

# การกำจัดตะกั่วและสารหนูที่ปนเปื้อนในสาหร่ายผมนาง (*Gracilaria fisheri*) โดยวิธีการชะแบบแบทช์

## Removal of Lead and Arsenic Contaminated in Pom Nang Seaweed (*Gracilaria fisheri*) by Batch Desorption Method

จารุวรรณ คำแก้ว<sup>1\*</sup> และ สันทยา มานะบุตร<sup>2</sup>

Charuwan Khamkaew<sup>1\*</sup> and Sontaya Manaboot<sup>2</sup>

<sup>1</sup> โปรแกรมวิชาเคมีและเคมีประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา

<sup>2</sup> ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

<sup>1</sup> Program of Chemistry and Applied chemistry, Faculty of Science and Technology, Songkhla Rajabhat University

<sup>2</sup> Department of Chemistry, Faculty of Science, Prince of Songkla University

Received : 12 January 2018

Accepted : 2 July 2018

Published online : 16 July 2018

### บทคัดย่อ

ในการวิจัยนี้ศึกษาการกำจัดตะกั่วและสารหนูที่ปนเปื้อนในสาหร่ายผมนาง (*Gracilaria fisheri*) โดยวิธีการชะแบบแบทช์ เพื่อลดปริมาณของไอออนโลหะทั้งสองให้ต่ำกว่าค่ามาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนประเภทสาหร่ายทะเล ในการศึกษาได้นำสารเติมแต่งอาหารหลายชนิดมาใช้เป็นตัวชะตะกั่วและสารหนู ได้แก่ กรดอะซิติก กรดซิตริก โซเดียมคลอไรด์ โซเดียมไบคาร์บอเนต อีดีทีเอ และโคโตซาน โดยศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการชะ ได้แก่ ชนิดของตัวชะ ความเข้มข้นของตัวชะ ปริมาตรของตัวชะ และระยะเวลาในการชะ โดยควบคุมความเร็วของการเขย่าแบบหมุนวนและอุณหภูมิให้คงที่ จากการศึกษพบว่าสารละลายอีดีทีเอ เข้มข้น เข้มข้น  $1.0 \times 10^{-1}$  โมลาร์ เป็นตัวชะตะกั่วและสารหนู ออกจากสาหร่ายผมนางที่มีประสิทธิภาพมากที่สุดถึงร้อยละ 79.94 และ 98.04 ตามลำดับ เมื่อใช้ตัวชะปริมาตร 75 มิลลิลิตร และระยะเวลาของการชะ 120 นาที ภายใต้สภาวะดังกล่าว ปริมาณของตะกั่วและสารหนูในสาหร่ายผมนางลดลงจาก  $3.19 \pm 0.10$  เป็น  $0.64 \pm 0.08$  มิลลิกรัม/กิโลกรัม-น้ำหนักแห้ง และจาก  $4.60 \pm 0.15$  เป็น  $0.09 \pm 0.01$  มิลลิกรัม/กิโลกรัม-น้ำหนักแห้ง ตามลำดับ

**คำสำคัญ:** ตะกั่ว, สารหนู, สาหร่ายผมนาง, *Gracilaria fisheri*, การชะแบบแบทช์

\*Corresponding author. E-mail : csuitcharit@gmail.com

## Abstract

In this work, the removal of contaminated lead and arsenic in Pom Nang seaweed (*Gracilaria fisheri*) by batch desorption was studied in order that the amounts of both metal ions could be reduced to the standard levels of the community seaweed products. In the study, a variety of food additives, i.e. acetic acid, citric acid, sodium chloride, sodium bicarbonate, EDTA, and chitosan were used as desorbing agents. To find the optimal conditions for the removal of lead and arsenic, a number of experimental parameters such as the type of desorbing agent, concentration, elution volume and elution time were varied while the speed of orbital shaking and temperature were held constant. The results showed that EDTA at the concentration of  $1.0 \times 10^{-1}$  M was the most effective desorbing agent, giving the highest desorption efficiency in removing lead and arsenic in Pom Nang seaweed up to 79.94 and 98.04%, respectively, when using the elution volume of 75 mL and the elution time of 120 min. Under such conditions, the amounts of lead and arsenic in Pom Nang seaweed were reduced from  $3.19 \pm 0.10$  to  $0.64 \pm 0.08$  mg/kg-dried weight and from  $4.60 \pm 0.15$  to  $0.09 \pm 0.01$  mg/kg-dried-weight, respectively.

**Keywords :** lead, arsenic, Pom Nang seaweed, *Gracilaria fisheri*, batch desorption

## บทนำ

สาหร่ายผมนาง (*Gracilaria fisheri*) เป็นพืชทะเลที่พบได้แพร่หลายตามชายฝั่งของอ่าวไทย ชาวบ้านที่อาศัยอยู่บริเวณชายฝั่ง ๆ ได้นำสาหร่ายผมนางมาใช้บริโภคเป็นอาหาร และจำหน่ายเพื่อสกัดเป็นวุ้นในอุตสาหกรรมอาหาร และทำเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อในห้องปฏิบัติการ นอกจากนี้สาหร่ายผมนางยังนำไปใช้ประโยชน์ในด้านต่าง ๆ เช่น ผลิตภัณฑ์ยา เครื่องสำอาง และสิ่งทอ เป็นต้น (Noriziah & Ching, 2000; Romero *et al.*, 2008) สำหรับในจังหวัดสงขลา ชาวเกาะยอได้นำสาหร่ายผมนางมาทำเป็นอาหารประเภทยาที่เรียกว่า “ย่ำสาหร่าย” หรือ “ย่ำสาหร่าย” ซึ่งเป็นอาหารพื้นบ้านเก่าแก่ที่มีชื่อเสียงและพบได้ที่เกาะยอเท่านั้น จึงทำให้ย่ำสาหร่ายเป็นอาหารพื้นบ้านของจังหวัดสงขลาที่นักท่องเที่ยวทั้งชาวไทยและชาวต่างชาติต่างชื่นชอบในรสชาติเป็นอย่างมาก ปัจจุบันการทำย่ำสาหร่ายของชาวเกาะยอจำเป็นต้องซื้อสาหร่ายผมนางมาจากจังหวัดปัตตานี เนื่องจากปริมาณวัตถุดิบสาหร่ายผมนางที่เก็บจากทะเลสาบสงขลา มีไม่เพียงพอต่อการนำมาทำย่ำสาหร่ายเพื่อจำหน่ายแก่นักท่องเที่ยวในแต่ละวัน

เนื่องจากสาหร่ายผมนางเป็นพืชน้ำที่สามารถดูดซับโลหะหนัก (Netten *et al.*, 2000; Yuppadee, 2003) เช่น ตะกั่ว (Pb) แคดเมียม (Cd) ทองแดง (Cu) สังกะสี (Zn) ปรอท (Hg) และสารหนู (As) เป็นต้น จึงมีนักวิจัย (Yuppadee, 2003) ได้นำสาหร่ายผมนางจากอ่าวปัตตานีมาใช้กำจัดโลหะหนักในน้ำเสียโดยการดูดซับทางชีวภาพ โดยใช้ระบบแบทช์ (Batch process) เนื่องจากเป็นวิธีการกำจัดโลหะหนักที่มีประสิทธิภาพและราคาถูก Yuppadee (2003) ได้รายงานไว้ที่ pH 4 สาหร่ายผมนางสามารถดูดซับแคดเมียมและทองแดงได้เท่ากับ 0.63 และ 0.72 มิลลิโมล/กรัม ตามลำดับ โดยที่สาหร่ายผมนางจะดูดซับทั้งแคดเมียมและทองแดงได้รวดเร็ว ภายใน 30 นาที และดูดซับได้ร้อยละ 90 และต่อมาในปี 2004 Yuppadee ได้รายงานเพิ่มเติมว่า สาหร่ายผมนางจากอ่าวปัตตานีที่นำมาใช้ดูดซับโลหะหนักในน้ำโดยใช้ทั้งระบบแบทช์ และ

ระบบต่อเนื่อง ที่ pH ต่าง ๆ พบว่า ที่ pH 7 สาหร่ายผสมนางสามารถดูดซับตะกั่วและทองแดงในระบบแบบพีได้อสูงสุดเท่ากับ 1.18 และ 15.87 มิลลิกรัม/กรัม ตามลำดับ และดูดซับตะกั่วและทองแดงในระบบต่อเนื่องได้อสูงสุดเท่ากับ 1.04 และ 9.60 มิลลิกรัม/กรัม ตามลำดับ

จากตัวอย่างผลการวิจัยข้างต้น จะเห็นได้ว่าสาหร่ายผสมนาง สามารถดูดซับโลหะหนักได้ดี จึงทำให้สาหร่ายผสมนางมีโลหะหนักปนเปื้อน ซึ่งระดับความเข้มข้นที่ตรวจพบมีค่ามากหรือน้อยอาจขึ้นกับช่วงเวลา เช่น สาหร่ายผสมนางจากอ่าวปัตตานีมีตะกั่วและทองแดงปนเปื้อนอยู่ในช่วง 0.25 – 0.55 และ 2.00 – 7.62 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ตามลำดับ (Yuppadee, 2004) ในปี 2016 Charuwan & Sontaya ได้ตรวจวัดปริมาณตะกั่วและสารหนูในสาหร่ายผสมนางจากอ่าวปัตตานีที่นำมาใช้ทำยาสาหร่ายเกาะยอ โดยเทคนิค Anodic Stripping Voltammetry พบว่า มีตะกั่วและสารหนูปนเปื้อน 4.9 และ 5.6 มิลลิกรัม/กิโลกรัม-น้ำหนักแห้ง ตามลำดับ ซึ่งปริมาณที่ตรวจวัดมีค่าสูงกว่าเกณฑ์มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน (มผช.) กำหนด (ตะกั่ว ไม่เกิน 1 มิลลิกรัม/กิโลกรัม-น้ำหนักแห้ง และสารหนู ไม่เกิน 2 มิลลิกรัม/กิโลกรัม-น้ำหนักแห้ง; มผช.515/2547) ดังนั้นการบริโภคสาหร่ายผสมนางจากอ่าวปัตตานีจึงเสี่ยงต่อการได้รับพิษจากโลหะหนักเหล่านี้ จากการลงพื้นที่ ณ ที่ทำการสำนักงานกลุ่มแม่บ้านเกาะยอ พบว่าในการทำยาสาหร่ายของกลุ่มแม่บ้าน ๆ ไม่มีขั้นตอนใดที่สามารถกำจัดโลหะหนักออกไปก่อนที่จะนำสาหร่ายมาทำเป็นอาหาร เนื่องจากในการนำสาหร่ายมาใช้ ได้ล้างสาหร่ายผสมนางด้วยน้ำสะอาด 3 ครั้ง เพื่อทำความสะอาดและกำจัดเปลือกหอยและเศษไม้ที่ติดมากับสาหร่ายออกไป แล้วจึงนำไปตากแห้งทุกครั้งที่ได้ล้างน้ำเสร็จ จากนั้นจึงนำสาหร่ายผสมนางไปคลุกเคล้ากับน้ำยำเท่านั้น

ในการลดปริมาณโลหะหนักที่ปนเปื้อนในสาหร่ายผสมนางซึ่งเป็นวัสดุชีวมวลโดยใช้ตัวชะชนิดต่าง ๆ ที่มีความสามารถหรือมีความแรงมากพอที่จะชะโลหะหนักที่เกาะอยู่ที่ผนังเซลล์ของสาหร่ายให้หลุดออกด้วยกลไกต่าง ๆ ได้ เช่น กลไกการแลกเปลี่ยนไอออน กลไกการคีเลต หรือกลไกการดูดซับโดยแรงทางกายภาพ เป็นต้น (Stirk & Staden, 2002) ในช่วง 20 ปีที่ผ่านมาได้มีนักวิจัยหลายกลุ่มที่สนใจศึกษาการชะโลหะหนักออกจากวัสดุชีวมวลที่ใช้เป็นตัวดูดซับ (Zhou et al., 1998; Stirk & Staden, 2002; Mustafa et al., 2004; Hammami et al., 2007; Cavelo et al., 2008) ตัวอย่างเช่น Zhou et al. (1998) ได้ศึกษาการดูดซับและการชะทองแดงและแคดเมียมโดยใช้สาหร่ายขนาดใหญ่ (macro algae) สีน้าตาล *Laminaria japonica* และ *Sargassum kjellmanianum* ในการดูดซับโลหะทั้งสองชนิด และใช้ตัวชะที่เป็นสารละลาย HCl และสารละลาย EDTA ที่เข้มข้นอย่างละ  $1.0 \times 10^{-1}$  โมลาร์ ในระบบต่อเนื่อง จากการศึกษพบว่าทั้งสารละลาย HCl และสารละลาย EDTA สามารถชะโลหะทองแดงและแคดเมียมออกจากสาหร่ายสีน้ำตาล *Laminaria japonica* และ *Sargassum kjellmanianum* ได้ดี โดยได้ร้อยละของการได้กลับคืน (Recovery, %) เท่ากับ 99.5 ต่อมาในปี 2002 Stirk & Staden ได้ศึกษาการชะโลหะแคดเมียมในสาหร่ายทะเลสีน้ำตาล (brown seaweed) เพื่อนำกลับมาใช้ใหม่ โดยศึกษาทั้งการดูดซับและการชะในระบบแบบพี เมื่อใช้ตัวชะหลายชนิดได้แก่ สารละลายกรด (ได้แก่ HCl, HNO<sub>3</sub>, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> และ CH<sub>3</sub>COOH) สารละลายเกลือ (ได้แก่ NaCl, CaCl<sub>2</sub>, NaHCO<sub>3</sub> และ K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) และสารละลายคีเลตเชิงเอเจนต์ (ได้แก่ EDTA) จากการศึกษพบว่า ตัวชะที่เป็นสารละลายกรดอนินทรีย์ (HCl, HNO<sub>3</sub> และ H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) สามารถชะแคดเมียมได้ดีเมื่อใช้ความเข้มข้น  $1.0 \times 10^{-1}$  และ 1.0 โมลาร์ เช่นเดียวกับตัวชะที่เป็นสารละลายเกลือคลอไรด์ (NaCl และ CaCl<sub>2</sub>) เมื่อใช้ความเข้มข้น 1.0 โมลาร์เท่านั้น ในขณะที่ตัวชะของสารละลายกรดอินทรีย์ (CH<sub>3</sub>COOH) สารละลายของเกลือคาร์บอเนต (NaHCO<sub>3</sub> และ K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) และสารละลาย EDTA จะชะแคดเมียมได้น้อยกว่าตัวชะที่เป็นสารละลายกรดอนินทรีย์และสารละลายเกลือคลอไรด์ ตามลำดับ

ในโครงการวิจัยนี้จึงมีแนวคิดที่จะกำจัดตะกั่วและสารหนูที่ปนเปื้อนในสาหร่ายผสมนางที่ใช้เป็นวัตถุดิบเพื่อทำยาสาหร่ายเกาะยอให้มีปริมาณของตะกั่วและสารหนูไม่เกินเกณฑ์ที่ มผช.กำหนด โดยการชะในระบบแบบเบทช์ (batch desorption) เนื่องจากเป็นระบบที่กลุ่มแม่บ้านและผู้ประกอบการอื่นที่สนใจ สามารถนำมาประยุกต์ใช้ในการชะโลหะหนักที่ปนเปื้อนในสาหร่ายได้ โดยเลือกใช้ตัวชะที่เป็นสารปรุงแต่งในอาหาร เช่น สารละลายกรดอินทรีย์ เนื่องจากสามารถชะโลหะหนักที่เกาะที่ผนังเซลล์ของสาหร่ายผสมนางออกได้โดยการแลกเปลี่ยนไอออน (Stirk & Staden, 2002) และสารละลาย EDTA ที่สามารถจับกับโลหะหนักได้ดี โดยศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการชะตะกั่วและสารหนูออกจากสาหร่ายผสมนาง

## วิธีการดำเนินการวิจัย

### 1. เครื่องมือ อุปกรณ์และสารเคมี

เครื่องมือและอุปกรณ์ที่สำคัญ ได้แก่ เครื่อง Inductively Couple Plasma-Optical Emission Spectrometer (ICP-OES; Perkin-Elmer Optimal 4300 DV) เครื่องเขย่า (Memmert) เตาไมโครเวฟที่ใช้ในครัวเรือน (GE107YD; Samsung) เครื่องชั่งไฟฟ้าแบบละเอียด 5 ตำแหน่ง (AG245 NewClassic MS; Mettler Toledo) หม้ออบแบบลดความดันสำหรับไมโครเวฟ (Microwave pressure cooker; NORDIC WARE) และชุดย่อยตัวอย่าง (PTFE digestion vessel; GOWE)

สารเคมีชนิด AR เกรด ได้แก่ กรดอะซิติก ( $\text{CH}_3\text{COOH}$  หรือ HOAc; Lab-Scan) กรดซिटริก ( $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7$  หรือ CTA; Univer) โซเดียมคลอไรด์ (NaCl; Lab-Scan) โซเดียมไบคาร์บอเนต ( $\text{NaHCO}_3$ ; Unilab) กรดไนตริก ( $\text{HNO}_3$ ; Lab-Scan) เอธิลีนไดเอมีนเททราอะซิติกไดโซเดียม ( $\text{Na}_2\text{EDTA}$ ; Rankem) โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH; Lab-Scan) แอมโมเนียมอะซิเตด ( $\text{CH}_3\text{COONH}_4$ ; Univer) สารละลายแอมโมเนีย ( $\text{NH}_4\text{OH}$ ; R&M) แอลฟา-ไคโตซาน เกรดการค้า (CTS; Ebase Co., LTD) น้ำปราศจากไอออน (Deionized water; 18 M $\Omega$ ) และสาหร่ายผสมนางแห้งจาก อำเภอยะหริ่ง จังหวัดปัตตานี

### 2. การเตรียมตัวอย่าง

#### 2.1 การล้างตัวอย่างและทำให้แห้ง

นำตัวอย่างสาหร่ายผสมนางแบบแห้ง ไปล้างด้วยน้ำปราศจากไอออน อย่างน้อย 3 ครั้ง ทำให้แห้งโดยการอบด้วยตู้อบความร้อนที่อุณหภูมิ 60°C เป็นเวลา 3 ชั่วโมง ทำให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นเก็บในถุงเก็บตัวอย่าง แล้วมัดปากถุง ฯ ให้สนิท

#### 2.2 การย่อยตัวอย่าง

นำสาหร่ายผสมนางที่กรองได้หลังจากการชะแบบเบทช์ (ข้อ 3 และ 4) หนัก 1 กรัม (ทราบน้ำหนักที่แน่นอน) ไปย่อยด้วยกรด  $\text{HNO}_3$  เข้มข้น 65% ปริมาตร 5.0 มิลลิลิตร (APHA, AWWA & WPCF, 1989) ด้วยเตาไมโครเวฟเมื่อกำหนดกำลังไฟฟ้าและระยะเวลาในการย่อยดังนี้ เริ่มต้นที่กำลังไฟขนาดสูง (high power) 900 วัตต์ นาน 5 นาที ตามด้วยกำลังไฟขนาดสูงปานกลาง (mid-high power) 600 วัตต์ นาน 10 นาที (Charuwan & Sontaya, 2016, 2018; Charuwan *et al.*, 2017) นำสารละลายที่ย่อยแล้วไปวิเคราะห์หาปริมาณตะกั่วและสารหนู ด้วยเครื่อง ICP-OES

### 3. การชะตะกั่วและสารหนู ออกจากสาหร่ายผสมนางโดยการชะแบบเบทช์

นำตัวอย่างสาหร่ายผสมนางจากข้อ 2.1 หนัก 1 กรัม (ทราบน้ำหนักที่แน่นอน) ไปแช่น้ำปราศจากไอออน ปริมาตร 75 มิลลิลิตร แล้วนำขวดไปเขย่าแบบหมุนวนด้วยเครื่องเขย่า ความเร็ว 100 รอบ/นาที ที่อุณหภูมิห้อง นาน 2 ชั่วโมง กรองสาหร่าย

ผสมนางด้วยตะแกรงผ้า จากนั้นนำสาหร่ายผสมนางที่กรองได้ หนัก 1 กรัม (ทราบน้ำหนักที่แน่นอน) ไปย่อยตามขั้นตอนในข้อ 2.2 แล้วนำสารละลายที่ย่อยได้ไปวิเคราะห์หาปริมาณตะกั่วและสารหนู ด้วยเครื่อง ICP-OES

#### 4. การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการชะแบบแบทช์

ได้ศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการชะตะกั่วและสารหนูในระบบแบทช์ ได้แก่ ชนิดของตัวชะ ความเข้มข้นของตัวชะ ปริมาตรของตัวชะ และระยะเวลาในการชะ โดยดำเนินการทดลองเช่นเดียวกับข้อ 3 รายละเอียดมีดังนี้

##### 4.1 การศึกษาผลของตัวชะ

ตัวชะที่ศึกษา ได้แก่ HOAc, CTA, NaCl, NaHCO<sub>3</sub>, EDTA ที่เข้มข้นอย่างละ 1.0x10<sup>-1</sup> โมลาร์ และ CTS ที่เข้มข้น 0.2% โดยควบคุมสภาวะของการชะดังนี้คือ ปริมาตรของตัวชะเท่ากับ 75 มิลลิลิตร และเขย่าแบบหมุนวนด้วยเครื่องเขย่าที่อุณหภูมิห้อง เมื่อใช้ความเร็วและระยะเวลาเช่นเดียวกับข้อ 3

##### 4.2 การศึกษาผลของความเข้มข้นของตัวชะ

ความเข้มข้นของตัวชะที่ศึกษา ได้แก่ 1.0x10<sup>-3</sup>, 1.0x10<sup>-2</sup> และ 1.0x10<sup>-1</sup> โมลาร์ โดยควบคุมสภาวะของการชะดังนี้คือ ใช้ตัวชะที่เหมาะสมที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ที่ศึกษา ปริมาตรของตัวชะเท่ากับ 75 มิลลิลิตร และเขย่าแบบหมุนวนด้วยเครื่องเขย่าที่อุณหภูมิห้อง เมื่อใช้ความเร็วและระยะเวลาเช่นเดียวกับข้อ 3

##### 4.3 การศึกษาผลของปริมาตรของตัวชะ

ปริมาตรของตัวชะที่ศึกษา ได้แก่ 25, 50, 75 และ 100 มิลลิลิตร โดยควบคุมสภาวะของการชะดังนี้คือ ใช้ตัวชะที่เหมาะสม ชะด้วยปริมาตรต่าง ๆ ที่ศึกษา และเขย่าแบบหมุนวนด้วยเครื่องเขย่าที่อุณหภูมิห้อง เมื่อใช้ความเร็วและระยะเวลาเช่นเดียวกับข้อ 3

##### 4.4 การศึกษาผลของระยะเวลา

ระยะเวลาในการเขย่าที่ศึกษา ได้แก่ 30, 60, 90, 120, 150 และ 180 นาที โดยควบคุมสภาวะของการชะดังนี้คือ ใช้ตัวชะที่เหมาะสม ปริมาตรเท่ากับ 75 มิลลิลิตร เขย่าแบบหมุนวนด้วยเครื่องเขย่า ความเร็ว 100 รอบ/นาที ตามระยะเวลาที่ศึกษา ที่อุณหภูมิห้อง

ในการศึกษาเพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมต่อการชะแบบแบทช์ ได้นำตัวอย่างสาหร่ายผสมนางที่ผ่านการชะในแต่ละปัจจัย มาทำการย่อยเช่นเดียวกับวิธีในข้อ 2.2 แล้วนำสารละลายที่ย่อยได้ไปวิเคราะห์หาปริมาณตะกั่วและสารหนู ด้วยเครื่อง ICP-OES คำนวณหาประสิทธิภาพการคายออก (Desorption efficiency) ของตะกั่วและสารหนูที่จับอยู่ในสาหร่ายผสมนาง (Stirk & Staden, 2002) โดยใช้สมการ (1)

$$\text{ประสิทธิภาพการคายออก (\%)} = \frac{C_i - C_f}{C_i} \times 100 \quad (1)$$

เมื่อ  $C_i$  หมายถึง ความเข้มข้นเริ่มต้นของตะกั่วและสารหนูที่วัดได้จากการชะด้วยน้ำปราศจากไอออน (ข้อ 3) (มิลลิกรัม/ลิตร)

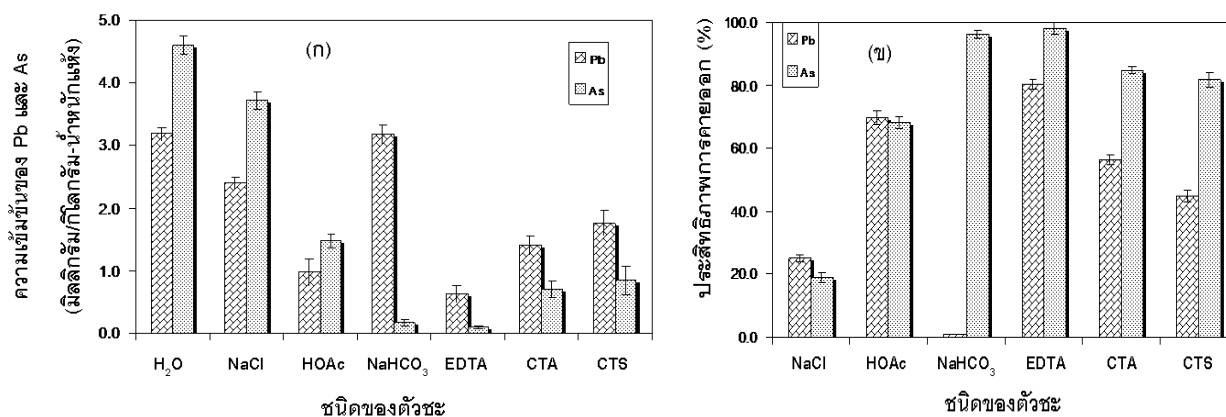
$C_f$  หมายถึง ความเข้มข้นสุดท้ายของตะกั่วและสารหนูที่วัดได้จากการชะที่สภาวะต่าง ๆ (ข้อ 4) (มิลลิกรัม/ลิตร)

**หมายเหตุ** ในแต่ละขั้นตอนของการศึกษา ได้ทำการวิเคราะห์ซ้ำ 3 ครั้ง

ผลการวิจัยและวิจารณ์ผล

1. การศึกษาผลของชนิดของตัวชะ

ในการศึกษา ได้ใช้ตัวชะที่เป็นสารปรุงแต่งอาหาร ได้แก่ NaCl, HOAc, NaHCO<sub>3</sub>, EDTA และ CTA ที่เข้มข้นอย่างละ 1.0x10<sup>-1</sup> โมลาร์ และ 0.2% CTS เมื่อควบคุมสภาวะการชะแบบแบทช์ดังนี้ ปริมาตรของตัวชะเท่ากับ 75 มิลลิลิตร เขย่าแบบหมุนวน ด้วยเครื่องเขย่า ความเร็ว 100 รอบ/นาที เป็นระยะเวลา 2 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง จากการศึกษพบว่า สารละลาย EDTA เป็นตัวชะไอออนของตะกั่วและสารหนูที่เกาะที่ผนังเซลล์ของสาหร่ายฝมนางออกได้อย่างมีประสิทธิภาพมากที่สุดเมื่อเทียบกับตัวชะชนิดอื่น ซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษาของ Charuwan & Sontaya (2016, 2018) ที่รายงานว่า สารละลาย EDTA สามารถชะตะกั่วออกจากสาหร่ายฝมนางได้ดีกว่าสารละลาย HOAc, CTS, CTA, NaCl และ NaHCO<sub>3</sub> ตามลำดับ (เมื่อใช้ความเข้มข้นของสารละลายต่าง ๆ เท่ากับที่ใช้ในการศึกษครั้งนี้) ทั้งนี้เนื่องจาก EDTA เป็นคีเลติงเอเจนต์ที่สามารถจับกับไอออนของโลหะทั้งสองชนิดนี้ได้ดี (Hammami *et al.*, 2007; Niinae *et al.*, 2008) เกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อน Pb-EDTA และ As-EDTA ที่เสถียรมากกว่าสารประกอบเชิงซ้อนของไอออนของตะกั่วและสารหนูกับตัวชะชนิดอื่น ได้แก่ NaHCO<sub>3</sub> และ NaCl (Stirk & Staden, 2002) ทำให้ไอออนตะกั่วและสารหนูที่เกาะที่ผนังเซลล์ของสาหร่ายฝมนางหลุดออกได้ดีกว่า และดีกว่าตัวชะที่เป็นกรดอินทรีย์ ได้แก่ HOAc และ CTA ที่มีกลไกการชะแบบแลกเปลี่ยนไอออน (Hammami *et al.*, 2007) ระหว่าง H<sup>+</sup> ของ HOAc และ CTA กับไอออนของตะกั่ว (Pb<sup>2+</sup>) และไอออนของสารหนูนินทรีย์ (As<sup>3+</sup> และ As<sup>5+</sup>) (Charuwan *et al.*, 2017) เนื่องจาก H<sup>+</sup> ของ HOAc และ CTA มีความแรงไม่มากพอที่จะแลกเปลี่ยนไอออนของตะกั่วและสารหนูได้หมด นอกจากนี้ EDTA สามารถชะตะกั่วและสารหนูได้ดีกว่า CTS ที่มีกลไกการชะแบบดูดซับโดยแรงทางกายภาพที่อ่อน (Cervera & Amal, 2003; Verbych *et al.*, 2005) ที่เกิดขึ้นระหว่างหมู่ฟังก์ชันเอมีน (-NH<sub>2</sub>) (Cervera & Amal, 2003; Verbych *et al.*, 2005) ของ CTS กับไอออนทั้งสองชนิดที่เกาะที่ผนังเซลล์ของสาหร่ายฝมนาง (Cervera *et al.*, 2003) ผลการศึกษาแสดงดังภาพที่ 1



ภาพที่ 1 ผลของชนิดของตัวชะต่อการชะตะกั่วและสารหนูออกจากสาหร่ายฝมนาง

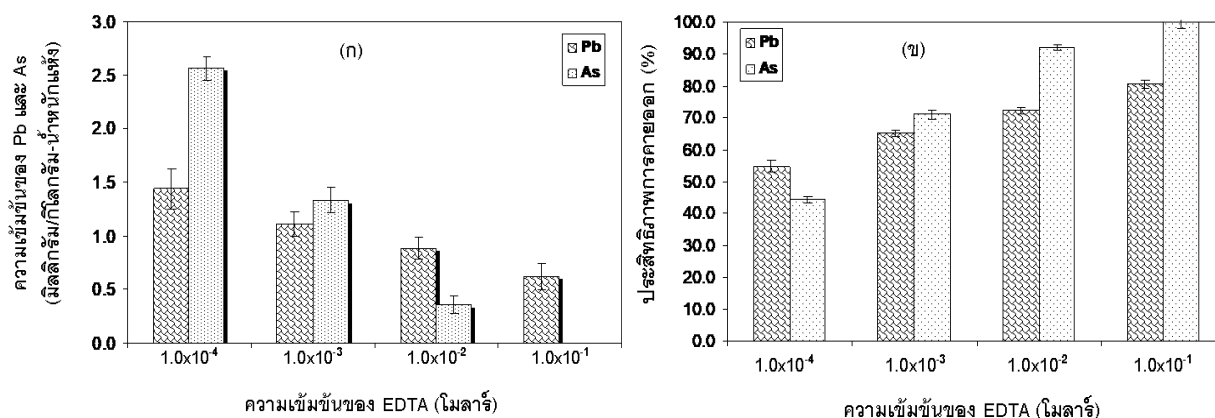
(ก) ความเข้มข้นของตะกั่วและสารหนูในสาหร่ายฝมนางที่เหลืออยู่ในสาหร่ายฝมนาง

(ข) ประสิทธิภาพการคายออกของตะกั่วและสารหนูในสาหร่ายฝมนาง

จากภาพที่ 1 จะเห็นได้ว่าสารละลาย EDTA สามารถชะตะกั่วและสารหนูออกจากตัวอย่างสาหร่ายผสมนางได้ดีที่สุด เมื่อเทียบกับสารละลายที่เป็นตัวชะชนิดอื่น นั่นคือ ทำให้ปริมาณตะกั่วและสารหนู เหลืออยู่ในสาหร่ายผสมนาง เท่ากับ  $0.63 \pm 0.13$  และ  $0.09 \pm 0.13$  มิลลิกรัม/กิโลกรัม-น้ำหนักแห้ง ตามลำดับดังภาพที่ 1 (ก) และทำให้ประสิทธิภาพการคายออกของ ตะกั่วและสารหนูที่ผ่านการชะด้วยสารละลาย EDTA มีค่าสูงสุด เท่ากับร้อยละ 80.25 และ 98.04 ตามลำดับ ดังภาพที่ 1 (ข)) จากผลการทดลอง จะเห็นได้ว่าปริมาณตะกั่วและสารหนู ที่ตรวจวัดได้จากสาหร่ายผสมนางที่ผ่านการชะด้วยตัวชะด้วย สารละลาย EDTA มีค่าต่ำกว่าค่าที่ มผช. กำหนด ดังนั้นจึงเลือกใช้สารละลาย EDTA ในการชะตะกั่วและสารหนูออกจาก สาหร่ายผสมนาง

## 2. การศึกษาผลของความเข้มข้นของตัวชะ

ในการศึกษา ได้ใช้สารละลาย EDTA ซึ่งเป็นตัวชะที่เหมาะสม โดยศึกษาที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ได้แก่  $1.0 \times 10^{-3}$ ,  $1.0 \times 10^{-2}$  และ  $1.0 \times 10^{-1}$  โมลาร์ อย่างละ 75 มิลลิลิตร จากการศึกษาพบว่า เมื่อความเข้มข้นเพิ่มขึ้น ไอออนของตะกั่วและ สารหนูถูกชะออกมากขึ้น ทำให้ประสิทธิภาพการคายออกมีค่าเพิ่มขึ้น และมีค่าสูงสุดเมื่อใช้ความเข้มข้นสูงสุด ที่ศึกษา ผล การศึกษาจะสอดคล้องกับงานของ Hammaini *et al.* (2007) ซึ่งพบว่าเมื่อใช้สารละลาย EDTA เข้มข้น 1.0 โมลาร์ จะสามารถ ชะตะกั่วออกมาจากระบบบำบัดน้ำเสียทางชีวภาพได้สูงสุดเมื่อใช้วัสดุชีวมวลที่เป็นพืชในการดูดซับ อย่างไรก็ตามใน การศึกษาครั้งนี้ผู้วิจัยได้ใช้สารละลาย EDTA ที่เข้มข้นสูงขึ้น ( $1.5 \times 10^{-1}$  โมลาร์) พบว่า ในระหว่างทำการชะตะกั่วและสารหนูใน ระบบแบทช์ จะเกิดตะกอนขึ้นในวัฏภาคของของเหลว (ในส่วนของสารละลาย) ดังนั้นที่ความเข้มข้นดังกล่าวจึงไม่เหมาะที่จะ นำมาใช้ในการชะโลหะหนักเหล่านี้ออกจากสาหร่ายผสมนางในระบบแบทช์ได้ ผลการศึกษาแสดงดังภาพที่ 2



ภาพที่ 2 ผลของความเข้มข้นของสารละลาย EDTA ต่อการชะตะกั่วและสารหนูออกจากสาหร่ายผสมนาง

(ก) ความเข้มข้นของตะกั่วและสารหนูในสาหร่ายผสมนางที่เหลืออยู่ในสาหร่ายผสมนาง

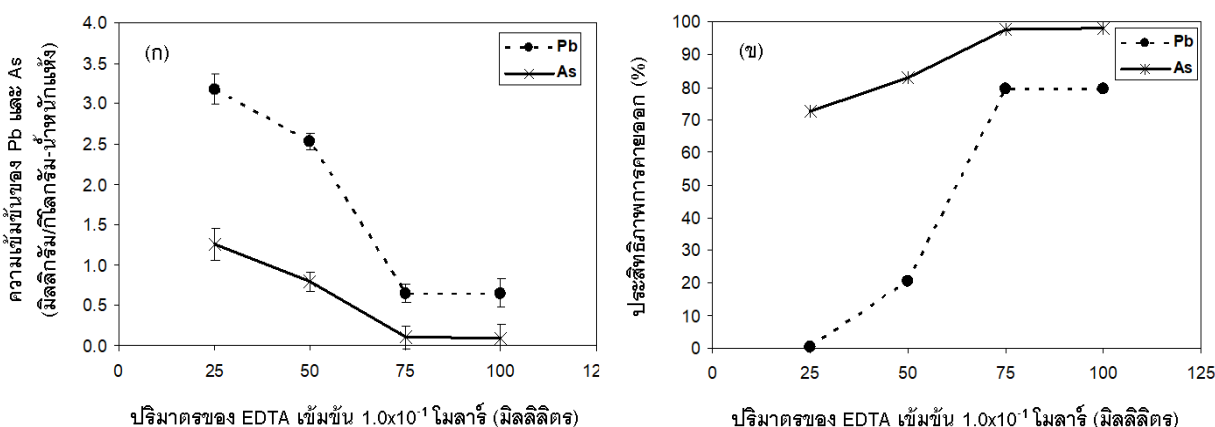
(ข) ประสิทธิภาพการคายออกของตะกั่วและสารหนูในสาหร่ายผสมนาง

จากภาพที่ 2 (ก) จะเห็นได้ว่าสารละลาย EDTA ที่เข้มข้น  $1.0 \times 10^{-1}$  โมลาร์ สามารถชะตะกั่วและสารหนูออกจาก ตัวอย่างสาหร่ายผสมนางได้ดีที่สุดเมื่อเทียบกับความเข้มข้นอื่น ๆ นั่นคือ ทำให้ปริมาณตะกั่วเหลืออยู่ในสาหร่ายผสมนาง เท่ากับ

$0.62 \pm 0.13$  มิลลิกรัม/กิโลกรัม-น้ำหนักแห้ง และไม่สามารถตรวจวัดปริมาณสารหนูได้ (มีค่าต่ำกว่าขีดจำกัดในการตรวจวัด) และทำให้ประสิทธิภาพการคายออกของตะกั่วและสารหนูที่ผ่านการชะด้วยสารละลาย EDTA เข้มข้น  $1.0 \times 10^{-1}$  โมลาร์ มีค่าสูงสุด เท่ากับร้อยละ 80.56 และ 100 ตามลำดับ ดังภาพที่ 2 (ข) ดังนั้นจึงเลือกใช้สารละลาย EDTA เข้มข้น  $1.0 \times 10^{-1}$  โมลาร์ ในการชะตะกั่วและสารหนูออกจากสาหร่ายฝมนาง

### 3. การศึกษาผลของปริมาตรของตัวชะ

ในการศึกษา ได้ใช้สารละลาย EDTA เข้มข้น  $1.0 \times 10^{-1}$  โมลาร์ ที่ปริมาตรต่าง ๆ ได้แก่ 25, 50, 75 และ 100 มิลลิลิตร โดยเขย่าแบบหมุนวน ด้วยเครื่องเขย่า ระยะเวลา 2 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง ผลการศึกษาแสดงดังภาพที่ 3 จากภาพที่ 3(ก) จะเห็นได้ว่าเมื่อใช้สารละลาย EDTA เข้มข้น  $1.0 \times 10^{-1}$  โมลาร์ ปริมาตร 75 มิลลิลิตร สามารถชะตะกั่วและสารหนูออกจากตัวอย่างสาหร่ายฝมนางได้ดีที่สุดเมื่อเทียบกับปริมาตรอื่น ๆ นั่นคือ ทำให้ปริมาณตะกั่วและสารหนูเหลืออยู่ในสาหร่ายฝมนาง เท่ากับ  $0.65 \pm 0.12$  และ  $0.10 \pm 0.05$  มิลลิกรัม/กิโลกรัม-น้ำหนักแห้ง ตามลำดับ และทำให้ประสิทธิภาพการคายออกของ ตะกั่วและสารหนูที่ผ่านการชะด้วยสารละลาย EDTA เข้มข้น  $1.0 \times 10^{-1}$  โมลาร์ ปริมาตร 75 มิลลิลิตร มีค่าสูงสุดเท่ากับร้อยละ 79.62 และ 97.83 ตามลำดับ ดังภาพที่ 3 (ข) ดังนั้นจึงเลือกใช้สารละลาย EDTA เข้มข้น  $1.0 \times 10^{-1}$  โมลาร์ จำนวน 75 มิลลิลิตร ในการชะตะกั่วและสารหนูออกจากสาหร่ายฝมนาง



**ภาพที่ 3** ผลของปริมาตรของ EDTA ต่อการชะตะกั่วและสารหนูออกจากสาหร่ายฝมนาง

(ก) ความเข้มข้นของตะกั่วและสารหนูในสาหร่ายฝมนางที่เหลืออยู่ในสาหร่ายฝมนาง

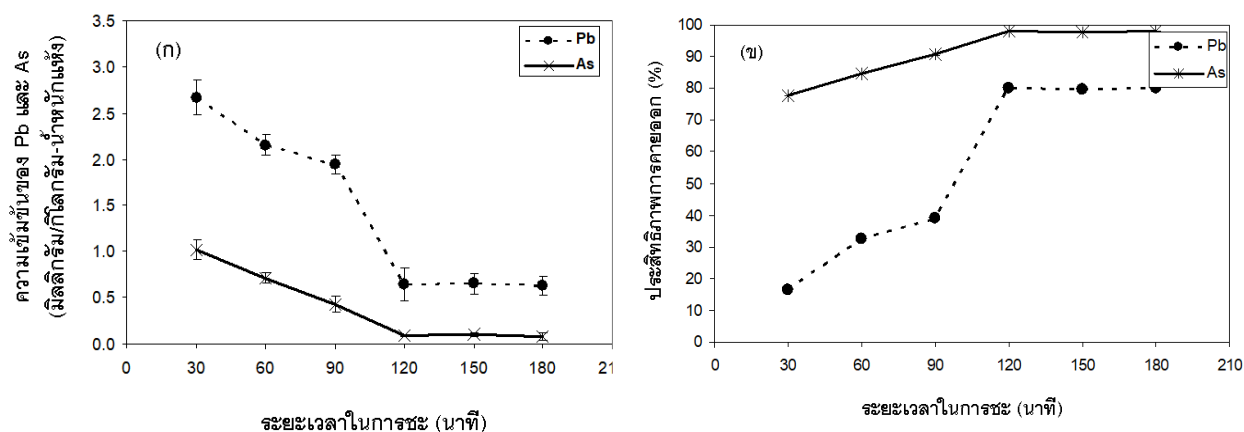
(ข) ประสิทธิภาพการคายออกของตะกั่ว และสารหนูในสาหร่ายฝมนาง

### 3. การศึกษาผลของระยะเวลาในการชะ

ในการศึกษาได้ใช้สารละลาย EDTA เข้มข้น  $1.0 \times 10^{-1}$  โมลาร์ จำนวน 75 มิลลิลิตร เพื่อชะแบบแบทช์ โดยเขย่าแบบ หมุนวน ด้วยเครื่องเขย่า ที่อุณหภูมิห้อง ที่ระยะเวลาต่าง ๆ ได้แก่ 30, 60, 90, 120, 150 และ 180 นาที จากการศึกษาพบว่า ประสิทธิภาพการคายออกของไอออนของตะกั่วและสารหนู ขึ้นอยู่ระยะเวลาในการสัมผัส (contact time) ระหว่างสารละลาย EDTA กับไอออนของตะกั่วและสารหนู ที่เกาะที่ผนังเซลล์ของสาหร่ายฝมนาง โดยกลไกจะเกี่ยวข้องกับจลนพลศาสตร์ของการชะ (Jalali *et al.*, 2002; Stirk & Staden, 2002; Voudrias, *et al.*, 2002; Deng *et al.*, 2007; Hammains *et al.*, 2007)



นั่นคือตั้งแต่เวลาที่ 0 ถึง 120 นาที ไอออนของตะกั่วและสารหนู จะถูกชะออกเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง ทำให้ประสิทธิภาพการคายออกของไอออนทั้งสองมีค่าเพิ่มขึ้น จนกระทั่งเมื่อใช้เวลาที่ 120 นาที การคายออกของไอออนตะกั่วและสารหนูจะเริ่มคงที่ ทำให้ประสิทธิภาพการคายออกมีค่าคงที่ ซึ่งผลการทดลองที่ได้จะสอดคล้องกับงานวิจัยของ Bermond & Ghestem (2001), Vaudrias *et al.* (2002), Hammami *et al.* (2007) และ Niinae *et al.* (2008) ผลการศึกษาแสดงดังภาพที่ 4 จากภาพที่ 4(ก) จะเห็นได้ว่าสารละลาย EDTA เข้มข้น เข้มข้น  $1.0 \times 10^{-1}$  โมลาร์ ปริมาตร 75 มิลลิลิตร สามารถชะตะกั่วและสารหนูออกจากตัวอย่างสาหร่ายผสมนางได้ดีที่สุดเมื่อใช้เวลาในการชะ 120 นาที นั่นคือ ทำให้ปริมาณตะกั่วและสารหนูเหลืออยู่ในสาหร่ายผสมนาง เท่ากับ  $0.64 \pm 0.08$  และ  $0.09 \pm 0.01$  มิลลิกรัม/กิโลกรัม-น้ำหนักแห้ง ตามลำดับ แม้ว่าที่เวลาในการชานาน 180 นาที พบตะกั่วเหลืออยู่ในสาหร่ายผสมนางในปริมาณน้อยที่สุด ( $0.63 \pm 0.10$  มิลลิกรัม/กิโลกรัม-น้ำหนักแห้ง) แต่ปริมาณของตะกั่วที่ยังคงเหลืออยู่ในสาหร่ายผสมนางยังคงมีปริมาณน้อยกว่าค่าที่ มผช. กำหนดเมื่อใช้เวลาดังตั้ง 120 นาทีเป็นต้นไป ดังนั้นจึงเลือกใช้ระยะเวลา 120 นาที ในการชะตะกั่วและสารหนูออกจากสาหร่ายผสมนางด้วยสารละลาย EDTA เข้มข้น  $1.0 \times 10^{-1}$  โมลาร์ จำนวน 75 มิลลิลิตร ซึ่งทำให้ประสิทธิภาพการคายออกของตะกั่วและสารหนูที่สภาวะดังกล่าว มีค่าสูงสุดเท่ากับร้อยละ 79.94 และ 98.04 ตามลำดับ ดังภาพที่ 4 (ข)

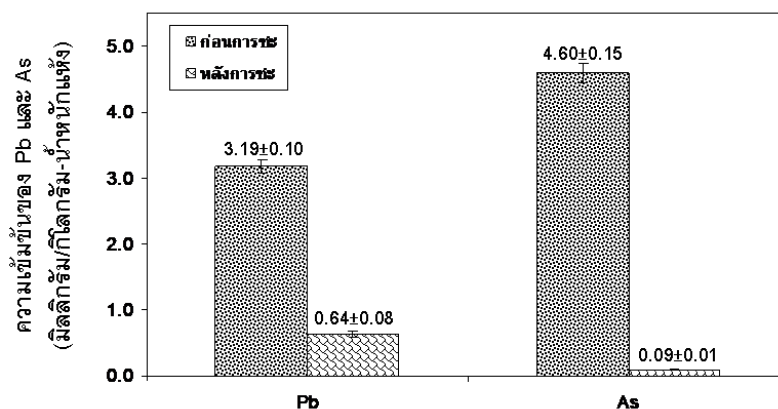


ภาพที่ 4 ผลของระยะเวลาต่อการชะตะกั่วและสารหนูออกจากสาหร่ายผสมนาง

- (ก) ความเข้มข้นของตะกั่วและสารหนูในสาหร่ายผสมนางที่เหลืออยู่ในสาหร่ายผสมนาง
- (ข) ประสิทธิภาพการคายออกของตะกั่วและสารหนูในสาหร่ายผสมนาง

### 5. การเปรียบเทียบปริมาณตะกั่วและสารหนูที่ปนเปื้อนในสาหร่ายผสมนางก่อนและหลังการชะในระบบแบบทซ์

ได้เปรียบเทียบปริมาณตะกั่วและสารหนูที่ปนเปื้อนในสาหร่ายผสมนางก่อน และหลังการชะในระบบแบบทซ์ด้วยสภาวะที่เหมาะสม โดยใช้ตัวชะที่เป็นสารละลาย EDTA เข้มข้น เข้มข้น  $1.0 \times 10^{-1}$  โมลาร์ ปริมาตร 75 มิลลิลิตร เขย่าแบบหมุนวนด้วยเครื่องเขย่า นาน 120 นาที พบว่าปริมาณตะกั่วและสารหนู มีค่าลดลงต่ำกว่าที่ มผช. กำหนด (ตามที่กล่าวมาข้างต้น) โดยพบว่า ตะกั่วและสารหนูที่ตรวจวัดได้จากวัตถุสืบสาหร่ายผสมนางก่อนการชะด้วยสารละลาย EDTA ที่สภาวะเหมาะสม มีปริมาณสูงกว่าค่าที่ มผช. กำหนด ดังภาพที่ 5



ภาพที่ 5 ความเข้มข้นของตะกั่วและสารหนูในสาหร่ายผมนางก่อนและหลังการชะในระบบแบทช์

### สรุปผลการวิจัย

จากการศึกษาสามารถสรุปได้ว่า สภาวะที่เหมาะสมในการชะไอออนของตะกั่วและสารหนูออกจากสาหร่ายผมนางหนัก 1 กรัม ในระบบแบทช์ ด้วยตัวชะที่เป็นสารละลาย EDTA เข้มข้น เข้มข้น  $1.0 \times 10^{-1}$  โมลาร์ ปริมาตร 75 มิลลิลิตร โดยเขย่าแบบหมุนวน ด้วยเครื่องเขย่านาน 120 นาที สามารถชะตะกั่วและสารหนูที่ปนเปื้อนในสาหร่ายผมนางออกได้อย่างมีประสิทธิภาพมากที่สุด โดยทำให้ปริมาณตะกั่วและสารหนู เหลืออยู่ในสาหร่ายผมนางต่ำกว่าค่าที่ มผช. กำหนด โดยสามารถนำสาหร่ายผมนางที่ผ่านการชะโลหะหนักด้วยตัวชะที่เป็นสารปรุงแต่งในอาหาร ไปใช้เป็นวัตถุดิบในการแปรรูปผลิตภัณฑ์อาหารต่าง ๆ ที่ปลอดภัยต่อผู้บริโภคได้

อย่างไรก็ตาม ในกระบวนการชะโลหะหนักออกจากสาหร่ายผมนาง มีบางขั้นตอนที่จำเป็นต้องควบคุมสภาวะเพื่อป้องกันการปนเปื้อนของตะกั่ว สารหนู และโลหะหนักอื่น ๆ จากแหล่งภายนอก เช่น การใช้น้ำปราศจากไอออน และการใช้ภาชนะสำหรับบรรจุสาหร่ายผมนางในระหว่างกระบวนการชะ เป็นต้น

### กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับเงินสนับสนุนจากสำนักงานคณะกรรมการอุดมศึกษา (สกอ.) ปีงบประมาณ 2558 ขอขอบคุณสาขาวิชาเคมี ศูนย์วิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา ที่ให้ความสะดวกในการใช้เครื่องมือและห้องปฏิบัติการ

## เอกสารอ้างอิง

- APHA, AWWA & WPCF. (1989). Part 1010 Introduction. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 17<sup>th</sup> Edition*. (pp.1-5). American Public Health Association. Washington DC.
- Bermond, A., & Ghestem, J.P. (2001). Chapter 6 Kinetic Study of Trace Metal EDTA-Desorption from Contaminated Soils; Selim, H.M.; Spark, D.L. 1<sup>st</sup> Eds. *Heavy Metals release in Soils*. (pp.131-147). Taylor & Francis group.
- Cavelo, E.F., Vega, F.A., & Andrade, M.L. (2008). Sorption and desorption of Cd, Cr, Cu, Ni, Pb and Zn by a Fibric Histosol and its organo-mineral fraction. *Journal of Hazardous Materials*, (159), 342-347.
- Cervera, M.L., & Arnal, M.C. (2003). Removal of heavy metals by using adsorption on alumina or chitosan. *Analytica and Bioanalytica Chemistry*, (375), 820-825.
- Charuwan, K., Lalitporn, W. & Abdullateep, S. (2017). Removal of inorganic arsenic species in seaweed *Gracilaria fisheri* by using typical edible eluents. *KMUTNB: International Journal Applied Science and Technology*, (Special Issue), 137-143.
- Charuwan, K., & Sontaya, M. (2016). Determination of lead desorption from *G.fisheri* seaweed using edible eluents by Voltammetry at the Hanging Mercury Drop Electrode. *Applied Mechanics and Materials*, (855), 3-8.
- Charuwan, K., & Sontaya, M. (2018). Extraction efficiency of lead (II) from seaweed *Gracilaria fisheri* with food additive extractants. In *Proceeding The 2018 Pure and Applied Chemistry International conference (PACCON2018)*. (pp. AN6-AN10). The 60<sup>th</sup> Anniversary of His Majesty the King's accession to the Throne International Convention Center, Hat Yai : Songkhla, Thailand.
- Deng, L., Su, Y., Su, H., Wang, X., & Zhu, X. (2007). Sorption and desorption of lead(II) from wastewater by green algae *Cladophora fascicularis*. *Journal of Hazardous Materials*, (14), 220-225.
- Hammami, A., González, F., Ballester, A., Blázquez, M.L., & Muñoz, J.A. (2007). Biosorption of heavy metals by activated sludge and their desorption characteristic. *Journal of Environmental Management*, (84), 419-426.
- Jalali, R., Ghafourian, H., Asef, Y., Davarpanah, S.J., & Sephehr, S. (2002). Removal and recovery of lead using nonliving biomass of marine algae. *Journal of Hazardous Materials*, (B92), 253-262.
- Netten C.V., Cann S.A.H., Morley D.R., & Netten, J.P.V. (2000). Elemental and radioactive analysis of commercially available seaweed. *Science Total Environment*, 255, 169-175.
- Niinae, M., Nishigaki, K., & Aoki, K. (2008). Removal of lead from contaminated soils with chelating agents. *Materials Transactions*, (49), 2377-2382.
- Noriziah, M.H., & Ching, Y.C. (2000). Nutritional composition of edible seaweed *Gracilaria changgi*. *Food Chem*, 68, 69-76.

- Mustafa, G., Singh, B., & Kookana, R.S. (2004). Cadmium adsorption and desorption behaviour on goethite at low equilibrium concentrations: effects of pH and index cations. *Chemosphere*, (57), 1325-1333.
- Romero, J.B., Villanueva, R.D., & Montaña, M.N.E. (2008). Stability of agar in the seaweed *Gracilaria eucheumatoides* (Gracilariales, Rhodophyta) during post-harvest storage. *Bioresource Technology*, 99, 8151-8155.
- Stirk, W.A., & Staden, J.V. (2002). Desorption of cadmium and the reuse of brown seaweed derived products as biosorption. *Botanica Marina*, (45), 9-16.
- Verbych, S., Bryk, M., Chornokur, G., & Fuhr, B. (2005). Removal of copper(II) from aqueous solutions by chitosan adsorption. *Separation Science and Technology*. (40), 1749-1759.
- Voudrias, E., Fytianos, K., & bozani, E. (2002). Sorption-Desorption isotherms of dyes from aqueous solutions and wastewaters with different sorbent materials. *Global Nest: the International Journal*, (4), 75-83.
- Yuppadee, C. (2003). Biosorption of cadmium(II) and copper(II) by pretreated biomass of marine alga *Gracilaria fisheri*. *Environmental Technology*, (24), 1501-1508.
- Yuppadee, C. (2004). Biosorption of lead and copper by biomass of marine alga. *Songklanakarin Journal of Science and Technology*, (5), 727-740
- Zhou, J.L., Huang, P.L., & Lin, R.G. (1988). Sorption and desorption of Cu and Cd by macro algae and microalgae. *Environmental Pollution*, (101), 67-75.