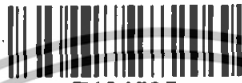


สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

ปัญหาพิเศษ

เรื่อง

ผลของตะกั่วต่อการเจริญเติบโตของไซยาโนแบคทีเรียที่ pH ต่ำ
Effect of lead on cyanobacteria growth at low pH



T104535



ร.พ.
ร 488 ๗
๒๕๕๐

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน.....104535
วันเดือนปี..... 5 พ.ศ. 2552

b. 1215925b
i.....

ภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง
คณะเทคโนโลยีการเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
กรุงเทพมหานคร 10520
ปีการศึกษา 2550

ใบรับรองปัญหาพิเศษ
ภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง

เรื่อง ผลของตะกั่วต่อการเจริญเติบโตของไซยาโนแบคทีเรียที่ pH ต่ำ
Effect of lead on Cyanobacteria growth at low pH

ชื่อนักศึกษา นางสาววิศศรา มาลีเสน

ชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุวีรัตน์ เรืองสมบุญ

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

อาจารย์ที่ปรึกษา
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุวีรัตน์ เรืองสมบุญ)

ภาควิชารับรองแล้ว

.....
.....

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ปวีณา ทวีกิจการ)

หัวหน้าภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง

วันที่...15...เดือน...พฤษภาคม...พ.ศ. ๒๕๖๖

บทคัดย่อปัญหาพิเศษ

เรื่อง

ผลของตะกั่วต่อการเจริญเติบโตของไซยาโนแบคทีเรียที่ pH ต่ำ

Effect of lead on cyanobacteria growth at low pH

จากการศึกษาผลของตะกั่วต่อปฏิกิริยาการเรืองแสงของคลอโรฟิลล์ ใน Cyanobacteria 8 ชนิดคือ *Hapalosiphon* sp., *Mastigocladopsis* sp., *Nostoc* sp., *Phormidium* sp., *Stigonema* sp. *Fischerella* sp. *Spirulina* sp. และ *Osillatoria* sp. ที่เลี้ยงในอาหาร 50 เปอร์เซ็นต์ และ เลี้ยงในน้ำกลั่น โดยได้รับตะกั่วความเข้มข้นเท่ากับ 0, 5, 10, 15 และ 20 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่ระดับ pH 6 เป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่า ปฏิกิริยาการเรืองแสงของคลอโรฟิลล์แสดงได้จากค่าประสิทธิภาพของปฏิกิริยาการสังเคราะห์แสงสูงสุดในศูนย์กลางการสังเคราะห์แสงที่ PSII (maximum PSII photochemical yield)(Fv/Fm) พบว่า สาหร่ายแต่ละชนิดมีความทนต่อความเป็นพิษของตะกั่วที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ได้แตกต่างกัน และปริมาณความเข้มข้นของตะกั่วที่ 20 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่งผลให้ ค่า Fv/Fm น้อยที่สุด โดยสาหร่ายที่สามารถทนต่อความเครียดที่เกิดจากของตะกั่วที่ 20 มิลลิกรัมต่อลิตรมากที่สุด *Hapalosiphon* sp. และ *Mastigocladopsis* sp. ค่า Fv/Fm ลดลง 18.89% และ 18.80 % ตามลำดับ (ลดลงจากกลุ่มควบคุม) และจากการศึกษาการเจริญเติบโตโดยวัดจากปริมาณคลอโรฟิลล์ น้ำหนักแห้ง ปริมาณโปรตีน และ ปริมาณคาร์โบไฮเดรต ใน Cyanobacteria 8 ชนิดคือ *Hapalosiphon* sp., *Mastigocladopsis* sp., *Nostoc* sp., *Phormidium* sp., *Stigonema* sp. และ *Fischerella* sp. ในอาหารเลี้ยง BG-11 ควบคุม pH และ ปริมาณตะกั่ว (มิลลิกรัมต่อลิตร) 4 สภาวะ ดังนี้ ที่สภาวะปกติ pH 7+Pb0 ที่สภาวะเครียด pH 4.5+Pb0, pH 4.5+Pb 2.5 และ pH 4.4+Pb5 ส่วน *Spirulina* sp. ที่สภาวะเครียด pH 6+Pb0, pH 6+Pb 2.5 และ pH 6+Pb5 และ *Osillatoria* sp. ที่สภาวะเครียด pH 5.5+Pb0, pH 5.5+Pb 2.5 และ pH 5.5+Pb5 พบว่า ปริมาณคลอโรฟิลล์จะสัมพันธ์กับน้ำหนักแห้ง โดย pH 4.5+Pb 5 จะส่งผลต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตมากที่สุด โดยสาหร่ายที่ทนต่อความเป็นพิษของตะกั่วได้ดีที่สุดคือ *Hapalosiphon* sp. ส่วนผลต่อการสังเคราะห์ปริมาณโปรตีน และคาร์โบไฮเดรต พบว่าจะเพิ่มขึ้นในระยะแรกของการเลี้ยง โดยที่ pH 4.5+Pb5 ส่งผลในการเพิ่มขึ้นมากที่สุด เนื่องจากการสร้างกลไกในการป้องกันตัวเนื่องจากสภาวะเครียด และหลังจากนั้นจะเริ่มลดลงเนื่องจากการตายของเซลล์ จากการศึกษาครั้งนี้จึงสามารถบอกได้ว่า การเลี้ยงสาหร่าย cyanobacteria ที่ pH ต่ำร่วมกับการได้รับพิษจากตะกั่วจะส่งผลต่อการเจริญเติบโต โดยขึ้นอยู่กับปริมาณที่ได้รับพิษ และความทนต่อสภาวะเครียดของสาหร่ายแต่ละชนิด

คำนิยม

ปัญหาพิเศษฉบับนี้สำเร็จอย่างสมบูรณ์ด้วยความกรุณาของผู้ช่วยศาสตราจารย์ดร.สุนีรัตน์ เรืองสมบูรณ์ซึ่งเป็นอาจารย์ที่ปรึกษาในการทำปัญหาพิเศษในครั้งนี้ ที่ได้ให้คำปรึกษาแนะนำตลอดจนการแก้ไขปัญหาพิเศษจนบรรลุสำเร็จด้วยดี

ขอขอบพระคุณอาจารย์ทุกท่านในภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมงที่คอยให้คำแนะนำ, อบรม และให้ความรู้ตลอดมา

ขอขอบคุณนางสาวบุปผา จงพัฒน์, นายณภพล เผ่ามนัส ที่คอยควบคุมดูแลการใช้สารเคมี และอุปกรณ์ต่างๆที่นำไปใช้ในการทดลองการทำปัญหาพิเศษครั้งนี้

ขอขอบคุณนางสาววชิราพร เดชเดิม ที่เป็นเพื่อนร่วมทำงานมาด้วยกันจนสำเร็จลุล่วง และเพื่อนๆ ภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมงทุกคน

และขอกราบขอบพระคุณบิดา มารดา น้องสาว และน้องชาย ที่ให้กำลังใจตลอดมา

คุณค่าและประโยชน์ของปัญหาพิเศษเล่มนี้อันพึงมี ข้าพเจ้าขอมอบให้แก่ครอบครัวที่คอยสนับสนุนและให้กำลังใจตลอดมา

นางสาววิศตรา มาลีเสน

พฤษภาคม 2551

สารบัญ

| | หน้า |
|----------------------|------|
| สารบัญ | I |
| สารบัญตาราง | II |
| สารบัญภาพ | IV |
| คำนำ | 1 |
| การตรวจเอกสาร | 2 |
| อุปกรณ์และวิธีการ | 13 |
| ผลการทดลองและวิจารณ์ | 20 |
| สรุป | 70 |
| เอกสารอ้างอิง | 71 |



สารบัญตาราง

| ตารางที่ | | หน้า |
|----------|---|------|
| 1 | ค่า Fv/Fm ของสาหร่ายชนิดต่างๆ ที่ได้รับปริมาณความเข้มข้นของตะกั่วที่แตกต่างกัน ในอาหารเลี้ยงที่มีความเข้มข้นลดลง 50 เปอร์เซ็นต์เป็นเวลา 24 ชั่วโมง | 21 |
| 2 | ค่า Fv/Fm (เปอร์เซ็นต์ที่ลดลงจากกลุ่มควบคุม) ของสาหร่ายชนิดต่างๆ ที่ได้รับปริมาณความเข้มข้นของตะกั่วที่แตกต่างกันที่เลี้ยงในน้ำกลั่นเป็นเวลา 24 ชั่วโมง | 22 |
| 3 | ค่า Fv/Fm ของสาหร่ายชนิดต่างๆ ที่ได้รับปริมาณความเข้มข้นของตะกั่วที่แตกต่างกันที่เลี้ยงในน้ำกลั่นเป็นเวลา 24 ชั่วโมง | 25 |
| 4 | ค่า Fv/Fm (เปอร์เซ็นต์ที่ลดลงจากกลุ่มควบคุม) ของสาหร่ายชนิดต่างๆ ที่ได้รับปริมาณความเข้มข้นของตะกั่วที่แตกต่างกันที่เลี้ยงในน้ำกลั่นเป็นเวลา 24 ชั่วโมง | 26 |
| 5 | ปริมาณคลอโรฟิลล์ (มิลลิกรัมต่อลิตร) ในวันสุดท้ายของการเลี้ยงสาหร่ายภายใต้สภาวะที่แตกต่างกัน | 35 |
| 6 | ปริมาณคลอโรฟิลล์เมื่อสิ้นสุดการทดลอง (เปอร์เซ็นต์ที่ลดลงจากกลุ่มควบคุม) ของสาหร่ายชนิดต่างๆ ที่เลี้ยงภายใต้สภาวะที่แตกต่างกัน | 36 |
| 7 | ค่าน้ำหนักแห้ง (กรัมต่อลิตร) ในวันสุดท้ายของการเลี้ยงสาหร่าย ภายใต้สภาวะที่แตกต่างกัน | 43 |
| 8 | ค่าน้ำหนักแห้งเมื่อสิ้นสุดการทดลอง (เปอร์เซ็นต์ที่ลดลงจากกลุ่มควบคุม) ของสาหร่ายชนิดต่างๆ ที่เลี้ยงภายใต้สภาวะที่แตกต่างกัน | 44 |
| 9 | ปริมาณคลอโรฟิลล์ (มิลลิกรัมต่อลิตร), ค่าน้ำหนักแห้ง (กรัมต่อลิตร) และเปอร์เซ็นต์ที่ลดลงจากกลุ่มควบคุมเมื่อสิ้นสุดการทดลอง ของ <i>Oscillatoria</i> sp. ที่เลี้ยงภายใต้สภาวะที่แตกต่างกัน | 45 |
| 10 | ปริมาณคลอโรฟิลล์ (มิลลิกรัมต่อลิตร), ค่าน้ำหนักแห้ง (กรัมต่อลิตร) และเปอร์เซ็นต์ที่ลดลงจากกลุ่มควบคุมเมื่อสิ้นสุดการทดลอง ของ <i>Spirulina</i> sp. ที่เลี้ยงภายใต้สภาวะที่แตกต่างกัน | 45 |
| 11 | ปริมาณโปรตีนเมื่อสิ้นสุดการทดลอง (มิลลิกรัมต่อกรัม น้ำหนักแห้งของสาหร่าย) ในสาหร่ายชนิดต่างๆ ที่เลี้ยงภายใต้สภาวะที่แตกต่างกัน | 52 |
| 12 | ปริมาณคาร์โบไฮเดรตของเซลล์สาหร่ายเมื่อสิ้นสุดการทดลอง (มิลลิกรัมต่อกรัม น้ำหนักแห้งของสาหร่าย) ในสาหร่ายชนิดต่างๆ ที่เลี้ยงภายใต้สภาวะที่แตกต่างกัน | 60 |
| 13 | ปริมาณโปรตีนและคาร์โบไฮเดรตของเซลล์สาหร่ายเมื่อสิ้นสุดการทดลอง (มิลลิกรัมต่อกรัม น้ำหนักแห้งของสาหร่าย) ในสาหร่าย <i>Oscillatoria</i> sp. ที่เลี้ยงภายใต้สภาวะที่แตกต่างกัน | 61 |

- 14 ปริมาณโปรตีนและคาร์โบไฮเดรตของเซลล์สาหร่ายเมื่อสิ้นสุดการทดลอง (มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้งของสาหร่าย) ในสาหร่าย *Spirulina* sp. ที่เลี้ยง 61
ภายใต้สภาวะที่แตกต่างกัน
- 15 ปริมาณคาร์โบไฮเดรตในน้ำเลี้ยงสาหร่ายเมื่อสิ้นสุดการทดลอง (มิลลิกรัมต่อลิตร) 68
ในสาหร่ายชนิดต่างๆ ที่เลี้ยงภายใต้สภาวะที่แตกต่างกัน
- 16 ปริมาณคาร์โบไฮเดรตในน้ำเลี้ยงสาหร่ายเมื่อสิ้นสุดการทดลอง (มิลลิกรัมต่อลิตร) 69
ในสาหร่าย *Oscillatoria* sp. และ *Spirulina* sp. ที่เลี้ยงภายใต้สภาวะที่แตกต่างกัน



สารบัญภาพ

| ภาพที่ | | หน้า |
|--------|---|------|
| 1 | <i>Spirulina</i> sp. โดยใช้กล้องจุลทรรศน์ใช้ แสง กำลังขยาย 40x | 5 |
| 2 | <i>Phormidium</i> sp. โดยใช้กล้องจุลทรรศน์ใช้ แสง กำลังขยาย 40x | 5 |
| 3 | <i>Oscillatoria</i> sp. โดยใช้กล้องจุลทรรศน์ใช้ แสง กำลังขยาย 40x | 6 |
| 4 | <i>Nostoc</i> sp. โดยใช้กล้องจุลทรรศน์ใช้ แสง กำลังขยาย 40x | 6 |
| 5 | <i>Stigonema</i> sp. โดยใช้กล้องจุลทรรศน์ใช้ แสง กำลังขยาย 40x | 6 |
| 6 | <i>Fischerella</i> sp. โดยใช้กล้องจุลทรรศน์ใช้ แสง กำลังขยาย 40x | 7 |
| 7 | <i>Hapalosiphon</i> sp. โดยใช้กล้องจุลทรรศน์ใช้ แสง กำลังขยาย 40x | 7 |
| 8 | <i>Mastigocladopsis</i> sp. โดยใช้กล้องจุลทรรศน์ใช้ แสง กำลังขยาย 40x | 7 |
| 9 | สาเหตุของเวลาต่อค่าประสิทธิภาพของการสังเคราะห์แสงที่ PSII (Fv/Fm) ของ <i>Microcystis aeruginosa</i> เมื่อได้รับความเข้มข้นของแคดเมียมที่แตกต่างกันเป็นเวลา 48 ชั่วโมง | 9 |
| 10 | ผลของความเข้มข้นของปรอทที่แตกต่างกันต่อค่าผลผลิตจากการเรืองแสงที่น้อยที่สุด (F0), ผลผลิตของการเรืองแสงที่มากที่สุด (Fm) และค่าประสิทธิภาพของการสังเคราะห์แสงสูงสุด ที่ PSII (Fv/Fm) ใน <i>Spirulina platensis</i> ที่ได้รับแสง 50 ไมโครโมลโฟตอนต่อตารางเมตรต่อวินาที เป็นเวลา 2 ชั่วโมง | 9 |
| 11 | ปริมาณคลอโรฟิลล์เอ ระหว่างการเจริญเติบโตของ <i>Gloeocapsa</i> sp. ที่เลี้ยงภายใต้ความเข้มข้นของตะกั่วที่แตกต่างกัน | 10 |
| 12 | การเจริญเติบโตของ <i>Microcystis aeruginosa</i> ที่ได้รับความเข้มข้นของแคดเมียมที่แตกต่างกันโดยแสดงจากปริมาณคลอโรฟิลล์ | 10 |
| 13 | การเจริญเติบโตของ <i>Spirulina</i> ในสารละลายที่มีตะกั่ว ในแต่ละความเข้มข้น | 11 |
| 14 | ผลของตะกั่ว ($Pb(NO_3)_2$) ต่อการเจริญเติบโตของ <i>Spirulina platensis</i> วัดในวันที่ 1, 3, 5, 7, 9 และ 11 (set1-set 6) และ ในแต่ละความเข้มข้น (แผนภูมิแท่งจากซ้ายไปขวา) 0.5, 0.10, 0.15 และ 0.20 มิลลิกรัมต่อลิตร | 12 |
| 15 | กราฟแสดงค่ามาตรฐานของโปรตีน | 18 |
| 16 | กราฟแสดงค่ามาตรฐานของคาร์โบไฮเดรต | 19 |
| 17 | การเปลี่ยนแปลงระดับ pH ของสาหร่ายแต่ละชนิด <i>A.Hapalosiphon</i> sp., <i>B.Mastigocladopsis</i> sp., <i>C.Nostoc</i> sp., <i>D. Osillatoria</i> sp., <i>E.Phormidium</i> sp., <i>F.Stigonema</i> sp., <i>G.Fischerella</i> sp. และ <i>H. Spirulina</i> sp. | 28 |

- 18 ปริมาณคลอโรฟิลล์ (มิลลิกรัมต่อลิตร) ของ *Hapalosiphon* sp. ที่เลี้ยงภายใต้สภาวะที่แตกต่างกัน 30
- 19 ปริมาณคลอโรฟิลล์ (มิลลิกรัมต่อลิตร) ของ *Mastigocladopsis* sp. ที่เลี้ยงภายใต้สภาวะที่แตกต่างกัน 31
- 20 ปริมาณคลอโรฟิลล์ (มิลลิกรัมต่อลิตร) ของ *Nostoc* sp. ที่เลี้ยงภายใต้สภาวะที่แตกต่างกัน 31
- 21 ปริมาณคลอโรฟิลล์ (มิลลิกรัมต่อลิตร) ของ *Phormidium* sp. ที่เลี้ยงภายใต้สภาวะที่แตกต่างกัน 32
- 22 ปริมาณคลอโรฟิลล์ (มิลลิกรัมต่อลิตร) ของ *Stigonema* sp. ที่เลี้ยงภายใต้สภาวะที่แตกต่างกัน 32
- 23 ปริมาณคลอโรฟิลล์ (มิลลิกรัมต่อลิตร) ของ *Fischerella* sp. ที่เลี้ยงภายใต้สภาวะที่แตกต่างกัน 33
- 24 ปริมาณคลอโรฟิลล์ (มิลลิกรัมต่อลิตร) ของ *Osillatoria* sp. ที่เลี้ยงภายใต้สภาวะที่แตกต่างกัน 34
- 25 ปริมาณคลอโรฟิลล์ (มิลลิกรัมต่อลิตร) ของ *Spirulina* sp. ที่เลี้ยงภายใต้สภาวะที่แตกต่างกัน 34
- 26 ปริมาณน้ำหนักรวม (กรัมต่อลิตร) ของ *Hapalosiphon* sp. ที่เลี้ยงภายใต้สภาวะที่แตกต่างกัน 38
- 27 ปริมาณน้ำหนักรวม (กรัมต่อลิตร) ของ *Mastigocladopsis* sp. ที่เลี้ยงภายใต้สภาวะที่แตกต่างกัน 38
- 28 ปริมาณน้ำหนักรวม (กรัมต่อลิตร) ของ *Nostoc* sp. ที่เลี้ยงภายใต้สภาวะที่แตกต่างกัน 39
- 29 ปริมาณน้ำหนักรวม (กรัมต่อลิตร) ของ *Phormidium* sp. ที่เลี้ยงภายใต้สภาวะที่แตกต่างกัน 39
- 30 ปริมาณน้ำหนักรวม (กรัมต่อลิตร) ของ *Stigonema* sp. ที่เลี้ยงภายใต้สภาวะที่แตกต่างกัน 40
- 31 ปริมาณน้ำหนักรวม (กรัมต่อลิตร) ของ *Fischerella* sp. ที่เลี้ยงภายใต้สภาวะที่แตกต่างกัน 40
- 32 ปริมาณน้ำหนักรวม (กรัมต่อลิตร) ของ *Osillatoria* sp. ที่เลี้ยงภายใต้สภาวะที่แตกต่างกัน 41

- 33 ปริมาณน้ำหนักรวม (กรัมต่อลิตร) ของ *Spirulina* sp. ที่เลี้ยงภายใต้สภาวะที่ 42
แตกต่างกัน
- 34 ปริมาณโปรตีน (มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้งสาหร่าย) ของ *Hapalosiphon* sp. ที่ 46
เลี้ยงภายใต้สภาวะที่แตกต่างกัน
- 35 ปริมาณโปรตีน (มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้งสาหร่าย) ของ *Mastigocladopsis* 47
sp. ที่เลี้ยงภายใต้สภาวะที่แตกต่างกัน
- 36 ปริมาณโปรตีน (มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้งสาหร่าย) ของ *Nostoc* sp. ที่เลี้ยง 48
ภายใต้สภาวะที่แตกต่างกัน
- 37 ปริมาณโปรตีน (มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้งสาหร่าย) ของ *Phormidium* sp. ที่ 48
เลี้ยงภายใต้สภาวะที่แตกต่างกัน
- 38 ปริมาณโปรตีน (มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้งสาหร่าย) ของ *Stigonema* sp. ที่ 49
เลี้ยงภายใต้สภาวะที่แตกต่างกัน
- 39 ปริมาณโปรตีน (มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้งสาหร่าย) ของ *Fischerella* sp. ที่ 49
เลี้ยงภายใต้สภาวะที่แตกต่างกัน
- 40 ปริมาณโปรตีน (มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้งสาหร่าย) ของ *Osillatoria* sp. ที่เลี้ยง 50
ภายใต้สภาวะที่แตกต่างกัน
- 41 ปริมาณโปรตีน (มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้งสาหร่าย) ของ *Spirulina* sp. ที่เลี้ยง 51
ภายใต้สภาวะที่แตกต่างกัน
- 42 ปริมาณคาร์โบไฮเดรตของเซลล์สาหร่าย (มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้งสาหร่าย) 54
ของ *Hapalosiphon* sp. ที่เลี้ยงภายใต้สภาวะที่แตกต่างกัน
- 43 ปริมาณคาร์โบไฮเดรตของเซลล์สาหร่าย (มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้งสาหร่าย) 54
ของ *Mastigocladopsis* sp. ที่เลี้ยงภายใต้สภาวะที่แตกต่างกัน
- 44 ปริมาณคาร์โบไฮเดรตของเซลล์สาหร่าย (มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้งสาหร่าย) 55
ของ *Nostoc* sp. ที่เลี้ยงภายใต้สภาวะที่แตกต่างกัน
- 45 ปริมาณคาร์โบไฮเดรตของเซลล์สาหร่าย (มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้งสาหร่าย) 55
ของ *Phormidium* sp. ที่เลี้ยงภายใต้สภาวะที่แตกต่างกัน
- 46 ปริมาณคาร์โบไฮเดรตของเซลล์สาหร่าย (มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้งสาหร่าย) 56
ของ *Stigonema* sp. ที่เลี้ยงภายใต้สภาวะที่แตกต่างกัน
- 47 ปริมาณคาร์โบไฮเดรตของเซลล์สาหร่าย (มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้งสาหร่าย) 57
ของ *Fischerella* sp. ที่เลี้ยงภายใต้สภาวะที่แตกต่างกัน
- 48 ปริมาณคาร์โบไฮเดรตของเซลล์สาหร่าย (มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้งสาหร่าย) 57

| | | |
|----|---|----|
| | ของ <i>Osillatoria</i> sp. ที่เลี้ยงภายใต้สภาวะที่แตกต่างกัน | |
| 48 | ปริมาณคาร์โบไฮเดรตของเซลล์สาหร่าย (มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้งสาหร่าย) ของ <i>Spirulina</i> sp. ที่เลี้ยงภายใต้สภาวะที่แตกต่างกัน | 58 |
| 50 | ปริมาณคาร์โบไฮเดรตในน้ำเลี้ยงสาหร่าย (มิลลิกรัมต่อลิตร) ของ <i>Hapalosiphon</i> sp. ที่เลี้ยงภายใต้สภาวะที่แตกต่างกัน | 63 |
| 51 | ปริมาณคาร์โบไฮเดรตในน้ำเลี้ยงสาหร่าย (มิลลิกรัมต่อลิตร) ของ <i>Mastigocladopsis</i> sp. ที่เลี้ยงภายใต้สภาวะที่แตกต่างกัน | 63 |
| 52 | ปริมาณคาร์โบไฮเดรตในน้ำเลี้ยงสาหร่าย (มิลลิกรัมต่อลิตร) ของ <i>Nostoc</i> sp. ที่เลี้ยงภายใต้สภาวะที่แตกต่างกัน | 64 |
| 53 | ปริมาณคาร์โบไฮเดรตในน้ำเลี้ยงสาหร่าย (มิลลิกรัมต่อลิตร) ของ <i>Phormidium</i> sp. ที่เลี้ยงภายใต้สภาวะที่แตกต่างกัน | 64 |
| 54 | ปริมาณคาร์โบไฮเดรตในน้ำเลี้ยงสาหร่าย (มิลลิกรัมต่อลิตร) ของ <i>Stigonema</i> sp. ที่เลี้ยงภายใต้สภาวะที่แตกต่างกัน | 65 |
| 55 | ปริมาณคาร์โบไฮเดรตในน้ำเลี้ยงสาหร่าย (มิลลิกรัมต่อลิตร) ของ <i>Fischerella</i> sp. ที่เลี้ยงภายใต้สภาวะที่แตกต่างกัน | 65 |
| 56 | ปริมาณคาร์โบไฮเดรตในน้ำเลี้ยงสาหร่าย (มิลลิกรัมต่อลิตร) ของ <i>Osillatoria</i> sp. ที่เลี้ยงภายใต้สภาวะที่แตกต่างกัน | 66 |
| 57 | ปริมาณคาร์โบไฮเดรตในน้ำเลี้ยงสาหร่าย (มิลลิกรัมต่อลิตร) ของ <i>Spirulina</i> sp. ที่เลี้ยงภายใต้สภาวะที่แตกต่างกัน | 66 |

คำนำ

ปัจจุบันการเจริญเติบโตทางด้านเศรษฐกิจ การพัฒนาทางด้านเทคโนโลยี และการขยายตัวของภาคอุตสาหกรรม ทำให้มีการปล่อยของเสียออกสู่สิ่งแวดล้อมเกินขีดจำกัด ส่งผลให้เกิดปัญหาด้านสิ่งแวดล้อม ที่มีความรุนแรงยากต่อการแก้ไข หนึ่งในผลกระทบนั้นก็คือการรั่วไหลปนเปื้อนของโลหะหนักในแหล่งน้ำ โดยเฉพาะการปนเปื้อนของตะกั่ว (lead) ซึ่งตะกั่วเป็นโลหะหนักที่มีพิษ ใช้ทำวัสดุก่อสร้าง แบตเตอรี่ กระสุนปืน โลหะผสม เป็นต้น จากคุณสมบัติที่มีความแข็งแกร่ง สลายตัวได้ยากในธรรมชาติ จึงมีบางส่วนที่ปนเปื้อนอยู่ในสิ่งแวดล้อมโดยเฉพาะในแหล่งน้ำ ดังนั้นพิษของตะกั่วก็จะส่งผลต่อสิ่งมีชีวิตทั้งหลายในแหล่งน้ำ รวมทั้งสิ่งมีชีวิตขนาดเล็ก เช่น แพลงก์ตอนพืช และแพลงก์ตอนสัตว์

Cyanobacteria หรือ Blue green algae (สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน) จัดอยู่ในกลุ่มของแพลงก์ตอนพืชที่อาศัยอยู่ในแหล่งน้ำ มีรงควัตถุ (pigment) ที่สำคัญคือ chlorophyll a ทำให้สามารถสังเคราะห์แสงและมีออกซิเจนที่เกิดจากกระบวนการสังเคราะห์แสง ซึ่งเป็นประโยชน์ต่อกระบวนการหายใจของสิ่งมีชีวิตที่อาศัยในแหล่งน้ำ รวมทั้งเป็นผู้ผลิตและเป็นส่วนหนึ่งของห่วงโซ่อาหารขั้นต้นๆ

การปนเปื้อนของตะกั่วในแหล่งน้ำล้วนส่งผลกระทบต่อสิ่งมีชีวิตที่อาศัยอยู่ในน้ำเช่น กุ้ง หอย ปู ปลา โดยสารพิษที่เกิดจากตะกั่วจะเข้าสู่สัตว์โดยผ่านทาง เหงือกและผิวหนัง เกิดการสะสมทำให้เป็นอันตรายต่อร่างกายของสัตว์น้ำ ส่วนผลกระทบของตะกั่วต่อ cyanobacteria เช่น (*Oscillatoria*, *Phormidium*, *Spirulina*, *Stigonema*, *Nostoc*, *Mastigocladopsis*, *Fisherella*, *Hapalosiphon*) ก็ส่งผลโดยตรงต่อการเจริญเติบโตของ cyanobacteria โดยเฉพาะตะกั่วที่มีการปนเปื้อนในแหล่งน้ำที่ระดับความเข้มข้นสูงๆ อาจทำลายผู้ผลิตขั้นต้นเหล่านี้ในแหล่งน้ำได้ ดังนั้นจึงมีการศึกษาถึงผลของตะกั่วต่อการเจริญเติบโตและการสร้างอาหารของ cyanobacteria

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาถึงปริมาณของตะกั่วที่ต่างกันต่อค่าการเรืองแสงของคลอโรฟิลล์ (chlorophyll fluorescence) ของ cyanobacteria

2. เพื่อศึกษาถึงผลของตะกั่วต่อการเจริญเติบโตของ cyanobacteria โดยวัดจากปริมาณคลอโรฟิลล์, ปริมาณน้ำหนักแห้ง, ค่า pH ที่เปลี่ยนแปลงในรอบวัน, ปริมาณโปรตีน, ปริมาณคาร์โบไฮเดรตของเซลล์สาหร่าย และ ปริมาณคาร์โบไฮเดรตที่ละลายอยู่ในอาหารเลี้ยง

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

เพื่อให้ทราบว่า cyanobacteria ชนิดใดที่สามารถทนต่อความเป็นพิษของตะกั่วได้ดีที่ pH ต่ำ เพื่อนำไปใช้เป็นแนวทางในการบำบัดตะกั่วที่ปนเปื้อนในแหล่งน้ำที่มีระดับ pH ต่ำ

การตรวจเอกสาร

การเจริญเติบโตทางเศรษฐกิจ การพัฒนาเทคโนโลยี การขยายตัวของภาคอุตสาหกรรม การพัฒนาทางด้านการเกษตร การปศุสัตว์และการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ น้ำทิ้งจากชุมชนเมือง สิ่งเหล่านี้เป็นปัจจัยให้เกิดความเสื่อมโทรมของแหล่งน้ำซึ่งเป็นที่อยู่อาศัยของสิ่งมีชีวิตที่อาศัยอยู่ในน้ำ เช่น สัตว์น้ำ, แพลงก์ตอนพืช, แพลงก์ตอนสัตว์ และสิ่งมีชีวิตขนาดเล็ก สิ่งที่มีชีวิตเล็กเล็ยไม่ได้ก็คือการปนเปื้อนของโลหะหนัก ซึ่งโลหะหนักไม่สามารถสลายตัวได้ในกระบวนการธรรมชาติ จึงมีบางส่วนตกตะกอนสะสมอยู่ในดิน ดินตะกอนที่อยู่ในน้ำ จึงมีผลกระทบโดยตรงต่อสิ่งมีชีวิตที่อาศัยในแหล่งน้ำ

โลหะหนัก หมายถึง โลหะที่มีความหนาแน่นสูงกว่า 4 kg/dm^3 ซึ่งโลหะหนักมีความสำคัญในงานอุตสาหกรรมอย่างมากและยังเป็นต้นกำเนิดโลหะผสมอีกหลายชนิดด้วยกัน โลหะหนักที่นิยมใช้กันทั่วไปได้แก่ ทองแดง เงิน ทองคำ ทองคำขาว สังกะสี ตะกั่ว ดีบุก โครเมียม ทังสแตน แคนเดียม โปรท บิสมีส พลวง ไททาเนียม แทนทาลัม โคบอลต์ ยูเรเนียม นิเกิล แมงกานีส โมลิบดีนัม และเบอร์มิสเนียม ซึ่งถูกนำมาใช้ในอุตสาหกรรม เช่น อุปกรณ์ผลิตพลาสติก พิวซี ซี ถ่านไฟฉาย ทางด้านการเกษตร ใช้เป็นส่วนผสมของยาฆ่าแมลงและปุ๋ย ทางด้านการแพทย์ใช้เป็นส่วนผสมของยา อุปกรณ์ทางการแพทย์ และเครื่องสำอาง (<http://www.chemtrack.org/News-Detail.asp>.)

ตะกั่ว (Lead)

1. ลักษณะ และคุณสมบัติทั่วไป (<http://th.wikipedia.org/wiki/>)

1.1 ลักษณะทั่วไป

| | |
|---------------------------|---|
| ชื่อ, สัญลักษณ์, หมายเลข | ตะกั่ว (Lead), Pb, 82 |
| อนุกรมเคมี | โลหะหลังทรานซิชัน |
| หมู่, คาบ, บล็อก | 14, 6, p |
| ลักษณะ | สีขาวอมน้ำเงิน |
| มวลอะตอม | 207.2(1) กรัม/โมล |
| การจัดเรียงอิเล็กตรอน | $[\text{Xe}] 4f^{14} 5d^{10} 6s^2 6p^2$ |
| อิเล็กตรอนต่อระดับพลังงาน | 2, 8, 18, 32, 18, 4 |

1.2 คุณสมบัติทางกายภาพ

| | |
|-------------------------------|---------------------------|
| เฟส | ของแข็ง |
| ความหนาแน่น (ใกล้ r.t.) | 11.34 ก./ซม. ³ |
| ความหนาแน่นของของเหลวที่ m.p. | 10.66 ก./ซม. ³ |
| จุดหลอมเหลว | 600.61 K(327.46 °C) |

| | |
|--------------------------|--------------------------|
| ความร้อนของการหลอมเหลว | 4.77 กิโลจูล/โมล |
| ความร้อนของการกลายเป็นไอ | 179.5 กิโลจูล/โมล |
| ความร้อนจำเพาะ | (25 °C) 26.650 J/(mol·K) |

1.3 คุณสมบัติของอะตอม

| | |
|--------------------|---------------------|
| โครงสร้างผลึก | cubic face centered |
| รัศมีอะตอม | 180 pm |
| รัศมีโควาเลนต์ | 147 pm |
| รัศมีวานเดอร์วาลส์ | 202 pm |

2. แหล่งที่มาของสารตะกั่ว

สารตะกั่วพบได้ทั่วไปทั้งในดิน หิน น้ำ พืช และอากาศ โดยเฉลี่ยในหินจะมีตะกั่วอยู่ 13 มิลลิกรัมต่อหิน 1 กิโลกรัม ในหินตะกอนพบประมาณ 10-70 มิลลิกรัมต่อหิน 1 กิโลกรัม แร่ที่มีตะกั่วผสมอยู่ได้แก่ แร่กาเลนา (Galean, pbs) แร่เซอร์สไซต์ (Cerrussite, $PbCO_3$) แร่อะไนไลต์ (Anylesite, $PbSO_4$) ในดินพบคล้ายในหิน คือประมาณ 5-25 มิลลิกรัมต่อดิน 1 กิโลกรัม ในแหล่งน้ำธรรมชาติ โดยเฉพาะน้ำบาดาล พบสารตะกั่วในอนุภาคขนาดเล็ก ประมาณ 1-60 มิลลิกรัมต่อ 1 กิโลกรัม ในทะเลสาบ และแม่น้ำพบประมาณ 1-10 มิลลิกรัมต่อ 1 กิโลกรัม แต่ในน้ำทะเลพบปริมาณของตะกั่ว น้อยกว่าน้ำจืด โดยพบประมาณ 0.08-0.04 มิลลิกรัมต่อ 1 กิโลกรัม ในอากาศบริเวณห่างไกลชุมชน พบประมาณ 0.0006 ไมโครกรัมต่ออากาศ 1 ลูกบาศก์เมตร แต่บริเวณชุมชนพบมากถึง 0.001 ไมโครกรัมต่ออากาศ 1 ลูกบาศก์เมตร ในพืชทั่วไปพบในพืชขนาดใหญ่ ซึ่งพบประมาณ 1.0 มิลลิกรัมต่อ 1 กิโลกรัม (ของเนื้อไม้แห้ง) สำหรับในพืชผักพบประมาณ 0.1-1.0 มิลลิกรัมต่อ 1 กิโลกรัม (ของพืชแห้ง) ([http:// www.gogi-foods.com/ index.php](http://www.gogi-foods.com/index.php))

ไซยาโนแบคทีเรีย (Cyanobacteria)

สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน (cyanobacteria) เป็นจุลินทรีย์ที่จัดอยู่ใน Division Cyanophyta พบว่ามีชีวิตอยู่ประมาณ 3×10^9 ปีมาแล้ว เป็น prokaryotic microorganisms ชนิดแกรมลบ (Rassussen and Svenning, 1998) สามารถสังเคราะห์แสงได้ และบางชนิดมีคุณสมบัติในการตรึงไนโตรเจนจากอากาศ เนื่องจากมีโครงสร้างที่คล้าย chloroplast ซึ่งได้รับมาจากการอยู่ร่วมกันของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินกับพืช และการมีเอ็นไซม์ไนโตรจีเนส (nitrogenase enzyme) ตามลำดับ จากการศึกษาที่มีความหลากหลายทางสรีรวิทยา, สัณฐานวิทยา และการพัฒนารูปร่างต่าง ๆ ทำให้สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินสามารถดำรงชีวิตอยู่ในสิ่งแวดล้อมต่างๆ อย่างหลากหลาย ได้แก่ หิน ดิน ทะเลทราย น้ำพุร้อน น้ำจืด น้ำทะเล และทะเลสาบ เป็นต้น (Mazel *et al.*, 1990)

1. ลักษณะทั่วไป (ยูวตี, 2549)

1.1 รงควัตถุ ประกอบด้วย

1.1.1 คลอโรฟิลล์ เป็นโคโรฟิลล์เอ

1.1.2 แคโรทีนอยด์ ประกอบด้วย

- เบตา-แคโรทีน
- แซนโทฟิลล์หลายชนิด ส่วนใหญ่เป็นมิกโซแซนทิน และมิกโซแซนโทฟิลล์

1.1.3 ไฟโคบิลิน ประกอบด้วย

- ซี-ไฟโคไซยานิน
- อัลโลไฟโคไซยานิน
- ซี-ไฟโคเออริทริน

1.2 ส่วนประกอบของเซลล์

1.2.1 ผนังเซลล์ (cell wall)

Desikachary (1999) กล่าวว่า ไชยาโนแบคทีเรียมีผนังเซลล์ 2 ชั้น ชั้นในบางประกอบด้วยสารพวกเซลลูโลส ผนังชั้นนอกประกอบด้วยสารพวกเจลาติน แต่ Prescott (1991) อ้างว่า ไชยาโนแบคทีเรียมีผนังเซลล์ 3 ชั้น โดยชั้นในประกอบด้วยเซลลูโลส ชั้นกลางเป็นสารพวกเพคติน ส่วนชั้นนอกสุดเป็นสารเมือกเจลาติน ซึ่งเป็นชั้นที่เรียกว่า ซีท (sheath) ชั้นในสามารถเก็บความชื้นไว้ได้มาก เป็นประโยชน์ต่อสาหร่ายเมื่อตกอยู่ในสภาวะแห้งแล้ง

1.2.2) ไชโตพลาสซึม

ไชโตพลาสซึมของสาหร่ายชนิดนี้ต่างจากสาหร่ายชนิดอื่น คือ จะอยู่ถัดจากผนังเซลล์เข้าไปข้างใน มีเยื่อพลาสมาเมมเบรน (plasma membrane) หุ้มไว้ ไชโตพลาสซึมแบ่งออกเป็น 2 ส่วน บริเวณส่วนใน ซึ่งเป็นรงควัตถุที่ไม่มีสีเรียกว่า เซนโทรพลาสซึม (centroplasm) ส่วนบริเวณรอบนอกเป็นบริเวณที่มีรงควัตถุสะสมเรียกว่า โครโมพลาสซึม (chromoplasm)

1.2.3) แวกิวโอล

ไม่พบแวกิวโอลขนาดใหญ่เหมือนสาหร่ายทั่วไป แต่บางชนิดจะพบ ก๊าซแวกิวโอล (gas vacuole) หรือ ซูโดแวกิวโอล (pseudovacule) ซึ่งเป็นลักษณะเม็ดเล็กๆ กระจายอยู่ทั่วไป

1.2.4) อาหารที่เก็บสะสม

อาหารที่เก็บสะสมเป็นพวกคาร์โบไฮเดรตได้แก่ แป้งไชยาโนไฟซิน (cyanophycin starch)

2. ลักษณะของแต่ละชนิดที่ใช้ในการทดลองใน Division Cyanophyta (ยูวตี, 2549)

2.1 *Spirulina* sp. อยู่ใน Order Oscillatoriales, Family Pseudanabaenaceae เป็นเส้นสายที่มีลักษณะเป็นเกลียวคล้ายสว่าน ทรงแยงเป็นเกลียว เกลียวนี้อาจแน่นหรือห่าง ไม่มีซีทหุ้ม แต่ก่อนเชื่อว่า *Spirulina* นั้นเป็นเซลล์เพียงเซลล์เดียว เพราะไม่มีผนังมากนัก แต่เมื่อศึกษาด้วยกล้อง

จุลทรรศน์อิเล็กตรอนพบว่า *Spirulina* ก็เหมือนกับสาหร่ายชนิดอื่นๆ คือประกอบด้วยเซลล์หลายเซลล์มาต่อกัน แต่ผนังเซลล์แต่ละเซลล์บางมาก จึงมองไม่เห็นด้วยกล้องจุลทรรศน์ธรรมดา มีการเคลื่อนไหวแบบควงส่ว่าน (spiral movement) และสาหร่ายในสกุลนี้มีโปรตีนสูงมาก



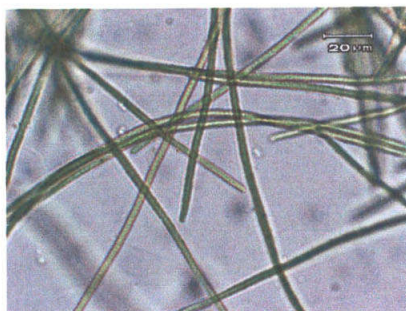
ภาพที่ 1 *Spirulina* sp. โดยใช้กล้องจุลทรรศน์ใช้แสง กำลังขยาย 40x

2.2 *Phormidium* sp. อยู่ใน Order Oscillatoriales, Family Phormidiaceae เป็นเส้นสายที่อยู่รวมกันเป็นกลุ่มสานกันเป็นแผ่นเซลล์ มีลักษณะเป็นสีเขียวเข้มเป็นฝ้า หรือทรงกระบอกเรียงต่อกัน มีความกว้างของเซลล์สม่ำเสมอตลอดสาย ยกเว้นตรงปลายกลมมน บางชนิดอาจมีคาลิปตรา มีซีทหุ้มเส้นสายบางๆ ซีทไม่มีสี บางชนิดก็ซีทไฟล่อออกมาออกทรีย์เคม พบในสภาพคล้าย *Oscillatoria*



ภาพที่ 2 *Phormidium* sp. โดยใช้กล้องจุลทรรศน์ใช้แสง กำลังขยาย 40x

2.3 *Oscillatoria* sp. อยู่ใน Order Oscillatoriales, Family Oscillatoriaceae เป็นเส้นสายที่อาจอยู่เดี่ยวๆ แต่อาจจะมีการรวมกลุ่มกันอย่างหนาแน่นในบางสภาพ โดยทั่วไปเซลล์ในเส้นสายมีความกว้างมากกว่าความยาวของเซลล์ แต่มีบางชนิดมีความกว้าง และความยาวของเซลล์ได้เสียกัน ขนาดของเซลล์สม่ำเสมอตลอดสาย เซลล์ยอดจะมีลักษณะกลมมน บางชนิดจะมีคาลิปตราหุ้ม เส้นสายของสาหร่ายชนิดนี้ไม่มีซีทหุ้ม แต่จะมีน้ำใสๆ ที่เรียกว่า วอเตอริชีท (watery sheath) หุ้มอยู่ ไม่มีเยทเทอโรซีสต์ สืบพันธุ์ได้โดยการขาดออกเป็นท่อนๆ ตรงตำแหน่งของเซเพอเรนติส หรือเซลล์ตาย เซลล์ที่ตายจะฉีกขาดตามความยาวของเซลล์ ได้เป็นฮอริโมนเพื่อออกเป็นสายใหม่ต่อไป



ภาพที่ 3 *Oscillatoria* sp. โดยใช้กล้องจุลทรรศน์ใช้ แสง กำลังขยาย 40x

2.4 *Nostoc* sp. อยู่ใน Order Nostocales, Family Nostocaceae มีลักษณะเป็นเส้นสายคล้าย *Anabeana* มาก แต่เส้นสายจะบิดงอมากกว่า และอยู่รวมกันเป็นจำนวนมาก โดยฝังตัวอยู่ในสารเมือกที่มีลักษณะเป็นวุ้นหนา มองดูเป็นก้อน ต้องขยี้เมือกที่หุ้มออกก่อน จึงจะเห็นเส้นสายจำนวนมาก เซลล์มีลักษณะกลม หรือค่อนข้างกลม เฮเทอโรซิสต์และอะคินีทจะอยู่ติดกัน หรือใกล้เคียงกัน และอยู่ในเส้นสาย



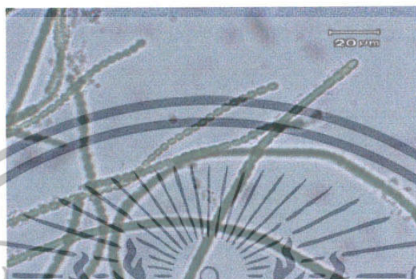
ภาพที่ 4 *Nostoc* sp. โดยใช้กล้องจุลทรรศน์ใช้ แสง กำลังขยาย 40x

2.5 *Stigonema* sp. อยู่ใน Order Stigonematales, Family Stigonemataceae ลักษณะของทลล์คล้าย *Nostochadopsis* แต่เส้นสายประกอบด้วยเซลล์เรียงตัวกันมากกว่าหนึ่งแถว มีซีทหุ้มหนา เฮเทอโรซิสต์มีขนาดเล็กและอยู่ภายใน เส้นสายแตกแขนงโดยไม่จำกัดทิศทาง อาจมีการสร้างฮอริโมโกเนียมตรงปลายแขนงที่แตกใหม่ สาหร่ายชนิดนี้พบอยู่ในน้ำ โดยเป็นอีพีไฟต์บนต้นไม้ น้ำ หรืออาจเกาะติดกับสิ่งที่ย่อยอยู่ในน้ำ หรืออาจอยู่บนดินหรือหินที่เปียกชื้น



ภาพที่ 5 *Stigonema* sp. โดยใช้กล้องจุลทรรศน์ใช้ แสง กำลังขยาย 40x

2.6 *Fischerella* sp. อยู่ใน Order Stigonematales, Family Fischerellaceae ตรัยโคมเป็นเส้นสายคล้ายลูกบิด มีซีทหุ้มหนา แตกแขนงแบบแท้จริง โดยแตกออกจากด้านข้าง กิ่งก้านเป็นรูปทรงกระบอก เฮเทอโรซิสต์อยู่ภายในเส้นสาย เซลล์มีรูปครึ่งวงกลม บริเวณโคนเส้นสาย เซลล์เป็นรูปทรงกระบอกบริเวณกิ่งก้าน อาจพบอะคินีทในบริเวณโคนของตรัยโคม ตรัยโคมอยู่รวมกลุ่มรวมกันเป็นทาลัส มีเซลล์แถวเดียวหรือหลายแถว เคลื่อนที่ได้อย่างช้าๆ เซลล์แบ่งตามแนวขวาง สืบพันธุ์โดยใช้ไฮโมโกเนียที่ขาดออกมาจากบริเวณปลายเส้นสาย บางชนิดอาศัยอยู่บนพื้นดินที่มีความชื้น เปือกหรือเกาะอยู่บนก้อนหิน



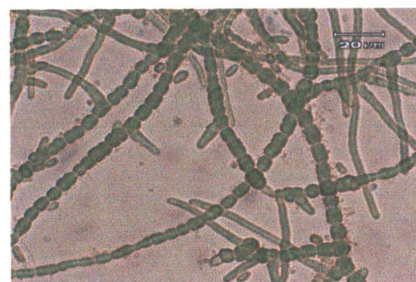
ภาพที่ 6 *Fischerella* sp. โดยใช้กล้องจุลทรรศน์ใช้ แสง กำลังขยาย 40x

2.7 *Hapalosiphon* sp. มีลักษณะเป็นเส้นสายมีการแตกแขนงแท้ (True branch) ซึ่งเป็นการแตกแขนงที่พบในสาหร่ายที่มักเกาะอยู่กับพื้น



ภาพที่ 7 *Hapalosiphon* sp. โดยใช้กล้องจุลทรรศน์ใช้ แสง กำลังขยาย 40x

2.8 *Mastigocladopsis* sp. มีลักษณะเป็นเส้นสายเรียงตัวกันแถวเดียวแตกแขนงรูปตัววี แขนงจะออกมาจากเส้นสายเดิมทางด้านข้างด้านเดียวมีขนาดสั้น ๆ และมีการแตกแขนงแท้และไม่แท้จริงมีเฮเทอโรซิสต์อยู่ภายในเส้นสาย มีขนาดใหญ่ เป็นสาหร่ายที่อาศัยในน้ำจืด



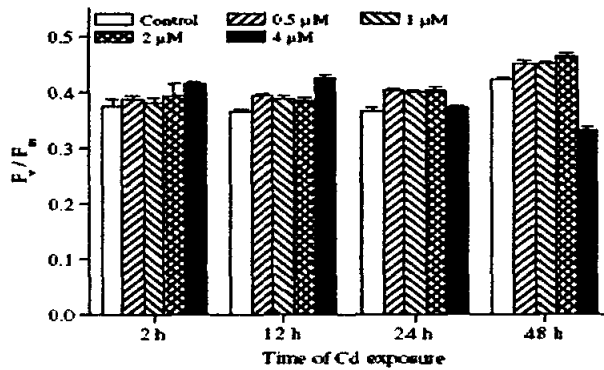
ภาพที่ 8 *Mastigocladopsis* sp. โดยใช้กล้องจุลทรรศน์ใช้ แสง กำลังขยาย 40x

ระดับความเป็นพิษของโลหะหนักที่เกิดขึ้นทางธรรมชาติ ในระบบการทำอุตสาหกรรม และการทำเกษตร จะส่งผลทำให้เกิดมลพิษต่อสิ่งแวดล้อม เช่น จากการทำเหมืองแร่, การถลุงแร่, การผลิต, การเกษตรกรรม และของเสียที่เกิดจากการใช้เทคโนโลยี โลหะหนักบางส่วนทำให้เกิดมลพิษในน้ำจืด และน้ำทะเล และปัจจุบันก็เป็นที่น่าสนใจถึงการตรวจสอบความเป็นพิษของโลหะหนักที่ส่งผลต่อการเจริญเติบโตของสาหร่าย cyanobacteria ซึ่งเป็นกลุ่มของสาหร่ายที่มีลักษณะทางกายวิภาค และสรีระวิทยาที่ประกอบด้วย คอโรโพลาส คล้ายพืชชั้นสูง (Lu *et al.*, 2000)

ผลของตะกั่วต่อการเจริญเติบโตของ cyanobacteria

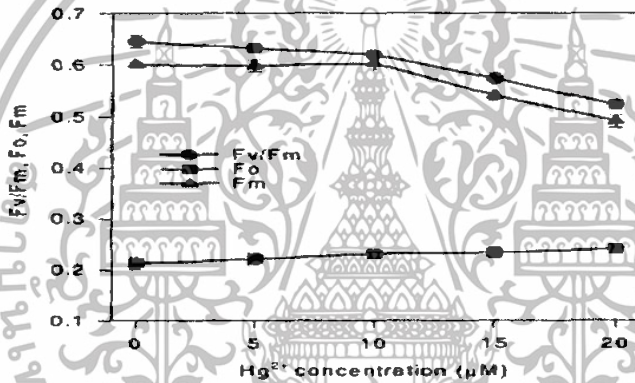
1. ผลของตะกั่วต่อค่าการเรืองแสงของคลอโรฟิลล์ (chlorophyll fluorescence) ของ cyanobacteria

การวิเคราะห์ chlorophyll fluorescence เป็นการทดสอบที่รวดเร็ว ไม่ค่อยแพร่หลาย และเป็นที่น่าเชื่อถือได้ เพื่อกำหนดการเปลี่ยนแปลงทางเคมีโดยอาศัยแสง (การสังเคราะห์แสง) ภายใต้การเปลี่ยนแปลงทางสภาวะแวดล้อม เช่น สภาวะเครียดเนื่องจากโลหะหนัก เช่น lead, copper, chromium, nickel, cadmium, mercury และ zinc ซึ่งสามารถแสดงได้จากค่าประสิทธิภาพของปฏิกิริยาการสังเคราะห์แสงสูงสุดที่ PSII (maximum PSII photochemical yield)(Fv/Fm) (Lu *et al.*, 2000) โดย Zhou *et al.* (2006) ได้ทำการทดลองใน *Microcystis aeruginosa* ที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยง BG-11 ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ได้รับแสง 40 ไมโครโมลโฟตอนต่อตารางเมตรต่อวินาที และได้รับความเข้มข้นของโลหะแคดเมียม (CdCl₂) เท่ากับ 0, 0.5, 1, 2 และ 4 ไมโครโมล เป็นเวลา 48 ชั่วโมง แล้วนำมาวัดค่าคลอโรฟิลล์ฟลูออเรสเซนส์ พบว่า ความเข้มข้นของแคดเมียมที่ 4 ไมโครโมล จะมีค่า Fv/Fm ลดลงมากที่สุด (ลดลง 21 เปอร์เซ็นต์) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม (ภาพที่ 9) และ Lu *et al.* (2000) ได้ทดลองเลี้ยง *Spirulina platensis* ในอาหารเลี้ยง Zarouk ที่อุณหภูมิ 32 องศาเซลเซียส ได้รับแสงที่ 50 ไมโครโมลโฟตอนต่อตารางเมตรต่อวินาที และได้รับความเข้มข้นของปรอท (HgCl₂) ที่ 0, 5, 10, 15 และ 20 ไมโครโมล เป็นเวลา 2 ชั่วโมง พบว่า หลังจากเวลา 2 ชั่วโมงค่า Fv/Fm จะแสดงถึงการลดลงตามลำดับเมื่อความเข้มข้นของปรอทเพิ่มขึ้น (ภาพที่ 10) โดยที่ความเข้มข้นของปรอทเท่ากับ 20 ไมโครโมล จะลดลงมากที่สุด ลดลงถึง 15 เปอร์เซ็นต์ จากกลุ่มควบคุม



ภาพที่ 9 สาเหตุของเวลาต่อค่าประสิทธิภาพของการสังเคราะห์แสงที่ PSII (F_v/F_m) ของ *Microcystis aeruginosa* เมื่อได้รับความเข้มข้นของแคดเมียมที่แตกต่างกันเป็นเวลา 48 ชั่วโมง mean±SD (n=3-4)

ที่มา : Zhou *et al.* (2006)



ภาพที่ 10 ผลของความเข้มข้นของปรอทที่ต่างกันต่อค่าผลผลิตจากการเรืองแสงที่น้อยที่สุด (F₀), ผลผลิตของการเรืองแสงที่มากที่สุด (F_m) และค่าประสิทธิภาพของการสังเคราะห์แสงสูงสุดที่ PSII (F_v/F_m) ใน *Spirulina platensis* ที่ได้รับแสง 50 ไมโครโมลโฟตอนต่อตารางเมตรต่อวินาที เป็นเวลา 2 ชั่วโมง mean±SE, n=3

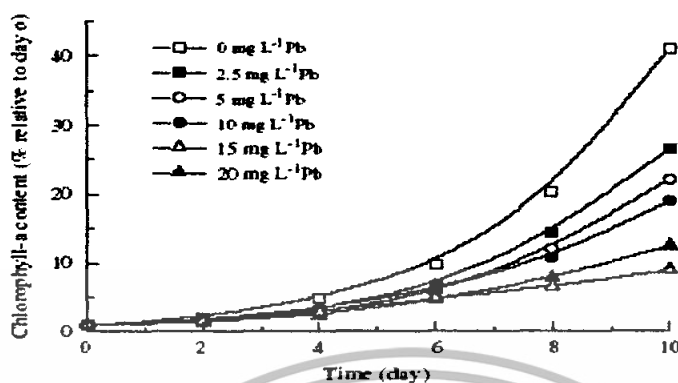
ที่มา : Lu *et al.* (2000)

2. ผลของตะกั่วต่อปริมาณคลอโรฟิลล์ของ cyanobacteria

การวัดปริมาณคลอโรฟิลล์เอ เป็นการวัดการเจริญเติบโตของสาหร่ายในทางอ้อม จึงนิยมใช้ในงานวิจัยมากกว่างานภาคอุตสาหกรรม โดยมีหลักเกณฑ์ว่าถ้ามีการเจริญเติบโตของสาหร่ายมากก็จะมีปริมาณคลอโรฟิลล์มากด้วย (ลัดดา, 2543)

โดย Raungsomboon *et al.* (2007) ได้ศึกษาถึงอิทธิพลของตะกั่วที่ความเข้มข้น 0, 2.5, 5, 10, 15 และ 20 มิลลิกรัมต่อลิตร ต่อปริมาณคลอโรฟิลล์เอ ของสาหร่าย *Gloeocapsa* sp. ที่เลี้ยงในอาหาร M-18 ที่ pH 4 และได้รับแสงที่ 400 ไมโครโฟตอนต่อตารางเมตรต่อวินาที ที่ 25 องศา

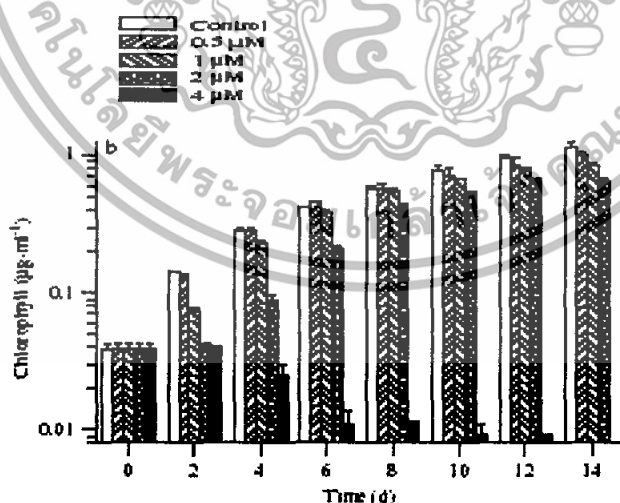
เซลล์เชื้อส เป็นเวลา 10 วัน วัดค่าทุก 2 วัน พบว่าปริมาณคลอโรฟิลล์จะลดลงมากกว่า 10 เปอร์เซ็นต์ และ 30 เปอร์เซ็นต์ เมื่อความเข้มข้นของตะกั่วเพิ่มขึ้นจาก 0 ถึง 2.5 และ 20 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ (ภาพที่ 11)



ภาพที่ 11 ปริมาณคลอโรฟิลล์เอ ระหว่างการเจริญเติบโตของ *Gloeocapsa* sp. ที่เลี้ยงภายใต้ความเข้มข้นของตะกั่วที่แตกต่างกัน

ที่มา : Raungsomboon *et al.* (2007)

เช่นเดียวกับ Zhou *et al.* (2006) ได้ทำการทดลองในไลหะแคดเมียมโดยศึกษา *Microcystis aeruginosa* ที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยง BG-11 ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ได้รับแสง 40 ไมโครโมลโฟตอนต่อตารางเมตรต่อวินาทีและได้รับความเข้มข้นของไลหะแคดเมียม (CdCl_2) เท่ากับ 0, 0.5, 1, 2 และ 4 ไมโครโมล เป็นเวลา 14 วัน พบว่าปริมาณคลอโรฟิลล์จะค่อยๆ ลดลงเมื่อความเข้มข้นของแคดเมียมยิ่งเพิ่มขึ้น โดยแคดเมียมที่ 4 ไมโครโมล แสดงถึงการยับยั้งการเจริญเติบโตมากที่สุด (ภาพที่ 12)



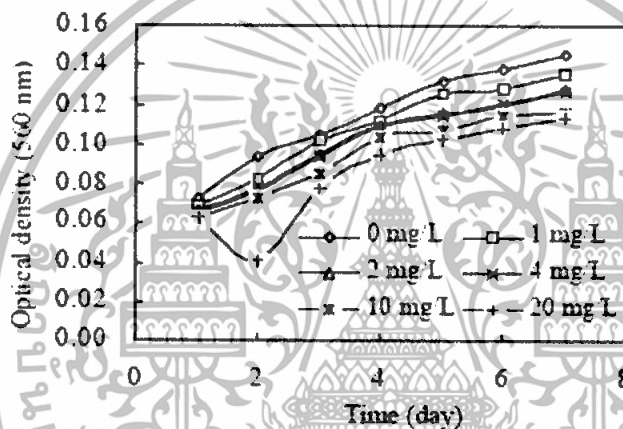
ภาพที่ 12 การเจริญเติบโตของ *Microcystis aeruginosa* ที่ได้รับความเข้มข้นของแคดเมียมที่แตกต่างกันโดยแสดงจากปริมาณคลอโรฟิลล์ mean±SD (n=3)

ที่มา : Zhou *et al.* (2006)

3. ผลของตะกั่วต่อการเจริญเติบโต (Optical density)

ค่า Optical density (OD) คือการวัดค่าการดูดกลืนแสง การตรวจวัดนี้จะอาศัยหลักเกณฑ์ว่า ถ้าเซลล์สาหร่ายมีปริมาณมาก แสงก็จะส่องผ่านเซลล์ไปได้มาก โดยค่าที่วัดได้คือการดูดกลืนแสง

Chen and Pan (2004) ได้ศึกษาถึงการยับยั้งการเจริญเติบโตของ *Spirulina* ที่เลี้ยงในอาหารเหลวสูตร zorrook ที่อุณหภูมิ 20~26 องศาเซลเซียส ภายใต้แสงสว่าง 40 วัตต์ เป็นเวลา 10 วัน โดยได้รับความเข้มข้นของสารละลายตะกั่วที่ 1, 2, 4, 10 และ 20 มิลลิกรัมต่อลิตร อัตราการเจริญเติบโตสามารถวัดได้ทุก 24 ชั่วโมง พบว่า การยับยั้งการเจริญเติบโตจะเพิ่มขึ้นเมื่อได้รับความเข้มข้นของตะกั่วที่สูงขึ้น โดยความเข้มข้นต่ำสุดที่มีผลในการยับยั้งการเจริญเติบโตคือ 10 มิลลิกรัมต่อลิตร และความเข้มข้นสูงสุดที่มีผลในการยับยั้งการเจริญเติบโตคือ 20 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งเป็นสาเหตุให้เซลล์ตายตั้งแต่วันแรกของการทดลอง แต่เซลล์ก็สามารถฟื้นคืนสภาพได้ในภายหลัง (ภาพที่ 13)

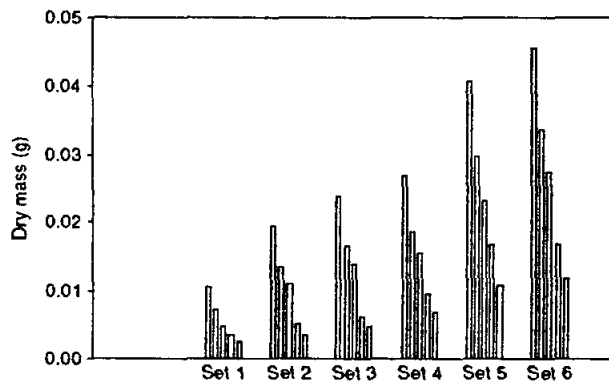


ภาพที่ 13 การเจริญเติบโตของ *Spirulina* ในสารละลายที่มีตะกั่ว ในแต่ละความเข้มข้น
ที่มา : Chen and Pan (2004)

4. ผลของตะกั่วต่อการเจริญเติบโต (น้ำหนักแห้ง)

เป็นวิธีการวัดการเจริญเติบโตของสาหร่ายวิธีหนึ่ง และ เป็นวิธีที่ดีที่สุด ส่วนใหญ่ใช้ในงานวิจัยที่ต้องการความละเอียดของผลงาน

Choudhary et al (2006) ได้ทดลองถึงผลของตะกั่ว ต่อการเจริญเติบโตของ *Spirulina platensis* ที่เลี้ยงในอาหารเหลวสูตร zarrook ที่ pH 9 อุณหภูมิ 30±1 องศาเซลเซียส โดยได้รับแสงสว่าง 2000±2001 ลักซ์ และได้รับความเข้มข้นของตะกั่ว ที่ระดับ 0.5, 0.10, 0.15 และ 0.20 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ เป็นเวลา 11 วัน พบว่าความเข้มข้นของโลหะหนักยิ่งเพิ่มขึ้น การเจริญเติบโตของสาหร่ายจะยิ่งลดลง วัดจากค่าน้ำหนักแห้งของสาหร่าย (ภาพที่ 14)



ภาพที่ 14 ผลของตะกั่ว ($Pb(NO_3)_2$) ต่อการเจริญเติบโตของ *Spirulina platensis* วัดในวันที่ 1, 3, 5, 7, 9 และ 11 (set1-set 6) และ ในแต่ละความเข้มข้น (แผนภูมิแท่งจากซ้ายไปขวา) 0.5, 0.10, 0.15 และ 0.20 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ

ที่มา: Choudhary *et al.* (2006)



อุปกรณ์และวิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

- | | |
|---------------------------------------|------------------|
| 1. ขวดน้ำเกลือ | 2. บีกเกอร์แก้ว |
| 3. หลอดแก้ว | 4. หลอดพลาสติก |
| 5. จานเลี้ยงเชื้อ | 6. ขวดรูปชมพู่ |
| 7. Volume metric flask | 8. กระบอกตวง |
| 9. Pipette | 10. Micropipette |
| 11. กรวยกรองพลาสติก | 12. ผ้ากรอง |
| 13. กระตงฟรอยด์ | 14. Lack |
| 15. แท่งแก้วคนสาร | 16. Cuvett แก้ว |
| 17. Vortex mixer | 18. ช้อนตักสาร |
| 19. เครื่องชั่งสาร | 20. Hot air oven |
| 21. Autoclave | 22. Larmina flow |
| 23. Spectrophotometer | 24. pH meter |
| 25. water bath | 26. Dessicater |
| 27. สายยาง | 28. ถุงพลาสติกดำ |
| 29. เครื่องวัดคลอโรฟิลล์ฟลูออเรสเซนซ์ | 30. น้ำกลั่น |

สารเคมี

- | | |
|--|---|
| 1. $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ 2,000 มิลลิกรัมต่อลิตร | 2. Na_2CO_3 5% |
| 3. $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 1% | 4. $\text{NaKC}_4\text{H}_6\text{O}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 2% |
| 5. Folin-Ciocalteu reagent | 6. NaOH 1 โมล |
| 7. bovine serum albumin (BSA) | 8. glucose |
| 9. phenol solution | 10. Con. H_2SO_4 (AR grade) |
| 11. metanol | 12. HNO_3 |

วิธีการ

แผนการทดลอง

1. ผลของตะกั่วต่อค่าการเรืองแสงของคลอโรฟิลล์ (chlorophyll fluorescence) ของ cyanobacteria

1.1. ผลของตะกั่วต่อ cyanobacteria ที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงที่มีความเข้มข้นลดลง 50 เปอร์เซ็นต์

การวางแผนการทดลอง กำหนดการวางแผนการทดลองเป็นระบบสุ่มทดลอง (Completely Randomized Design, CRD) โดยกำหนดความเข้มข้นของตะกั่วที่แตกต่างกันเป็นชุดการทดลอง (Treatment) ดังต่อไปนี้

ชุดการทดลองที่ 1 (Treatment 1) ความเข้มข้นของตะกั่ว 0 มิลลิกรัมต่อลิตร

ชุดการทดลองที่ 2 (Treatment 2) ความเข้มข้นของตะกั่ว 5 มิลลิกรัมต่อลิตร

ชุดการทดลองที่ 3 (Treatment 3) ความเข้มข้นของตะกั่ว 10 มิลลิกรัมต่อลิตร

ชุดการทดลองที่ 4 (Treatment 4) ความเข้มข้นของตะกั่ว 15 มิลลิกรัมต่อลิตร

ชุดการทดลองที่ 5 (Treatment 5) ความเข้มข้นของตะกั่ว 20 มิลลิกรัมต่อลิตร

แต่ละชุดการทดลองมี 3 ซ้ำ (Replication) โดยวัดค่าคลอโรฟิลล์ฟลูออเรสเซนซ์ ในสาหร่ายที่ทดลอง 8 ชนิด ได้แก่ *Oscillatoria* sp., *Hapalosiphon* sp., *Phormidium* sp., *Stigonema* sp., *Mastigocladopsis* sp., *Fischerella* sp., *Nostoc* sp. และ *Spirulina* sp.

1.2 ผลของตะกั่วต่อ cyanobacteria ที่เลี้ยงในน้ำก้น

วางแผนการทดลอง เช่นเดียวกับข้อ 1.1 แต่ใช้น้ำก้นเลี้ยงสาหร่ายแทนอาหารเลี้ยง 50 เปอร์เซ็นต์

2. ผลของตะกั่วต่อการเจริญเติบโตของ cyanobacteria ที่ pH ต่ำ

การวางแผนการทดลอง กำหนดการวางแผนการทดลองเป็นระบบสุ่มทดลอง (Completely Randomized Design, CRD) โดยกำหนดระดับ pH และความเข้มข้นของตะกั่วที่แตกต่างกันเป็นชุดการทดลอง (Treatment) ดังต่อไปนี้

ชุดการทดลองที่ 1 (Treatment 1) pH ปกติ + ความเข้มข้นของตะกั่ว 0 มิลลิกรัมต่อลิตร

ชุดการทดลองที่ 2 (Treatment 2) pH ต่ำ + ความเข้มข้นของตะกั่ว 0 มิลลิกรัมต่อลิตร

ชุดการทดลองที่ 3 (Treatment 3) pH ต่ำ + ความเข้มข้นของตะกั่ว 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร

ชุดการทดลองที่ 4 (Treatment 4) pH ต่ำ + ความเข้มข้นของตะกั่ว 5 มิลลิกรัมต่อลิตร

แต่ละชุดการทดลองมี 3 ซ้ำ (Replication) โดยวัดค่าการเจริญเติบโต (ปริมาณคลอโรฟิลล์, น้ำหนักแห้ง, ค่า pH ที่เปลี่ยนแปลงในรอบวัน, ปริมาณโปรตีน, ปริมาณคาร์โบไฮเดรตที่เซลล์สาหร่าย และ ปริมาณคาร์โบไฮเดรตในน้ำเลี้ยง) ของสาหร่ายที่ทดลอง 8 ชนิด ได้แก่ *Oscillatoria* sp., *Hapalosiphon* sp., *Phormidium* sp., *Stigonema* sp., *Mastigocladopsis* sp., *Fischerella* sp., *Nostoc* sp. และ *Spirulina* sp.

วิธีการทดลอง

เลี้ยงสาหร่าย 8 ชนิด ได้แก่ *Oscillatoria* sp., *Hapalosiphon* sp., *Phormidium* sp., *Stigonema* sp., *Mastigophora* sp., *Fischerella* sp., *Nostoc* sp. และ *Spirulina* sp. ก่อนการทดลอง 1 เดือน ในขวดน้ำเกลือขนาด 1 ลิตร โดยใช้ปุ๋ยสูตร Blue – Green (BG – 11 medium) ที่ pH 7 ที่ 25 – 27 °C

1. ผลของตะกั่วต่อค่าการเรืองแสงของคลอโรฟิลล์ (chlorophyll fluorescence) ของ cyanobacteria

1.1. ผลของตะกั่วต่อ cyanobacteria ที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงที่มีความเข้มข้นลดลง 50 เปอร์เซ็นต์

1.1.1. เตรียมอาหารเลี้ยงสาหร่ายสูตร BG-11 โดยลดความเข้มข้นของอาหารลง 50 เปอร์เซ็นต์ ที่ pH 6 นำไปclaveฆ่าเชื้อที่ 121 °C เป็นเวลา 20 นาที (ทิ้งไว้ให้เย็น)

1.1.2. นำอาหารเลี้ยงปริมาณ 100 มิลลิลิตรมาใส่หลอดทดลองขนาด 125 มิลลิลิตร

1.2.3. ชั่งสาหร่าย 1 กรัมต่อน้ำ 100 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลอง (ทำในสาหร่ายทุกชนิด ในตะกั่วทุกความเข้มข้น ความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ)

1.2.4. ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วนำมาวัดค่าคลอโรฟิลล์ฟลูออเรสเซนซ์ (ก่อนวัดต้องทิ้งไว้ในที่มืดเป็นเวลา 20 นาที)

1.2. ผลของตะกั่วต่อ cyanobacteria ที่เลี้ยงในน้ำกลั่น

1.2.1. เตรียมน้ำกลั่น ที่ pH 6 นำไปclaveฆ่าเชื้อที่ 121 °C เป็นเวลา 20 นาที (ทิ้งไว้ให้เย็น)

1.2.3. นำน้ำกลั่นปริมาณ 100 มิลลิลิตรมาใส่หลอดทดลองขนาด 125 มิลลิลิตร แล้วทำตามขั้นตอนตั้งแต่ข้อ 1.2.3-1.2.4

ค่าที่วัดได้จากคลอโรฟิลล์ฟลูออเรสเซนซ์

Fo คือ ค่าการเรืองแสงของโมเลกุลของคลอโรฟิลล์ที่ความเข้มของแสงต่ำ (fluorescent สีแดง)

Fm คือ ค่าการเรืองแสงของโมเลกุลของคลอโรฟิลล์ที่ความเข้มของแสงสูง (เท่าแสงแดดจัด)

Fv คือ ค่า variable F หาได้จาก $F_m - F_o = F_v$

Fv/Fm คือ ค่าประสิทธิภาพของปฏิกิริยาการสังเคราะห์แสงที่สูงสุดในศูนย์กลางการสังเคราะห์แสงที่ PSII (maximum PSII photochemical yield)

2. ผลของตะกั่วต่อการเจริญเติบโตของ cyanobacteria ที่ pH ต่ำ

2.1 เตรียมอาหารเหลวสูตร BG-11 (ไม่เติม EDTA) สำหรับเลี้ยงสาหร่าย *Oscillatoria* sp., *Hapalosiphon* sp., *Phormidium* sp., *Stigonema* sp., *Mastigocladopsis* sp., *Fischerella* sp. และ *Nostoc* sp. และอาหารเหลวสูตรสปรูไลน่า สำหรับเลี้ยง *spirulina* sp. ใส่ขวดน้ำเกลือขนาด 1 ลิตร

2.2 Clave ฆ่าเชื้อที่ 121 °C เป็นเวลา 20 นาที (ทิ้งไว้ให้เย็น)

2.3 วิธีการทดลอง

2.3.1 คำนวณตะกั่วที่ 2000 ppm เพื่อหาความเข้มข้นของตะกั่วที่ 2.5 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร

2.3.2 ใส่ตะกั่วที่ความเข้มข้นดังกล่าวในอาหารเลี้ยงสาหร่าย

2.3.3 เลี้ยงสาหร่ายในขวดทดลอง โดยเติมสาหร่าย 50 มิลลิลิตรต่ออาหารเลี้ยง 1000 มิลลิลิตร

2.3.4 แบ่งชุดการทดลอง 4 ชุด ชุดละ 3 ขั้ว ดังนี้ (ในสาหร่าย *Hapalosiphon* sp., *Phormidium* sp., *Stigonema* sp., *Mastigocladopsis* sp., *Fischerella* sp. และ *Nostoc* sp.)

-เลี้ยงสาหร่ายที่ pH 7 + ความเข้มข้นของตะกั่วที่ 0 มิลลิกรัมต่อลิตร

-เลี้ยงสาหร่ายที่ pH4.5+ ความเข้มข้นของตะกั่วที่ 0 มิลลิกรัมต่อลิตร

-เลี้ยงสาหร่ายที่ pH4.5+ ความเข้มข้นของตะกั่วที่ 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร

-เลี้ยงสาหร่ายที่ pH4.5+ ความเข้มข้นของตะกั่วที่ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร

Oscillatoria sp.

-เลี้ยงสาหร่ายที่ pH 7 + ความเข้มข้นของตะกั่วที่ 0 มิลลิกรัมต่อลิตร

-เลี้ยงสาหร่ายที่ pH5.5+ ความเข้มข้นของตะกั่วที่ 0 มิลลิกรัมต่อลิตร

-เลี้ยงสาหร่ายที่ pH5.5+ ความเข้มข้นของตะกั่วที่ 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร

-เลี้ยงสาหร่ายที่ pH5.5+ ความเข้มข้นของตะกั่วที่ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร

spirulina sp.

-เลี้ยงสาหร่ายที่ pH 7 + ความเข้มข้นของตะกั่วที่ 0 มิลลิกรัมต่อลิตร

-เลี้ยงสาหร่ายที่ pH6+ ความเข้มข้นของตะกั่วที่ 0 มิลลิกรัมต่อลิตร

-เลี้ยงสาหร่ายที่ pH6+ ความเข้มข้นของตะกั่วที่ 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร

-เลี้ยงสาหร่ายที่ pH6+ ความเข้มข้นของตะกั่วที่ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร

2.3.5 เลี้ยงสาหร่ายโดยให้อากาศ 24 ชั่วโมง ควบคุมการให้แสง 12:12 (มืด:สว่าง) และควบคุม pH ให้เท่ากับ pH เริ่มต้นทุกวัน

2.3.6 วัดค่าการเจริญเติบโตโดยวัด 3 วันต่อ 1 ครั้ง

- ปริมาณคลอโรฟิลล์

1. เก็บสาหร่าย 5 มิลลิลิตร แล้วนำมากรองเซลล์ ชุดเซลล์ใส่หลอดทดลอง เติมน้ำเมทานอล 5 มิลลิลิตร ใส่เม็ดแก๊ส แล้วปั่นด้วยวอร์เท็กซ์ให้เซลล์แตก

2. นำมาต้มใน water bath ที่อุณหภูมิ 70 °C เป็นเวลา 15 นาที (สีคล้ำยกระดาศพิษขู่)

3. วางทิ้งไว้ให้เย็น นำเข้าเครื่อง centrifuge ที่ 3000 รอบต่อ 5 นาที

4. วัดค่า absorbance ที่ 665 นาโนเมตร

วิธีการคำนวณ

ค่า absorbance $\times 12.65 =$ (มิลลิกรัมต่อลิตร)

- คำนวณน้ำหนักแห้ง

1. อบกระตังพรอยด์ที่อุณหภูมิ 105 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วทิ้งไว้ให้เย็นใน dessicater แล้วนำมาชั่งด้วยเครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง
2. เก็บสาหร่าย 5 มิลลิลิตร แล้วนำมากรองเซลล์ ชูดเซลล์ใส่กระตังพรอยด์ที่อบแล้ว
3. นำไปอบที่อุณหภูมิ 105 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วทิ้งไว้ให้เย็นใน dessicater แล้วนำมาชั่งด้วยเครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง

วิธีการคำนวณ

ค่าน้ำหนักแห้งของสาหร่าย (กรัมต่อลิตร) = กระตัง+สาหร่าย (อบแล้ว) - กระตังเปล่า (อบแล้ว)

- ปริมาณโปรตีน : Lowry's method

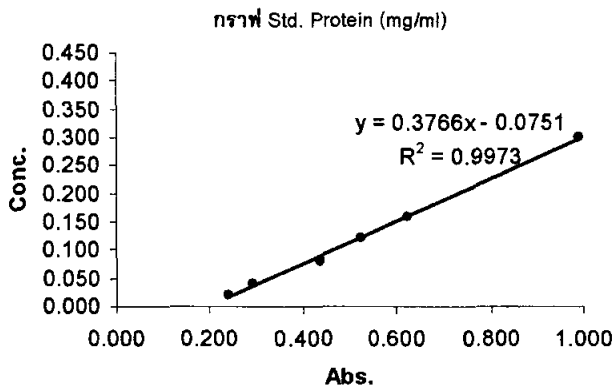
1. เตรียมสาร : Reagent A : 5%Na₂CO₃
 : Reagent B : 1%CuSO₄.5H₂O
 : Reagent C : 2% NaKC₄H₆O₈.4H₂O
 : Reagent D : ผสมสาร A 50 มิลลิลิตร+สาร B 1 มิลลิลิตร+สาร C (เตรียมใหม่ๆ)
 : Folin-Ciocalteu reagent (dilute 1:1 ด้วยน้ำกลั่น)
 : NaOH 1 โมล
2. เก็บสาหร่าย 0.5 มิลลิลิตร แล้วนำมากรองเซลล์ ชูดเซลล์ใส่หลอดทดลอง เต็ม NaOH ปริมาตร 5 มิลลิลิตร แล้วนำไปต้มเป็นเวลา 20 นาที
3. เติมสาร D ปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร ลงในแต่ละหลอดทดลอง บั่นด้วยวอร์เท็กซ์ ทิ้งไว้ 10 นาที แล้วเติม Folin-Ciocalteu reagent 0.5 มิลลิลิตร ทิ้งไว้ 30 นาที
4. วัดค่า absorbance ที่ 750 นาโนเมตร
5. เตรียม standard curve: จาก stock ของสาร bovine serum albumin (BSA) ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ทำเป็นสารละลายเจือจางที่ 0, 10, 20, 40, 60, 80, 100, 150, 200 ไมโครกรัมต่อ 0.5 มิลลิลิตร

วิธีการคำนวณ

แทนค่าในสมการที่หาจาก กราฟมาตรฐาน $Y = 0.3766x - 0.0751$ (ภาพที่ 15)

เมื่อ x คือ ค่า absorbance

แล้วทำเป็นหน่วย มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้งของสาหร่าย



ภาพที่ 15 กราฟแสดงค่ามาตรฐานของโปรตีน

- ปริมาณคาร์โบไฮเดรต : Phenol – Sulphuric method

1. เตรียมสาร : สารละลายมาตรฐานของ กลูโคส

: สารละลายฟีนอล 5 กรัมต่อ 100 มิลลิลิตร

: กรด H_2SO_4 (AR grade)

2. แบ่งเป็นคาร์โบไฮเดรตจากเซลล์สาหร่าย และ คาร์โบไฮเดรตที่ละลายในน้ำ

3 การหาปริมาณคาร์โบไฮเดรตจากเซลล์สาหร่าย โดยเก็บสาหร่าย 1 มิลลิลิตร แล้ว

4. นำมากรองเซลล์ ชูตเซลล์ให้หลุดทดลอง เติมสารละลายฟีนอล 1 มิลลิลิตร แล้วปั่นในวอร์เท็กซ์

5. เติมกรด H_2SO_4 ปริมาตร 5 มิลลิลิตร (ให้เสร็จภายใน 20 วินาที)

6. ทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที

7. วัดค่า absorbance ที่ 485 นาโนเมตร

8. หาปริมาณคาร์โบไฮเดรตที่ละลายในน้ำ โดยเก็บน้ำเลี้ยง 0.1 มิลลิลิตร แล้วนำมาเติมน้ำกลั่น 0.9 มิลลิลิตร เติมสารละลายฟีนอล 1 มิลลิลิตร แล้วปั่นในวอร์เท็กซ์

9. ทำการทดลองตามข้อ 5-7

10. เตรียม standard curve: จาก stock ของสารละลายกลูโคส ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ทำเป็นสารละลายเจือจางที่ 0, 10, 20, 40, 60, 80, 100, 150, 200 ไมโครกรัมต่อ 1 มิลลิลิตร

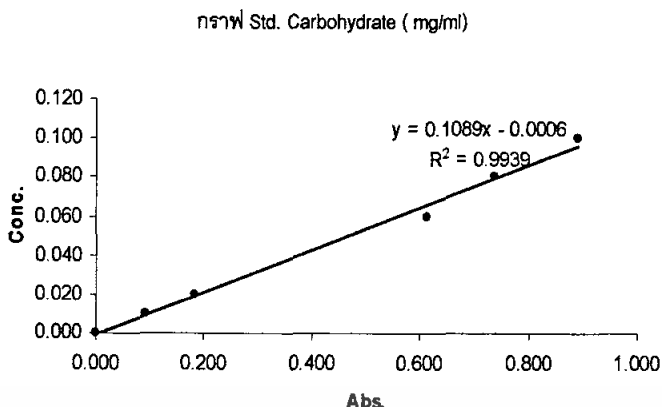
วิธีการคำนวณ

แทนค่าในสมการที่หาจาก กราฟมาตรฐาน $Y = 0.1089X - 0.0006$ (ภาพที่ 16)

เมื่อ x คือ ค่า absorbance

คาร์โบไฮเดรตจากเซลล์สาหร่ายทำเป็นหน่วย มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้งของสาหร่าย

คาร์โบไฮเดรตที่อยู่ในน้ำเลี้ยงทำเป็นหน่วย มิลลิกรัมต่อลิตร



ภาพที่ 16 กราฟแสดงค่ามาตรฐานของคาร์โบไฮเดรต
การวิเคราะห์ผล

นำข้อมูลต่าง ๆ ที่บันทึกได้นำมาวิเคราะห์เบื้องต้นโดยใช้โปรแกรม Microsoft Excel และใช้โปรแกรม SPSS version 10 เป็นโปรแกรมในการวิเคราะห์แบบ CRD เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยระหว่างชุดการทดลองตามวิธี DMRT (Duncan's new multiple range test) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ของข้อมูล

สถานที่ทำการทดลอง

- 1.ห้องปฏิบัติการ ภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
- 2.ห้องปฏิบัติการ ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล คณะวิทยาศาสตร์มหาวิทยาลัยจุฬาลงกรณ์

ระยะเวลาในการทดลอง

ตั้งแต่เดือนพฤศจิกายน 2550 ถึง เดือนมีนาคม 2550

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. ผลของตะกั่วต่อค่าการเรืองแสงของคลอโรฟิลล์ (chlorophyll fluorescence) ของ cyanobacteria

1.1 ผลของตะกั่วต่อ cyanobacteria ที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงที่มีความเข้มข้นลดลง 50 เปอร์เซ็นต์ ปฏิบัติการสังเคราะห์แสงของคลอโรฟิลล์ ศึกษาจากการเรืองแสงของคลอโรฟิลล์ โดยการทดลองในสาหร่าย cyanobacteria ชนิด *Hapalosiphon* sp., *Mastigocladopsis* sp., *Nostoc* sp., *Phormidium* sp., *Stigonema* sp., *Fischerella* sp., *Spirulina* sp. และ *Oscillatoria* sp. ที่เลี้ยงในอาหารที่มีความเข้มข้นลดลง 50 เปอร์เซ็นต์ ที่ระดับ pH6 และเติมตะกั่วความเข้มข้นเท่ากับ 0, 5, 10, 15 และ 20 มิลลิกรัมต่อลิตร เลี้ยงเป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่า ปฏิบัติการเรืองแสงของคลอโรฟิลล์ที่อุณหภูมิห้องแสดงได้จากค่าประสิทธิภาพของปฏิบัติการสังเคราะห์แสงที่สูงสุดในศูนย์กลางการสังเคราะห์แสงที่ PSII (maximum PSII photochemical yield) (Fv/Fm) พบว่า สาหร่ายแต่ละชนิดมีความทนต่อความเป็นพิษของตะกั่วที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ได้แตกต่างกัน (ตารางที่ 1) และปริมาณความเข้มข้นของตะกั่วที่ 20 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่งผลให้สาหร่ายทุกชนิดมีค่า Fv/Fm น้อยที่สุด โดยในสาหร่าย *Hapalosiphon* sp.(0.44±0.04), *Nostoc* sp.(0.04±0.00), *Oscillatoria* sp.(0.23±0.00), *Stigonema* sp.(0.26±0.02), *Fischerella* sp.(0.11±0.00), *Phormidium* sp.(0.26±0.01) และ *Spirulina* sp.(0.09 ± 0.00) ซึ่งพบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับความเข้มข้นของตะกั่วที่ 0 มิลลิกรัมต่อลิตร (ชุดควบคุม) ยกเว้นในสาหร่าย *Mastigocladopsis* sp.(0.44±0.06) พบว่าไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับความเข้มข้นของตะกั่วที่ 0 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยเปอร์เซ็นต์ที่ลดลงจากกลุ่มควบคุมเมื่อได้รับความเข้มข้นของตะกั่วสูงสุดที่ 20 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าในสาหร่าย *Hapalosiphon* sp.(18.89%), *Nostoc* sp.(66.98%), *Oscillatoria* sp.(39.06%), *Stigonema* sp.(30.31%), *Fischerella* sp.(65.56%), *Phormidium* sp.(33.24%), *Mastigocladopsis* sp.(18.80%) และ *Spirulina* sp.(50.31%) (ตารางที่ 2) ดังนั้นสาหร่ายที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงที่มีความเข้มข้นลด 50% แล้วสามารถทนพิษของตะกั่วที่ความเข้มข้นสูงสุดคือ 20 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 24 ชั่วโมงคือ *Mastigocladopsis* sp. และ *Hapalosiphon* sp.

ตารางที่ 1 ค่า Fv/Fm ของสาหร่ายชนิดต่างๆ ที่ได้รับปริมาณความเข้มข้นของตะกั่วที่แตกต่างกัน ในอาหารเลี้ยงที่มีความเข้มข้นลดลง 50 เปอร์เซ็นต์เป็นเวลา 24 ชั่วโมง (mean±S.E)

| Pb(mg/l) | สาหร่าย | | | | | | | | |
|----------|------------------------|------------------------|-------------------------|------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|------------------------|--|
| | Nostoc sp. | Fischerella sp. | Oscillatoria sp. | Spirulina sp. | Stigonema sp. | Phormidium sp. | Hapalosiphon sp. | Mastigocladopsis sp. | |
| 0 | 0.13±0.02 ^a | 0.32±0.02 ^a | 0.37±0.01 ^a | 0.19±0.02 ^a | 0.37±0.02 ^a | 0.48±0.00 ^a | 0.55±0.03 ^a | 0.54±0.07 ^a | |
| 5 | 0.13±0.00 ^a | 0.20±0.01 ^b | 0.31±0.01 ^{bc} | 0.17±0.00 ^a | 0.36±0.06 ^{ab} | 0.41±0.01 ^{ab} | 0.51±0.02 ^{ab} | 0.51±0.03 ^a | |
| 10 | 0.09±0.00 ^b | 0.19±0.00 ^b | 0.32±0.00 ^b | 0.11±0.01 ^b | 0.36±0.02 ^{ab} | 0.34±0.05 ^{bc} | 0.49±0.01 ^{ab} | 0.48±0.05 ^a | |
| 15 | 0.05±0.00 ^c | 0.15±0.00 ^c | 0.29±0.03 ^c | 0.10±0.01 ^b | 0.26±0.01 ^{bc} | 0.30±0.02 ^c | 0.48±0.03 ^{ab} | 0.48±0.05 ^a | |
| 20 | 0.04±0.00 ^c | 0.11±0.00 ^c | 0.23±0.00 ^d | 0.09±0.00 ^b | 0.26±0.02 ^c | 0.26±0.01 ^c | 0.44±0.04 ^b | 0.44±0.06 ^a | |

หมายเหตุ ตัวอักษรพิมพ์เล็กในแนวแถวตั้งเดียวกันที่แตกต่างกัน คือมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ (P<0.05)

ตารางที่ 2 ค่า Fv/Fm (เปอร์เซ็นต์ที่ลดลงจากกลุ่มควบคุม) ของสาหร่ายชนิดต่างๆ ที่ได้รับปริมาณความเข้มข้นของตะกั่วที่แตกต่างกันที่เลี้ยงในน้ำกลั่นเป็นเวลา 24 ชั่วโมง (mean±S.E.)

| ความเข้มข้น Pb(mg/l) | เปอร์เซ็นต์ที่ลดลง(%) | | | | | | | | |
|-------------------------|-----------------------|---------------------------|----------------------------|-------------------------|-------------------------|--------------------------|----------------------------|--------------------------------|--|
| | <i>Nostoc</i> sp. | <i>Fischerella</i> sp. | <i>Oscillatoria</i> sp. | <i>Spirulina</i> sp. | <i>Stigonema</i> sp. | <i>Phormidium</i> sp. | <i>Hapalosiphon</i> sp. | <i>Mastigocladopsis</i> sp. | |
| 5 | 5.11 | 37.61 | 15.57 | 7.28 | 2.42 | 14.47 | 6.28 | 5.81 | |
| 10 | 35.68 | 41.01 | 13.16 | 43.10 | 2.02 | 28.88 | 10.11 | 10.75 | |
| 15 | 60.37 | 54.42 | 22.85 | 45.84 | 29.37 | 36.62 | 11.12 | 10.69 | |
| 20 | 66.98 | 65.56 | 39.06 | 50.31 | 30.31 | 33.24 | 18.89 | 18.80 | |

1.2 ผลของตะกั่วต่อ cyanobacteria ที่เลี้ยงในน้ำกลั่น

โดยการทดลองในสาหร่าย cyanobacteria ชนิด *Hapalosiphon* sp., *Mastigocladopsis* sp., *Nostoc* sp., *Phormidium* sp., *Stigonema* sp., *Fischerella* sp., *Spirulina* sp. และ *Oscillatoria* sp. ที่เลี้ยงในน้ำกลั่น ระดับ pH6 และเติมตะกั่วความเข้มข้นเท่ากับ 0, 5, 10, 15 และ 20 มิลลิกรัมต่อลิตร เลี้ยงเป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่า ในสาหร่ายแต่ละชนิดมีสามารถทนต่อความเป็นพิษของตะกั่วที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ได้แตกต่างกัน (ตารางที่ 3) และปริมาณความเข้มข้นของตะกั่วที่ 20 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่งผลให้สาหร่ายทุกชนิดมีค่า Fv/Fm น้อยที่สุด โดยในสาหร่าย *Hapalosiphon* sp.(0.50±0.04), *Nostoc* sp.(0.12±0.01), *Oscillatoria* sp.(0.06±0.00), *Stigonema* sp.(0.00±0.00), *Fischerella* sp.(0.04±0.02), *Phormidium* sp.(0.36±0.01), *Mastigocladopsis* sp.(0.51±0.03) และ *Spirulina* sp.(0.05±0.01) ซึ่งพบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับความเข้มข้นของตะกั่วที่ 0 มิลลิกรัมต่อลิตร (ชุดควบคุม) โดยเปอร์เซ็นต์ที่ลดลงจากกลุ่มควบคุมเมื่อได้รับความเข้มข้นของตะกั่วสูงสุดที่ 20 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าในสาหร่าย *Hapalosiphon* sp.(42.16%), *Nostoc* sp.(52.34%), *Oscillatoria* sp.(84.54%), *Stigonema* sp.(100%), *Fischerella* sp.(91.33%), *Phormidium* sp.(42.56%), *Mastigocladopsis* sp.(35.62%) และ *Spirulina* sp.(66.32%)(ตารางที่ 4) ดังนั้นสาหร่ายที่เลี้ยงในน้ำกลั่นแล้วสามารถทนพิษของตะกั่วที่ความเข้มข้นสูงสุดคือ 20 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 24 ชั่วโมงคือ *Mastigocladopsis* sp

การเรืองแสงของคลอโรฟิลล์ที่อุณหภูมิห้องเกี่ยวข้องกับศูนย์กลางการสังเคราะห์แสงที่ PSII การเปลี่ยนแปลงเบื้องต้นของปริมาณคลอโรฟิลล์ฟลูออเรสเซนส์ จะสะท้อนให้ถึงปฏิกิริยาที่ PSII เพราะการทำหน้าที่ของระบบที่ PSII ของปฏิกิริยาการสังเคราะห์แสง จะมีความไวในอัตรากว้างต่อความเครียดที่เกิดจากการเปลี่ยนแปลงของสิ่งแวดล้อม เช่นการได้รับพิษของโลหะหนักในแหล่งน้ำ (Lu *et al.*, 2000) ดังในการทดลองที่ 1.1 และ 1.2 พบว่าในสาหร่ายแต่ละชนิด เมื่อได้รับความเข้มข้นของตะกั่วที่ความเข้มข้นต่างๆ ค่าประสิทธิภาพของปฏิกิริยาการสังเคราะห์แสงที่สูงสุดในศูนย์กลางการสังเคราะห์แสงที่ PSII (Fv/Fm) จะมีค่าลดลงโดยเฉพาะการได้รับตะกั่วที่มีความเข้มข้นสูงๆ สำหรับการศึกษานี้ของ Zhou *et al.* (2006) ที่ทำการทดลองเลี้ยง *Microcystis aeruginosa* ในอาหารเลี้ยง BG-11 และได้รับความเข้มข้นของแคดเมียม (CdCl₂) เท่ากับ 0.5, 1, 2 และ 4 ไมโครโมล เป็นเวลา 48 ชั่วโมง แล้วนำมาวิเคราะห์คลอโรฟิลล์ฟลูออเรสเซนส์ เพื่อหาผลผลิตของปฏิกิริยาการสังเคราะห์แสงสูงสุดที่ PSII (Fv/Fm) พบว่า *Microcystis* ที่ได้รับความเข้มข้นของแคดเมียมที่ 4 ไมโครโมล ภายหลัง

จาก 48 ชั่วโมง ค่า Fv/Fm จะลดลงมากที่สุด (ลดลง 21%) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม และ Lu et al.(2000) ได้ทดลองถึงผลของปรอท (Hg) ที่ความเข้มข้น 0, 5, 10, 15 และ 20 ไมโครโมล ต่อ *Spirulina platensis* โดยการวิเคราะห์คลอโรฟิลล์ฟลูออเรสเซนส์ พบว่า ค่า Fv/Fm จะลดลงมากที่สุด (ลดลง 15%) ภายหลังจากเซลล์ได้รับ Hg ที่ความเข้มข้นเท่ากับ 20 ไมโครโมล ที่เวลา 2 ชั่วโมงเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม



ตารางที่ 3 ค่า Fv/Fm ของสาหร่ายชนิดต่างๆ ที่ได้รับปริมาณความเข้มข้นของตะกั่วที่แตกต่างกันที่เลี้ยงในน้ำกลั่นเป็นเวลา 24 ชั่วโมง (mean±S.E)

| ความเข้มข้น Pb(mg/l) | สาหร่าย | | | | | | | |
|-------------------------|-------------------------|---------------------------|----------------------------|--------------------------|-------------------------|--------------------------|----------------------------|--------------------------------|
| | <i>Nostoc</i> sp. | <i>Fischerella</i> sp. | <i>Oscillatoria</i> sp. | <i>Spirulina</i> sp. | <i>Stigonema</i> sp. | <i>Phormidium</i> sp. | <i>Hapalosiphon</i> sp. | <i>Mastigocladopsis</i> sp. |
| 0 | 0.45±0.02 ^b | 0.46±0.00 ^a | 0.36±0.01 ^a | 0.15 ± 0.01 ^a | 0.33± 0.02 ^a | 0.63 ± 0.03 ^a | 0.86±0.07 ^a | 0.79±0.09 ^a |
| 5 | 0.27±0.04 ^a | 0.37±0.01 ^b | 0.21±0.01 ^b | 0.13±0.00 ^b | 0.21±0.01 ^b | 0.53±0.04 ^{bc} | 0.62±0.01 ^{bc} | 0.64±0.01 ^{ab} |
| 10 | 0.16±0.01 ^{bc} | 0.30±0.02 ^c | 0.16±0.00 ^b | 0.09±0.00 ^c | 0.04±0.00 ^c | 0.50±0.03 ^b | 0.61±0.02 ^b | 0.61±0.00 ^b |
| 15 | 0.16±0.00 ^c | 0.11±0.01 ^d | 0.12±0.03 ^c | 0.06±0.00 ^d | 0.00±0.00 ^d | 0.42±0.03 ^{cd} | 0.57±0.02 ^{cd} | 0.53±0.03 ^b |
| 20 | 0.12±0.01 ^d | 0.04±0.02 ^e | 0.06±0.00 ^d | 0.05±0.01 ^d | 0.00±0.00 ^d | 0.36±0.01 ^d | 0.50±0.04 ^d | 0.51±0.03 ^b |

หมายเหตุ ตัวอักษรพิมพ์เล็กในแนวแถวตั้งเดียวกันที่แตกต่างกัน คือมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์ (P<0.05)

ตารางที่ 4 ค่า Fv/Fm (เปอร์เซ็นต์ที่ลดลงจากกลุ่มควบคุม) ของสาหร่ายชนิดต่างๆ ที่ได้รับปริมาณความเข้มข้นของตะกั่วที่แตกต่างกันที่เลี้ยงในน้ำกลั่นเป็นเวลา 24

ชั่วโมง (mean±S.E.)

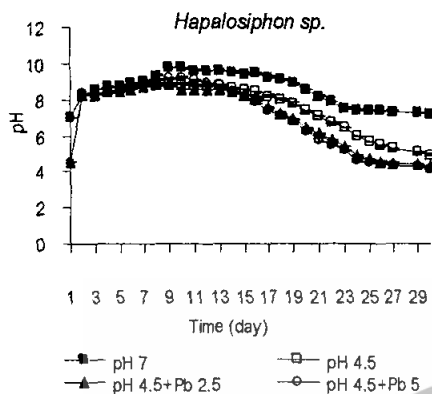
| Pb(mg/l) | เปอร์เซ็นต์ที่ลดลง(%) | | | | | | | | |
|----------|-----------------------|--------------------|---------------------|------------------|------------------|-------------------|---------------------|-------------------------|--|
| | Nostoc sp. | Fischerella sp. | Oscillatoria sp. | Spirulina sp. | Stigonema sp. | Phormidium sp. | Hapalosiphon sp. | Mastigocladopsis sp. | |
| 5 | 21.19 | 19.32 | 40.49 | 16.24 | 37.03 | 15.43 | 27.40 | 18.95 | |
| 10 | 41.30 | 34.43 | 47.25 | 41.37 | 87.23 | 20.47 | 26.15 | 22.53 | |
| 15 | 51.63 | 76.27 | 67.02 | 57.67 | 98.85 | 33.29 | 33.19 | 32.50 | |
| 20 | 52.34 | 91.33 | 84.54 | 66.32 | 100 | 42.56 | 42.16 | 35.62 | |

2. ผลของตะกั่วต่อการเจริญเติบโตของ cyanobacteria ที่ pH ต่ำ

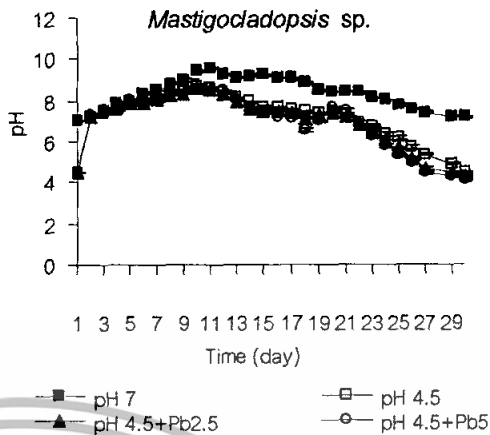
2.1 การเปลี่ยนแปลงค่า pH ในการเลี้ยง cyanobacteria ในอาหารเลี้ยงที่มีตะกั่ว

จากการศึกษาค่า pH ที่เปลี่ยนแปลงของ cyanobacteria ที่เลี้ยงใน 4 สภาวะคือ ในอาหารเลี้ยงที่ pH7 โดยไม่มีการเติมตะกั่ว (pH7+Pb0) และเลี้ยงในสภาวะเครียดที่ pH4.5 โดยไม่มีการเติมตะกั่ว (pH4.5+Pb0), pH4.5 โดยการเติมตะกั่วเท่ากับ 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร (pH4.5+Pb2.5), pH4.5 โดยการเติมตะกั่วเท่ากับ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร (pH4.5+Pb5) ในสาหร่าย cyanobacteria ชนิด *Hapalosiphon* sp., *Mastigocladopsis* sp., *Nostoc* sp., *Phormidium* sp., *Stigonema* sp. และ *Fischerella* sp. ส่วนในสาหร่ายชนิด *Spirulina* sp. ศึกษาในอาหารเลี้ยงที่ pH7 โดยไม่มีการเติมตะกั่ว (pH7+Pb0), ในอาหารเลี้ยงที่ pH6 โดยไม่มีการเติมตะกั่ว (pH6+Pb0) และเลี้ยงในสภาวะเครียดที่ pH6 โดยการเติมตะกั่วเท่ากับ 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร (pH6+Pb2.5) และ ที่ pH6 โดยการเติมตะกั่วเท่ากับ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร (pH6+Pb5) และ สาหร่ายชนิด *Osillatoria* sp. ศึกษาในอาหารเลี้ยงที่ pH7 โดยไม่มีการเติมตะกั่ว (pH7+Pb0) และเลี้ยงในสภาวะเครียดที่ pH5.5 โดยไม่มีการเติมตะกั่ว (pH5.5+Pb0), ที่ pH5.5 โดยการเติมตะกั่วเท่ากับ 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร (pH5.5+Pb2.5) และที่ pH5.5 โดยการเติมตะกั่วเท่ากับ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร (pH5.5+Pb5) เป็นเวลา 30 วัน วัดค่า pH ที่เปลี่ยนแปลงทุกวัน และทำการปรับระดับของ pH ให้เท่ากับค่าที่ทดลองครั้งแรกทุกวัน พบว่า สาหร่ายทุกชนิดมีแนวโน้มของระดับ pH เป็นไปในทิศทางเดียวกัน คือในช่วงแรก ค่า pH ในสาหร่ายแต่ละชนิดจะเพิ่มขึ้น หลังจากนั้นจะค่อยๆ ลดลง โดยสภาวะปกติ (pH7) มีการเปลี่ยนแปลงไม่มากและมีการลดลงไม่มาก แต่ที่สภาวะเครียดพบว่า ระดับ pH มีการลดลงอย่างรวดเร็วในระยะหลัง โดยเฉพาะสาหร่ายที่ได้รับสภาวะเครียดจากตะกั่วที่ความเข้มข้นเท่ากับ 2.5 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ค่า pH จะลดลงมากที่สุด (ภาพที่ 17)

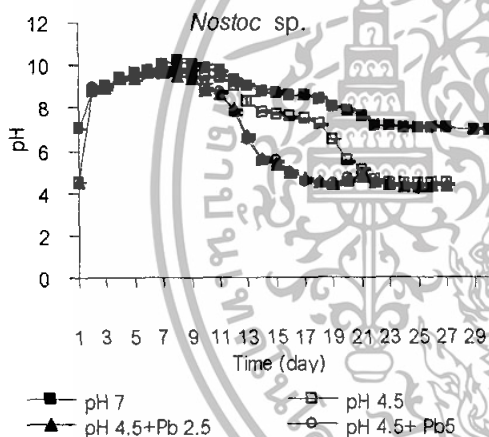
A. *Hapalosiphon* sp.



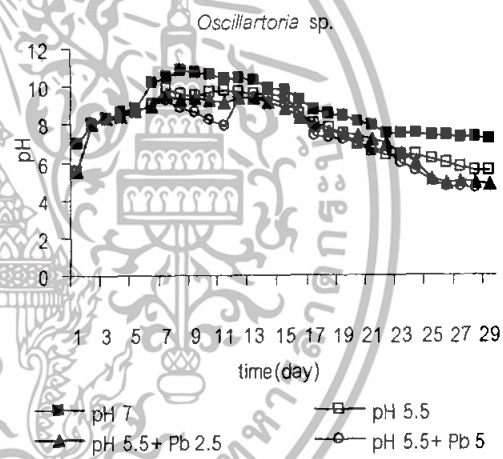
B. *Mastigocladopsis* sp.



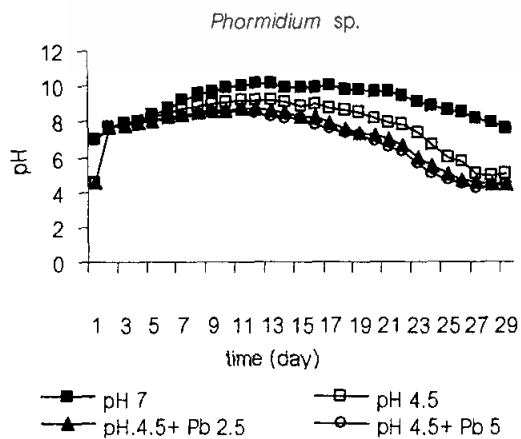
C. *Nostoc* sp.



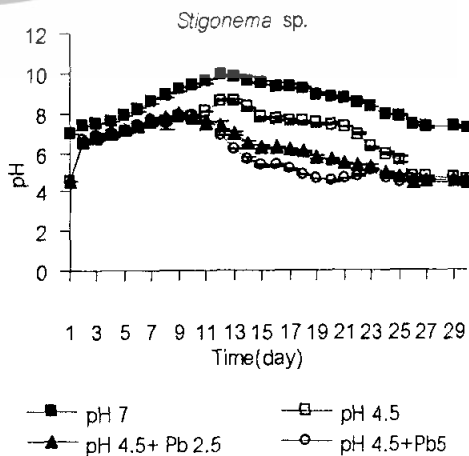
D. *Oscillatoria* sp.

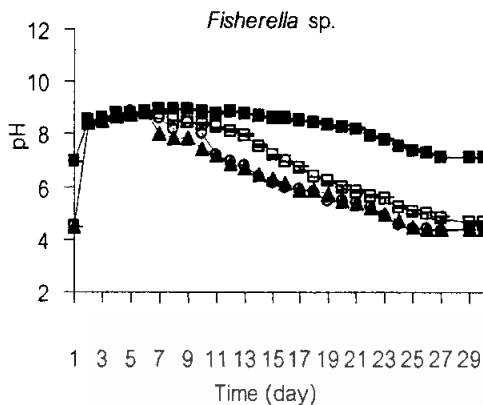
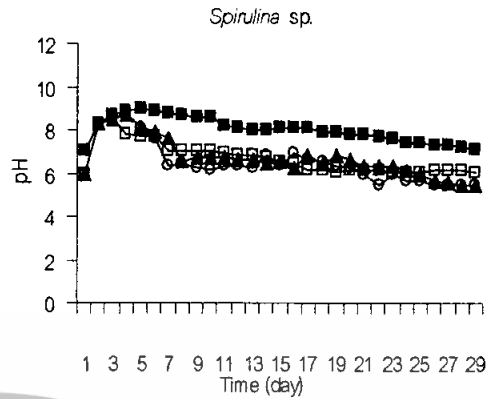


E. *Phormidium* sp.



F. *Stigonema* sp.



G. *Fischerella* sp.H. *Spirulina* sp.

ภาพที่ 17 การเปลี่ยนแปลงระดับ pH ของสาหร่ายแต่ละชนิด *A. Hapalosiphon* sp.

B. Mastigocladopsis sp., *C. Nostoc* sp., *D. Oscillatoria* sp., *E. Phormidium* sp.,
F. Stigonema sp., *G. Fischerella* sp. และ *H. Spirulina* sp.

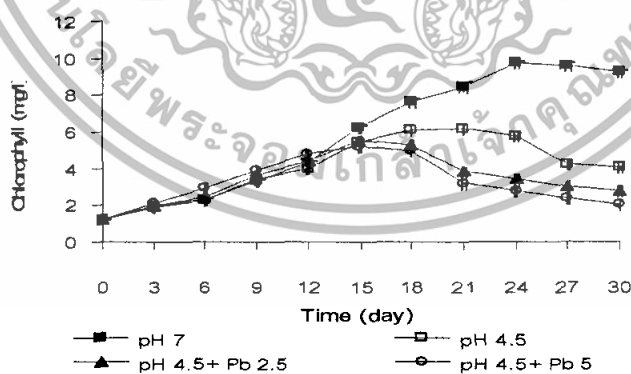
การเปลี่ยนแปลงค่า pH ของสาหร่ายในช่วงแรก เนื่องจากสาหร่ายมีการเจริญเติบโต ค่า pH จึงเพิ่มสูงขึ้นเรื่อยๆ หลังจากนั้นที่ pH ปกติ จะลดลงเล็กน้อยเนื่องจากสาหร่ายเริ่มเข้าสู่ระยะตาย (Death phase) แต่สาหร่ายที่เลี้ยงในสภาวะเครียด ค่า pH จะเพิ่มขึ้นแล้วค่อยๆ ลดลง เนื่องจากปริมาณของเซลล์สาหร่ายถูกทำลาย การเจริญเติบโตจึงลดลง ค่า pH ก็ลดลง

เนื่องจากสาหร่ายในกลุ่ม cyanobacteria จะเจริญเติบโตได้ดีในน้ำที่มีสภาพเป็นกลางจนถึงสภาพเป็นด่าง หรือ pH ประมาณ 6.5-7.5 ถ้าได้รับผลกระทบต่างๆ จากสิ่งแวดล้อมสาหร่ายจะไม่สามารถเจริญเติบโตหรืออาจตายได้ pH ของสาหร่ายจึงลดลง (ลัดดา, 2543) แต่สาหร่ายก็สามารถเจริญเติบโตได้ที่ pH ต่ำ เนื่องจากการมีกลไกในการป้องกันเซลล์ โดยมีการดึงพวกประจุบวกลดลง (NH_4^+ , Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Cu^{2+} , และ Ni^{2+}) และเพิ่มการดึงประจุลบ (NO_3^- และ PO_4^{3-}) และยังสามารถพัฒนาผนังเซลล์ให้สามารถจับได้พวกประจุบวกออกนอกเซลล์ได้ (Rai et al., 1996)

2.2 ผลของ Pb ต่อปริมาณคลอโรฟิลล์ของ cyanobacteria ที่เลี้ยงในระดับ pH ต่ำ

Pb และ pH เป็นปัจจัยที่มีผลต่อปริมาณคลอโรฟิลล์ของ cyanobacteria ซึ่งจากการศึกษาผลของ Pb ร่วมกับ pH ใน 4 สภาวะ คือ เลี้ยงในอาหารเลี้ยงที่ pH 7 โดยไม่มีการเติมตะกั่ว (pH7+Pb0) และเลี้ยงที่สภาวะเครียดคือที่ pH 4.5 โดยไม่มีการเติมตะกั่ว (pH4.5+Pb0) ที่ pH 4.5 โดยการเติม

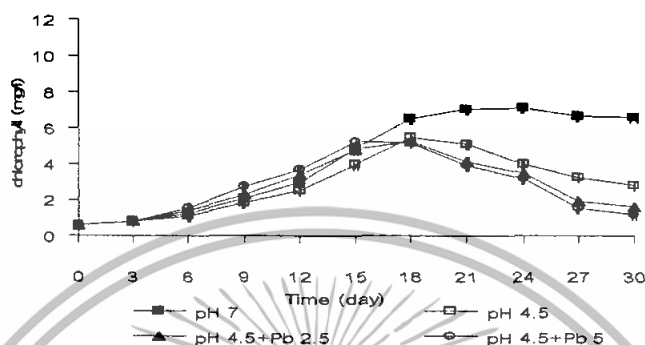
ตะกั่วเท่ากับ 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร (pH4.5+Pb2.5) และเลี้ยงที่ pH4.5 โดยการเติมตะกั่วเท่ากับ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร (pH4.5+Pb5) ในสาหร่าย cyanobacteria ชนิด *Hapalosiphon* sp., *Mastigocladopsis* sp., *Nostoc* sp., *Phormidium* sp., *Stigonema* sp. และ *Fischerella* sp. ส่วนในสาหร่ายชนิด *Spirulina* sp. ศึกษาในอาหารเลี้ยงที่ pH 7 โดยไม่มีการเติมตะกั่ว (pH7+Pb0), เลี้ยงในอาหารเลี้ยงที่ pH 6 โดยไม่มีการเติมตะกั่ว (pH6+Pb0), เลี้ยงในอาหารเลี้ยงที่ pH6 โดยการเติมตะกั่วเท่ากับ 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร (pH6+Pb2.5) และเลี้ยงในอาหารเลี้ยงที่ pH6 โดยการเติมตะกั่วเท่ากับ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร (pH6+Pb5) และ สาหร่ายชนิด *Osillatoria* sp. ศึกษาในอาหารเลี้ยงที่ pH7 โดยไม่มีการเติมตะกั่ว (pH7+Pb0), เลี้ยงในอาหารเลี้ยงที่ pH5.5 โดยไม่มีการเติมตะกั่ว (pH5.5+Pb0), เลี้ยงในอาหารเลี้ยงที่ pH5.5 โดยการเติมตะกั่วเท่ากับ 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร (pH5.5+Pb2.5) และเลี้ยงในอาหารเลี้ยงที่ pH5.5 โดยการเติมตะกั่วเท่ากับ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร (pH5.5+Pb5) เป็นเวลา 30 วัน พบว่า *Hapalosiphon* sp. ที่เลี้ยงในทุกสภาวะเมื่อเริ่มการทดลองปริมาณคลอโรฟิลล์มีแนวโน้มใกล้เคียงกัน (ภาพที่ 18) แต่หลังจากนั้นจนถึงสิ้นสุดการทดลอง pH7+Pb0 ปริมาณคลอโรฟิลล์จะเพิ่มขึ้นและสูงสุดในวันที่ 24 คือ 9.72 ± 0.12 มิลลิกรัมต่อลิตร ในสภาวะเครียด (pH4.5+Pb0, pH4.5+Pb2.5 และ pH4.5+Pb5) มีแนวโน้มลดลงเรื่อยๆ เมื่อสิ้นสุดการทดลอง pH4.5+Pb5 จะมีปริมาณน้อยที่สุดคือ 2.00 ± 0.04 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับทุกสภาวะการเลี้ยง (ตารางที่ 5) ลดลง 78.39 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม (ตารางที่ 6)



ภาพที่ 18 ปริมาณคลอโรฟิลล์ (มิลลิกรัมต่อลิตร) ของ *Hapalosiphon* sp. ที่เลี้ยงภายใต้สภาวะที่แตกต่างกัน (mean \pm S.E.)

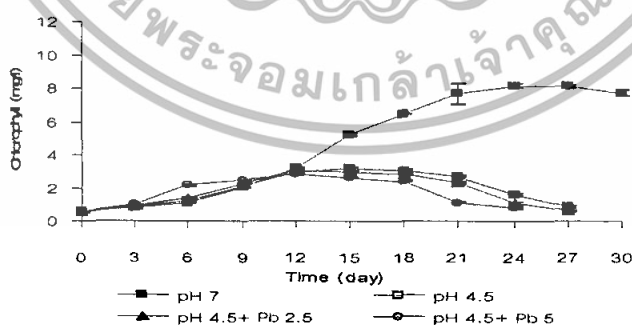
Mastigocladopsis sp. ที่เลี้ยงในทุกสภาวะตั้งแต่เริ่มการทดลองจนถึงวันที่ 15 ปริมาณคลอโรฟิลล์มีแนวโน้มใกล้เคียงกัน (ภาพที่ 19) ที่ pH7+Pb0 ปริมาณคลอโรฟิลล์จะมีปริมาณสูงสุดใน

วันที่ 24 คือ 7.11 ± 0.07 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่สภาวะเครียด (pH4.5+Pb0, pH4.5+Pb2.5 และ pH4.5+Pb5) มีแนวโน้มลดลงเรื่อยๆ เมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่า pH4.5+Pb5 มีปริมาณคลอโรฟิลล์น้อยที่สุดคือ 1.17 ± 0.12 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับทุกสภาวะการเลี้ยง (ตารางที่ 5) ซึ่งลดลง 82.08 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม (ตารางที่ 6)



ภาพที่ 19 ปริมาณคลอโรฟิลล์ (มิลลิกรัมต่อลิตร) ของ *Mastigocladopsis* sp. ที่เลี้ยงภายใต้สภาวะที่แตกต่างกัน (mean \pm S.E.)

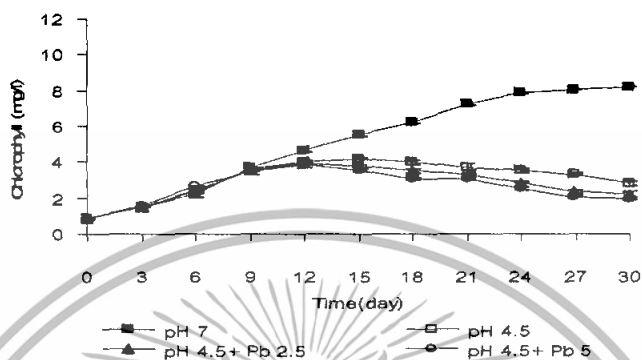
Nostoc sp. ที่เลี้ยงในทุกสภาวะตั้งแต่เริ่มการทดลองจนถึงวันที่ 12 ปริมาณคลอโรฟิลล์มีแนวโน้มใกล้เคียงกัน (ภาพที่ 20) แต่หลังจากนั้นจนถึงสิ้นสุดการทดลองที่ pH7+Pb0 จะเพิ่มขึ้นโดยเพิ่มสูงสุดในวันที่ 24 คือ 8.16 ± 0.10 มิลลิกรัมต่อลิตร สภาวะเครียด (pH4.5+Pb0, pH4.5+Pb2.5 และ pH4.5+Pb5) มีแนวโน้มลดลงเรื่อยๆ โดยที่ pH4.5+Pb5 สหราชอาณาจักรจะตายในวันที่ 24 ส่วน pH4.5+Pb0 และ pH4.5+Pb2.5 จะตายในวันที่ 27 ของการทดลอง



ภาพที่ 20 ปริมาณคลอโรฟิลล์ (มิลลิกรัมต่อลิตร) ของ *Nostoc* sp. ที่เลี้ยงภายใต้สภาวะที่แตกต่างกัน (mean \pm S.E.)

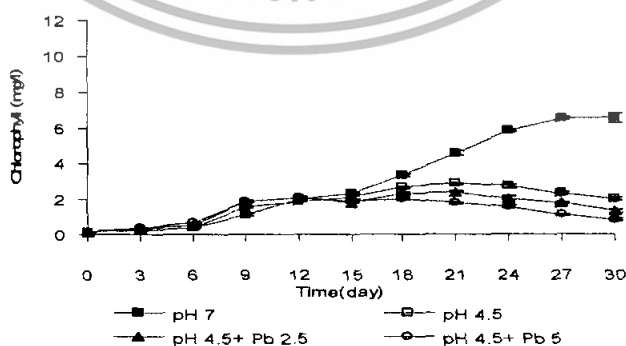
Phormidium sp. ที่เลี้ยงในทุกสภาวะตั้งแต่เริ่มการทดลองจนถึงวันที่ 12 ปริมาณคลอโรฟิลล์มีแนวโน้มใกล้เคียงกัน (ภาพที่ 21) ที่ pH7+Pb0 ปริมาณคลอโรฟิลล์จะเพิ่มขึ้นสูงที่สุดในวันที่ 30 คือ

8.24±0.05 มิลลิกรัมต่อลิตร สภาวะเครียด (pH4.5+Pb0, pH4.5+Pb2.5 และ pH4.5+Pb5) จะลดลง ในปริมาณที่ใกล้เคียงกัน เมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่าที่ pH4.5+Pb5 มีปริมาณคลอโรฟิลล์น้อยที่สุดคือ 1.96±0.16 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับ pH4.5+Pb2.5 (ตารางที่ 5) และลดลง 76.19 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม (ตารางที่ 6)



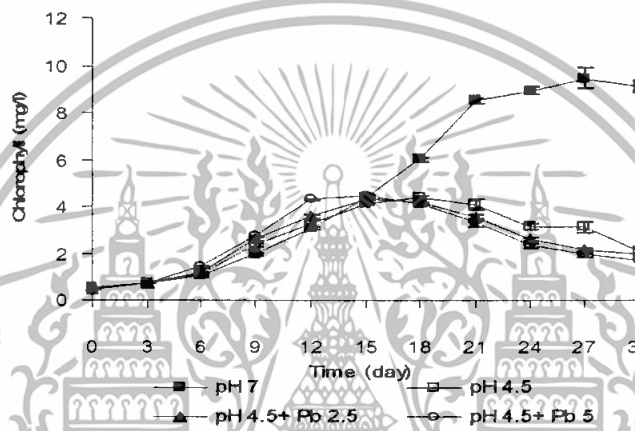
ภาพที่ 21 ปริมาณคลอโรฟิลล์ (มิลลิกรัมต่อลิตร) ของ *Phormidium* sp. ที่เลี้ยงภายใต้สภาวะที่แตกต่างกัน (mean ± S.E.)

Stigonema sp. ที่เลี้ยงในทุกสภาวะตั้งแต่เริ่มการทดลองจนถึงวันที่ 21 ปริมาณคลอโรฟิลล์จะใกล้เคียงกัน (ภาพที่ 22) pH7+Pb0 ปริมาณคลอโรฟิลล์จะเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ และสูงสุดในวันที่ 30 คือ 6.53±0.29 มิลลิกรัมต่อลิตร สภาวะเครียด (pH4.5+Pb0, pH4.5+Pb2.5 และ pH4.5+Pb5) แนวโน้มลดลง โดยเมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่า pH4.5+Pb5 มีปริมาณคลอโรฟิลล์น้อยที่สุดคือ 0.79±0.07 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับ pH4.5+Pb2.5 (ตารางที่ 5) และลดลง 81.12 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม (ตารางที่ 6)



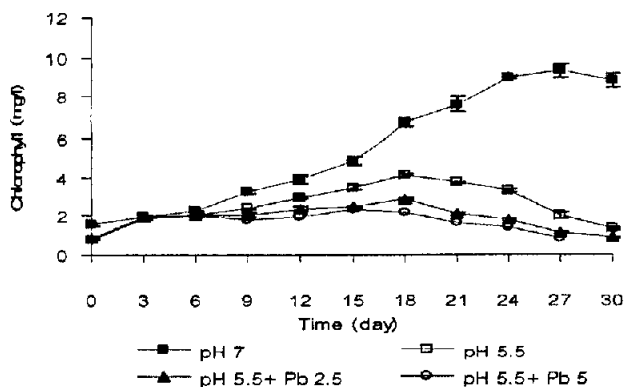
ภาพที่ 22 ปริมาณคลอโรฟิลล์ (มิลลิกรัมต่อลิตร) ของ *Stigonema* sp. ที่เลี้ยงภายใต้สภาวะที่แตกต่างกัน (mean ± S.E.)

Fischerella sp. ที่เลี้ยงในทุกสภาวะตั้งแต่เริ่มการทดลองจนถึงวันที่ 15 ปริมาณคลอโรฟิลล์มีแนวโน้มใกล้เคียงกัน (ภาพที่ 23) แต่หลังจากนั้นจนถึงสิ้นสุดการทดลองที่ pH7+Pb0 ปริมาณคลอโรฟิลล์จะเพิ่มขึ้นโดยมีปริมาณสูงสุดในวันที่ 27 คือ 9.45 ± 0.42 มิลลิกรัมต่อลิตร สภาวะเครียด (pH4.5+Pb0, pH4.5+Pb2.5 และ pH4.5+Pb5) มีแนวโน้มลดลงเรื่อยๆ ในปริมาณที่ใกล้เคียงกัน เมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่า pH4.5+Pb5 มีปริมาณคลอโรฟิลล์น้อยที่สุดคือ 1.73 ± 0.05 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกลุ่มควบคุม (ตารางที่ 5) และลดลง 80.94 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม (ตารางที่ 6)



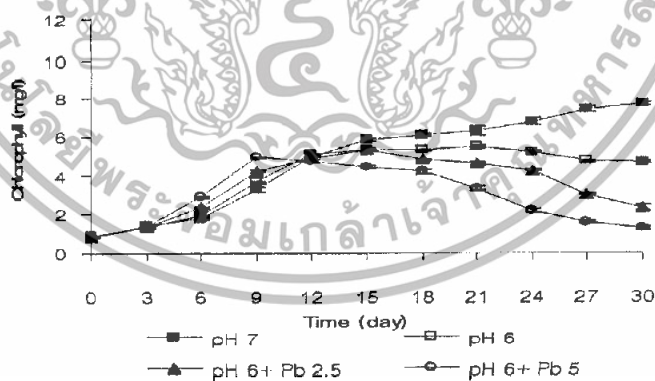
ภาพที่ 23 ปริมาณคลอโรฟิลล์ (มิลลิกรัมต่อลิตร) ของ *Fischerella* sp. ที่เลี้ยงภายใต้สภาวะที่แตกต่างกัน (mean \pm S.E.)

Osillatoria sp. ที่เลี้ยงในทุกสภาวะตั้งแต่เริ่มการทดลองจนถึงวันที่ 15 ปริมาณคลอโรฟิลล์มีแนวโน้มใกล้เคียงกัน (ภาพที่ 24) แต่หลังจากนั้นจนถึงสิ้นสุดการทดลอง pH7+Pb0 ปริมาณคลอโรฟิลล์จะเพิ่มขึ้นโดยมีค่าสูงสุดในวันที่ 27 คือ 9.34 ± 0.32 มิลลิกรัมต่อลิตร สภาวะเครียด (pH5.5+Pb0, pH5.5+Pb2.5 และ pH5.5+Pb5) มีแนวโน้มลดลงเรื่อยๆ โดยที่ pH5.5+Pb5 จะตายในวันที่ 27 ของการเลี้ยง มีค่าเท่ากับ 0.82 ± 0.11 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับ pH4.5+Pb2.5 และลดลง 91.12 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม (ตารางที่ 9)



ภาพที่ 24 ปริมาณคลอโรฟิลล์ (มิลลิกรัมต่อลิตร) ของ *Osillatoria* sp. ที่เลี้ยงภายใต้สภาวะที่แตกต่างกัน (mean \pm S.E.)

Spirulina sp. ที่เลี้ยงในทุกสภาวะตั้งแต่เริ่มการทดลองจนถึงวันที่ 18 ปริมาณของคลอโรฟิลล์มีแนวโน้มใกล้เคียงกัน (ภาพที่ 25) แต่หลังจากนั้นจนถึงสิ้นสุดการทดลองที่ pH7+Pb0 ปริมาณคลอโรฟิลล์จะเพิ่มขึ้นโดยมีปริมาณสูงสุดในวันที่ 30 คือ 7.74 ± 0.08 มิลลิกรัมต่อลิตร pH6+Pb0, pH6+Pb2.5 และ pH6+Pb5 มีแนวโน้มลดลง โดยที่ pH6+ Pb5 ลดลงมากที่สุด 83.50 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม มีปริมาณ 1.28 ± 0.08 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับทุกสภาวะการเลี้ยง (ตารางที่ 10)



ภาพที่ 25 ปริมาณคลอโรฟิลล์ (มิลลิกรัมต่อลิตร) ของ *Spirulina* sp. ที่เลี้ยงภายใต้สภาวะที่แตกต่างกัน (mean \pm S.E.)

ตารางที่ 5 ปริมาณคลอโรฟิลล์ (มิลลิกรัมต่อลิตร) ในวันสุดท้ายของการเลี้ยงสาหร่ายภายใต้สภาวะที่แตกต่างกัน (mean±S.E.)

| pH+Pb (mg/l) | สาหร่าย | | | | | |
|-----------------|----------------------------|--------------------------------|------------------------------|--------------------------|--------------------------|---------------------------|
| | <i>Hapalosiphon</i> sp. | <i>Mastigocladopsis</i> sp. | <i>Nostoc</i> sp. (24วัน) | <i>Phormidium</i> sp. | <i>Stigonema</i> sp. | <i>Fischerella</i> sp. |
| pH7+Pb0 | 9.27 ± 0.07 ^a | 6.57 ± 0.18 ^a | 8.16 ± 0.09 ^a | 8.24 ± 0.05 ^a | 6.53 ± 0.29 ^a | 9.10 ± 0.26 ^a |
| pH4.5+Pb0 | 4.05 ± 0.08 ^b | 2.85 ± 0.04 ^b | 1.60 ± 0.01 ^b | 2.80 ± 0.11 ^b | 2.01 ± 0.10 ^b | 2.13 ± 0.13 ^b |
| pH4.5+Pb2.5 | 2.73 ± 0.07 ^c | 1.63 ± 0.02 ^c | 1.09 ± 0.04 ^c | 2.17 ± 0.08 ^c | 1.32 ± 0.11 ^c | 1.97 ± 0.04 ^b |
| pH4.5+Pb5 | 2.00 ± 0.04 ^d | 1.17 ± 0.12 ^d | 0.78 ± 0.07 ^c | 1.96 ± 0.16 ^c | 0.79 ± 0.07 ^c | 1.73 ± 0.05 ^b |

หมายเหตุ ตัวอักษรพิมพ์เล็กในแนวแถวตั้งเดียวกันที่แตกต่างกัน คือมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ (P<0.05)

ตารางที่ 6 ปริมาณคลอโรฟิลล์เมื่อสิ้นสุดการทดลอง (เปอร์เซ็นต์ที่ลดลงจากกลุ่มควบคุม) ของสาหร่ายชนิดต่างๆ ที่เลี้ยงภายใต้สภาวะที่แตกต่างกัน

(mean±S.E.)

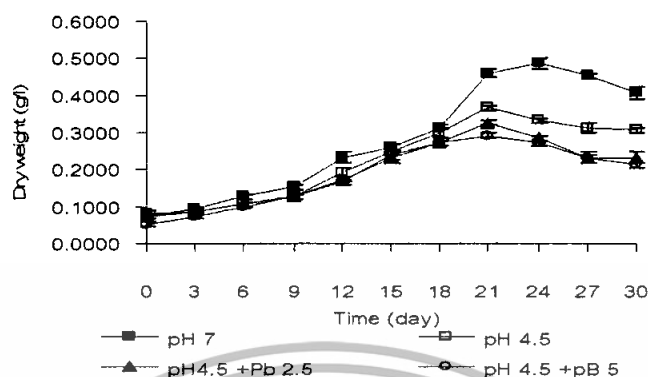
| pH+Pb (mg/l) | เปอร์เซ็นต์ที่ลดลง(%) | | | | | |
|-----------------|----------------------------|--------------------------------|------------------------------|--------------------------|-------------------------|---------------------------|
| | <i>Hapalosiphon</i> sp. | <i>Mastigocladopsis</i> sp. | <i>Nostoc</i> sp. (24วัน) | <i>Phormidium</i> sp. | <i>Stigonema</i> sp. | <i>Fischerella</i> sp. |
| pH4.5+Pb0 | 56.33 | 56.53 | 80.35 | 65.95 | 69.00 | 58.17 |
| pH4.5+Pb2.5 | 69.44 | 75.20 | 86.61 | 76.86 | 78.80 | 78.35 |
| pH4.5+Pb5 | 72.39 | 82.08 | 89.57 | 79.02 | 81.12 | 83.14 |

จากการทดลองครั้งนี้พบว่าปริมาณคลอโรฟิลล์ของสาหร่ายแต่ละชนิดจะขึ้นอยู่กับที่ได้รับปริมาณความเข้มข้นของตะกั่ว (Pb) ที่แตกต่างกันที่ pH ต่ำ พิจารณาได้จากในสภาวะที่เหมาะสมสาหร่ายแต่ละชนิดมีปริมาณคลอโรฟิลล์เพิ่มขึ้นเมื่อระยะเวลาในการเลี้ยงเพิ่มขึ้น และจะเพิ่มสูงสุดในระยะเวลาหนึ่งจากนั้นจะเริ่มคงที่ ส่วนสาหร่ายที่เลี้ยงในระดับ pH ต่ำ ปริมาณคลอโรฟิลล์จะลดลงเมื่อระยะเวลาการเลี้ยงเพิ่มขึ้น แต่สภาวะที่มีการเติมตะกั่วเข้าไป ปริมาณคลอโรฟิลล์จะลดลง โดยจะลดต่ำกว่าสาหร่ายที่เลี้ยงโดยไม่มีการเติมตะกั่ว และการเติมตะกั่วที่ความเข้มข้นสูง จะส่งผลให้ปริมาณคลอโรฟิลล์ลดลงมากที่สุด ซึ่งสอดคล้องกับ Raungsomboon *et al.* (2007) ที่เลี้ยง *Gloeocapsa sp.* ในอาหารที่ผสมตะกั่ว (0-20) มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าตะกั่วที่ 20 มิลลิกรัมต่อลิตร จะทำให้ปริมาณคลอโรฟิลล์ลดลงถึง 30 เปอร์เซ็นต์

2.3 ผลของ Pb ต่อปริมาณน้ำหนักรวมของ cyanobacteria ที่เลี้ยงที่ระดับ pH ต่ำ

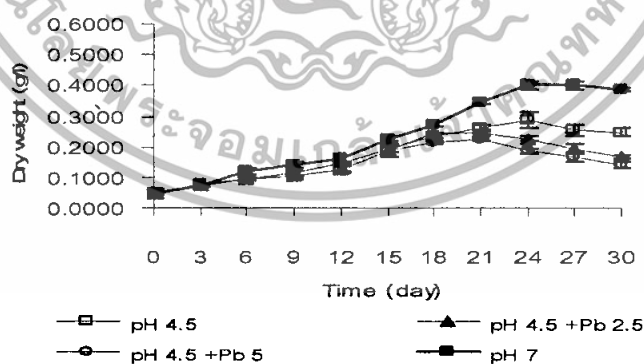
Pb และ pH จะส่งผลต่อผลผลิต (น้ำหนักแห้ง) ของ cyanobacteria จากการศึกษาผลของ Pb ร่วมกับ pH ใน 4 สภาวะ คือ เลี้ยงในอาหารเลี้ยงที่ pH7 โดยไม่มีการเติมตะกั่ว (pH7+Pb0), เลี้ยงในอาหารเลี้ยงที่ pH4.5 โดยไม่มีการเติมตะกั่ว (pH4.5+Pb0), เลี้ยงในอาหารเลี้ยงที่ pH4.5 โดยการเติมตะกั่วเท่ากับ 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร (pH4.5+Pb2.5) และเลี้ยงในอาหารเลี้ยงที่ pH4.5 โดยการเติมตะกั่วเท่ากับ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร (pH4.5+Pb5) ในสาหร่าย cyanobacteria ชนิด *Hapalosiphon sp.*, *Mastigocladopsis sp.*, *Nostoc sp.*, *Phormidium sp.*, *Stigonema sp.* และ *Fischerella sp.* ส่วนในสาหร่ายชนิด *Spirulina sp.* ศึกษาในอาหารเลี้ยงที่ pH 7 โดยไม่มีการเติมตะกั่ว (pH7+Pb0), เลี้ยงในอาหารเลี้ยงที่ pH 6 โดยไม่มีการเติมตะกั่ว (pH6+Pb0), เลี้ยงในอาหารเลี้ยงที่ pH6 โดยการเติมตะกั่วเท่ากับ 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร (pH6+Pb2.5) และเลี้ยงในอาหารเลี้ยงที่ pH6 โดยการเติมตะกั่วเท่ากับ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร (pH6+Pb5) และ สาหร่ายชนิด *Osillatoria sp.* ศึกษาในอาหารเลี้ยงที่ pH7 โดยไม่มีการเติมตะกั่ว (pH7+Pb0), เลี้ยงในอาหารเลี้ยงที่ pH5.5 โดยไม่มีการเติมตะกั่ว (pH5.5+Pb0), เลี้ยงในอาหารเลี้ยงที่ pH5.5 โดยการเติมตะกั่วเท่ากับ 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร (pH5.5+Pb2.5) และเลี้ยงในอาหารเลี้ยงที่ pH5.5 โดยการเติมตะกั่วเท่ากับ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร (pH 5.5+Pb5) เป็นเวลา 30 วัน พบว่าปริมาณน้ำหนักรวมของ *Hapalosiphon sp.* ที่เลี้ยงทั้ง 4 สภาวะ มีแนวโน้มค่อยๆ (ภาพที่ 26) เพิ่มขึ้นในปริมาณที่เท่าๆ กัน โดยในวันที่ 24 pH7+Pb0 ให้ผลผลิตสูงที่สุดคือ 0.4870 ± 0.0130 กรัมต่อลิตร สภาวะเครียด (pH4.5+Pb0, 4.5+Pb2.5 และ pH4.5+Pb5) มีแนวโน้มลดลง โดยเมื่อสิ้นสุดการทดลอง pH4.5+Pb5 ให้ผลผลิตต่ำสุดคือ 0.2133 ± 0.0067 กรัมต่อลิตร ซึ่งไม่

แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับ pH4.5+Pb2.5 (ตารางที่ 7) และลดลง 47.37 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม (ตารางที่ 8)



ภาพที่ 26 ปริมาณน้ำหนักรวม (กรัมต่อลิตร) ของ *Hapalosiphon* sp. ที่เลี้ยงภายใต้สภาวะที่แตกต่างกัน (mean \pm S.E)

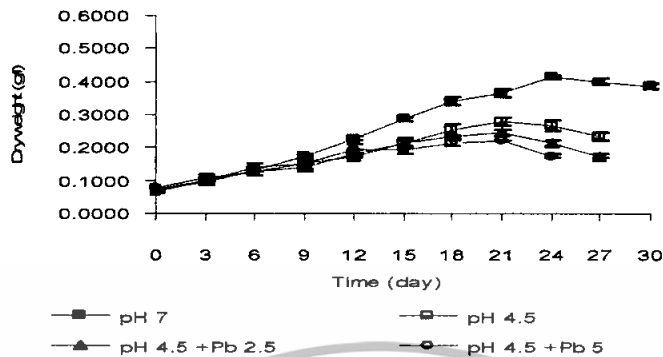
Mastigocladopsis sp. ที่เลี้ยงทั้ง 4 สภาวะพบว่า ผลผลิต (น้ำหนักรวม) มีแนวโน้มค่อยๆ เพิ่มขึ้นในปริมาณที่ใกล้เคียงกันเป็นเวลาประมาณ 18 วัน (ภาพที่ 27) และในวันที่ 24 ที่ pH7+Pb0 ให้ผลผลิตสูงสุดคือ 0.4000 ± 0.0120 กรัมต่อลิตร โดยเมื่อสิ้นสุดการทดลอง pH4.5+Pb5 ให้ผลผลิตต่ำสุดคือ 0.1400 ± 0.0115 กรัมต่อลิตร ซึ่งไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับ pH4.5+Pb2.5 (ตารางที่ 7) และลดลง 63.68 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม (ตารางที่ 8)



ภาพที่ 27 ปริมาณน้ำหนักรวม (กรัมต่อลิตร) ของ *Mastigocladopsis* sp. ที่เลี้ยงภายใต้สภาวะที่แตกต่างกัน (mean \pm S.E)

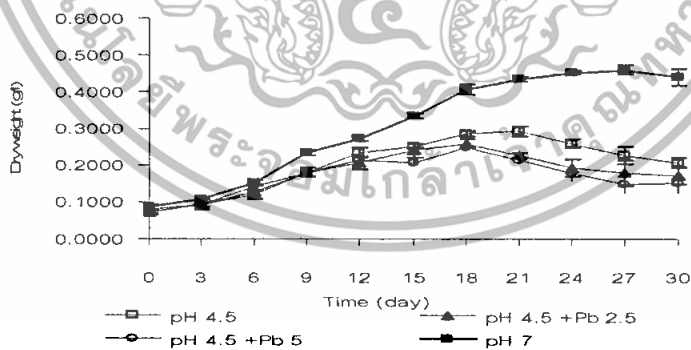
Nostoc sp. ที่เลี้ยงทั้ง 4 สภาวะพบว่า ผลผลิต (น้ำหนักรวม) มีแนวโน้มค่อยๆ เพิ่มขึ้นในปริมาณที่ใกล้เคียงกันเป็นเวลาประมาณ 15 วันหลังจากนั้นที่ pH7+Pb0 จะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วเพื่อให้

ผลผลิตสูงสุดในวันที่ 24 คือ 0.4130 ± 0.0070 กรัมต่อลิตร ส่วน pH4.5+Pb5 พบว่าตายเร็วที่สุด และ pH4.5+Pb0 กับ pH4.5+Pb2.5 มีแนวโน้มลดลงใกล้เคียงกัน ส่งผลให้ตายพร้อมกัน (ภาพที่ 28)



ภาพที่ 28 ปริมาณน้ำหมักแห้ง(กรัมต่อลิตร)ของ *Nostoc* sp. ที่เลี้ยงภายใต้สภาวะที่แตกต่างกัน (mean \pm S.E)

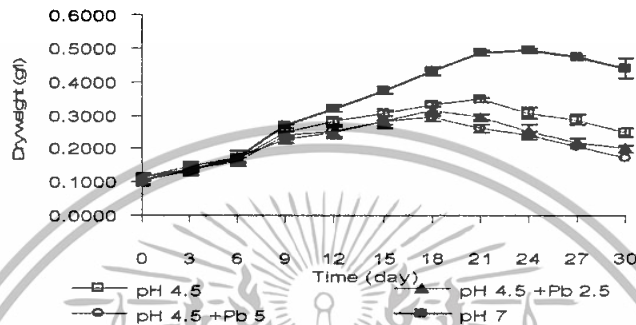
Phormidium sp. ที่เลี้ยงทั้ง 4 สภาวะพบว่า ผลผลิต (น้ำหมักแห้ง) มีแนวโน้มค่อยๆ เพิ่มขึ้นในปริมาณที่ใกล้เคียงกันเป็นเวลาประมาณ 15 วัน (ภาพที่ 29) หลังจากนั้นที่ pH7+Pb0 จะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วและให้ผลผลิตสูงสุดในวันที่ 27 คือ 0.460 ± 0.012 กรัมต่อลิตร โดยเมื่อสิ้นสุดการทดลอง pH4.5+Pb5 ให้ผลผลิตต่ำสุดคือ 0.1533 ± 0.0240 กรัมต่อลิตรซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกลุ่มควบคุม (ตารางที่ 7) และลดลง 64.39 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม (ตารางที่ 8)



ภาพที่ 29 ปริมาณน้ำหมักแห้ง (กรัมต่อลิตร) ของ *Phormidium* sp. ที่เลี้ยงภายใต้สภาวะที่แตกต่างกัน (mean \pm S.E)

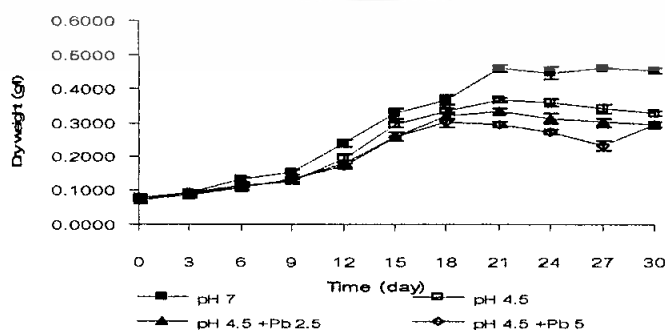
Stigonema sp. ที่เลี้ยงทั้ง 4 สภาวะพบว่า ผลผลิต (น้ำหมักแห้ง) มีแนวโน้มค่อยๆ เพิ่มขึ้นในปริมาณที่ใกล้เคียงกันเป็นเวลาประมาณ 12 วัน (ภาพที่ 30) หลังจากนั้นที่ pH7+Pb0 จะเพิ่มขึ้นอย่าง

รวดเร็วและให้ผลผลิตสูงสุดในวันที่ 24 คือ 0.4930 ± 0.0070 กรัมต่อลิตร สภาวะเครียด (pH4.5+Pb0, pH4.5+Pb2.5 และ pH4.5+Pb5) มีแนวโน้มลดลงในทิศทางเดียวกัน โดยเมื่อสิ้นสุดการทดลอง pH4.5+Pb5 ให้ผลผลิตต่ำสุดคือ 0.1733 ± 0.0067 กรัมต่อลิตร ซึ่งไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับ pH4.5+Pb2.5 (ตารางที่ 7) และลดลง 60.42 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม (ตารางที่ 8)



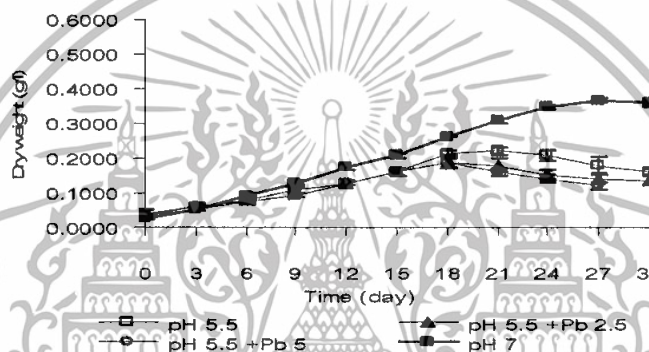
ภาพที่ 30 ปริมาณน้ำหนักแห้ง (กรัมต่อลิตร) ของ *Stigonema* sp. ที่เลี้ยงภายใต้สภาวะที่แตกต่างกัน (mean \pm S.E)

Fischerella sp. ที่เลี้ยงทั้ง 4 สภาวะพบว่า ผลผลิต (น้ำหนักแห้ง) มีแนวโน้มค่อยๆ เพิ่มขึ้นในปริมาณที่เท่าๆ กัน โดยในวันที่ 24 (ภาพที่ 31) ที่ pH7+Pb0 ให้ผลผลิตสูงที่สุดคือ 0.460 ± 0.012 กรัมต่อลิตร สภาวะเครียดที่ pH4.5+Pb0, pH4.5+Pb2.5 และ pH4.5+Pb5 มีแนวโน้มของผลผลิตไปในทิศทางเดียวกัน โดยเมื่อสิ้นสุดการทดลอง pH4.5+Pb5 ให้ผลผลิตต่ำสุดคือ 0.2833 ± 0.0067 กรัมต่อลิตร ซึ่งไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับ pH4.5+Pb2.5 (ตารางที่ 7) และลดลง 36.31 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม (ตารางที่ 8)



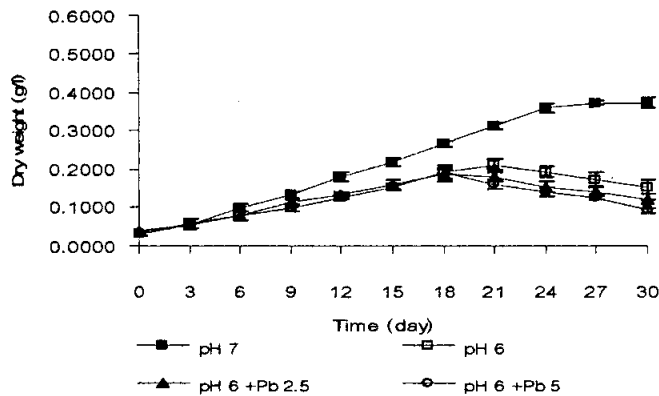
ภาพที่ 31 ปริมาณน้ำหนักรวม (กรัมต่อลิตร) ของ *Fischerella* sp. ที่เลี้ยงภายใต้สภาวะที่แตกต่างกัน (mean \pm S.E)

Osillatoria sp. ที่เลี้ยงทั้ง 4 สภาวะพบว่า ผลผลิต (น้ำหนักรวม) มีแนวโน้มค่อยๆ เพิ่มขึ้นในปริมาณที่ใกล้เคียงกันเป็นเวลาประมาณ 15 วัน (ภาพที่ 32) หลังจากนั้นที่ pH7+Pb0 จะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วและให้ผลผลิตสูงสุดในวันที่ 27 คือ 0.3660 ± 0.0070 กรัมต่อลิตร ที่ pH5.5+Pb5 ลดลงมากที่สุดจึงตาย ให้ผลผลิตต่ำสุดคือ 0.1200 ± 0.0115 กรัมต่อลิตร ซึ่งไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับ pH5.5+Pb2.5 และลดลง 67.35 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม (ตารางที่ 9)



ภาพที่ 32 ปริมาณน้ำหนักรวม (กรัมต่อลิตร) ของ *Osillatoria* sp. ที่เลี้ยงภายใต้สภาวะที่แตกต่างกัน (mean \pm S.E)

Spirulina sp. ที่เลี้ยงทั้ง 4 สภาวะพบว่า ผลผลิต (น้ำหนักรวม) มีแนวโน้มค่อยๆ เพิ่มขึ้นในปริมาณที่ใกล้เคียงกันเป็นเวลาประมาณ 12 วัน (ภาพที่ 33) หลังจากนั้น pH7+Pb0 จะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วและให้ผลผลิตสูงสุดในวันที่ 30 คือ 0.373 ± 0.013 กรัมต่อลิตร ที่ pH6+Pb0, pH6+Pb2.5 และ pH6+Pb5 มีแนวโน้มของผลผลิตไปในทิศทางเดียวกัน เมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่า ที่ pH6+Pb5 ให้ผลผลิตต่ำสุดคือ 0.0933 ± 0.0067 กรัมต่อลิตร ซึ่งไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับ pH6+Pb2.5 และลดลง 74.81 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม (ตารางที่ 10)



ภาพที่ 33 ปริมาณน้ำหนักแห้ง (กรัมต่อลิตร) ของ *Spirulina* sp. ที่เลี้ยงภายใต้สภาวะที่แตกต่างกัน
(mean \pm S.E)

การเจริญเติบโตของสาหร่ายวัดจากค่าน้ำหนักแห้งของสาหร่าย จากการทดลองครั้งนี้พบว่า ผลผลิต (น้ำหนักแห้ง) ของสาหร่ายแต่ละชนิดจะขึ้นอยู่กับการได้รับปริมาณความเข้มข้นของตะกั่ว (Pb) ที่แตกต่างกันที่ pH ต่ำ พิจารณาได้จากในสภาวะที่เหมาะสม สาหร่ายแต่ละชนิดมีปริมาณน้ำหนักแห้งเพิ่มขึ้นเมื่อระยะเวลาในการเลี้ยงเพิ่มขึ้น ส่วนสาหร่ายที่เลี้ยงในระดับ pH ที่ต่ำ พบว่า น้ำหนักแห้งจะลดลงเมื่อระยะเวลาการเลี้ยงเพิ่มขึ้น แต่สภาวะที่มีการเติมตะกั่วเข้าไป น้ำหนักแห้งจะลดลง โดยจะลดต่ำกว่าสาหร่ายที่เลี้ยงโดยไม่มีการเติมตะกั่ว และ สาหร่ายที่ได้รับตะกั่วที่มีความเข้มข้นสูง ค่าน้ำหนักแห้งจะลดต่ำกว่าสาหร่ายที่ได้รับตะกั่วที่มีความเข้มข้นต่ำกว่า

การที่สาหร่ายแต่ละชนิดได้รับพิษของโลหะหนัก ก็จะส่งผลในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์ เนื่องจากเซลล์ของสาหร่ายจัดอยู่ในกลุ่มของเซลล์โปรคาริโอต ไม่มีเยื่อหุ้มนิวเคลียส จึงส่งผลโดยตรงต่อเซลล์โปรคาริโอต ทำให้เซลล์ถูกทำลายส่งผลต่อการสังเคราะห์แสงและการหายใจของเซลล์ ยิ่งเซลล์ได้รับความเข้มข้นของโลหะหนักในปริมาณที่สูง เซลล์ก็就会被ทำลายอย่างรุนแรง การเจริญเติบโตจึงลดลง (Zhou *et al.* ,2006) เช่นเดียวกับที่ Choudhary *et al.* ได้ทดลองถึงผลของตะกั่วที่ความเข้มข้น 0.5, 0.10, 0.15 และ 0.20 มิลลิกรัมต่อลิตร ในสาหร่าย *Spirulina platensis* เป็นเวลา 11 วัน พบว่าความเข้มข้นของตะกั่วยิ่งเพิ่มขึ้นการเจริญเติบโตจะยิ่งลดลง โดยความเข้มข้นของตะกั่วที่ 0.20 มิลลิกรัมต่อลิตร มีผลต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตมากที่สุด (วัดจากค่าน้ำหนักแห้ง)

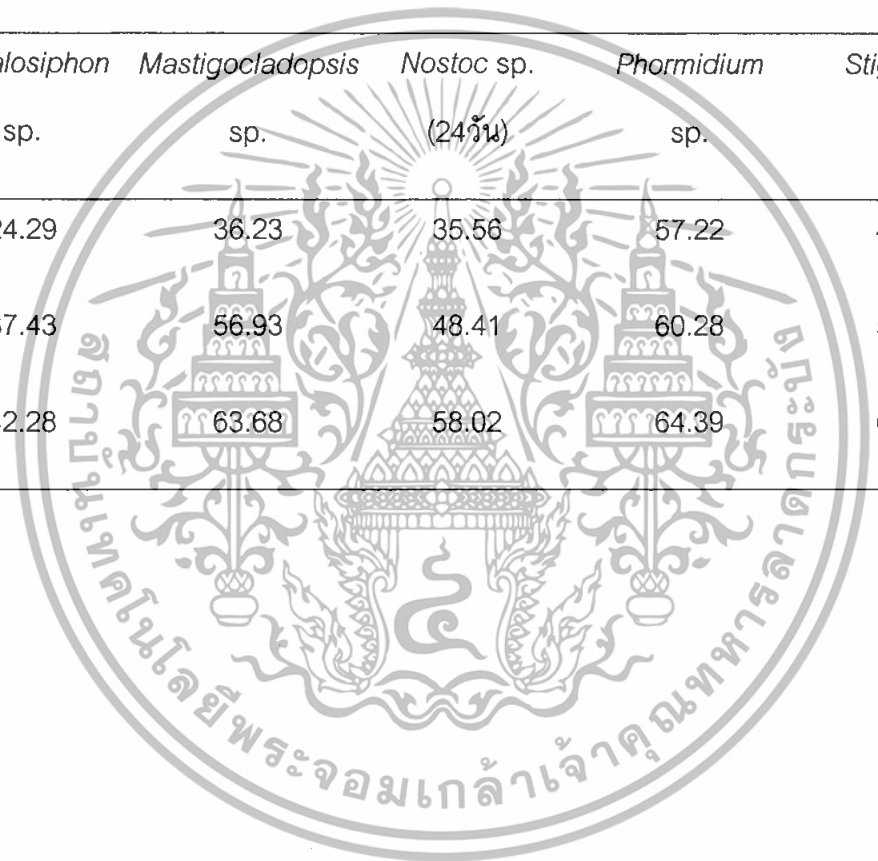
ตารางที่ 7 ค่าน้ำหนักแห้ง (กรัมต่อลิตร) ในวันสุดท้ายของการเลี้ยงสาหร่าย ภายใต้สภาวะที่แตกต่างกัน (mean±S.E.)

| pH+Pb (mg/l) | สาหร่าย | | | | | |
|-----------------|----------------------------|--------------------------------|------------------------------|----------------------------|-----------------------------|----------------------------|
| | <i>Hapalosiphon</i> sp. | <i>Mastigocladopsis</i> sp. | <i>Nostoc</i> sp. (24วัน) | <i>Phormidium</i> sp. | <i>Stigonema</i> sp. | <i>Fischerella</i> sp. |
| pH7+Pb0 | 0.4067±0.0176 ^a | 0.3867±0.0067 ^a | 0.4133±0.0067 ^a | 0.4400±0.0231 ^a | 0.4400±0.0306 ^a | 0.4533±0.0067 ^a |
| pH4.5+Pb0 | 0.3067±0.0067 ^b | 0.2467±0.0133 ^b | 0.2667±0.0176 ^b | 0.2067±0.0133 ^b | 0.2467±0.0133 ^b | 0.3267±0.0067 ^b |
| pH4.5+Pb2.5 | 0.2333±0.0133 ^c | 0.1667±0.0067 ^c | 0.2133±0.0067 ^c | 0.1733±0.0240 ^b | 0.2000±0.0115 ^{bc} | 0.2933±0.0060 ^c |
| pH4.5+Pb5 | 0.2133±0.0067 ^c | 0.1400±0.0115 ^c | 0.1733±0.0060 ^d | 0.1533±0.0240 ^b | 0.1733±0.0067 ^c | 0.2933±0.0067 ^c |

หมายเหตุ ตัวอักษรพิมพ์เล็กในแนวแถวตั้งเดียวกันที่แตกต่างกัน คือมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์ (P<0.05)

ตารางที่ 8 คำนวณน้ำหนักแห้งเมื่อสิ้นสุดการทดลอง (เปอร์เซ็นต์ที่ลดลงจากกลุ่มควบคุม) ของสาหร่ายชนิดต่างๆ ที่เลี้ยงภายใต้สภาวะที่แตกต่างกัน (mean±S.E.)

| pH+Pb (mg/l) | เปอร์เซ็นต์ที่ลดลง(%) | | | | | |
|-----------------|----------------------------|--------------------------------|------------------------------|--------------------------|-------------------------|---------------------------|
| | <i>Hapalosiphon</i> sp. | <i>Mastigocladopsis</i> sp. | <i>Nostoc</i> sp. (24วัน) | <i>Phormidium</i> sp. | <i>Stigonema</i> sp. | <i>Fischerella</i> sp. |
| pH4.5+Pb0 | 24.29 | 36.23 | 35.56 | 57.22 | 43.81 | 27.87 |
| pH4.5+Pb2.5 | 37.43 | 56.93 | 48.41 | 60.28 | 53.71 | 57.31 |
| pH4.5+Pb5 | 42.28 | 63.68 | 58.02 | 64.39 | 60.42 | 61.73 |



ตารางที่ 9 ปริมาณคลอโรฟิลล์ (มิลลิกรัมต่อลิตร) , ค่าน้ำหนักแห้ง (กรัมต่อลิตร) และ เปอร์เซ็นต์ที่ลดลงจากกลุ่มควบคุม เมื่อสิ้นสุดการทดลอง ของ *Oscillatoria* sp. ที่เลี้ยงภายใต้สภาวะที่แตกต่างกัน (mean±S.E.)

| pH+Pb(mg/l) | ปริมาณคลอโรฟิลล์ (mg/l) | เปอร์เซ็นต์ที่ลดลง (%) | ค่าน้ำหนักแห้ง (g/l) | เปอร์เซ็นต์ที่ลดลง(%) |
|-------------|-------------------------|------------------------|-----------------------------|-----------------------|
| pH7+Pb0 | 9.34±0.32 ^a | - | 0.3667±0.0067 ^a | - |
| pH5.5+Pb0 | 2.04±0.16 ^b | 78.22 | 0.1800±0.0231 ^b | 51.07 |
| pH5.5+Pb2.5 | 1.10±0.08 ^c | 88.22 | 0.1400±0.0115 ^{bc} | 61.70 |
| pH5.5+Pb5 | 0.82±0.11 ^c | 91.12 | 0.1200±0.0115 ^c | 67.35 |

หมายเหตุ ตัวอักษรพิมพ์เล็กในแนวแถวตั้งเดียวกันที่แตกต่างกัน คือมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ (P<0.05)

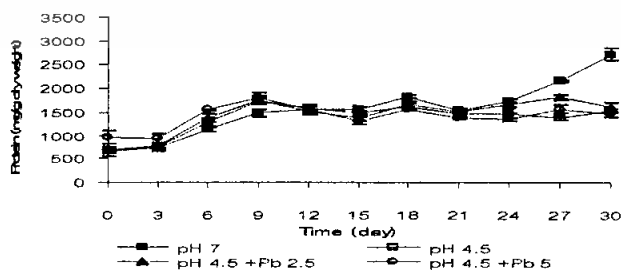
ตารางที่ 10 ปริมาณคลอโรฟิลล์ (มิลลิกรัมต่อลิตร) , ค่าน้ำหนักแห้ง (กรัมต่อลิตร) และ เปอร์เซ็นต์ที่ลดลงจากกลุ่มควบคุม เมื่อสิ้นสุดการทดลอง ของ *Spirulina* sp. ที่เลี้ยงภายใต้สภาวะที่แตกต่างกัน (mean±S.E.)

| pH+Pb(mg/l) | ปริมาณคลอโรฟิลล์ (mg/l) | เปอร์เซ็นต์ที่ลดลง (%) | ค่าน้ำหนักแห้ง (g/l) | เปอร์เซ็นต์ที่ลดลง(%) |
|-------------|-------------------------|------------------------|-----------------------------|-----------------------|
| pH7+Pb0 | 7.74±0.08 ^a | - | 0.3733±0.0133 ^a | - |
| pH6+Pb0 | 4.63±0.08 ^b | 40.12 | 0.1533±0.0176 ^b | 58.52 |
| pH6+Pb2.5 | 2.33±0.17 ^c | 69.89 | 0.1200±0.0000 ^{bc} | 67.78 |
| pH6+Pb5 | 1.28±0.08 ^d | 83.50 | 0.0933±0.0067 ^c | 74.81 |

หมายเหตุ ตัวอักษรพิมพ์เล็กในแนวแถวตั้งเดียวกันที่แตกต่างกัน คือมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ (P<0.05)

2.4 ผลของ Pb ต่อปริมาณโปรตีนของ cyanobacteria ที่เลี้ยงที่ระดับ pH ต่ำ

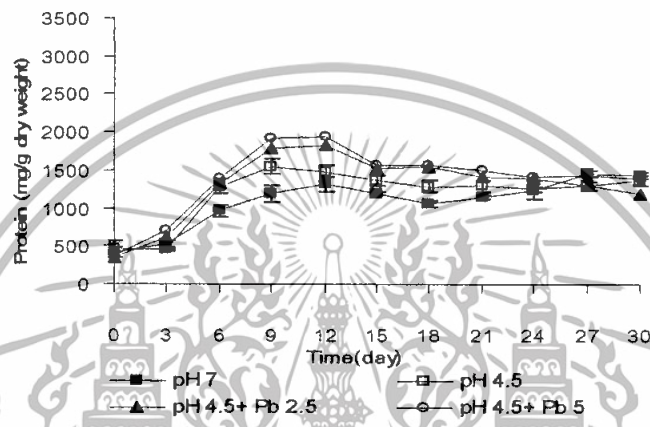
การเปลี่ยนแปลงปริมาณโปรตีนของ cyanobacteria จากการศึกษามวลของ Pb ร่วมกับ pH ใน 4 สภาวะ คือ เลี้ยงในอาหารเลี้ยงที่ pH7 โดยไม่มีการเติมตะกั่ว (pH7+Pb0), เลี้ยงในอาหารเลี้ยงที่ pH4.5 โดยไม่มีการเติมตะกั่ว (pH4.5+Pb0), เลี้ยงในอาหารเลี้ยงที่ pH4.5 โดยการเติมตะกั่วเท่ากับ 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร (pH4.5+Pb2.5) และเลี้ยงในอาหารเลี้ยงที่ pH4.5 โดยการเติมตะกั่วเท่ากับ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร (pH4.5+Pb5) ในสาหร่าย cyanobacteria ชนิด *Hapalosiphon* sp., *Mastigocladopsis* sp., *Nostoc* sp., *Phormidium* sp., *Stigonema* sp. และ *Fischerella* sp. ส่วนในสาหร่ายชนิด *Spirulina* sp. ศึกษาในอาหารเลี้ยงที่ pH 7 โดยไม่มีการเติมตะกั่ว (pH7+Pb0), เลี้ยงในอาหารเลี้ยงที่ pH 6 โดยไม่มีการเติมตะกั่ว (pH6+Pb0), เลี้ยงในอาหารเลี้ยงที่ pH6 โดยการเติมตะกั่วเท่ากับ 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร (pH6+Pb2.5) และ เลี้ยงในอาหารเลี้ยงที่ pH6 โดยการเติมตะกั่วเท่ากับ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร (pH6+Pb5) และ สาหร่ายชนิด *Osillatoria* sp. ศึกษาในอาหารเลี้ยงที่ pH7 โดยไม่มีการเติมตะกั่ว (pH7+Pb0), เลี้ยงในอาหารเลี้ยงที่ pH5.5 โดยไม่มีการเติมตะกั่ว (pH5.5+Pb0), เลี้ยงในอาหารเลี้ยงที่ pH5.5 โดยการเติมตะกั่วเท่ากับ 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร (pH5.5+Pb2.5) และเลี้ยงในอาหารเลี้ยงที่ pH5.5 โดยการเติมตะกั่วเท่ากับ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร (pH5.5+Pb5) เป็นเวลา 30 วัน พบว่าการเปลี่ยนแปลงปริมาณโปรตีนของ *Hapalosiphon* sp. มีแนวโน้มไปในทิศทางเดียวกัน คือมีการเพิ่มขึ้นในวันที่ 6 ของการเลี้ยง และ พบว่าในช่วงวันที่ 3-9 ของการเลี้ยงที่สภาวะเครียด pH4.5+Pb0, pH4.5+Pb2.5 และ pH4.5+Pb5 ปริมาณโปรตีนจะเพิ่มขึ้นมากกว่า pH7+Pb0 โดยวันที่ 30 ที่ pH7+Pb0 มีปริมาณโปรตีนสูงสุดคือ 2723.17 ± 128.89 มิลลิกรัมต่อกรัม น้ำหนักแห้งสาหร่าย (ภาพที่ 34) และเมื่อสิ้นสุดการทดลองที่ pH4.5+Pb5 มีปริมาณคาร์โบไฮเดรตของเซลล์สาหร่ายน้อยที่สุด (1472.33 ± 57.46) แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับ pH7+Pb0 (ตารางที่ 11)



ภาพที่ 34 ปริมาณโปรตีน (มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้งสาหร่าย) ของ *Hapalosiphon* sp. ที่เลี้ยง

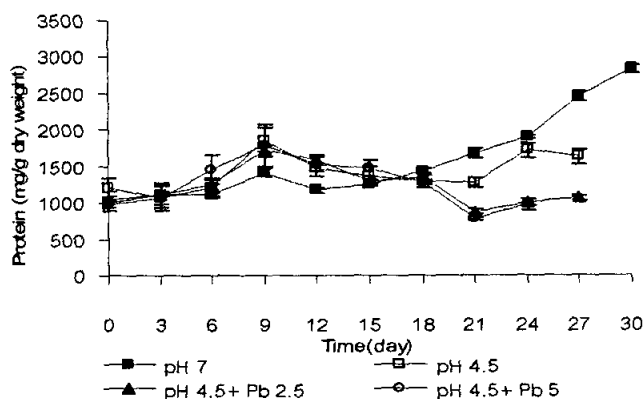
ภายใต้สภาวะที่แตกต่างกัน (mean \pm S.E)

Mastigocladopsis sp. พบว่ามีแนวโน้มไปในทิศทางเดียวกัน คือมีการเพิ่มขึ้นในวันที่ 6 ของการเลี้ยง และที่สภาวะเครียด pH4.5+Pb0, pH4.5+Pb2.5 และ pH4.5+Pb5 มีการเพิ่มขึ้นมากกว่า pH7+Pb0 โดยที่ pH4.5+Pb5 จะเพิ่มขึ้นสูงกว่าสภาวะอื่นเกือบตลอดระยะเวลาการเลี้ยง โดยวันที่ 12 ที่ pH4.5+Pb5 มีปริมาณโปรตีนสูงสุดคือ 1944.08 ± 92.97 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้งสาหร่าย (ภาพที่ 35) และเมื่อสิ้นสุดการทดลองที่ pH4.5+Pb2.5 มีปริมาณคาร์โบไฮเดรตของเซลล์สาหร่ายน้อยที่สุด (1195.63 ± 86.25) ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับทุกสภาวะการทดลอง (ตารางที่ 11)



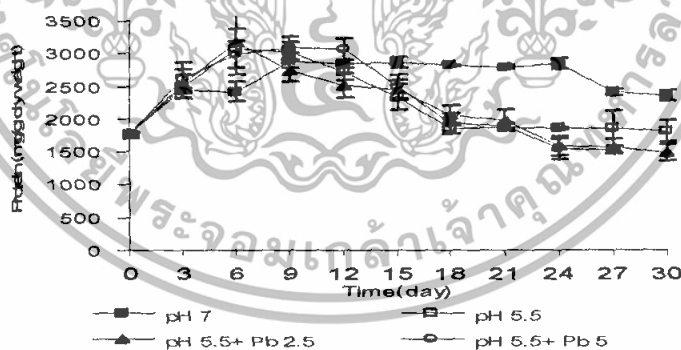
ภาพที่ 35 ปริมาณโปรตีน (มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้งสาหร่าย) ของ *Mastigocladopsis* sp. ที่เลี้ยงภายใต้สภาวะที่แตกต่างกัน (mean \pm S.E)

Nostoc sp. ที่เลี้ยงในช่วงแรก pH4.5+Pb0, pH4.5+Pb2.5 และ pH4.5+Pb5 มีการเพิ่มขึ้นมากกว่า pH7+Pb0 และหลังจากวันที่ 9 ที่ pH4.5+Pb2.5 และ pH4.5+Pb5 จะลดลงอย่างรวดเร็ว โดยในวันที่ 30 ที่ pH7+Pb0 มีปริมาณโปรตีนสูงสุดคือ 2824.40 ± 52.63 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้งสาหร่าย (ภาพที่ 36) ที่ pH4.5+Pb5 พบว่าสาหร่ายตายในวันที่ 24 ของการเลี้ยง มีปริมาณโปรตีนน้อยที่สุดคือ 975.33 ± 74.85 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ซึ่งไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับ pH4.5+Pb2.5 (ตารางที่ 11)



ภาพที่ 36 ปริมาณโปรตีน (มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้งสาหร่าย) ของ *Nostoc sp.* ที่เลี้ยงภายใต้สภาวะที่แตกต่างกัน (mean \pm S.E)

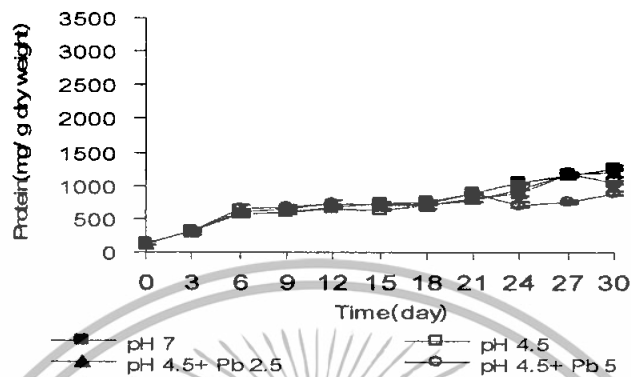
Phormidium sp. พบว่าการสะสมของโปรตีนมีแนวโน้มไปในทิศทางเดียวกัน คือปริมาณโปรตีนจะเพิ่มขึ้นและลดลงในปริมาณที่ใกล้เคียงกันตั้งแต่เริ่มต้นการทดลองจนกระทั่งสิ้นสุดระยะเวลาในการทดลอง โดยวันที่ 6 พบว่าที่ pH 4.5+Pb 5 มีปริมาณโปรตีนสูงสุดคือ 1363.47 ± 177.07 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้งสาหร่าย (ภาพที่ 37) และเมื่อสิ้นสุดการทดลองที่ pH 4.5+Pb 0 มีปริมาณคาร์โบไฮเดรตของเซลล์สาหร่ายน้อยที่สุด (830.53 ± 72.55) ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับ pH 7+Pb 0 (ตารางที่ 11)



ภาพที่ 37 ปริมาณโปรตีน (มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้งสาหร่าย) ของ *Phormidium sp.* ที่เลี้ยงภายใต้สภาวะที่แตกต่างกัน (mean \pm S.E)

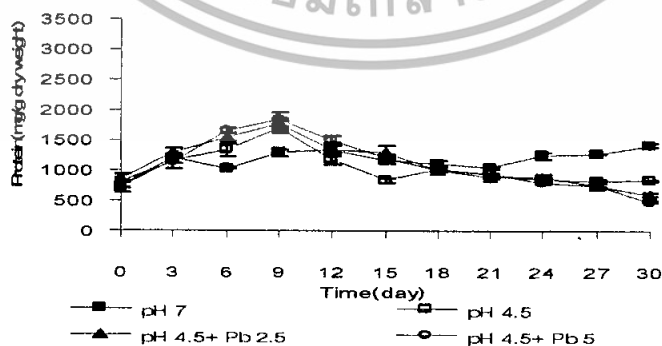
Stigonema sp. พบว่าการสะสมของโปรตีนมีแนวโน้มไปในทิศทางเดียวกัน คือปริมาณโปรตีนจะเพิ่มขึ้นและลดลงในปริมาณที่ใกล้เคียงกันตั้งแต่เริ่มต้นการทดลองจนกระทั่งสิ้นสุดระยะเวลาในการทดลอง และตั้งแต่วันที่ 24 เป็นต้นไปปริมาณโปรตีนจะลดลงอย่างเห็นได้ชัดที่ pH 4.5+Pb 5 วันที่ 30

พบว่าที่ pH7+Pb0 มีปริมาณโปรตีนสูงสุดคือ 1246.57 ± 14.49 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้งสาหร่าย (ภาพที่ 38) และเมื่อสิ้นสุดการทดลองที่ pH4.5+Pb5 มีปริมาณคาร์โบไฮเดรตของเซลล์สาหร่ายน้อยที่สุด (885.53 ± 23.24) ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับทุกสภาวะการทดลอง (ตารางที่ 11)



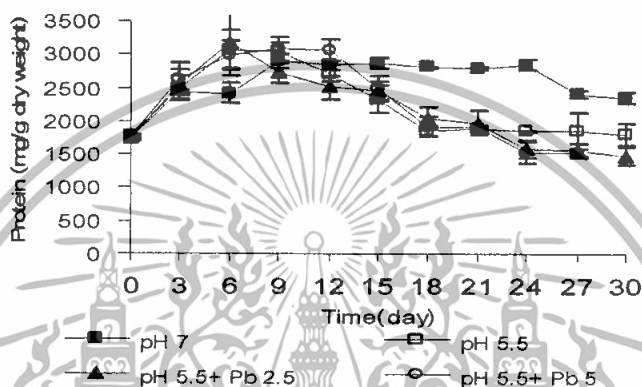
ภาพที่ 38 ปริมาณโปรตีน (มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้งสาหร่าย) ของ *Stigonema sp.* ที่เลี้ยงภายใต้สภาวะที่แตกต่างกัน (mean \pm S.E)

Fischerella sp. ตั้งแต่วันที่ 3-9 ของการเลี้ยงพบว่าที่สภาวะเครียด pH4.5+Pb0, pH4.5+Pb2.5 และ pH4.5+Pb5 มีการเพิ่มขึ้นมากกว่า pH7+Pb0 หลังจากนั้นปริมาณโปรตีนเริ่มลดลงจนสิ้นสุดการทดลอง ยกเว้นที่ pH7+Pb0 มีการสร้างโปรตีนที่ใกล้เคียงกันตลอดการทดลอง โดยในวันที่ 30 ที่ pH7+Pb0 มีปริมาณโปรตีนสูงสุดคือ 2824.40 ± 52.63 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้งสาหร่าย (ภาพที่ 39) และเมื่อสิ้นสุดการทดลองที่ pH4.5+Pb5 มีปริมาณคาร์โบไฮเดรตของเซลล์สาหร่ายน้อยที่สุด (481.74 ± 13.08) แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับทุกสภาวะการทดลอง (ตารางที่ 11)



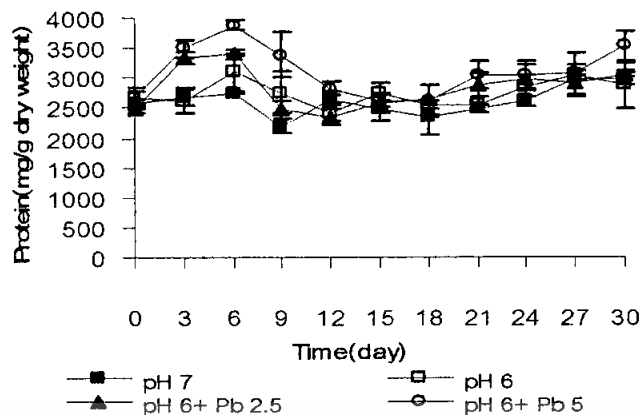
ภาพที่ 39 ปริมาณโปรตีน (มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้งสาหร่าย) ของ *Fischerella sp.* ที่เลี้ยงภายใต้สภาวะที่แตกต่างกัน (mean \pm S.E)

Osillatoria sp. ที่เลี้ยงในช่วงแรกที่สภาวะเครียด pH5.5+Pb0, pH5.5+Pb2.5 และ pH5.5+Pb5 มีปริมาณโปรตีนเพิ่มขึ้นมากกว่า pH7+Pb0 เมื่อระยะเวลาเพิ่มขึ้นปริมาณโปรตีนจะเริ่มลดลง ยกเว้นที่ pH7+Pb0 มีการสร้างโปรตีนที่ใกล้เคียงกันตลอดการทดลอง โดยในวันที่ 30 ที่ pH7+Pb0 มีปริมาณโปรตีนสูงสุดคือ 3160.45 ± 481.79 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้งสาหร่าย (ภาพที่ 40) และเมื่อสิ้นสุดการทดลองที่ pH4.5+Pb5 มีปริมาณคาร์โบไฮเดรตของเซลล์สาหร่ายน้อยที่สุด (1532.74 ± 57.96) ซึ่ง แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับ pH7+Pb0 (ตารางที่ 13)



ภาพที่ 40 ปริมาณโปรตีน (มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้งสาหร่าย) ของ *Osillatoria* sp. ที่เลี้ยงภายใต้สภาวะที่แตกต่างกัน (mean \pm S.E)

Spirulina sp. พบว่าที่ pH6+Pb5 ในช่วงระยะ 6 วันแรก มีการสร้างโปรตีนที่สูงกว่าการเลี้ยงที่สภาวะอื่น หลังจากนั้นในทุกสภาวะการทดลองการเปลี่ยนแปลงปริมาณโปรตีนจะใกล้เคียงกันจนสิ้นสุดการทดลอง โดยในวันที่ 6 ที่ pH6+Pb5 มีปริมาณโปรตีนสูงสุดคือ 3871.08 ± 81.94 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้งสาหร่าย (ภาพที่ 41) และเมื่อสิ้นสุดการทดลองที่ pH6+Pb0 มีปริมาณคาร์โบไฮเดรตของเซลล์สาหร่ายน้อยที่สุด (2866.13 ± 378.47) ซึ่งไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับทุกสภาวะการทดลอง (ตารางที่ 14)



ภาพที่ 41 ปริมาณโปรตีน (มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้งสาหร่าย) ของ *Spirulina* sp. ที่เลี้ยงภายใต้สภาวะที่แตกต่างกัน (mean \pm S.E)

การสร้างโปรตีนของสาหร่ายจากการทดลองครั้งนี้พบว่า การสร้างโปรตีนของสาหร่ายแต่ละชนิดจะขึ้นอยู่กับที่ได้รับปริมาณความเข้มข้นของตะกั่ว (Pb) ที่แตกต่างกันที่ pH ต่ำ พิจารณาได้จากในสภาวะที่เหมาะสม สาหร่ายแต่ละชนิดมีการสร้างโปรตีนเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ เมื่อระยะเวลาในการเลี้ยงเพิ่มขึ้น ส่วนสาหร่ายที่เลี้ยงในระดับ pH ที่ต่ำ พบว่าการสร้างโปรตีนจะเพิ่มขึ้นสูงกว่า pH ปกติในช่วงระยะแรก จากนั้นปริมาณการสร้างจะเริ่มลดลง แต่สภาวะที่มีการเติมตะกั่วเข้าไป ในช่วงแรกของการเลี้ยงการสร้างโปรตีนมีแนวโน้มสูงมากในสาหร่ายทุกชนิด ซึ่งสูงกว่า ที่ pH ปกติ และที่ pH ต่ำ เมื่อระยะเวลาผ่านไปปริมาณการสร้างจะลดลงมากกว่า ที่ pH ปกติ และที่ pH ต่ำ และพบว่าการเติมตะกั่วที่ความเข้มข้นสูง ปริมาณการสร้างโปรตีนในช่วงแรกของการเลี้ยงจะสูงที่สุด และยังพบว่าการสร้างโปรตีนในสาหร่ายแต่ละชนิดมีการสร้างที่ไม่เท่ากัน ทั้งปริมาณสูงสุด และระยะเวลาที่มีการสร้างสูงสุด

เซลล์ของสาหร่ายเมื่อได้รับสภาวะเครียด (stress) มักพบว่าภายในเซลล์จะมีการสะสมของสารอาหารมากกว่าปกติ เช่น โปรตีน, แป้ง, ไขมัน (ลัดดา, 2543) และการได้รับพิษจากโลหะหนักสาหร่ายจะมีกลไกการลดพิษ โดยการสร้างสารในกลุ่มของโปรตีน คือ phytochelatin (PC) ซึ่งเป็นโมเลกุลของเปปไทด์ ที่ประกอบด้วย กรดกลูตามิก, ซีสเทอีน และ ไกลซีน ทำหน้าที่กำจัดสารพิษของโลหะหนัก โดยจะรวมตัวกับไอออนของโลหะ และสะสมไว้ใน vacuole ซึ่งเป็นแหล่งรวบรวมของสารประกอบของโลหะเป็นผลให้ลดพิษของโลหะได้ (Grill *et al.*, 1998) ดังนั้นการเลี้ยงสาหร่ายบางชนิดในสารอาหารที่มีตะกั่วปนเปื้อน ปริมาณโปรตีนจะเพิ่มขึ้นก็เพื่อลดพิษของตะกั่ว

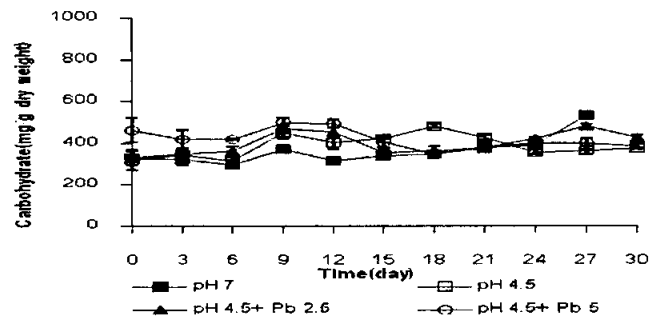
ตารางที่ 11 ปริมาณโปรตีนเมื่อสิ้นสุดการทดลอง (มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้งของสาหร่าย) ในสาหร่ายชนิดต่างๆ ที่เลี้ยงภายใต้สภาวะที่แตกต่างกัน (mean±S.E.)

| pH+Pb (mg/l) | สาหร่าย | | | | | |
|-----------------|-----------------------------|--------------------------------|------------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|
| | <i>Hapalosiphon</i> sp. | <i>Mastigocladopsis</i> sp. | <i>Nostoc</i> sp. (24วัน) | <i>Phormidium</i> sp. | <i>Stigonema</i> sp. | <i>Fischerella</i> sp. |
| pH7+Pb0 | 2723.17±128.89 ^a | 1436.49±40.33 ^a | 1892.17±28.73 ^a | 1238.36±36.96 ^a | 1246.57±14.49 ^a | 1418.07±26.79 ^a |
| pH4.5+Pb0 | 1547.23±50.71 ^b | 1359.05±70.83 ^a | 1705.80±107.69 ^a | 830.53±72.55 ^b | 1048.68±24.22 ^b | 836.73±10.71 ^b |
| pH4.5+Pb2.5 | 1606.14±87.36 ^b | 1195.63±86.25 ^b | 1003.49±49.43 ^b | 849.20±97.34 ^b | 1209.25±85.21 ^a | 601.69±24.28 ^c |
| pH4.5+Pb5 | 1472.33± 57.46 ^b | 1386.71±43.19 ^a | 975.33±74.85 ^b | 909.84±128.06 ^b | 885.53±23.24 ^c | 481.74±13.08 ^d |

หมายเหตุ ตัวอักษรพิมพ์เล็กในแนวแถวตั้งเดียวกันที่แตกต่างกัน คือมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์ (P<0.05)

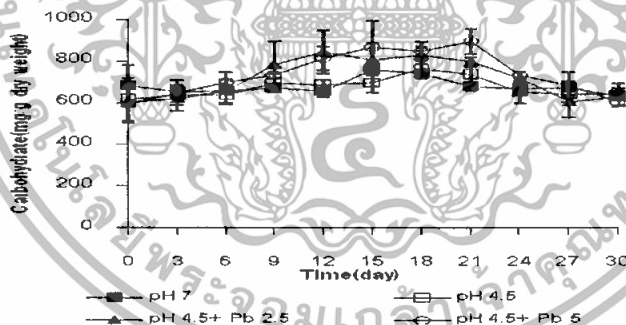
2.5 ผลของ Pb ต่อปริมาณคาร์โบไฮเดรตของเซลล์สาหร่าย cyanobacteria ที่เลี้ยงในระดับ pH ต่ำ

การเปลี่ยนแปลงปริมาณคาร์โบไฮเดรตของเซลล์สาหร่าย cyanobacteria จากการศึกษาผลของ Pb ร่วมกับ pH ใน 4 สภาวะ คือ เลี้ยงในอาหารเลี้ยงที่ pH7 โดยไม่มีการเติมตะกั่ว (pH7+Pb0), เลี้ยงในอาหารเลี้ยงที่ pH4.5 โดยไม่มีการเติมตะกั่ว (pH4.5+Pb0), เลี้ยงในอาหารเลี้ยงที่ pH4.5 โดยการเติมตะกั่วเท่ากับ 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร (pH4.5+Pb2.5) และเลี้ยงในอาหารเลี้ยงที่ pH4.5 โดยการเติมตะกั่วเท่ากับ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร (pH4.5+Pb5) ในสาหร่าย cyanobacteria ชนิด *Hapalosiphon* sp., *Mastigocladopsis* sp., *Nostoc* sp., *Phormidium* sp., *Stigonema* sp. และ *Fischerella* sp. ส่วนในสาหร่ายชนิด *Spirulina* sp. ศึกษาในอาหารเลี้ยงที่ pH 7 โดยไม่มีการเติมตะกั่ว (pH7+Pb0), เลี้ยงในอาหารเลี้ยงที่ pH6 โดยไม่มีการเติมตะกั่ว (pH6+Pb0), เลี้ยงในอาหารเลี้ยงที่ pH6 โดยการเติมตะกั่วเท่ากับ 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร (pH6+Pb2.5) และเลี้ยงในอาหารเลี้ยงที่ pH6 โดยการเติมตะกั่วเท่ากับ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร (pH6+Pb5) และ สาหร่ายชนิด *Oscillatoria* sp. ศึกษาในอาหารเลี้ยงที่ pH7 โดยไม่มีการเติมตะกั่ว (pH7+Pb0), เลี้ยงในอาหารเลี้ยงที่ pH5.5 โดยไม่มีการเติมตะกั่ว (pH5.5+Pb0), เลี้ยงในอาหารเลี้ยงที่ pH5.5 โดยการเติมตะกั่วเท่ากับ 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร (pH5.5+Pb2.5) และเลี้ยงในอาหารเลี้ยงที่ pH5.5 โดยการเติมตะกั่วเท่ากับ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร (pH5.5+Pb5) เป็นเวลา 30 วัน การเปลี่ยนแปลงปริมาณคาร์โบไฮเดรตของเซลล์สาหร่าย *Hapalosiphon* sp.พบว่าที่ pH4.5+Pb5 ในช่วงระยะ 12 วันแรก มีปริมาณคาร์โบไฮเดรตของเซลล์สาหร่ายสูงกว่าการเลี้ยงที่สภาวะอื่น หลังจากนั้นในทุกสภาวะการทดลองการเปลี่ยนแปลงปริมาณคาร์โบไฮเดรตของเซลล์สาหร่ายจะใกล้เคียงกัน (ภาพที่ 42) เมื่อสิ้นสุดการทดลองที่ pH4.5+Pb5 มีปริมาณคาร์โบไฮเดรตของเซลล์สาหร่ายน้อยที่สุด (386.84 ± 10.38) ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับทุกสภาวะการทดลอง (ตารางที่ 12)



ภาพที่ 42 ปริมาณคาร์โบไฮเดรตของเซลล์สาหร่าย (มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้งสาหร่าย) ของ *Hapalosiphon* sp. ที่เลี้ยงภายใต้สภาวะที่แตกต่างกัน (mean \pm S.E)

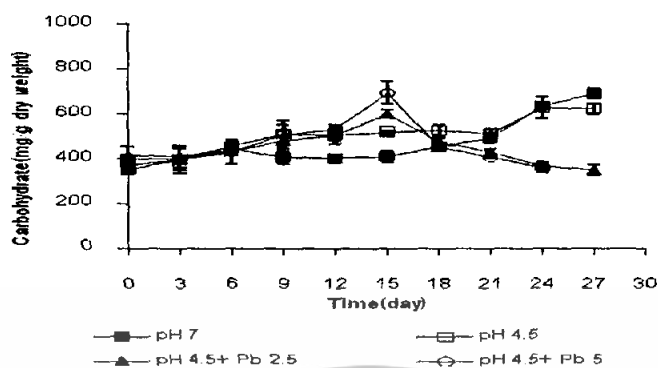
Mastigocladopsis sp. พบว่าในทุกสภาวะของการทดลอง การเปลี่ยนแปลงปริมาณคาร์โบไฮเดรตของเซลล์สาหร่ายจะใกล้เคียงกัน ยกเว้นวันที่ 15-21 ของการเลี้ยงที่ pH4.5+Pb5 มีปริมาณที่เพิ่มขึ้นสูงกว่าสภาวะการเลี้ยงอื่นๆ (ภาพที่ 42) โดยในวันที่ 21 ที่ pH4.5+Pb5 มีปริมาณคาร์โบไฮเดรตของเซลล์สาหร่ายสูงสุดคือ 894.04 ± 59.05 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้งสาหร่าย และเมื่อสิ้นสุดการทดลองที่ pH4.5+Pb5 มีปริมาณคาร์โบไฮเดรตของเซลล์สาหร่ายน้อยที่สุด (605.79 ± 22.64) ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับทุกสภาวะการทดลอง (ตารางที่ 12)



ภาพที่ 43 ปริมาณคาร์โบไฮเดรตของเซลล์สาหร่าย (มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้งสาหร่าย) ของ *Mastigocladopsis* sp. ที่เลี้ยงภายใต้สภาวะที่แตกต่างกัน (mean \pm S.E)

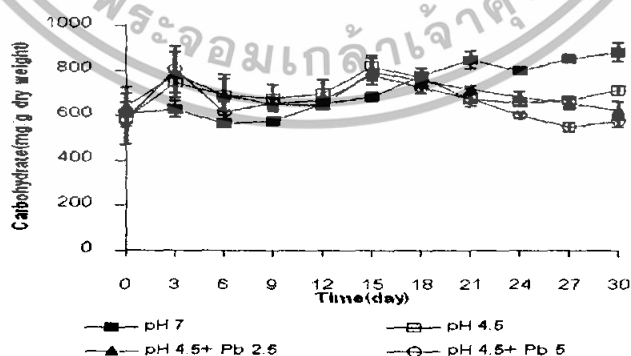
Nostoc sp. พบว่าที่ pH4.5+Pb0, pH4.5+Pb2.5 และ pH4.5+Pb5 ในช่วงวันที่ 9-18 มีปริมาณคาร์โบไฮเดรตของเซลล์สาหร่ายเพิ่มขึ้นมากกว่า pH7+Pb0 หลังจากนั้นจะเริ่มลดลงและตายในวันที่ 27 ของการเลี้ยง โดยในวันที่ 21 ที่ pH4.5+Pb5 มีปริมาณคาร์โบไฮเดรตของเซลล์สาหร่ายสูงสุดคือ 692.71 ± 49.90 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้งสาหร่าย (ภาพที่ 44) และเมื่อสิ้นสุดการทดลอง

ที่ pH4.5+Pb5 มีปริมาณคาร์โบไฮเดรตของเซลล์สาหร่ายน้อยที่สุด (359.38 ± 19.02) ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับ pH4.5+Pb2.5 (ตารางที่ 12)



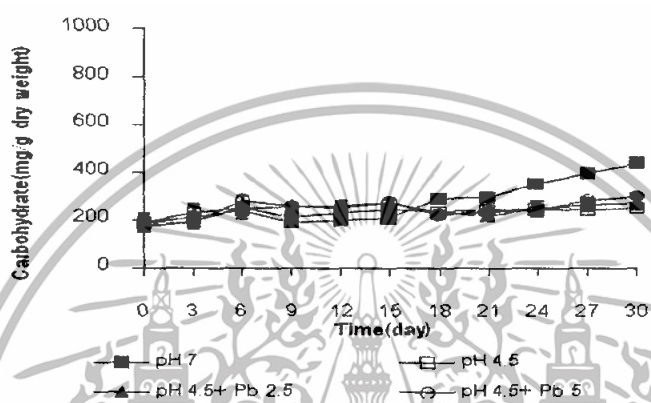
ภาพที่ 44 ปริมาณคาร์โบไฮเดรตของเซลล์สาหร่าย (มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้งสาหร่าย) ของ *Nostoc* sp. ที่เลี้ยงภายใต้สภาวะที่แตกต่างกัน (mean \pm S.E)

Phormidium sp. ที่ pH4.5+Pb0, pH4.5+Pb2.5 และ pH4.5+Pb5 ปริมาณคาร์โบไฮเดรตของเซลล์สาหร่าย มีการเพิ่มขึ้นและลดลงใกล้เคียงกันตลอดระยะเวลาการทดลอง และในช่วงวันที่ 3-18 ของการเลี้ยง มีการสะสมของคาร์โบไฮเดรตเพิ่มขึ้นมากกว่าที่ pH7+Pb0 หลังจากนั้นจึงเริ่มลดลง ในขณะที่ pH7+Pb ค่อยๆ เพิ่มขึ้น โดยในวันที่ 21 ที่ pH7+Pb0 มีปริมาณคาร์โบไฮเดรตของเซลล์สาหร่ายสูงสุดคือ 847.63 ± 39.28 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้งสาหร่าย (ภาพที่ 45) และเมื่อสิ้นสุดการทดลองที่ pH4.5+Pb5 มีปริมาณคาร์โบไฮเดรตของเซลล์สาหร่ายน้อยที่สุด (572.56 ± 21.43) ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับ pH4.5+Pb2.5 (ตารางที่ 12)



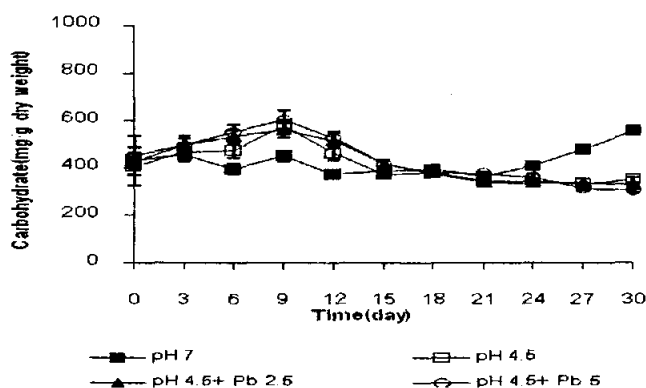
ภาพที่ 45 ปริมาณคาร์โบไฮเดรตของเซลล์สาหร่าย (มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้งสาหร่าย) ของ *Phormidium* sp. ที่เลี้ยงภายใต้สภาวะที่แตกต่างกัน (mean \pm S.E)

Stigonema sp. พบว่า การทดลองทั้ง 4 สภาวะ มีการเปลี่ยนแปลงปริมาณคาร์โบไฮเดรต (เซลล์สาหร่าย) ใกล้เคียงกันตลอดระยะเวลาการเลี้ยง ยกเว้นในวันที่ 21-30 ที่ pH7+Pb0 มี ปริมาณคาร์โบไฮเดรตของเซลล์สาหร่ายเพิ่มขึ้นสูงกว่าสภาวะอื่นเล็กน้อย โดยในวันที่ 30 ที่ pH7+Pb0 มี ปริมาณคาร์โบไฮเดรตของเซลล์สาหร่ายที่สูงที่สุดคือ 435.59 ± 0.18 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้งสาหร่าย (ภาพที่ 46) และเมื่อสิ้นสุดการทดลองที่ pH4.5+Pb5 มีปริมาณคาร์โบไฮเดรตของเซลล์สาหร่ายน้อยที่สุด (299.84 ± 9.25) ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับ pH4.5+Pb2.5 (ตารางที่ 12)



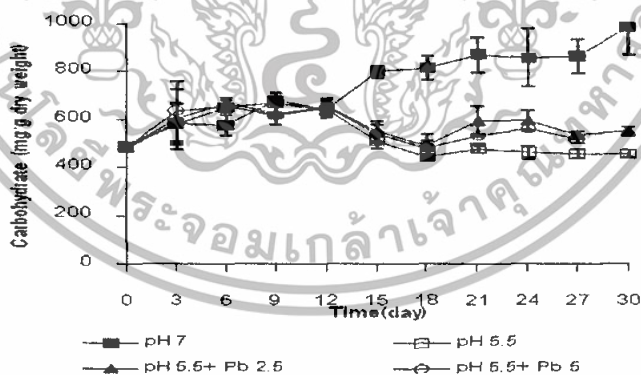
ภาพที่ 46 ปริมาณคาร์โบไฮเดรตของเซลล์สาหร่าย (มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้งสาหร่าย) ของ *Stigonema* sp. ที่เลี้ยงภายใต้สภาวะที่แตกต่างกัน (mean \pm S.E)

Fischerella sp. ในช่วงวันที่ 3-12 ของการเลี้ยง pH4.5+Pb0, pH4.5+Pb2.5 และ pH4.5+Pb5 ปริมาณคาร์โบไฮเดรตของเซลล์สาหร่ายมีการเพิ่มขึ้นสูงกว่า pH7+Pb0 หลังจากนั้นจึงเริ่มลดลง โดยในวันที่ 9 pH4.5+Pb5 มีปริมาณคาร์โบไฮเดรตของเซลล์สาหร่ายสูงที่สุดคือ 604.28 ± 38.46 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้งสาหร่าย (ภาพที่ 47) และเมื่อสิ้นสุดการทดลองที่ pH4.5+Pb5 มีปริมาณคาร์โบไฮเดรตของเซลล์สาหร่ายน้อยที่สุด (304.49 ± 8.68) ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับทุกสภาวะการทดลอง (ตารางที่ 12)



ภาพที่ 47 ปริมาณคาร์โบไฮเดรตของเซลล์สาหร่าย (มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้งสาหร่าย) ของ *Fischerella* sp. ที่เลี้ยงภายใต้สภาวะที่แตกต่างกัน (mean \pm S.E)

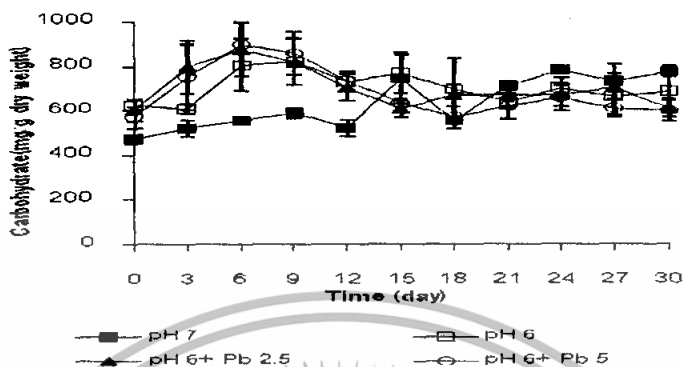
Osillatoria sp. การเปลี่ยนแปลงปริมาณคาร์โบไฮเดรตของเซลล์สาหร่าย ในช่วงแรกนั้น คล้ายกันทุกสภาวะการทดลอง ซึ่งหลังจากวันที่ 12 ของการเลี้ยง ที่ pH7+Pb0 จะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว ในขณะที่สภาวะเครียดที่ pH5.5+Pb0, pH5.5+Pb2.5 และ pH5.5+Pb5 จะลดลง โดยในวันที่ 30 ที่ pH7+Pb0 มีปริมาณคาร์โบไฮเดรตของเซลล์สาหร่ายสูงสุดคือ 985.56 ± 115.36 มิลลิกรัมต่อกรัม น้ำหนักแห้งสาหร่าย (ภาพที่ 48) และเมื่อสิ้นสุดการทดลองที่ pH4.5+Pb5 มีปริมาณคาร์โบไฮเดรตของเซลล์สาหร่ายน้อยที่สุด (518.90 ± 15.90) แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับ pH7+Pb0 (ตารางที่ 13)



ภาพที่ 48 ปริมาณคาร์โบไฮเดรตของเซลล์สาหร่าย (มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้งสาหร่าย) ของ *Osillatoria* sp. ที่เลี้ยงภายใต้สภาวะที่แตกต่างกัน (mean \pm S.E)

Spirulina sp. ในช่วงระยะ 12 วันแรกที่ pH6+Pb0, pH6+Pb2.5 และ pH6+Pb5 มี ปริมาณ คาร์โบไฮเดรตของเซลล์สาหร่ายสูงกว่าที่ pH7+Pb0 หลังจาก วันที่ 15 ของการเลี้ยง จะมีการสะสมใน ปริมาณที่ใกล้เคียงกันทุกสภาวะการทดลอง โดยในวันที่ 6 ที่ pH6+Pb5 มีปริมาณคาร์โบไฮเดรตของ

เซลล์สาหร่ายสูงสุดคือ 894.71 ± 140.03 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้งสาหร่าย (ภาพที่ 49) และเมื่อสิ้นสุดการทดลองที่ pH4.5+Pb5 มีปริมาณคาร์โบไฮเดรตของเซลล์สาหร่ายน้อยที่สุด (599.63 ± 50.00) ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับ pH7+Pb0 (ตารางที่ 14)



ภาพที่ 49 ปริมาณคาร์โบไฮเดรตของเซลล์สาหร่าย (มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้งสาหร่าย) ของ *Spirulina* sp. ที่เลี้ยงภายใต้สภาวะที่แตกต่างกัน (mean \pm S.E)

การสร้างคาร์โบไฮเดรตของเซลล์สาหร่าย จากการทดลองครั้งนี้พบว่ามีความสัมพันธ์กับการสร้างโปรตีน คือ การสร้างคาร์โบไฮเดรตของเซลล์ในสาหร่ายทุกชนิดจะขึ้นอยู่กับปริมาณความเข้มข้นของตะกั่ว (Pb) ที่แตกต่างกันที่ pH ต่ำ พิจารณาได้จากในสภาวะที่เหมาะสมสาหร่ายแต่ละชนิดจะมีการสร้างคาร์โบไฮเดรตของเซลล์สาหร่ายเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ เมื่อระยะเวลาในการเลี้ยงเพิ่มขึ้น ส่วนสาหร่ายที่เลี้ยงในสภาวะเครียดที่ระดับ pH ต่ำ พบว่าการสร้างคาร์โบไฮเดรตของเซลล์สาหร่ายจะเพิ่มขึ้นสูงกว่า pH ปกติเล็กน้อยในช่วงระยะแรก จากนั้นปริมาณการสร้างจะเริ่มลดลง แต่สภาวะที่มีการเติมตะกั่วเข้าไป ในช่วงแรกของการเลี้ยงพบว่ามีการสร้างคาร์โบไฮเดรตมีแนวโน้มสูงในสาหร่ายทุกชนิด ซึ่งสูงกว่า ที่ pH ปกติ และที่ pH ต่ำ เมื่อระยะเวลาผ่านไปปริมาณการสร้างจะลดลงมากกว่า ที่ pH ปกติอย่างสังเกตเห็นได้ชัด และพบว่าการเติมตะกั่วที่มีความเข้มข้นสูงปริมาณการสร้างคาร์โบไฮเดรตของเซลล์สาหร่าย ในช่วงแรกของการเลี้ยงจะสูงที่สุด และยังพบว่าปริมาณการสะสมของคาร์โบไฮเดรตของเซลล์สาหร่าย มีการสะสมในปริมาณที่น้อยกว่าโปรตีนเมื่อเปรียบกันในหน่วย มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ซึ่งในสาหร่ายแต่ละชนิดพบปริมาณการสร้างที่ไม่เท่ากัน ทั้งปริมาณสูงสุด และระยะเวลาที่มีการสร้างสูงสุด

สาหร่ายสามารถดูดซับโลหะหนักไว้ที่ผิวเซลล์และภายในเซลล์ โดยการทำงานของหมู่ฟังก์ชันที่อยู่บนผนังเซลล์เป็นหลัก ซึ่งบนผนังเซลล์จะประกอบด้วยสารพอลิแซ็กคาไรด์ ซึ่งเป็นอนุพันธ์ของ

คาร์โบไฮเดรต จะทำหน้าที่เป็นสารช่วยตกตะกอน และช่วยจับไอออนอื่นๆ เพื่อลดความเป็นพิษของโลหะหนัก (Painter.,1993) ดังนั้นการที่มีตะกั่วในอาหารเลี้ยงเชื้อจึงเป็นการกระตุ้นให้สาหร่ายมีการผลิตสารพอลิแซคคาไรด์เพิ่มขึ้น หรือเป็นการเพิ่มปริมาณคาร์โบไฮเดรต เพื่อลดพิษของตะกั่ว



ตารางที่ 12 ปริมาณคาร์โบไฮเดรตของเซลล์สาหร่ายเมื่อสิ้นสุดการทดลอง (มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้งของสาหร่าย) ในสาหร่ายชนิดต่างๆ ที่เลี้ยงภายใต้สภาวะที่แตกต่างกัน (mean±S.E.)

| pH+Pb (mg/l) | สาหร่าย | | | | | |
|-----------------|----------------------------|--------------------------------|-------------------------------|----------------------------|----------------------------|---------------------------|
| | <i>Hapalosiphon</i> sp. | <i>Mastigocladopsis</i> sp. | <i>Nostoc</i> sp. (24 วัน) | <i>Phormidium</i> sp. | <i>Stigonema</i> sp. | <i>Fischerella</i> sp. |
| pH7+Pb0 | 621.00±10.69 ^a | 632.55±18.66 ^a | 634.79±2.85 ^a | 881.54±42.16 ^a | 435.59±0.18 ^a | 554.04±14.26 ^a |
| pH4.5+Pb0 | 462.94±13.64 ^b | 640.98±50.87 ^a | 626.84±48.96 ^a | 712.42±19.88 ^b | 251.51±8.11 ^c | 348.72±12.12 ^b |
| pH4.5+Pb2.5 | 462.94±13.53 ^b | 629.66±40.14 ^a | 367.44±17.82 ^b | 621.71±38.30 ^{bc} | 273.33±23.56 ^{bc} | 348.72±5.03 ^b |
| pH4.5+Pb5 | 386.84±10.38 ^c | 605.79±22.64 ^b | 359.38±19.02 ^b | 572.56±21.43 ^c | 299.84±9.25 ^b | 304.49±8.68 ^c |

หมายเหตุ ตัวอักษรพิมพ์เล็กในแนวแถวตั้งเดียวกันที่แตกต่างกัน คือมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ (P<0.05)

ตารางที่ 13 ปริมาณโปรตีน และคาร์โบไฮเดรตของเซลล์สาหร่ายเมื่อสิ้นสุดการทดลอง (มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้งของสาหร่าย) ในสาหร่าย *Oscillatoria* sp. ที่เลี้ยงภายใต้สภาวะที่แตกต่างกัน (mean±S.E.)

| pH+Pb(mg/l) | ปริมาณโปรตีน (mg/g dry weight) | ปริมาณคาร์โบไฮเดรตของเซลล์สาหร่าย (mg/g dry weight) |
|-------------|-----------------------------------|--|
| pH7+Pb0 | 2399.40±47.87 ^a | 863.73±72.03 ^a |
| pH5.5+Pb0 | 1858.60±271.25 ^b | 457.98±18.34 ^b |
| pH5.5+Pb2.5 | 1568.35±110.70 ^b | 536.40±15.11 ^b |
| pH5.5+Pb5 | 1532.74±57.96 ^b | 518.90±15.90 ^b |

หมายเหตุ ตัวอักษรพิมพ์เล็กในแนวแถวตั้งเดียวกันที่แตกต่างกัน คือมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ (P<0.05)

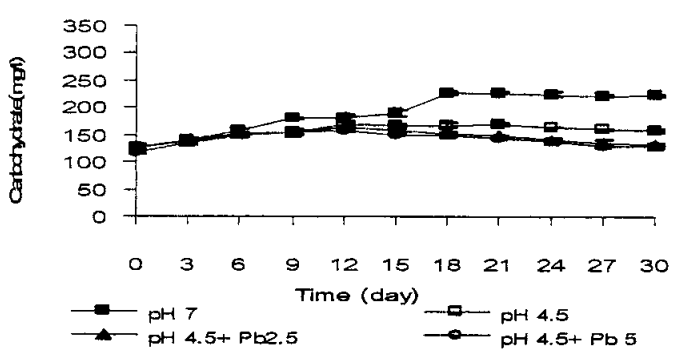
ตารางที่ 14 ปริมาณโปรตีน และคาร์โบไฮเดรตของเซลล์สาหร่ายเมื่อสิ้นสุดการทดลอง (มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้งของสาหร่าย) ในสาหร่าย *Spirulina* sp. ที่เลี้ยงภายใต้สภาวะที่แตกต่างกัน (mean±S.E.)

| pH+Pb(mg/l) | ปริมาณโปรตีน (mg/g dry weight) | ปริมาณคาร์โบไฮเดรตของเซลล์สาหร่าย (mg/g dry weight) |
|-------------|-----------------------------------|--|
| pH7+Pb0 | 2977.68±103.91 ^a | 974.67±25.48 ^a |
| pH6+Pb0 | 2866.13±378.47 ^a | 682.04±97.38 ^b |
| pH6+Pb2.5 | 3056.15±38.72 ^a | 606.31±38.51 ^b |
| pH6+Pb5 | 3522.55±251.12 ^a | 599.63±50.00 ^b |

หมายเหตุ ตัวอักษรพิมพ์เล็กในแนวแถวตั้งเดียวกันที่แตกต่างกัน คือมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ (P<0.05)

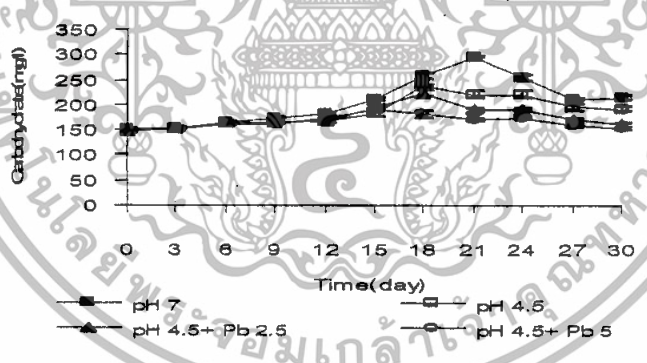
2.6 ผลของ Pb ต่อปริมาณคาร์โบไฮเดรตในน้ำเลี้ยงสาหร่าย cyanobacteria ที่เลี้ยงในระดับ pH ต่ำ

การเปลี่ยนแปลงปริมาณคาร์โบไฮเดรตในน้ำเลี้ยงสาหร่าย cyanobacteria จากการศึกษาผลของ Pb ร่วมกับ pH ใน 4 สภาวะ คือ เลี้ยงในอาหารเลี้ยงที่ pH7 โดยไม่มีการเติมตะกั่ว (pH7+Pb0), เลี้ยงในอาหารเลี้ยงที่ pH4.5 โดยไม่มีการเติมตะกั่ว (pH4.5+Pb0), เลี้ยงในอาหารเลี้ยงที่ pH4.5 โดยการเติมตะกั่วเท่ากับ 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร (pH4.5+Pb2.5) และเลี้ยงในอาหารเลี้ยงที่ pH4.5 โดยการเติมตะกั่วเท่ากับ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร (pH4.5+Pb5) ในสาหร่าย cyanobacteria ชนิด *Hapalosiphon* sp., *Mastigocladopsis* sp., *Nostoc* sp., *Phormidium* sp., *Stigonema* sp. และ *Fischerella* sp. ส่วนในสาหร่ายชนิด *Spirulina* sp. ศึกษาในอาหารเลี้ยงที่ pH 7 โดยไม่มีการเติมตะกั่ว (pH7+Pb0), เลี้ยงในอาหารเลี้ยงที่ pH6 โดยไม่มีการเติมตะกั่ว (pH6+Pb0), เลี้ยงในอาหารเลี้ยงที่ pH6 โดยการเติมตะกั่วเท่ากับ 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร (pH6+Pb2.5) และเลี้ยงในอาหารเลี้ยงที่ pH6 โดยการเติมตะกั่วเท่ากับ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร (pH6+Pb5) และ สาหร่ายชนิด *Osillatoria* sp. ศึกษาในอาหารเลี้ยงที่ pH7 โดยไม่มีการเติมตะกั่ว (pH7+Pb0), เลี้ยงในอาหารเลี้ยงที่ pH5.5 โดยไม่มีการเติมตะกั่ว (pH5.5+Pb0), เลี้ยงในอาหารเลี้ยงที่ pH5.5 โดยการเติมตะกั่วเท่ากับ 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร (pH5.5+Pb2.5) และเลี้ยงในอาหารเลี้ยงที่ pH5.5 โดยการเติมตะกั่วเท่ากับ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร (pH5.5+Pb5) เป็นเวลา 30 วัน การเปลี่ยนแปลงปริมาณคาร์โบไฮเดรตในน้ำเลี้ยงสาหร่าย *Hapalosiphon* sp. ในช่วงแรกของการทดลองพบว่า ทั้ง 4 สภาวะมีแนวโน้มการเพิ่มขึ้นของปริมาณคาร์โบไฮเดรตในน้ำเลี้ยงไปในทิศทางเดียวกัน และหลังจากวันที่ 15 ของการทดลองที่สภาวะเครียด (pH4.5+Pb0, pH4.5+Pb2.5, pH4.5+Pb5) มีการเพิ่มขึ้นที่น้อยในสภาวะปกติ (ภาพที่ 50) เมื่อสิ้นสุดการทดลองที่ pH4.5+Pb5 มีปริมาณคาร์โบไฮเดรตในน้ำเลี้ยงน้อยที่สุดคือ 128.22 ± 0.76 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับ pH4.5+Pb2.5 (ตารางที่ 15)



ภาพที่ 50 ปริมาณคาร์โบไฮเดรตในน้ำเลี้ยงสาหร่าย (มิลลิกรัมต่อลิตร) ของ *Hapalosiphon* sp. ที่เลี้ยงภายใต้สภาวะที่แตกต่างกัน (mean ± S.E)

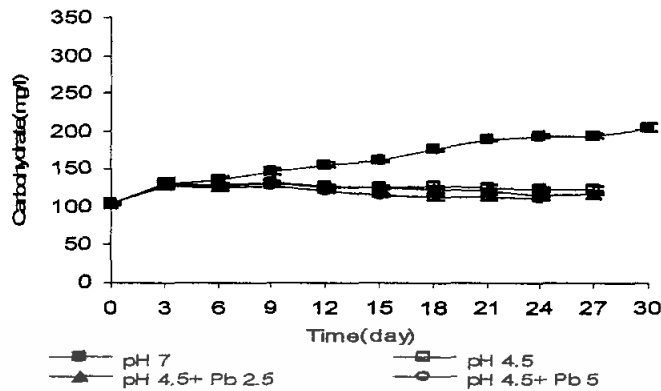
Mastigocladopsis sp. ในช่วงแรกของการทดลองพบว่า ทั้ง 4 สภาวะมีแนวโน้มการเพิ่มขึ้นของปริมาณคาร์โบไฮเดรตในน้ำเลี้ยงไปในทิศทางเดียวกัน และหลังจากวันที่ 18 ของการทดลองที่สภาวะเครียด (pH4.5+Pb0, pH4.5+Pb2.5, pH4.5+Pb5) มีการเพิ่มขึ้นที่น้อยในสภาวะปรกติ (ภาพที่ 51) เมื่อสิ้นสุดการทดลองที่ pH4.5+Pb5 มีปริมาณคาร์โบไฮเดรตในน้ำเลี้ยงน้อยที่สุด 153.23±3.68 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับ pH4.5+Pb2.5 (ตารางที่ 15)



ภาพที่ 51 ปริมาณคาร์โบไฮเดรตในน้ำเลี้ยงสาหร่าย (มิลลิกรัมต่อลิตร) ของ *Mastigocladopsis* sp. ที่เลี้ยงภายใต้สภาวะที่แตกต่างกัน (mean ± S.E)

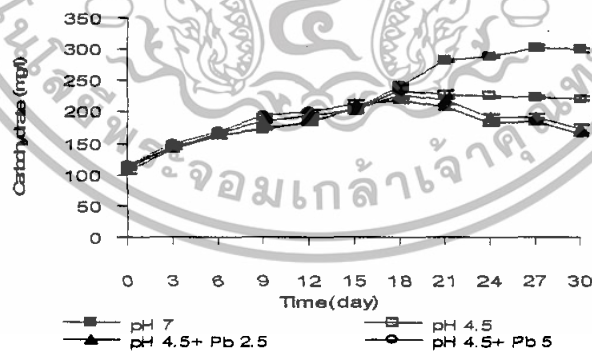
Nostoc sp. ในช่วงแรกของการทดลองพบว่า ทั้ง 4 สภาวะมีแนวโน้มการเพิ่มขึ้นของปริมาณคาร์โบไฮเดรตในน้ำเลี้ยงไปในทิศทางเดียวกัน และหลังจากวันที่ 18 ของการทดลองที่สภาวะเครียด (pH4.5+Pb0, pH4.5+Pb2.5, pH4.5+Pb5) มีการเพิ่มขึ้นที่น้อยในสภาวะปรกติ (ภาพที่ 52) เมื่อ

สิ้นสุดการทดลองที่ pH4.5+Pb5 มีปริมาณคาร์โบไฮเดรตในน้ำเลี้ยงน้อยที่สุด 153.23 ± 3.68 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับ pH4.5+Pb2.5 (ตารางที่ 15)



ภาพที่ 52 ปริมาณคาร์โบไฮเดรตในน้ำเลี้ยงสำหรับ (มิลลิกรัมต่อลิตร) ของ *Nostoc* sp. ที่เลี้ยงภายใต้สภาวะที่แตกต่างกัน (mean \pm S.E)

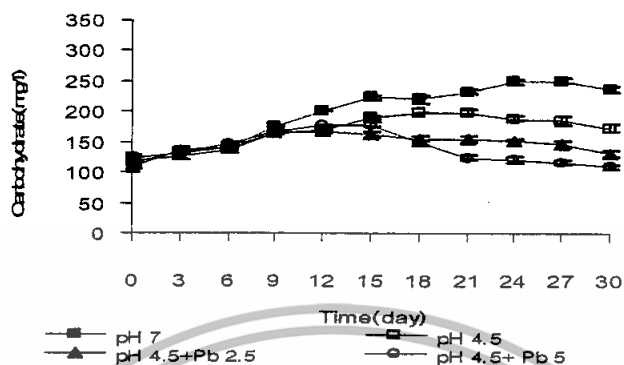
Phormidium sp. ในช่วงแรกของการทดลองพบว่า ทั้ง 4 สภาวะมีแนวโน้มการเพิ่มขึ้นของปริมาณคาร์โบไฮเดรตในน้ำเลี้ยงไปในทิศทางเดียวกัน และหลังจากวันที่ 18 ของการทดลองที่สภาวะเครียด (pH4.5+Pb0, pH4.5+Pb2.5, pH4.5+Pb5) มีการเพิ่มขึ้นที่น้อยในสภาวะปกติ (ภาพที่ 53) เมื่อสิ้นสุดการทดลองที่ pH4.5+Pb5 มีปริมาณคาร์โบไฮเดรตในน้ำเลี้ยงน้อยที่สุด 164.97 ± 2.74 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับ pH4.5+Pb2.5 (ตารางที่ 15)



ภาพที่ 53 ปริมาณคาร์โบไฮเดรตในน้ำเลี้ยงสำหรับ (มิลลิกรัมต่อลิตร) ของ *Phormidium* sp. ที่เลี้ยงภายใต้สภาวะที่แตกต่างกัน (mean \pm S.E)

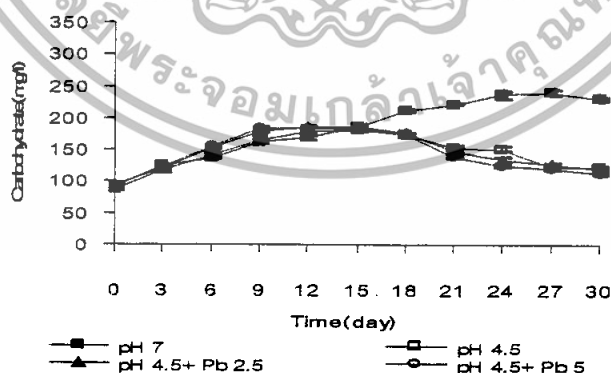
Stigonema sp. ในช่วงแรกของการทดลองพบว่า ทั้ง 4 สภาวะมีแนวโน้มการเพิ่มขึ้นของปริมาณคาร์โบไฮเดรตในน้ำเลี้ยงไปในทิศทางเดียวกัน และหลังจากวันที่ 9 ของการทดลองที่สภาวะ

เครียด (pH4.5+Pb0, pH4.5+Pb2.5, pH4.5+Pb5) มีการเพิ่มขึ้นที่น้อยในสภาวะปรกติ (ภาพที่ 54) เมื่อสิ้นสุดการทดลองที่ pH4.5+Pb5 มีปริมาณคาร์โบไฮเดรตในน้ำเลี้ยงน้อยที่สุด 109.80 ± 4.19 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับทุกสภาวะการทดลอง (ตารางที่ 15)



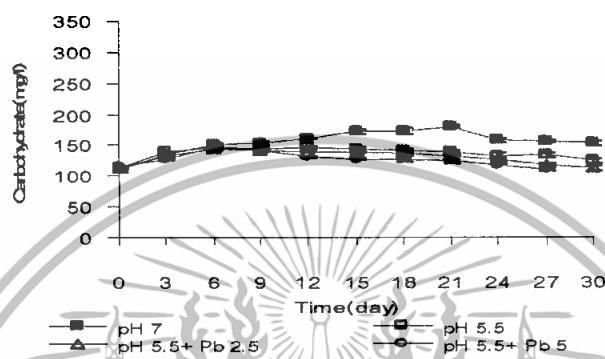
ภาพที่ 54 ปริมาณคาร์โบไฮเดรตในน้ำเลี้ยงสาหร่าย (มิลลิกรัมต่อลิตร) ของ *Stigonema* sp. ที่เลี้ยงภายใต้สภาวะที่แตกต่างกัน (mean \pm S.E)

Fischerella sp. ในช่วงแรกของการทดลองพบว่า ทั้ง 4 สภาวะมีแนวโน้มการเพิ่มขึ้นของปริมาณคาร์โบไฮเดรตในน้ำเลี้ยงไปในทิศทางเดียวกัน และหลังจากวันที่ 15 ของการทดลองที่สภาวะเครียด (pH4.5+Pb0, pH4.5+Pb2.5, pH4.5+Pb5) เริ่มมีการลดลง (ภาพที่ 55) เมื่อสิ้นสุดการทดลองที่ pH4.5+Pb5 มีปริมาณคาร์โบไฮเดรตในน้ำเลี้ยงน้อยที่สุด 111.85 ± 0.95 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับ pH4.5+Pb2.5 (ตารางที่ 15)



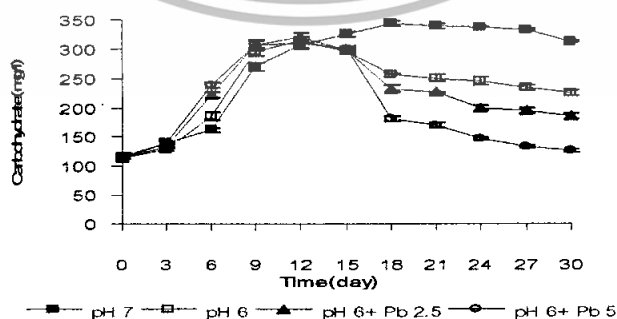
ภาพที่ 55 ปริมาณคาร์โบไฮเดรตในน้ำเลี้ยงสาหร่าย (มิลลิกรัมต่อลิตร) ของ *Fischerella* sp. ที่เลี้ยงภายใต้สภาวะที่แตกต่างกัน (mean \pm S.E)

Osillatoria sp. ในช่วงแรกของการทดลองพบว่า ทั้ง 4 สภาวะมีแนวโน้มการเพิ่มขึ้นของปริมาณคาร์โบไฮเดรตในน้ำเลี้ยงไปในทิศทางเดียวกัน และหลังจากวันที่ 12 ของการทดลองที่สภาวะเครียด (pH4.5+Pb0, pH4.5+Pb2.5, pH4.5+Pb5) มีการเพิ่มขึ้นในปริมาณที่น้อยกว่าสภาวะปกติ (ภาพที่ 56) เมื่อสิ้นสุดการทดลองที่ pH4.5+Pb5 มีปริมาณคาร์โบไฮเดรตในน้ำเลี้ยงน้อยที่สุด 110.52 ± 2.27 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับ pH4.5+Pb2.5 (ตารางที่ 16)



ภาพที่ 56 ปริมาณคาร์โบไฮเดรตในน้ำเลี้ยงสำหรับ (มิลลิกรัมต่อลิตร) ของ *Osillatoria* sp. ที่เลี้ยงภายใต้สภาวะที่แตกต่างกัน (mean \pm S.E)

Spirulina sp. ในช่วงแรกของการทดลองพบว่า ทั้ง 4 สภาวะมีแนวโน้มการเพิ่มขึ้นของปริมาณคาร์โบไฮเดรตในน้ำเลี้ยงไปในทิศทางเดียวกัน และหลังจากวันที่ 15 ของการทดลองที่สภาวะเครียด (pH4.5+Pb0, pH4.5+Pb2.5, pH4.5+Pb5) เริ่มมีการลดลง โดยที่ pH4.5+Pb5 มีการลดลงอย่างรวดเร็ว (ภาพที่ 57) เมื่อสิ้นสุดการทดลองที่ pH4.5+Pb5 มีปริมาณคาร์โบไฮเดรตในน้ำเลี้ยงน้อยที่สุด 126.50 ± 2.62 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับทุกสภาวะการทดลอง (ตารางที่ 16)



ภาพที่ 57 ปริมาณคาร์โบไฮเดรตในน้ำเลี้ยงสำหรับ (มิลลิกรัมต่อลิตร) ของ *Spirulina* sp. ที่เลี้ยงภายใต้สภาวะที่แตกต่างกัน (mean \pm S.E)

ปริมาณคาร์โบไฮเดรตที่ออกมาอยู่ในน้ำเลี้ยงสาหร่าย จากการทดลองครั้งนี้พบว่าแนวโน้มของปริมาณคาร์โบไฮเดรตในน้ำเลี้ยงสาหร่ายทุกชนิดจะขึ้นอยู่กับการได้รับปริมาณความเข้มข้นของตะกั่ว (Pb) ที่แตกต่างกันที่ pH ต่ำ พิจารณาได้จากในสภาวะที่เหมาะสมสาหร่ายแต่ละชนิดจะมีการปล่อยคาร์โบไฮเดรตออกสู่น้ำเลี้ยงเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ อย่างต่อเนื่องเมื่อระยะเวลาในการเลี้ยงเพิ่มขึ้น ส่วนสาหร่ายที่เลี้ยงในสภาวะเครียดทั้ง 3 สภาวะ พบว่าการสะสมคาร์โบไฮเดรตในน้ำเลี้ยงสาหร่ายจะเริ่มลดลงเรื่อยๆ เมื่อระยะเวลาเพิ่มขึ้น และพบว่าสาหร่ายที่ได้รับตะกั่วที่มีความเข้มข้นสูงปริมาณคาร์โบไฮเดรตในน้ำเลี้ยงจะลดลงมากที่สุด ซึ่งจะแตกต่างกับชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ



ตารางที่ 15 ปริมาณคาร์โบไฮเดรตในน้ำเลี้ยงสาหร่ายเมื่อสิ้นสุดการทดลอง (มิลลิกรัมต่อลิตร) ในสาหร่ายชนิดต่างๆ ที่เลี้ยงภายใต้สภาวะที่แตกต่างกัน

(mean±S.E.)

| pH+Pb (mg/l) | สาหร่าย | | | | | |
|-----------------|----------------------------|--------------------------------|------------------------------|--------------------------|--------------------------|---------------------------|
| | <i>Hapalosiphon</i> sp. | <i>Mastigocladopsis</i> sp. | <i>Nostoc</i> sp. (24วัน) | <i>Phormidium</i> sp. | <i>Stigonema</i> sp. | <i>Fischerella</i> sp. |
| pH7+Pb0 | 223.17±1.81 ^a | 214.70±4.55 ^a | 193.19±2.57 ^a | 299.28±3.16 ^a | 236.48±5.35 ^a | 229.95±2.54 ^a |
| pH4.5+Pb0 | 157.69±2.02 ^b | 192.20±3.82 ^b | 123.23±1.84 ^b | 222.33±2.62 ^b | 173.06±6.60 ^b | 121.78±2.54 ^b |
| pH4.5+Pb2.5 | 131.05±4.09 ^{bc} | 161.25±4.15 ^c | 115.50±2.29 ^{bc} | 173.32±6.45 ^c | 130.85±5.04 ^c | 119.54±2.27 ^{bc} |
| pH4.5+Pb5 | 128.22±0.76 ^c | 153.23±3.68 ^c | 111.04±3.49 ^c | 164.97±2.74 ^c | 109.80±4.19 ^d | 111.85±0.95 ^c |

หมายเหตุ ตัวอักษรพิมพ์เล็กในแนวแถวตั้งเดียวกันที่แตกต่างกัน คือมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ (P<0.05)

ตารางที่ 16 ปริมาณคาร์โบไฮเดรตในน้ำเลี้ยงสาหร่ายเมื่อสิ้นสุดการทดลอง (มิลลิกรัมต่อลิตร) ใน
สาหร่าย *Oscillatoria* sp. และ *Spirulina* sp. ที่เลี้ยงภายใต้สภาวะที่แตกต่างกัน
(mean±S.E.)

| | <i>Oscillatoria</i> sp. | | <i>Spirulina</i> sp. |
|--------------|---|--------------|---|
| pH+Pb (mg/l) | ปริมาณคาร์โบไฮเดรตในน้ำ เลี้ยงสาหร่าย (mg/l) | pH+Pb (mg/l) | ปริมาณคาร์โบไฮเดรตในน้ำ เลี้ยงสาหร่าย (mg/l) |
| pH7+Pb0 | 156.52±1.96 ^a | pH7+Pb0 | 312.06±1.36 ^a |
| pH5.5+Pb0 | 133.95±3.46 ^b | pH6+Pb0 | 224.51±3.84 ^b |
| pH5.5+Pb2.5 | 117.78±1.47 ^c | pH6+Pb2.5 | 185.30±4.76 ^c |
| pH5.5+Pb5 | 110.52±2.27 ^c | pH6+Pb5 | 126.50±2.62 ^d |

หมายเหตุ ตัวอักษรพิมพ์เล็กในแนวแถวตั้งเดียวกันที่แตกต่างกัน คือมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ
ทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ (P<0.05)

สรุป

จากการศึกษาผลของตะกั่วต่อการเรืองแสงของคลอโรฟิลล์ พบว่า cyanobacteria ที่ได้รับพิษของตะกั่วจะส่งผลกระทบต่อการยับยั้งประสิทธิภาพของปฏิกิริยาการสังเคราะห์แสงที่สูงที่สุดในศูนย์กลางการสังเคราะห์แสงที่ PSII (Fv/Fm) โดยตะกั่วที่มีความเข้มข้นเท่ากับ 20 มิลลิกรัมต่อลิตรจะส่งผลในการยับยั้งค่า Fv/Fm มากที่สุด และพบว่า *Hapalosiphon* sp. และ *Mastigocladopsis* sp. ทนต่อความเครียดที่เกิดจากตะกั่วสูงสุด ส่วนผลต่อการเจริญเติบโตพบว่าปริมาณคลอโรฟิลล์จะสัมพันธ์กับค่าน้ำหนักแห้ง เมื่อปริมาณคลอโรฟิลล์ลดลง ค่าน้ำหนักแห้งก็ลดลง โดยสภาวะที่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตมากที่สุด คือ การได้รับปริมาณตะกั่วที่สูงในระดับ pH ที่ต่ำ และพบว่า *Hapalosiphon* sp. ทนต่อพิษของตะกั่วได้ดีที่สุด ส่วนผลต่อการสะสมปริมาณโปรตีนและคาร์โบไฮเดรต พบว่าสาหร่ายที่เลี้ยงในสภาวะเครียด โดยเฉพาะการได้รับความเข้มข้นของตะกั่วในปริมาณสูง ปริมาณโปรตีนและคาร์โบไฮเดรตจะเพิ่มสูงขึ้นในระยะแรกของการเลี้ยง เนื่องจากการสร้างกลไกในการป้องกันตัวเนื่องจากสภาวะเครียดนั่นเอง



เอกสารอ้างอิง

- ยุวดี พิรพรพิศาล. 2549. สหรัยวิทย. ภาควิชาชีววิทยา, คณะวิทยาศาสตร์,
มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่. 546 น.
- ลัดดา วงศ์รัตน์. 2543. คู่มือการเลี้ยงแพลงก์ตอน. กรุงเทพมหานคร: สำนักพิมพ์
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
- Choudhary, M., U.K. Jetley, M.A. Khan, S. Zutshi and T. Fatma.2006. Effect of heavy metal stress on praline, malondialdehyde, and superoxide dismutase activity in the cyanobacterium *Spirulina platensis*-S5. *Ecotoxicology and Environmental Safety*.
- Desikachary, T.V. 1999. Cyanophyta. New Delhi : Indian council of Agricultural research.
- Hong, C. and P. Shan – shan.2005. Bioremediation potential of *Spirulina*: toxicity and biosorption studies of lead. *Journal of Zhejiang University Science*. 3 : 171 – 174.
- Lu.C.M., C.W. Chau., J.H. Zhang. 2000. Acute toxicity of excess mercury on the photosynthetic performance of cyanobacterium, *S. platensis*—assessment by chlorophyll florescence analysis.*CHEMOSPHERE*.41: 191-196.
- Mazel, D., Houmard, J., Castets, A. M. and Taodeau de Marsac, N. 1990. Highly repetitive DNA sequences in cyanobacterial genomes. *J. Bacteriol.* 172:2755-2761.
- Painter, T.J. 1993. Carbohydrate polymers in desert reclamation: the potential of microalgal biofertilizers. *Carbohydrate polymers*. 20:77-86.
- Prescott, G.W.1981. How to know the freshwater algae. Iowa: w.m.c. company publishers.
- Rai, L.C., Rai, P.K., Mallick, N., 1996. Regulation of heavy metal toxicity in acid tolerant *Chlorella*: physiological and biochemical approaches. *Environ.Exp. Bot.* 36:99-109.
- Rasmussen, U. and Svenning, M. M. 1998. Fingerprinting of cyanobacteria based on PCR with primers derived from short and long tandemly repeated repetitive sequences. *Appl. Environ. Microbiol.* 64:265-272.
- Ruangsoomboon , S., A. Chidthaisong , B. Bunnag , D. Inthorn and N. W. Harvey. 2007.

Removal of lead (Pb^{2+}) by the Cyanobacterium *Gloeocapsa* sp..Bioresource Technology : 1 – 10.

Zhou,W, P., Juneau and B. Qiu. 2006. Growth and photosynthetic responses of the bloom- forming cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* to elevated levels of cadmium. CHEMOSPHERE 65:1738-1746.

