	เวลาการดูดซับ (ชั่วโมง)	ครั้งที่ 1 (mg·L ⁻¹)	ครั้งที่ 2 (mg·L ⁻¹)	ครั้งที่ 3 (mg·L ⁻¹)	เฉลี่ย (mg·L ⁻¹)	ค่าเบี่ยงเบน (SD)
60.48	1%	48	59.49	56.38	55.73	57.20	2.00
		96	56.73	56.26	53.45	55.48	1.77
		144	53.42	50.33	46.28	50.01	3.58
	5%	48	56.37	55.65	55.83	55.95	0.37
		96	54.84	54.79	55.43	55.02	0.36
		144	43.38	45.11	45.01	44.50	0.97
	10%	48	48.48	50.16	49.11	49.25	0.85
		96	46.32	49.83	54.75	50.3	4.23
		144	37.90	39.86	40.38	39.38	1.31
112.40	1%	48	112.42	110.06	107.76	110.08	2.33
		96	114.41	114.06	114.37	114.28	0.19
		144	104.5	107.22	106.85	106.19	1.48
	5%	48	111.10	102.94	106.33	106.79	4.09
		96	97.32	100.68	100.53	99.51	1.89
		144	91.58	93.42	96.16	93.72	2.30
	10%	48	101.27	98.73	99.10	99.70	1.37
		96	99.40	99.28	99.64	99.44	0.18
		144	89.48	90.78	90.94	90.40	0.80

ตาราง ง.3 ผลการดูดซับโลหะทองแดงด้วย *R. boonkerdii* sp. nov. strain NS20 ที่มีชีวิต

สถานะการดูดซับ			ผลการวัดความเข้มข้นของทองแดงภายหลังการดูดซับ				
ความเข้มข้นเริ่มต้น (mg·L ⁻¹)	ปริมาณเซลล์เริ่มต้น	เวลาการดูดซับ (ชั่วโมง)	ครั้งที่ 1 (mg·L ⁻¹)	ครั้งที่ 2 (mg·L ⁻¹)	ครั้งที่ 3 (mg·L ⁻¹)	เฉลี่ย (mg·L ⁻¹)	ค่าเบี่ยงเบน (SD)
60.22	1%	48	56.36	52.24	57.63	55.41	2.81
		96	43.72	42.35	44.07	43.38	0.90
		144	43.74	44.84	47.74	45.44	2.07
	5%	48	55.36	58.25	59.67	57.76	2.19
		96	46.26	46.83	47.55	46.88	0.65
		144	44.74	44.36	48.69	45.93	2.39
	10%	48	38.85	40.74	41.23	40.27	1.26
		96	41.64	42.24	40.41	41.43	0.93
		144	41.67	42.35	44.23	42.75	1.33
122.33	1%	48	105.53	107.43	109.48	107.48	1.98
		96	90.54	89.64	95.01	91.73	2.88
		144	92.64	91.56	96.45	93.55	2.57
	5%	48	112.27	111.75	109.97	111.33	1.21
		96	112.75	118.14	115.04	115.31	2.71
		144	83.75	80.45	90.62	84.94	5.19
	10%	48	102.93	102.15	102.48	102.52	0.39
		96	98.66	94.13	97.43	96.74	2.34
		144	87.35	82.56	86.77	85.56	2.61

ตาราง ง.4 ผลการดูดซับโลหะสังกะสีด้วย *R. boonkerdii* sp. nov. strain NS20 ที่มีชีวิต

สถานะการดูดซับ			ผลการวัดความเข้มข้นของสังกะสีภายหลังการดูดซับ				
ความเข้มข้นเริ่มต้น (mg·L ⁻¹)	ปริมาณเซลล์เริ่มต้น	เวลาการดูดซับ (ชั่วโมง)	ครั้งที่ 1 (mg·L ⁻¹)	ครั้งที่ 2 (mg·L ⁻¹)	ครั้งที่ 3 (mg·L ⁻¹)	เฉลี่ย (mg·L ⁻¹)	ค่าเบี่ยงเบน (SD)
62.35	1%	48	60.56	52.75	58.08	57.13	3.99
		96	38.48	39.25	39.63	39.12	0.59
		144	35.31	38.64	37.59	37.18	1.70
	5%	48	46.38	50.23	48.47	48.36	1.93
		96	37.93	39.73	37.75	38.47	1.09
		144	36.75	35.86	36.53	36.38	0.46
	10%	48	54.68	55.86	52.24	54.26	1.85
		96	34.75	34.24	37.39	35.46	1.69
		144	31.93	29.67	29.12	30.24	1.48
88.04	1%	48	82.88	95.84	86.58	88.43	6.67
		96	77.58	76.59	75.56	76.58	1.01
		144	78.42	74.46	73.58	75.49	2.58
	5%	48	91.83	97.45	63.86	84.38	3.97
		96	72.12	69.92	70.90	70.98	1.10
		144	80.70	62.50	78.68	73.96	1.43
	10%	48	87.45	85.75	90.35	87.85	2.32
		96	70.35	73.56	68.13	70.68	2.73
		144	60.53	68.45	69.95	66.31	5.06

ตาราง ง.5 ผลการดูดซับโลหะทองแดงด้วย *Bradyrhizobium* sp. strain DOA9 ที่ไม่มีชีวิต

สถานะการดูดซับ				ผลการวัดความเข้มข้นของทองแดงภายหลังการดูดซับ				
ปริมาณ เซลล์ เริ่มต้น ($g \cdot L^{-1}$)	ความเข้มข้น เริ่มต้น ($mg \cdot L^{-1}$)	เวลา (นาที)	pH	ครั้งที่ 1 ($mg \cdot L^{-1}$)	ครั้งที่ 2 ($mg \cdot L^{-1}$)	ครั้งที่ 3 ($mg \cdot L^{-1}$)	เฉลี่ย ($mg \cdot L^{-1}$)	ค่าเบี่ยงเบน (SD)
2	55.36	5	7	52.64	51.04	46.50	50.06	3.19
		10		43.63	47.76	40.52	43.97	3.63
		30		42.07	41.65	42.82	42.18	0.59
		60		42.28	42.25	42.04	42.18	0.13
		720		34.51	33.78	32.17	33.48	1.20
	1,440	4	55.86	46.73	41.76	48.11	7.15	
		5.5	27.89	36.65	42.59	35.71	7.39	
		7	31.96	33.43	34.86	33.41	1.45	
	98.39	1,440	7	94.89	83.86	89.39	89.38	5.51
	4	55.36	1,440	7	20.93	18.20	14.11	17.75

ตาราง ง.6 ผลการดูดซับโลหะสังกะสีด้วย *Bradyrhizobium* sp. strain DOA9 ที่ไม่มีชีวิต

สถานะการดูดซับ				ผลการวัดความเข้มข้นของสังกะสีภายหลังการดูดซับ				
ปริมาณ เซลล์ เริ่มต้น ($g \cdot L^{-1}$)	ความเข้มข้น เริ่มต้น ($mg \cdot L^{-1}$)	เวลา (นาที)	pH	ครั้งที่ 1 ($mg \cdot L^{-1}$)	ครั้งที่ 2 ($mg \cdot L^{-1}$)	ครั้งที่ 3 ($mg \cdot L^{-1}$)	เฉลี่ย ($mg \cdot L^{-1}$)	ค่าเบี่ยงเบน (SD)
2	53.24	5	7	52.95	51.86	52.93	52.58	0.62
		10		47.74	47.85	50.24	48.61	1.41
		30		44.85	44.58	46.97	45.80	1.08
		60		47.89	47.06	46.07	47.01	0.92
		720		45.88	46.86	45.26	46.00	0.81
	1,440	4	51.86	51.86	51.03	51.58	0.48	
		5.5	51.77	50.54	48.96	50.42	1.41	
		7	47.63	48.42	45.14	47.06	1.71	
	119.50	1,440	7	108.85	102.53	111.03	107.47	4.41
	4	53.24	1,440	7	43.35	43.71	44.24	43.77

ตาราง ง.7 ผลการดูดซับโลหะทองแดงด้วย *R. boonkerdii* sp. nov. strain NS20 ที่ไม่มีชีวิต

สถานะการดูดซับ				ผลการวัดความเข้มข้นของทองแดงภายหลังการดูดซับ					
ปริมาณเซลล์เริ่มต้น (g·L ⁻¹)	ความเข้มข้นเริ่มต้น (mg·L ⁻¹)	เวลา (นาที)	pH	ครั้งที่ 1 (mg·L ⁻¹)	ครั้งที่ 2 (mg·L ⁻¹)	ครั้งที่ 3 (mg·L ⁻¹)	เฉลี่ย (mg·L ⁻¹)	ค่าเบี่ยงเบน (SD)	
2	55.36	5	7	35.87	33.64	37.35	35.62	1.87	
		10		20.52	21.37	22.13	21.34	0.81	
		30		14.47	18.60	16.45	16.51	2.06	
		60		17.57	15.72	15.72	16.33	1.07	
		720		10.85	12.25	11.83	11.64	0.72	
		1,440	4	24.43	21.46	25.09	23.66	1.94	
			5.5	18.73	14.00	19.67	17.47	3.04	
			7	11.09	15.05	8.99	11.71	3.07	
		98.39	1,440	7	47.67	61.57	53.31	54.18	6.99
		4	55.36		1,440	5.99	5.18	6.93	6.03

ตาราง ง.8 ผลการดูดซับโลหะสังกะสีด้วย *R. boonkerdii* sp. nov. strain NS20 ที่ไม่มีชีวิต

สถานะการดูดซับ				ผลการวัดความเข้มข้นของสังกะสีภายหลังการดูดซับ					
ปริมาณเซลล์เริ่มต้น (g·L ⁻¹)	ความเข้มข้นเริ่มต้น (mg·L ⁻¹)	เวลา (ชั่วโมง)	pH	ครั้งที่ 1 (mg·L ⁻¹)	ครั้งที่ 2 (mg·L ⁻¹)	ครั้งที่ 3 (mg·L ⁻¹)	เฉลี่ย (mg·L ⁻¹)	ค่าเบี่ยงเบน (SD)	
2	53.24	5	7	47.76	47.84	48.40	48.00	0.35	
		10		44.84	45.45	46.15	45.48	0.66	
		30		40.84	38.74	46.21	41.93	3.85	
		60		42.26	41.34	43.56	42.39	1.12	
		720		41.70	40.47	40.86	41.01	0.63	
		1,440	4	43.83	43.17	39.45	42.15	2.36	
			5.5	43.29	44.27	44.57	44.04	0.67	
			7	41.24	42.38	42.77	42.13	0.80	
		119.50	1,440	7	86.78	86.73	85.18	86.23	0.91
		4	53.24		1,440	39.78	36.69	36.38	37.62

ตาราง ง.9 ผลการทดสอบสมมูลของการดูดซับโลหะทองแดงด้วย *Bradyrhizobium* sp. strain

DOA9

ความเข้มข้นเริ่มต้น, C_0 ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	ความเข้มข้นภายหลังการดูดซับ, C_e ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)					ปริมาณทองแดงที่ถูกดูดซับต่อกรัมวัสดุดูดซับ, q (mg)
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย	SD	
14.78	3.45	5.48	4.38	4.43	1.01	5.17
20.30	9.00	7.73	6.63	7.78	1.19	6.26
42.28	29.05	27.63	27.58	28.08	0.84	7.09
53.20	39.25	39.98	37.45	38.89	1.30	7.15
66.03	51.93	51.23	44.63	49.26	4.03	8.38
87.23	70.80	71.20	67.60	69.87	1.97	8.68
110.60	89.33	93.38	89.48	90.73	2.29	10.28

ตาราง ง.10 ผลการทดสอบสมมูลของการดูดซับโลหะทองแดงด้วย *R. boonkerdii* sp. nov. strain

NS20

ความเข้มข้นเริ่มต้น, C_0 ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	ความเข้มข้นภายหลังการดูดซับ, C_e ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)					ปริมาณทองแดงที่ถูกดูดซับต่อกรัมวัสดุดูดซับ, q (mg)
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย	SD	
14.78	4.09	4.09	4.61	4.26	0.30	5.26
20.30	5.53	6.41	5.86	5.93	0.45	7.18
42.28	10.67	8.55	10.97	10.06	1.32	16.11
53.20	15.29	15.00	15.53	15.27	0.27	18.96
66.03	20.40	21.39	21.70	21.16	0.68	22.43
87.23	32.68	31.59	25.27	29.84	4.00	28.69
110.60	48.46	50.23	51.35	50.01	1.46	30.29

ตาราง ง.11 ผลการทดสอบสมมูลของการดูดซับโลหะสังกะสีด้วย *Bradyrhizobium* sp. strain
DOA9

ความเข้มข้นเริ่มต้น, C_0 ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	ความเข้มข้นภายหลังการดูดซับ, C_e ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)					ปริมาณสังกะสีที่ถูกดูด ซับต่อกรัมวัสดุดูดซับ, q (mg)
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย	SD	
16.45	14.85	15.37	13.13	14.45	1.17	1.00
20.46	15.53	17.45	17.86	16.95	1.24	1.76
47.93	40.12	41.04	41.95	41.03	0.92	3.45
52.45	44.36	44.74	46.99	45.36	1.43	3.54
64.83	55.84	57.43	59.05	57.44	1.61	3.70
86.73	76.36	76.96	76.91	76.74	0.33	5.00
114.76	103.45	104.82	106.22	104.83	1.39	4.98

ตาราง ง.12 ผลการทดสอบสมมูลของการดูดซับโลหะสังกะสีด้วย *R. boonkerdii* sp. nov. strain
NS20

ความเข้มข้นเริ่มต้น, C_0 ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	ความเข้มข้นภายหลังการดูดซับ, C_e ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)					ปริมาณสังกะสีที่ถูกดูด ซับต่อกรัมวัสดุดูดซับ, q (mg)
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย	SD	
16.45	12.14	11.75	12.00	11.96	0.19	2.25
20.46	15.85	15.73	13.96	15.18	1.06	2.64
47.93	35.74	36.72	35.63	36.03	0.60	5.95
52.45	40.46	40.56	40.89	40.64	0.23	5.91
64.83	52.05	50.25	50.53	50.95	0.97	6.94
86.73	62.02	64.23	64.34	63.53	1.31	11.60
114.76	89.51	88.95	88.64	89.03	0.44	12.80

ตาราง ง.13 ผลการทดสอบการดูดซับโลหะทองแดงด้วย *Bradyrhizobium* sp. strain DOA9 ที่อุณหภูมิต่างๆ

อุณหภูมิ (°C)	ความเข้มข้นภายหลังการดูดซับ, C_e (mg·L ⁻¹)				
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย	SD
20	33.41	33.64	33.66	33.57	0.14
24	33.39	33.49	33.47	33.45	0.05
28	31.96	33.43	34.84	33.41	1.44
32	33.03	34.79	32.41	33.41	1.23

ตาราง ง.14 ผลการทดสอบการดูดซับโลหะทองแดงด้วย *R. boonkerdii* sp. nov. strain NS20 ที่อุณหภูมิต่างๆ

อุณหภูมิ (°C)	ความเข้มข้นภายหลังการดูดซับ, C_e (mg·L ⁻¹)				
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย	SD
20	10.83	11.74	13.10	11.89	1.14
24	11.28	12.04	11.81	11.71	0.39
28	11.09	15.05	8.99	11.71	3.07
32	12.04	11.21	11.79	11.68	0.43

ตาราง ง.15 ผลการทดสอบการดูดซับโลหะสังกะสีด้วย *Bradyrhizobium* sp. strain DOA9 ที่อุณหภูมิต่างๆ

อุณหภูมิ (°C)	ความเข้มข้นภายหลังการดูดซับ, C_e (mg·L ⁻¹)				
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย	SD
20	48.35	46.16	47.21	47.24	1.09
24	46.66	47.09	47.85	47.20	0.60
28	47.63	48.42	45.13	47.06	1.72
32	47.42	47.63	46.04	47.03	0.86

ตาราง ง.16 ผลการทดสอบการดูดซับโลหะสังกะสีด้วย *R. boonkerdii* sp. nov. strain NS20 ที่อุณหภูมิ
ต่างๆ

อุณหภูมิ (°C)	ความเข้มข้นภายหลังการดูดซับ, C_e (mg·L ⁻¹)				
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย	SD
20	40.73	41.39	41.30	41.14	0.36
24	41.21	40.88	41.27	41.12	0.21
28	41.24	42.38	42.77	42.13	0.80
32	40.64	40.96	41.64	41.08	0.51

ตาราง ง.17 ผลการวัดปริมาณโลหะหนักในน้ำเสียอุตสาหกรรม

โลหะ	ความเข้มข้นก่อนปรับ pH (mg·L ⁻¹)			ความเข้มข้นหลังปรับ pH=2 (mg·L ⁻¹)		
	ก่อนการดูดซับ	ภายหลังการ ดูดซับด้วย DOA9	ภายหลังการ ดูดซับด้วย NS20	ก่อนการดูดซับ	ภายหลัง การดูดซับ ด้วย DOA9	ภายหลัง การดูดซับ ด้วย NS20
Cu	0.706	0.0598	0.574	0.063	-	-
Zn	809	801.42	800.14	91.94	81.92	77.86
Cr	122	111.56	107.68	0.0179	-	-



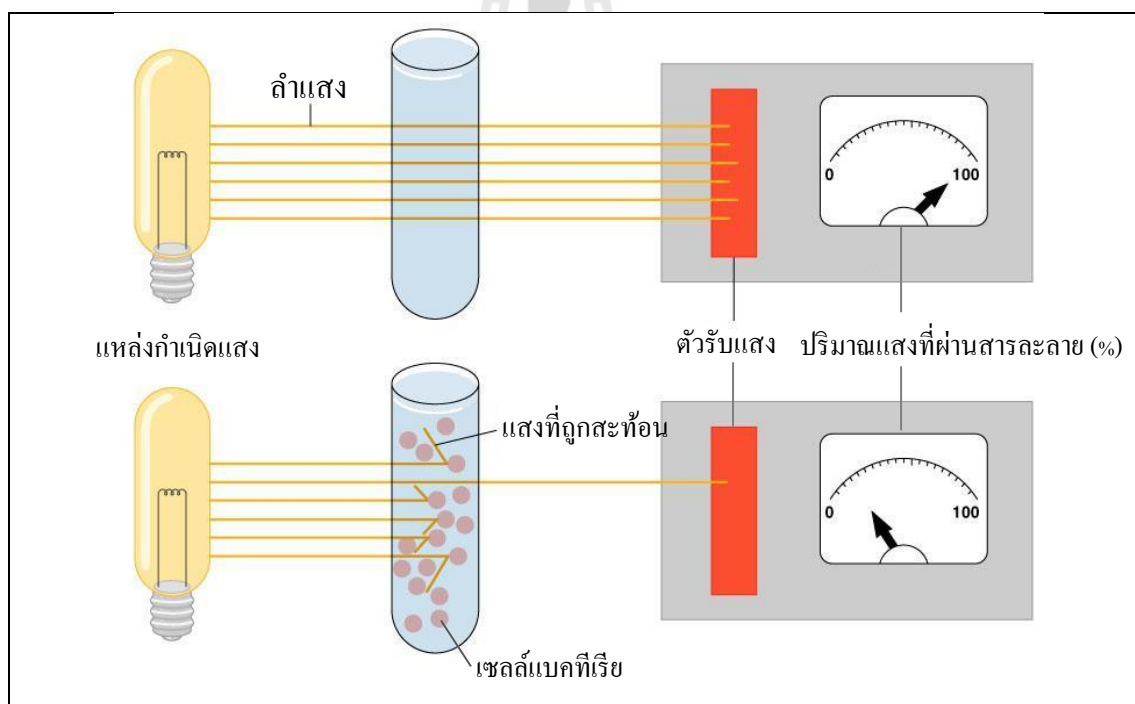
ภาคผนวก จ

เครื่องมือวิเคราะห์และการเตรียมตัวอย่างโลหะหนัก

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

1. Spectrophotometer (Pharmacia Biotech Ultrospec 2000)

Spectrophotometer เป็นเครื่องมือที่ใช้วัดความขุ่นของสารละลายของเหลว โดยใช้หลักการฉายแสงผ่านไปยังสารที่ต้องการวัด ดังแสดงในรูปที่ จ.1 แบนที่เรียจำนวน 10^7 - 10^8 เซลล์ต่อมิลลิเมตร มีความขุ่นที่สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า จึงสามารถใช้เทคนิคการวัดความขุ่นหรือความหนาแน่นในการวัดอัตราการโตของแบคทีเรียได้ เรียกว่า turbidity method หรือ optical density method เมื่อฉายแสงที่มีความยาวคลื่นค่าหนึ่งผ่านสารละลายที่มีแบคทีเรีย แสงส่วนหนึ่งจะถูกแบคทีเรียดูดซับไว้หรือสะท้อนกลับ ปริมาณแสงที่ถูกดูดซับไว้จะเป็นสัดส่วนโดยตรงกับขนาดของเซลล์หรือจำนวนแบคทีเรีย กล่าวคือ เซลล์แบคทีเรียที่มีขนาดใหญ่จะดูดซับแสงไว้ได้มากกว่าเซลล์ที่มีขนาดเล็ก หรือปริมาณแบคทีเรียจำนวนมากสามารถดูดซับแสงไว้ได้มากกว่าแบคทีเรียที่มีจำนวนเซลล์น้อย



รูปที่ จ.1 หลักการวัดความขุ่นของแบคทีเรียด้วย spectrophotometer

2. Atomic Absorption Spectroscopy (AAS: Perkin elmer AAnalyst 100)

AAS เป็นเทคนิคสำหรับการวิเคราะห์ธาตุที่อาศัยกระบวนการดูดกลืนแสงของอะตอมอิสระเพื่อทำให้เกิดการเปลี่ยนสถานะจากสถานะพื้นไปสู่สถานะกระตุ้นระดับแรก โดยอะตอมอิสระของธาตุแต่ละชนิดจะดูดกลืนแสงที่มีความยาวคลื่นเฉพาะ แต่การจะทำให้ไอเล็กตรอนของธาตุในสารประกอบเกิดเป็นอะตอมอิสระได้นั้น ต้องมีการดูดกลืนพลังงานเข้าไป ซึ่งอาจอยู่ในรูปต่างๆกัน เช่น พลังงานความร้อนจากเปลวไฟ หรือความร้อนจากไฟฟ้า เป็นต้น เมื่ออะตอมของธาตุที่ต้องการวิเคราะห์ดูดกลืนพลังงานและเปลี่ยนเป็นอะตอมอิสระที่อยู่ในสถานะแก๊สหรือไอ ซึ่งจะดูดกลืนแสงจากแหล่งกำเนิดเพื่อเปลี่ยนจากสถานะพื้นไปสู่สถานะกระตุ้น ทำให้ปริมาณแสงที่ออกจากรูปลูกำเนิดนั้นตกกระทบที่เครื่องวัดแสง (detector) ลดลง โดยค่าการดูดกลืนแสงเป็นสัดส่วนโดยตรงกับความเข้มข้นของอะตอมที่มีอยู่ในสารตัวอย่าง เมื่อนำความสัมพันธ์ดังกล่าวมาสร้างกราฟเปรียบเทียบ (calibration curve) โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐานที่ทราบค่าความเข้มข้นแน่นอนแล้วมาเขียนกราฟระหว่างค่าการดูดกลืนแสงและความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน จากนั้นนำค่าการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่างที่วัดได้มาเทียบกับกราฟเปรียบเทียบก็จะทราบความเข้มข้นของสารตัวอย่าง

ในขั้นการเตรียมตัวอย่างสำหรับการทดสอบหาปริมาณของโลหะหนักภายในสารละลายด้วย AAS นั้นไม่ยุ่งยากนัก เนื่องจากสารละลายที่จะทำการทดสอบเป็นสารละลายที่ใส ไม่มีตะกอน ดังนั้นจึงไม่จำเป็นต้องย่อยด้วยกรด ลำดับขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างในการทดสอบมีรายละเอียดดังนี้

2.1 นำขวดสารละลายโลหะหนักที่มีเชื้อแบคทีเรียไปทำการแยกเอาแบคทีเรียออกด้วยการเหวี่ยงที่ความเร็วรอบสูงๆ หลังจากนั้นจึงแยกเอาเฉพาะสารละลายมาทำการทดสอบ

2.2 เตรียมสารละลายของโลหะหนักที่ทราบความเข้มข้นจำนวน 4-5 ความเข้มข้น โดยที่ความเข้มข้นของสารละลายโลหะหนักที่เตรียมไว้จะต้องครอบคลุมช่วงของความเข้มข้นของสารละลายตัวอย่างที่จะทำการทดสอบ

2.3 ทำการสร้างกราฟมาตรฐาน โดยเริ่มจากการวัด Blank standard ก่อนเพื่อปรับสัญญาณที่ได้จาก blank ให้เป็นศูนย์ หลังจากนั้นจึงทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงเรียงตามลำดับจากความเข้มข้นน้อยไปมากจนครบทุกความเข้มข้น และสร้างเป็นกราฟเปรียบเทียบ โดยกราฟที่ได้จะเป็นเส้นตรง โดยที่ค่า Correlation of determination หรือ R^2 (ค่าบ่งบอกความเบี่ยงเบนของกราฟ) จะต้องมากกว่า 0.995 จึงจะเป็นค่าที่ยอมรับได้

2.4 วัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายโลหะหนักที่ไม่ได้ใส่เชื้อแบคทีเรียเพื่อทราบความเข้มข้นเริ่มต้นของโลหะที่อยู่ในสารละลาย โดยนำค่าการดูดกลืนแสงไปเทียบกับกราฟเปรียบเทียบที่ได้สร้างไว้ก่อนแล้ว

2.5 วัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายที่แยกออกจากเชื้อแบคทีเรียและนำไปหาค่าความเข้มข้นของโลหะ เพื่อเทียบกับสารละลายโลหะหนักที่ไม่ได้เติมเชื้อแบคทีเรีย หากพบว่าความเข้มข้นของโลหะหนักมีค่าน้อยกว่าสารละลายที่ไม่ได้ทำการเติมเชื้อแบคทีเรีย นั่นหมายความว่าแบคทีเรียมีการดูดซับไอออนของโลหะหนักเข้าไป

3. Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometry (ICP-MS: Agilent 7500ce)

ICP-MS เป็นเครื่องมือวิเคราะห์ธาตุโดยอาศัยกระบวนการคายพลังงานของอะตอม (atomic emission) ICP เป็นการใช้พลังงานจากพลาสมาในการกำจัดตัวทำละลายออกจากสารละลายตัวอย่างและระเหยสารตัวอย่างให้อยู่ในรูปไอ ซึ่งไอของโมเลกุลสารตัวอย่างจะถูกเปลี่ยนให้เป็นอะตอม จากนั้นอิเล็กตรอนจะถูกยิงให้หลุดจากวงแหวนชั้นนอกของอะตอม ทำให้เกิดไอออนประจุบวกของสารตัวอย่าง ไอออนดังกล่าวนี้จะถูกแยกและวัดด้วย MS ซึ่งเป็นการตรวจวัดไอโซโทปของธาตุตามอัตราส่วนของมวลต่อประจุ

การเตรียมตัวอย่างสำหรับการวิเคราะห์ด้วย ICP-MS สำคัญต่อการนำตัวอย่างเข้าไปในพลาสมา ซึ่งส่วนใหญ่มีระบบนำส่งด้วยการพ่นฝอยสารละลาย ตัวอย่างที่เตรียมจึงควรละลายในตัวทำละลายที่เหมาะสม โดยนิยมใช้สารละลายที่มีน้ำเป็นตัวทำละลาย หรือสารละลายกรดไนตริกเจือจาง ความเข้มข้นของสารตัวอย่างคำนวณจากเส้นกราฟมาตรฐานที่สร้างจากความสัมพันธ์ระหว่างการตอบสนองของเครื่องตรวจวัดกับความเข้มข้นของสารมาตรฐานในลักษณะเดียวกับการวิเคราะห์ด้วย AAS

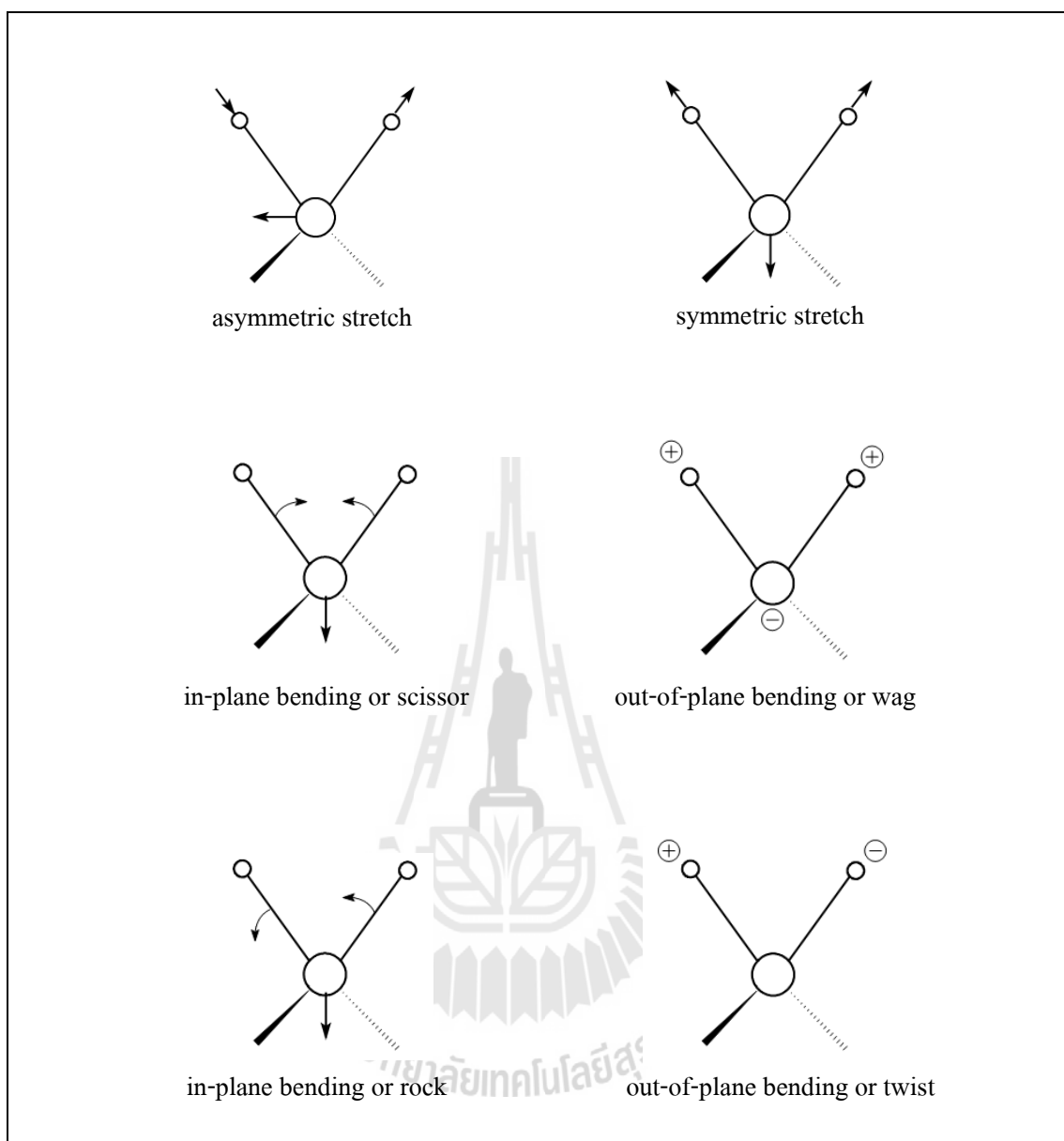
4. Fourier transform infrared spectrometer (FT-IR: Bruker Tensor 27)

FT-IR เป็นหนึ่งในเทคนิคที่ประยุกต์ใช้รังสีอินฟราเรดในการจำแนกประเภทของสารอินทรีย์ สารอนินทรีย์ และพันธะเคมีในโมเลกุล รวมถึงสามารถบอกถึงองค์ประกอบที่มีอยู่ในโมเลกุลของสารตัวอย่างซึ่งอาจอยู่ในสถานะของแข็ง ของเหลว หรือก๊าซได้ โดยจะให้ข้อมูลในลักษณะของการสั่นและการหมุนของโมเลกุลดังแสดงในรูป จ.2 หลักการทำงานของอุปกรณ์ชิ้นนี้อาศัยการดูดกลืนรังสีอินฟราเรดของโมเลกุลในสารตัวอย่าง เนื่องจากที่อุณหภูมิสูงกว่าอุณหภูมิศูนย์องศาสัมบูรณ์ อะตอมทุกตัวในโมเลกุลจะมีการสั่นอยู่ตลอดเวลา เมื่อความถี่ของการสั่นมีค่าเท่ากับ

ความถี่ของรังสีอินฟราเรดที่ฉายมายังโมเลกุลก็จะเกิดการดูดกลืนรังสีอินฟราเรดไว้ รังสีอินฟราเรดมีสมบัติเป็นคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า การอ้างอิงถึงความถี่ของคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าจะอาศัยค่าเลขคลื่น (wave number) ซึ่งมีหน่วยเป็น cm^{-1} หมายถึงจำนวนลูกคลื่นในระยะทาง 1 cm ช่วงของรังสีอินฟราเรดที่ใช้ในการวิเคราะห์จะอยู่ในช่วงเลขคลื่น $4000\text{-}400\text{ cm}^{-1}$

เนื่องจากในโมเลกุลหนึ่งๆ อาจประกอบด้วยหลายพันธะ ซึ่งแต่ละพันธะก็มีรูปแบบการสั่นได้หลายแบบ ทำให้โมเลกุลหนึ่งสามารถแสดงการดูดกลืนรังสีอินฟราเรดได้หลายช่วงคลื่น การดูดกลืนรังสีอินฟราเรดจะแสดงในลักษณะของแถบ (band) หรือพีก (peak) ซึ่งแสดงถึงปริมาณรังสีอินฟราเรดที่ถูกดูดกลืน (absorbent) หรือปริมาณของรังสีที่สามารถทะลุผ่านตัวอย่างออกไปได้ (transmittance) เทียบกับเลขคลื่น กราฟที่ได้จะเรียกว่า infrared spectrum ตารางที่ จ.1 ได้รวบรวมเลขคลื่นของการดูดกลืนรังสีอินฟราเรดของหมู่ฟังก์ชันที่สำคัญไว้





รูปที่ จ.2 การสั่นของโมเลกุลในรูปแบบต่างๆ

ตารางที่ จ.1 ช่วงเลขคลื่นของการดูดกลืนรังสีอินฟราเรดของหมู่ฟังก์ชันต่างๆ

Wave number (cm ⁻¹)	bonding	functional group
3640-3610	O-H stretch, free hydroxyl	alcohols, phenols
3500-3200	O-H stretch, H-bonded	alcohols, phenols
3400-3250	N-H stretch	1°, 2° amines
3300-2500	O-H stretch	carboxylic acids
3300-3270	-C≡C-H:C-H stretch	alkynes (terminal)
3100-3000	C-H stretch	aromatics
	=C-H stretch	alkenes
3000-2850	C-H stretch	alkanes
2830-2695	H-C=O:C-H stretch	aldehydes
2260-2210	C≡N stretch	nitriles
2260-2100	-C≡C- stretch	alkynes
1760-1665	C=O stretch	carbonyls (general)
1760-1690	C=O stretch	carboxylic acids
1750-1735	C=O stretch	esters, saturated aliphatic
1740-1720	C=O stretch	aldehydes, saturated aliphatic
1730-1715	C=O stretch	α,β – unsaturated esters
1715	C=O stretch	ketones, saturated aliphatic
1710-1665	C=O stretch	α,β – unsaturated aldehydes, ketones
1690-1650	C=O stretch	amide
1650-1580	N-H bend	1° amines, 1° amides
1600-1585	C-C stretch (in-ring)	aromatics
1550-1475	N-O asymmetric stretch	nitro compounds
1500-1400	C-C stretch (in-ring)	aromatics
1470-1450	C-H bend	alkanes
1370-1350	C-H rock	alkanes

ตาราง จ.1 ช่วงเลขคลื่นของการดูดกลืนรังสีอินฟราเรดของหมู่ฟังก์ชันต่างๆ (ต่อ)

Wave number (cm ⁻¹)	bonding	functional group
1360-1290	N-O symmetric stretch	nitro compounds
1335-1250	C-N stretch	aromatic amines
1320-1000	C-O stretch	alcohol, carboxylic acids, esters, ethers
1300-1150	C-H wag (-CH ₂ X)	alkyl halides
1250-1020	C-N stretch	aliphatic amines
1000-650	=C-H bend	alkenes
950-910	O-H bend	carboxylic acids
910-665	N-H wag	1°, 2° amines
900-675	C-H	aromatics
850-550	C-Cl stretch	alkyl halides
725-720	C-H rock	alkanes
700-610	-C≡C-H:C-H bend	alkynes
690-515	C-Br stretch	alkyl halides

การเตรียมตัวอย่างเซลล์แบคทีเรียสำหรับการทดสอบด้วย FT-IR ทำได้โดยการล้างเซลล์แบคทีเรียในน้ำกลั่นเพื่อกำจัดอิทธิพลของโมเลกุลอื่นๆ ในสารละลายของเหลว จากนั้นแบคทีเรียถูกทำให้มีความเข้มข้นลดลงโดยการเจือจางด้วยน้ำกลั่นเพื่อให้สามารถกระจายบนแผ่นกระจกเฉพาะสำหรับเครื่องทดสอบได้โดยมีความหนาไม่เกิน 10 μm ซึ่งทำได้โดยการหยดเซลล์แบคทีเรียที่ได้เจือจางไว้แล้วลงบนแผ่นกระจกด้วยปริมาตร 5 μL จากนั้นทำให้แห้ง



ภาคผนวก จ

บทความวิชาการที่ได้รับการตีพิมพ์เผยแพร่ในระหว่างศึกษา

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

รายชื่อบทความวิชาการที่ได้รับการตีพิมพ์เผยแพร่ในระหว่างการศึกษา

Apichart Panitchagul, Rujirek Niosangiam, Panlada Tittabutr, Neung Teaumroong, Usanee Kitkamthorn (2012). **Biosorption of zinc and copper ions from aqueous solution by**

***Rhodopseudomonas boonkerdii* sp. strain NS20 and *Bradyrhizobium* sp. strain DOA9.**

2nd Asian Conference on Plant-Microbe Symbiosis and Nitrogen Fixation.

อภิชาติ พานิชกุล, รุจิเรข น้อยเสงี่ยม, พรรณลดา ติตตะบุตร, หนึ่ง เตียอำรุง, อุษณีย์ กิตกำธร (2555). การดูดซับโลหะทองแดงและสังกะสีในสารละลายน้ำด้วย *Rhodopseudomonas boonkerdii* sp. strain NS20 and *Bradyrhizobium* sp. strain DOA. การประชุมวิชาการทางโลหวิทยาแห่งประเทศไทย ครั้งที่ 6.

Apichart Panitchagul, Rujirek Niosangiam, Panlada Tittabutr, Neung Teaumroong, Usanee Kitkamthorn (2013). **Biosorption and bioaccumulation of zinc and copper ions from**

aqueous solution by *Rhodopseudomonas boonkerdii* sp. strain NS20 and *Bradyrhizobium* sp. strain DOA9. 2nd International Conference on Biomaterials Science.

อภิชาติ พานิชกุล, รุจิเรข น้อยเสงี่ยม, พรรณลดา ติตตะบุตร, หนึ่ง เตียอำรุง, อุษณีย์ กิตกำธร (2013). การดูดซับโลหะหนักทางชีวภาพด้วยเซลล์แบคทีเรีย. Metal Magazine., หน้า 24-26.

1. The 2nd asian conference on plant-microbe symbiosis and nitrogen fixation, October 28th -31st, 2012, Phuket, Thailand.

PP14 PP14

**Biosorption of zinc and copper ions from aqueous solution by
Rhodopseudomonas boonkerdii sp. strain NS20 and
Bradyrhizobium sp. strain DOA9**

Apichart Panitchagul¹, Rujirek Niosangiam², Panlada Tittabutr², Neung Teaumroong²,
 Usanee Kitkumthorn¹

¹School of Metallurgical Engineering, Institute of Engineering, Suranaree University of Technology,
 Nakhon Ratchasima 30000, Thailand

²School of Biotechnology, Institute of Agricultural Technology, Suranaree University of Technology,
 Nakhon Ratchasima 30000, Thailand

The search for new technologies toward the removal of heavy metals as biosorption in aqueous solution has been focused. Numerous studies have identified a number of potential biosorbents capable of heavy metal adsorption. This study has been carried out to assess the heavy metal (Zn and Cu) removal efficiency of two species of bacteria, *Rhodopseudomonas boonkerdii* strain NS20 and *Bradyrhizobium* sp. strain DOA9, which are heavy metal tolerant strains. Batch scale sorption experiments were performed. The stock of heavy metal solution containing 250 and 500 mg/l of ZnSO₄·7H₂O and CuSO₄·5H₂O was prepared. The remained heavy metal concentration in the supernatant was determined by atomic adsorption spectrometer. At equilibrium, the removal efficiency of Zn and Cu at the concentration of compound equal to 250 mg/l by *Rhodopseudomonas boonkerdii* sp. strain NS20 was found to be 51.50 and 35.30% and at 500 mg/l was 24.68 and 33.36%, respectively. Likewise, the removal efficiency of Zn and Cu at the concentration of compound equal to 250 mg/l by *Bradyrhizobium* sp. strain DOA9 was found to be 47.72 and 27.13% and at 500 mg/l was 19.58 and 13.42%, respectively. It was clearly demonstrated that the heavy metal removal efficiency in lower concentration is higher. In addition, both of the strain also performed heavy metal reduction when cultivated in the media without C- and N- sources supplementation. This indicates the high potential for using both of bacterial strains to remove both heavy metals in waste water.

69

The 2nd Asian Conference on Plant-Microbe Symbiosis and Nitrogen Fixation*
 Phuket, THAILAND
 October 28-31, 2012

2. The 6th Thailand metallurgy conference, December 5th-7th, 2012, Chiang Mai, Thailand.

Metallurgy towards Sustainable Development
PR31

การดูดซับโลหะทองแดงและสังกะสีที่ปนเปื้อนในสารละลายของเหลวด้วย
Rhodopseudomonas boonkerdii sp. Nov. NS20
และ *Bradyrhizobium* sp. strain DOA9

อภิชาติ พานิชกุล และอุษณีย์ กิตกำธร*
 สาขาวิชาวิศวกรรมโลหการ สำนักวิชาวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี
 * ผู้นิพนธ์ประสานงาน ไปรษณีย์อิเล็กทรอนิกส์: k_usanee@sut.ac.th

รุจิเรข น้อยเสงี่ยม พรรณลดา ติตตะบุตร และหนึ่ง เตียอำรุง
 สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

บทคัดย่อ

กระบวนการดูดซับทางชีวภาพโดยใช้แบคทีเรียเป็นวัสดุดูดซับเป็นหนึ่งในวิธีบำบัดมลพิษทางชีวภาพที่มีการศึกษาอย่างแพร่หลาย เนื่องจากมีประสิทธิภาพสูงและสามารถกำจัดโลหะได้หลากหลายชนิด งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาประสิทธิภาพในการดูดซับไอออนโลหะสังกะสีและทองแดงในสารละลายด้วยแบคทีเรียสองสายพันธุ์ที่ทนต่อความเข้มข้นของโลหะหนักสูงได้ ได้แก่ *Rhodopseudomonas boonkerdii* sp. strain NS20 และ *Bradyrhizobium* sp. strain DOA9 สารละลายโลหะหนักเตรียมจากการละลายสารประกอบ $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ และ $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียแบบเหลว ความเข้มข้นของโลหะหนักในสารละลายภายหลังกระบวนการดูดซับด้วยแบคทีเรียถูกวัดด้วย atomic absorption spectrometer (AAS) ส่วนโครงสร้างของแบคทีเรียทั้งก่อนและหลังการดูดซับโลหะหนักถูกตรวจสอบด้วย กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน (TEM) ผลการทดลองพบว่า ที่ความเข้มข้นของสารประกอบโลหะ 250 mg/l *Rhodopseudomonas boonkerdii* sp. strain NS20 สามารถดูดซับสังกะสีและทองแดงได้ 51.50 และ 35.30% และที่ความเข้มข้น 500 mg/l ดูดซับได้ 24.68 และ 33.36% ตามลำดับ ส่วนกรณีของ *Bradyrhizobium* sp. DOA9 นั้น ที่ความเข้มข้นของสารประกอบโลหะ 250 mg/l สามารถดูดซับสังกะสีและทองแดงได้ 47.72 และ 21.13% และที่ความเข้มข้น 500 mg/l ดูดซับได้ 19.58 และ 13.42% ตามลำดับ นอกจากนี้ยังพบว่าแบคทีเรียทั้งสองสายพันธุ์สามารถโตได้ในอาหารที่ไม่มีคาร์บอนและไนโตรเจน จึงมีความเป็นไปได้สูงในการใช้เป็นวัสดุดูดซับโลหะสังกะสีและทองแดง

คำสำคัญ: กระบวนการดูดซับทางชีวภาพ วัสดุดูดซับ

POSTER PRESENTATION

97

3. 2nd International conference on biomaterials science, March 19th-22nd, 2013, Epochal Tsukuba, Ibaraki, Japan

P034

Biosorption and Bioaccumulation of zinc and copper ions from aqueous solution by *Rhodospseudomonas boonkerdii* sp. strain NS20 and *Bradyrhizobium* sp. strain DOA9

Apichart Panitchagul¹, Rujirek Niosangiam², Panlada Tittabutr², Neung Teaumroong², Usanee Kittumthorn¹

1) School of Metallurgical Engineering, Institute of Engineering, Suranaree University of Technology, Nakhon Ratchasima 30000, Thailand

2) School of Biotechnology, Institute of Agricultural Technology, Suranaree University of Technology, Nakhon Ratchasima 30000, Thailand

Email: k_usanee@sut.ac.th



The search for new technologies toward the removal of heavy metals as biosorption and bioaccumulation in aqueous solution has been focused. Numerous studies have identified a number of potential biosorbents capable of heavy metal adsorption. This study has been carried out to assess the heavy metal (Zn and Cu) removal efficiency of two species of living cell bacteria, *Rhodospseudomonas boonkerdii* sp. strain NS20 and *Bradyrhizobium* sp. strain DOA9, which are heavy metal tolerant strains. Batch scale sorption experiments were performed. The stock of heavy metal solution containing 250 and 500 mg/l of ZnSO₄·7H₂O and CuSO₄·5H₂O was prepared. The heavy metal solution was controlled to pH 7 with NaOH. The remained heavy metal concentration in the supernatant was determined by atomic adsorption spectrometer. At equilibrium, the removal efficiency of Zn and Cu at the concentration of compound equal to 250 mg/l by *Rhodospseudomonas boonkerdii* sp. strain NS20 was found to be 51.50 and 35.30% and at 500 mg/l was 24.68 and 33.36%, respectively. Likewise, the removal efficiency of Zn and Cu at the concentration of compound equal to 250 mg/l by *Bradyrhizobium* sp. strain DOA9 was found to be 47.72 and 27.13% and at 500 mg/l was 19.58 and 13.42%, respectively. It was clearly demonstrated that the heavy metal removal efficiency in lower concentration is higher. In addition, both of the strain also performed heavy metal reduction when cultivated in the media without C- and N- sources supplementation. This indicates the high potential for using both of bacterial strains to remove both heavy metals in waste water.

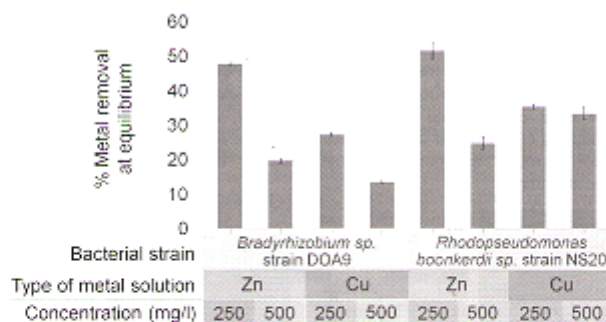


Fig 1. The heavy metal removal efficiencies at equilibrium of the sorption process.

4. Metal Magazine ฉบับเดือน มีนาคม – เมษายน ค.ศ. 2013 หน้า 24 – 26

Technical Knowledge Plus

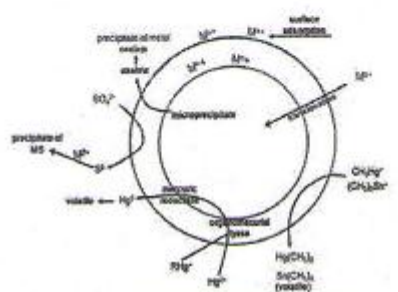
เรื่อง อภิชาติ พานิชกุล รุจิเรช น้อยเสงี่ยม พรรณลดา ติตตะบุตร
หนึ่ง เตียจ่าจุง และชุษะเนียร์ กิตก่าอร

การดูดซับโลหะหนักทางชีวภาพ
ด้วยเซลล์แบคทีเรีย

สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ สำนักวิชาเทคโนโลยีและ
สาขาวิชาวิศวกรรมโลหการ สำนักวิชาวิศวกรรมศาสตร์
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี
E-mail: k.usanee@su.ac.th

การปนเปื้อนของโลหะหนักในแหล่งน้ำถือเป็นปัญหาทางสิ่งแวดล้อมที่ก่อให้เกิดความสำคัญเป็นที่สุด เนื่องจากเป็นอันตรายต่อมนุษย์และสิ่งมีชีวิตอื่นๆ กระทั่งห่วงโซ่อาหารจึงออกมาตราสารทางกฎหมายในการควบคุมความเข้มข้นของโลหะหนักในน้ำที่อุตสาหกรรมก่อนที่จะปล่อยออกสู่แหล่งน้ำธรรมชาติ เทคโนโลยีการกำจัดโลหะหนักออกจากน้ำที่นิยมใช้ ณ ปัจจุบัน อาศัยหลักการทางเคมีกายภาพ เช่น การตกตะกอน การแลกเปลี่ยนประจุ และการใช้ไฟฟ้าเคมี เป็นต้น อย่างไรก็ตาม กระบวนการเหล่านี้ยังมีข้อจำกัดอยู่ เช่น ไม่สามารถกำจัดโลหะหนักได้อย่างสมบูรณ์ โดยเฉพาะอย่างยิ่งเมื่อสารละลายมีความเข้มข้นของโลหะหนักต่ำกว่า 100 มิลลิกรัมต่อลิตร นอกจากนี้ผลพลอยได้จากเทคโนโลยีการกำจัดโลหะหนักดังกล่าว อาจออกมาในรูปแบบของตะกอนที่มีพิษ ซึ่งก็ต้องหาวิธีในการกำจัดต่อไปอีก

เทคโนโลยีการกำจัดโลหะหนักในน้ำโดยใช้ประโยชน์จากวัสดุทางธรรมชาติ เช่น พีท สาหร่าย และ จุลินทรีย์ เป็นต้น มาใช้เป็นตัวดูดซับเพื่อกำจัดโลหะหนัก หรือเรียกว่า กระบวนการดูดซับทางชีวภาพ (Biosorption) สามารถลดข้อจำกัดที่มีในเทคโนโลยีดั้งเดิมได้ นั่นคือสามารถกำจัดโลหะหนักได้ในช่วงช่วงความเข้มข้น เป็นกระบวนการที่ประหยัดและเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม ในช่วงเริ่มต้นของการศึกษา ราวปี ค.ศ. 1978 นักวิจัยพบว่าไอออนโลหะหนักสามารถถูกสะสมให้อยู่ในเซลล์ชีวมวลที่มีชีวิตได้ ซึ่งเป็นกลไกที่ขึ้นกับกระบวนการเมตาบอลิซึมของเซลล์ หรือเรียกว่า Bioaccumulation [1-4] จนกระทั่งปี ค.ศ. 1981 Volesky ได้เสนอกลไกการดูดซับทางชีวภาพ [5] หรือ Biosorption โดยพบว่าไอออนโลหะหนักสามารถยึดติดกับผิวของวัสดุชีวมวลทั้งที่มีชีวิตและที่ไม่มีชีวิตได้ (เซลล์ตาย) กล่าวคือเป็นกลไกที่ไม่ขึ้นกับกระบวนการเมตาบอลิซึมของเซลล์ ซึ่งเป็นกลไกที่รวดเร็วและมีประสิทธิภาพ กล่าวเพราะเกิดจากการแลกเปลี่ยนไอออนระหว่างโลหะหนักกับหมู่เคมีต่างๆบนผิวของเซลล์ชีวมวล เช่น คาร์บอกซิล เอมีน ไฮดรอกซิล และ ฟอสโฟเนต เป็นต้น [6] หากแบ่งประเภทของอันตรกิริยาระหว่างเซลล์ชีวมวลกับโลหะหนักตามตำแหน่งของโลหะหนักที่ถูกกำจัด อาจสามารถจำแนกได้เป็น 3 ตำแหน่งดังแสดงในรูป คือ การตกตะกอนนอกเซลล์ การดูดซับที่ผิวเซลล์ และการสะสมภายในเซลล์ [7-8]



ภาพที่ 1 อันตรกิริยาระหว่างมวลชีวมวลกับไอออนของโลหะ [17]
Fig. 1. Interaction between biomass cell and metal ions [7]

สิ่งสำคัญอย่างหนึ่งในกระบวนการดูดซับทางชีวภาพคือการเลือกวัสดุดูดซับที่เหมาะสม ปัจจุบันมีงานวิจัยมากมายที่ศึกษาเกี่ยวกับประสิทธิภาพของวัสดุดูดซับชนิดต่างๆ ในการบำบัดโลหะหนัก วัสดุดูดซับหลายชนิดที่มีประสิทธิภาพได้ถูกนำไปผลิตและซื้อขายในทางการค้า ตัวอย่างเช่น AlgaSORB เป็นชื่อผลิตภัณฑ์ที่ผลิตโดยบริษัท Biorecovery System จำกัด โดยเป็นวัสดุดูดซับชนิดสาหร่ายอบแห้งขนาด 1-3 มิลลิเมตร เป็นต้น [9] นอกจากนี้ยังวิจัยทางด้านกายภาพ โดยเฉพาะคุณสมบัติของการดูดซับและ ค่า pH ของสารละลายโลหะหนัก ยังมีผลต่อประสิทธิภาพของกระบวนการดูดซับด้วยเช่นกัน แต่โดยส่วนใหญ่วัสดุดูดซับที่เป็นเซลล์ตายจะสามารถใช้งานได้ดีในช่วงของอุณหภูมิและค่า pH ที่กว้าง

ในปี พ.ศ. 2553 รุจิเรช น้อยเสงี่ยม และ คณะนักวิจัยทางเทคโนโลยีชีวภาพ [10] พบว่าแบคทีเรียบางชนิดที่เพาะเลี้ยงมาจากดินในประเทศไทยมีความทนทานและสามารถเจริญเติบโตในสภาวะที่มีโลหะหนักได้ ดังนั้นในปีที่ผ่านมาจึงได้ร่วมมือกันกับนักวิจัยทางโลหวิทยาเพื่อศึกษาประสิทธิภาพการดูดซับโลหะหนักด้วยเซลล์แบคทีเรีย 2 ชนิด คือ Rhodospirillum rubrum strain NS20 และ Bradyrhizobium sp. strain DOA9 โดยในเบื้องต้นนี้ได้ศึกษาการดูดซับ

โลหะทองแดงและสังกะสีจากสารละลายน้ำที่มีความเข้มข้นประมาณ 60 และ 120 มิลลิกรัมต่อลิตร ภายใต้สภาวะ pH = 7 ด้วยวิธีการศึกษาประสิทธิภาพการลดปริมาณโลหะทองแดงในสารละลายน้ำโดยใช้เซลล์ที่มีชีวิตขณะที่มีการเติบโตไปด้วย และกรณีการใช้เซลล์ตายแบบแห้งในอัตราส่วน 2 กรัมต่อลิตร แสดงในตารางที่ 1 ซึ่งเห็นได้ว่าประสิทธิภาพในการลดปริมาณโลหะหนักโดยการใช้เซลล์ตายนั้นสูงกว่ามาก

ตารางที่ 1 ประสิทธิภาพในการลดปริมาณโลหะทองแดงจากสารละลายน้ำ

Table 1 Copper removal efficiency from aqueous solution

ความเข้มข้นเริ่มต้น ของ Cu Concentration of Cu (mg/L)	ประสิทธิภาพการกำจัดโลหะทองแดง (%) removal efficiency (%)			
	Geophilum sp. strain D98		Rhodospirillum rubrum sp. strain N920	
	เซลล์มีชีวิต (living cells)	เซลล์ตาย (dead cells)	เซลล์มีชีวิต (living cells)	เซลล์ตาย (dead cells)
60.36	27.32	39.62	51.31	79.63
112.90	13.41	29.85	32.91	69.58

ใช้เซลล์แบคทีเรียเริ่มต้น 10% ของสารละลายโลหะทองแดงเวลาการดูดซับ 144 ชั่วโมง

ใช้เซลล์แบคทีเรียแห้งในสารละลายโลหะทองแดง สัดส่วน 2 g/L เวลาการดูดซับ 12 ชั่วโมง

สำหรับการนำเอากระบวนการดูดซับโลหะหนักด้วยเซลล์แบคทีเรีย 2 ชนิดดังกล่าว มาประยุกต์ใช้กับน้ำเสียจากอุตสาหกรรม ยังคงต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมต่อไป เนื่องจากน้ำเสียจากอุตสาหกรรมนั้น ส่วนใหญ่จะมีการปนเปื้อนโลหะหลายชนิดและยังมีสารเคมีอื่นๆ เจือปนอยู่ด้วย ซึ่งอาจจะมีผลต่อประสิทธิภาพการดูดซับโลหะหนักด้วยเซลล์แบคทีเรีย ขณะนี้ทางคณะผู้วิจัยกำลังดำเนินการศึกษางานวิจัยของโครงการดูดซับและทดลองการดูดซับโลหะหนักออกจากน้ำเสียในอุตสาหกรรมรูปโลหะสังกะสีและโครเมียม หากผลงานวิจัยออกมาแล้วจะนำมาเผยแพร่ต่อไปในอนาคต

(Biosorption of Heavy Metals by Bacteria Cells)

Currently, heavy metal removal techniques, such as chemical precipitation, ion exchange, and electrochemical treatment, etc. are used commercially to treat industrial waste water. However, those techniques have some limitations. Only a single technique alone cannot effectively remove heavy metals from waste water to the concentration level required by laws. Some techniques can be applied to treat only the waste water with high concentrations of heavy metals. Such techniques also lead to the formation of by-products which need to be removed or treated further.

Heavy metal removal technology using microorganisms is referred to as "bioremediation". Various natural materials, such as plants, seaweeds, and microorganisms, can be used as heavy metal biosorbents. The advantages of bioremediation include its lower costs, its effective removal at a wide range of heavy metal concentrations, and its environmentally friendly quality. Bioremediation of heavy metals was first studied in 1978 when the heavy metal ions were found to be accumulated in living biomass. The mechanism of heavy metal uptake depends on metabolism of cells and is called "bioaccumulation" [1-4]. Later in 1981, Volesky [5] proposed the biosorption mechanism in which metal ions are absorbed onto the surface of non-living cell. Therefore, the mechanism is metabolism-independent. The absorption rate and the removal efficiency by biosorption are higher than bioaccumulation. Biosorption can take place both on the surface of living and non-living cells by the interaction between metal ions and chemical species on the cell surface such as carboxyl, amine, hydroxyl, and phosphonate, which are main components of cell wall [6]. Depending on the location of metal ions, the interaction between metal ions and biosorbent can be classified into three mechanisms which are 1) precipitation outside cell wall, 2) absorption onto cell wall, and 3) translocation [7-8].

One of the most important issues in biosorption technology is the biosorbent selection. Some of the effective biosorbents have been commercialized such as ground seaweed AlgaSORB® from Biorecovery System Co., Ltd.[9]. Physical parameters such as

Technical Knowledge Plus

temperature and pH of waste water can also affect the absorption efficiency. In general, the non-living biosorbents can be used at various conditions compared to living biosorbents.

In 2010, Noisangiam et al. [10] found that some bacteria cultivated from Thailand's soil are heavy metal tolerant. Since 2011, the efficiencies of bioaccumulation and biosorption of heavy metals by *Rhodospirillum rubrum* sp. strain NS20 and *Bradyrhizobium* sp. strain DOA9 have been investigated by our research group. Both of biosorption and bioaccumulation experiments were carried out in order to assess the heavy metal removal efficiencies at various conditions. Some experimental results are shown in Table 1. Further studies on the application of bioaccumulation and biosorption of heavy metals by both microorganisms for industrial effluent (zinc plating waste water) are being rigorously carried out.

เอกสารอ้างอิง (References)

- [1] Break, G. S., Malnes, D., Jensen, A. (1980). Heavy-metal tolerance of marine phytoplankton: Combined effect of zinc and cadmium on growth and uptake in some marine diatoms. *J Exp Mar Biol Ecol*, 42, 39-54.
- [2] Duddridge, J. E., Wainwright, M. (1980). Heavy-metal accumulation by aquatic fungi and reduction in viability of gammarus-pulex fed Cd^{2+} contaminated mycelia. *Water Res*, 14, 1605-1611.
- [3] Macka, W., Wihlidal, H., Stehlik, G., Washuttl, J., Bancher, E. (1979). Uptake of Hg^{++} and Cd^{++} by *Chamydomonas reinhardtii* under various conditions. *Chemosphere*, 8, 787-796.
- [4] Wong, P. T. S., Chau, Y.K., Luxon, P. L. (1978). Toxicity of a mixture of metals on freshwater algae. *J Fish Res Board Can*, 35, 479-481.
- [5] Tsezos, M., Volesky, B. (1981). Biosorption of uranium and thorium. *Biotechnol Bioeng*, 23, 583-604.
- [6] Volesky, B. (2007). Biosorption and me. *Water Res*, 41, 4017-4029.
- [7] Ahalya, N., Ramachandra T. V., Kanamadi, R. D. (2003). Biosorption of heavy metals. *Res J Chem Environ*, 7(4), 71-79.
- [8] Choi, A., Wang, S., Lee, M. (2009). Biosorption of cadmium, copper and lead ions from aqueous solutions by *Ralstonia* sp. and *Bacillus* sp. isolated from diesel and heavy metal contaminated soil. *Geosci J*, 13(4), 331-341.
- [9] Chojnacka, K. (2010). Biosorption and bioaccumulation – the prospects for practical applications. *Environ Inter*, 36, 299-307.
- [10] Noisangiam, R., Nuntaj, A., Pongsilp, N., Boonkerd, N., Denduangboripant, J., Ronson, C., Teaumroong, N. (2010). Heavy metal tolerant *Metalloresistans boonkerdii* gen. nov., sp. Nov., a new genus in the family *Bradyrhizobiaceae* isolated from soil in Thailand. *Syst Appl Microbiol*, 33, 374-382.



ประวัติผู้เขียน

นายอภิชาติ พานิชกุล เกิดเมื่อวันที่ 17 มกราคม พ.ศ. 2531 ภูมิลำเนาเดิมอยู่ที่อำเภอละแม จังหวัดชุมพร สำเร็จการศึกษาระดับมัธยมศึกษาในปี พ.ศ. 2550 จากโรงเรียนกาญจนาภิเษกวิทยาลัย สุราษฎร์ธานี อำเภอไชยา จังหวัดสุราษฎร์ธานี ด้วยผลการเรียนเฉลี่ยสะสม 3.56 (ในหน่วยเต็ม 4.00) จากนั้นได้รับโควตา ประเภทโควตาจังหวัดจากสำนักวิชาวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี โดยได้เข้าศึกษาในสาขาวิชาวิศวกรรมโลหการ ได้รับรางวัลทุนการศึกษาจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ในฐานะที่มีผลการเรียนเป็นอันดับหนึ่งของหลักสูตรตลอดระยะเวลา 3 ปีของการเป็นนักศึกษาระดับบัณฑิตศึกษาในสาขาวิชาวิศวกรรมโลหการ ในปี พ.ศ. 2552 ได้รับทุนผู้มีผลการเรียนดีเด่นจากสมาคมศิษย์เก่าวิศวกรรมคอมพิวเตอร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี และได้รับทุนเรียนดี (ยกเว้นค่าหน่วยกิต) จากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารีตั้งแต่ปี พ.ศ. 2551 จนกระทั่งสำเร็จการศึกษาระดับปริญญาตรีในปี พ.ศ. 2553 ด้วยเกียรตินิยมอันดับหนึ่งและรับพระราชทานเข็มทองคำจากสมเด็จพระเทพรัตนราชกุมารี จากนั้นในปี พ.ศ. 2554 ได้รับทุนเรียนดีจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารีเข้าศึกษาต่อระดับปริญญาโทในสาขาวิชาวิศวกรรมโลหการกระทั่งปัจจุบัน นอกจากนี้ ในทางธรรมนั้นได้สอบผ่านนักธรรมชั้นเอกในปี พ.ศ. 2549

ในระหว่างการศึกษาระดับปริญญาโทบัณฑิตยังได้ทำหน้าที่เป็นนักวิจัยในหน่วยวิจัยการประยุกต์ใช้โลหะวิทยาเพื่อการขึ้นรูปโลหะ ทำหน้าที่ในการติดต่อประสานงานระหว่างหน่วยวิจัยฯ มหาวิทยาลัย และภาคอุตสาหกรรม รวมทั้งร่วมแก้ปัญหาและการทดสอบต่างๆ ให้แก่ภาคอุตสาหกรรมหลายงานด้วยกัน นอกจากนี้ยังได้ทำหน้าที่ผู้ช่วยสอนในรายวิชาปฏิบัติการโลหการกายภาพ 1 ปฏิบัติการโลหการกายภาพ 3 และปฏิบัติการโลหการเครื่องกล