บทที่ 4

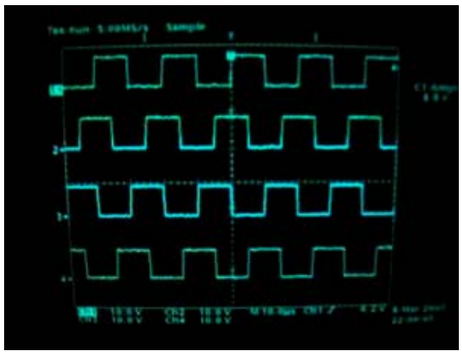
ผลและการอภิปรายผล

งานวิจัยนี้ได้ผลการทดลองซึ่งแบ่งออกเป็นข้อๆ ตามวัตถุประสงค์ของงานดังต่อไปนี้

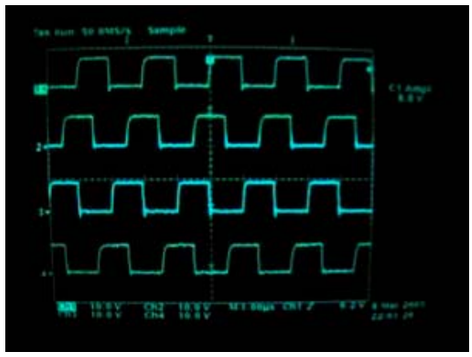
4.1 อุปกรณ์แยกสัญญาณไฟฟ้า

หลังจากประกอบอุปกรณ์แยกสัญญาณดังภาพประกอบ 3.3 แล้วทดสอบสัญญาณเอาท์พุทจาก 1 kHz ถึง 5 MHz ได้สัญญาณคลื่นสี่เหลี่ยม(square waves) มีลักษณะเดียวกันกับสัญญาณอินพุท ความถี่สัญญาณไฟฟ้าจาก PSU 2 จะมีค่าลดลงครึ่งหนึ่งของความถี่ที่จ่ายเข้าไป เนื่องจากไอซี 74Ls393 เป็นตัวที่ลดทอนความถี่สัญญาณไฟฟ้า

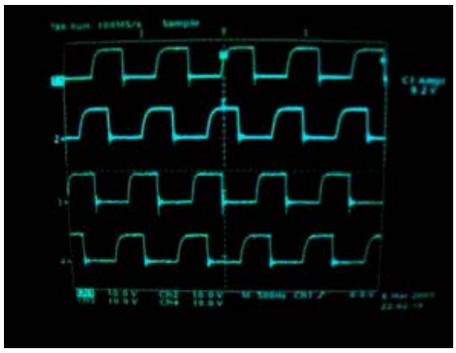
PSU2 สามารถขยายอัมปลิจูดของสัญญาณ จาก 5 V_{pp} ได้ถึง 20 V_{pp} สำหรับความถี่สัญญาณเอาท์พุท 3 MHz เป็นต้นไป พบว่าคลื่นสี่เหลี่ยมเริ่มเปลี่ยนรูปดังภาพประกอบ 4.1 และสอดคล้องกับค่าแรงดันใช้งาน (V_{rms}) ของเอาท์พุทจะลดลง ไม่ว่าจะใช้ V_{rms} เท่าใดก็ตาม ดังภาพประกอบ 4.2 ดังนั้นหากต้องการใช้งาน PSU2 ไม่ควรใช้งานที่ความถี่สูงเกิน 3 MHz



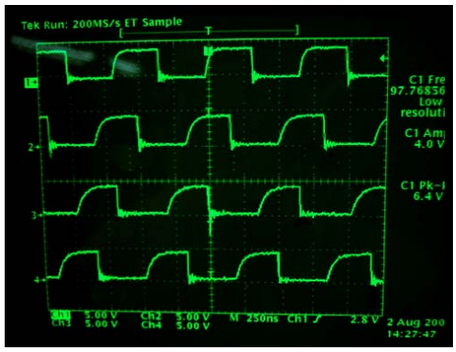
100 kHz



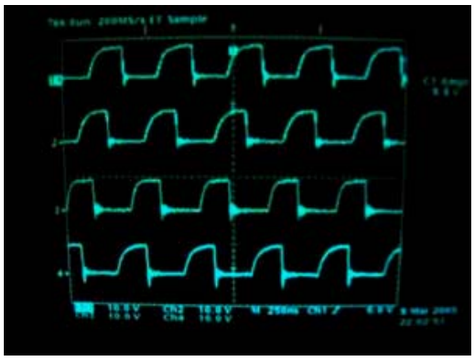
1 MHz



2 MHz



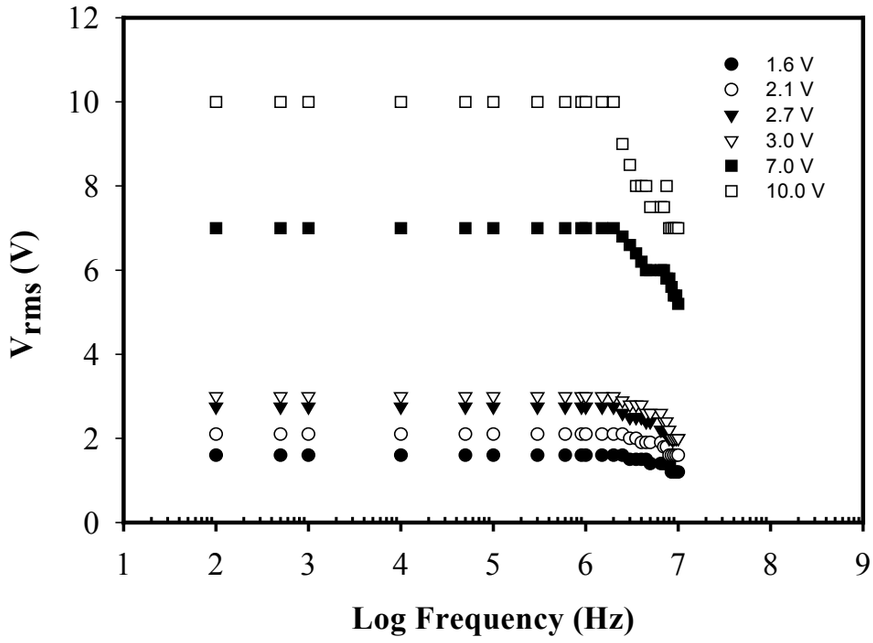
3 MHz



4 MHz

5 MHz

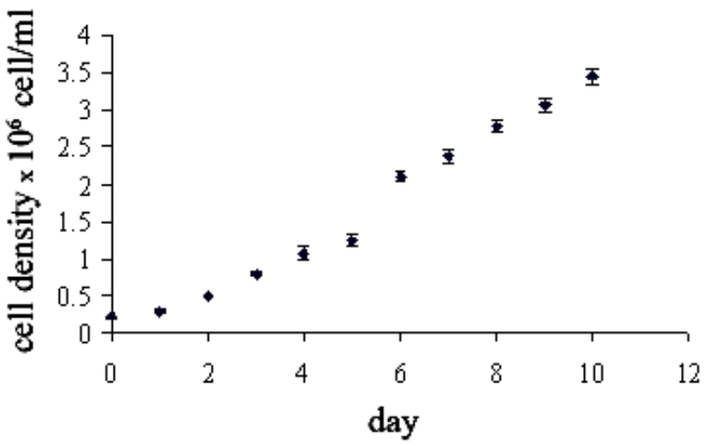
ภาพประกอบ 4.1 สัญญาณไฟฟ้าเอาท์พุทของ PSU2 ที่ความถี่ต่างๆ



ภาพประกอบ 4.2 ค่า V_{rms} เอาท์พุทของ PSU2 เทียบกับความถี่สัญญาณไฟฟ้า

4.2 การเพาะเลี้ยงเซลล์แพลงก์ตอน *Tetraselmis* sp.

จากการเพาะเลี้ยงตามวิธีในข้อ 3.3.3.1 พบว่าความหนาแน่นของเซลล์เพิ่มขึ้น ตามจำนวนวันที่เพาะเลี้ยง ดังภาพประกอบ 4.3 การนำเซลล์ไปศึกษาวิจัยจึงเลือกเซลล์ที่มีอายุ 3 วันเนื่องจากกำลังเจริญเติบโตได้ดี จากภาพประกอบ 3.5 พบว่าเซลล์อายุ 3 วันจะมีความกว้าง a = 14.0 ± 0.8 ไมครอน และความยาว b = 9.4 ± 0.8 ไมครอน



ภาพประกอบ 4.3 การเพิ่มจำนวนของแพลงก์ตอน *Tetraselmis* sp.

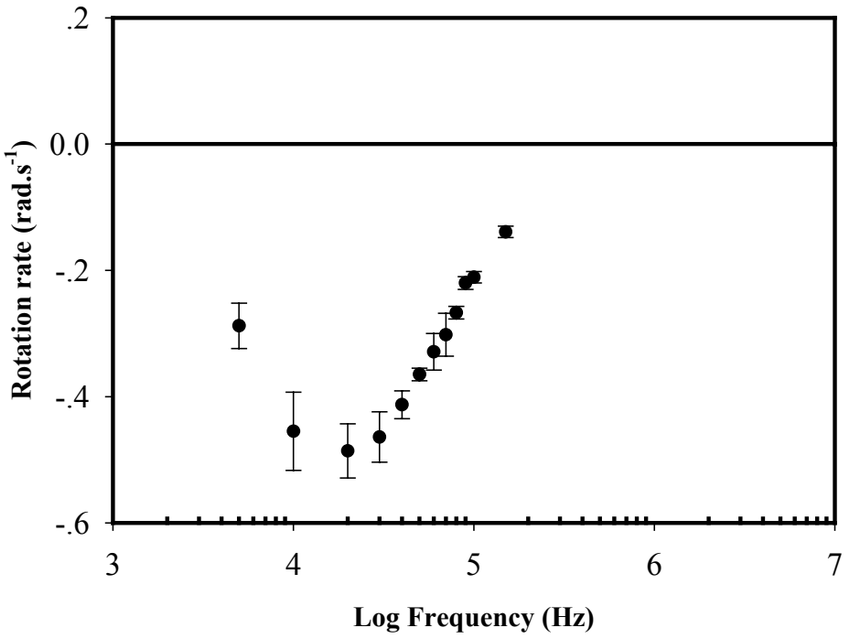
4.3 การหมุนของเซลล์ แพลงก์ตอน *Tetraselmis* sp. ในสนามไฟฟ้า

ทดลองหมุนเซลล์โดยใช้ PSU2 และขั้วไฟฟ้าที่ทำขึ้นในข้อ 3.3.1 และ 3.3.2 เปลี่ยนความเข้มสนามไฟฟ้า 5 ค่า สภาพนำไฟฟ้าของสารละลายที่ใช้แขวนลอยเซลล์ 6 ค่า แบ่งการศึกษาเป็นหัวข้อดังนี้

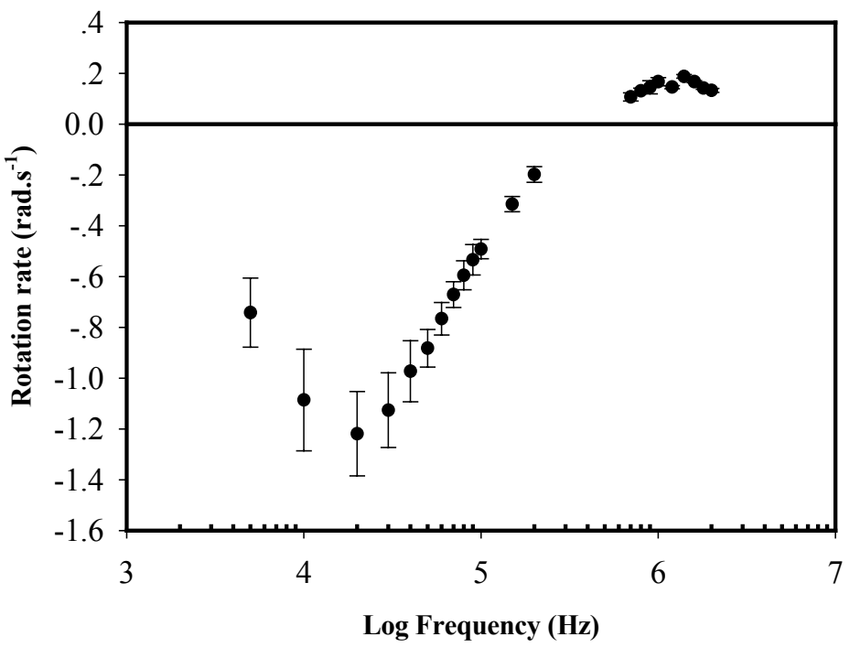
4.3.1 ผลของความเข้มสนามไฟฟ้าต่อการหมุนของเซลล์

ปรับอัมปลิจูดของสัญญาณไฟฟ้าของ PSU2 มีค่าคือ 5,7,10,12 และ 14 Vpp ซึ่งได้ค่าสนามไฟฟ้าคือ 4.7 ,6.6,9.4,11.3 และ 13.2 $kV.m^{-1}$ ตามลำดับโดยให้สภาพนำไฟฟ้าของสารละลาย(σ_s) คงที่คือ 1.4 $mS.m^{-1}$ ในเบื้องต้นพบว่าที่ความถี่สนามไฟฟ้าต่ำกว่า 3 kHz เซลล์มีอัตราหมุนช้ามาก จึงเริ่มบันทึกข้อมูลที่ความถี่ 3 kHz เป็นต้นไป จากการเพิ่มความเข้มสนามไฟฟ้าในช่วงดังกล่าวทำให้ อัตราหมุน R_1 ของเซลล์เพิ่มขึ้นจาก 0.49 $rad.s^{-1}$ เป็น 6.14 $rad.s^{-1}$ ดังภาพประกอบ 4.4 a,b,c,d และ e ผลการทดลองที่สนามไฟฟ้า 4.7 $kV.m^{-1}$ ไม่พบค่า R_2 ของเซลล์ทั้งที่ทำการทดลองซ้ำ 5 ครั้ง และ R_2 จะเพิ่มขึ้นจาก 0.18 $rad.s^{-1}$ เป็น 1.16 $rad.s^{-1}$ เมื่อให้สนามไฟฟ้าจาก 6.6 $kV.m^{-1}$ ถึง 13.2 $kV.m^{-1}$ เป็นที่น่าสังเกตุว่าการเพิ่มสนามไฟฟ้าในช่วงที่ศึกษา ไม่ทำให้ค่า fc_1 , fc_2 และ fc_0 เปลี่ยนแปลง ดังแสดงค่า R_1 , fc_1, fc_0, R_2 และ fc_2 ของเซลล์ในตาราง 4.1

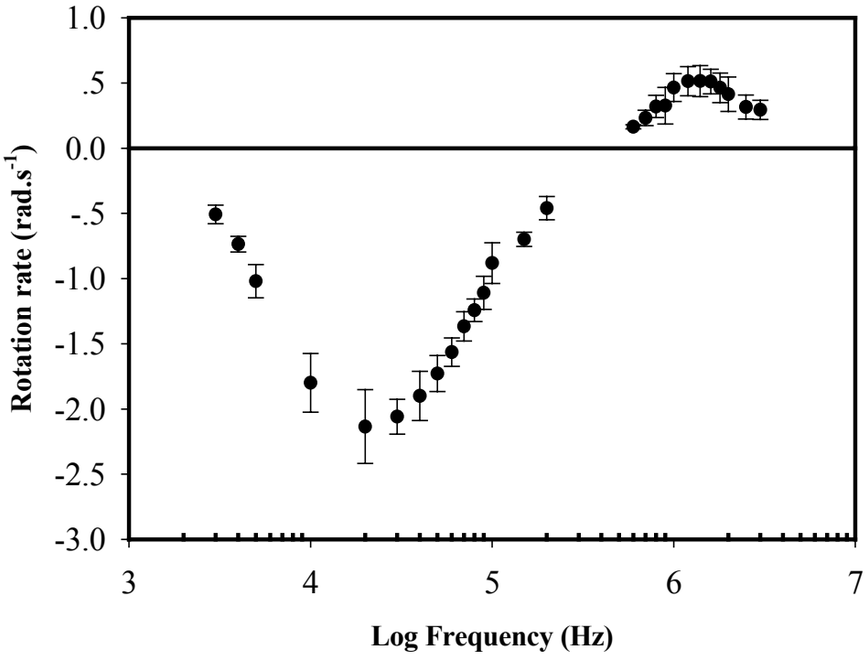
เมื่อพิจารณาจากสมการที่ 2.14 ชี้ให้เห็นว่า อัตราการหมุนของเซลล์ (Ω) สัมพันธ์เชิงเส้นกับ E^2 จึงเขียนกราฟระหว่างอัตราหมุนสูงสุด R_1 และ R_2 เทียบกับ E^2 จากภาพประกอบ 4.5 พบความสัมพันธ์เชิงเส้นเฉพาะที่ความถี่ 1.4 MHz เท่านั้น ที่ความถี่ต่ำความสัมพันธ์เชิงเส้นเป็นจริงเฉพาะที่ E^2 สูงกว่า 4.3 x 10^7 $V^2.m^{-2}$ หรือเมื่อใช้สนามไฟฟ้าสูงกว่า 6.6 $kV.m^{-1}$ (ค่าวิกฤติ) เนื่องจากเงื่อนไขดังกล่าวทำให้ $\vec{\tau}_f = \vec{\tau}$ ส่วนสนามที่มีค่าต่ำกว่าค่าวิกฤติ $\vec{\tau}_f > \vec{\tau}$ จึงไม่ใช่เงื่อนไขสมดุลการหมุน ในการศึกษาต่อไปจึงเลือกใช้สนามไฟฟ้าที่ 11.3 $kV.m^{-1}$ ทั้งนี้หากเพิ่มความเข้มสนามไฟฟ้าให้มากกว่า 13.2 $kV.m^{-1}$ น่าจะทำให้อัตราหมุนของเซลล์เพิ่มขึ้น และอัตราหมุนของเซลล์จะแปรผันตรงกับสนามไฟฟ้ากำลังสองหรือไม่ ดังนั้นจึงน่าจะมีการศึกษาผลของสนามไฟฟ้าต่อเซลล์ต่อไป



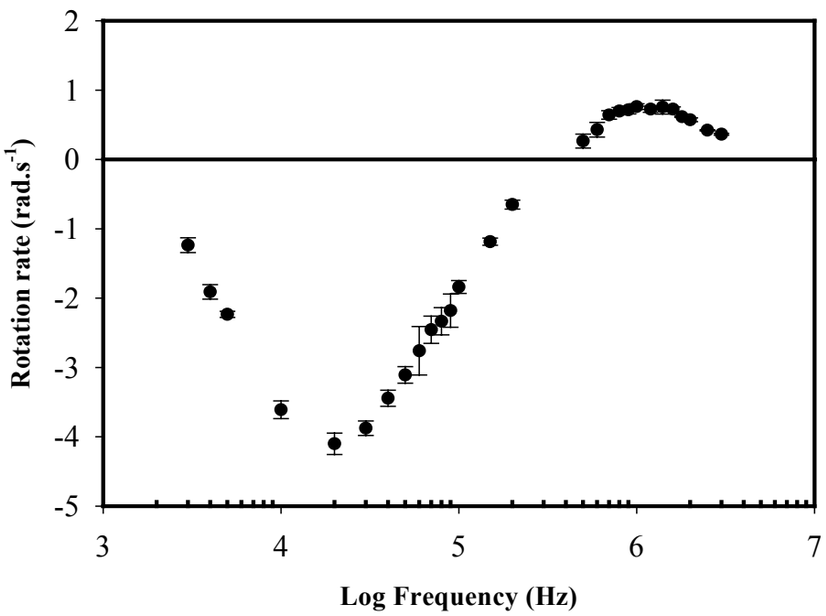
(a) 4.7 kV.m^{-1}



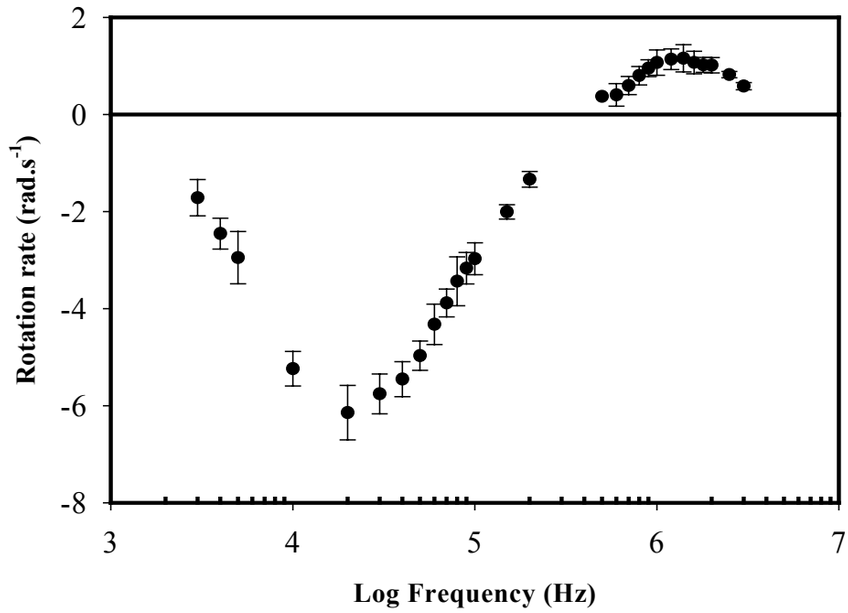
(b) 6.6 kV.m^{-1}



(c) 9.4 kV.m^{-1}



(d) 11.3 kV.m^{-1}

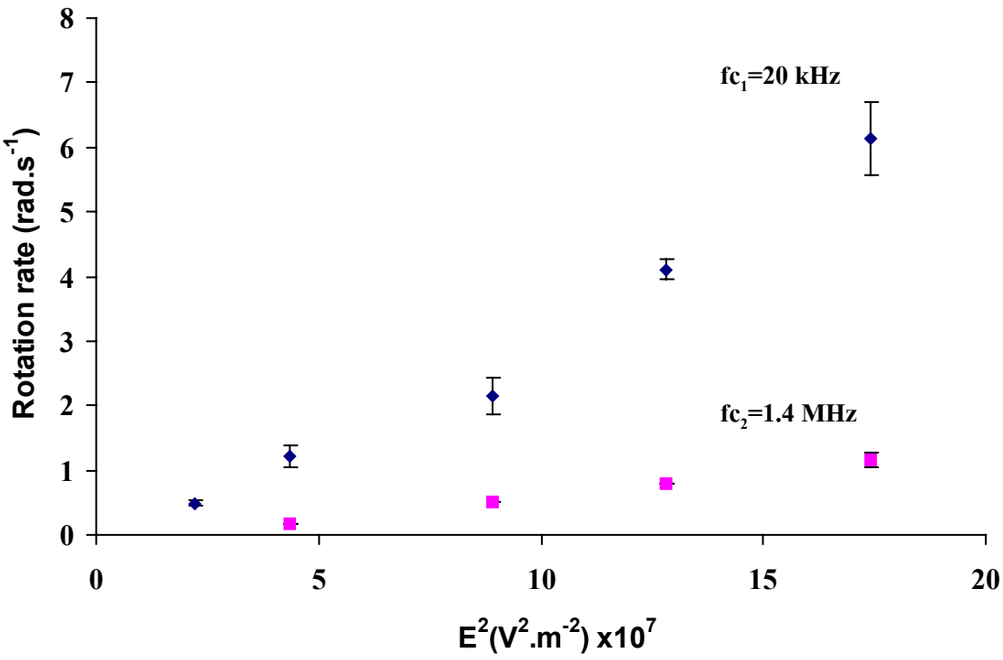


(e) 13.2 kV.m^{-1}

ภาพประกอบ 4.4 เปรียบเทียบอัตราหมุนของเซลล์แพลงก์ตอน *Tetraselmis* sp. โดยผันแปรความเข้มสนามไฟฟ้าเฉลี่ยจาก 5 การทดลอง

ตาราง 4.1 แสดงค่า R_1 , fc_1, fc_0, R_2 และ fc_2 ของเซลล์ที่สนามไฟฟ้าขนาดต่างๆ

V E	5 Vpp (4.7 kV.m^{-1})	7 Vpp (6.6 kV.m^{-1})	10 Vpp (9.4 kV.m^{-1})	12 Vpp (11.3 kV.m^{-1})	14 Vpp (13.2 kV.m^{-1})
R_1 (rad.s^{-1})	0.49	1.22	2.14	4.10	6.14
fc_1 (kHz)	20	20	20	20	20
fc_0 (kHz)	-	300	300	300	300
R_2 (rad.s^{-1})	-	0.18	0.52	0.79	1.16
fc_2 (MHz)	-	1.4	1.4	1.4	1.4



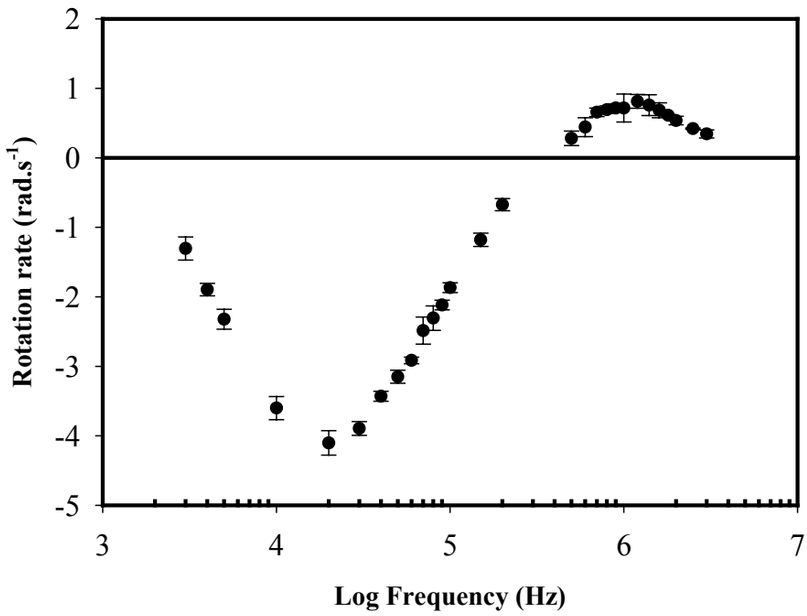
ภาพประกอบ 4.5 แสดงอัตราหมุนของเซลล์แพลงก์ตอนเทียบกับสนามไฟฟ้ากำลังสอง เฉลี่ยจาก 5 การทดลอง

4.3.2 ผลของค่าสภาพนำไฟฟ้าของสารละลายต่ออัตราหมุนของเซลล์มีชีวิต

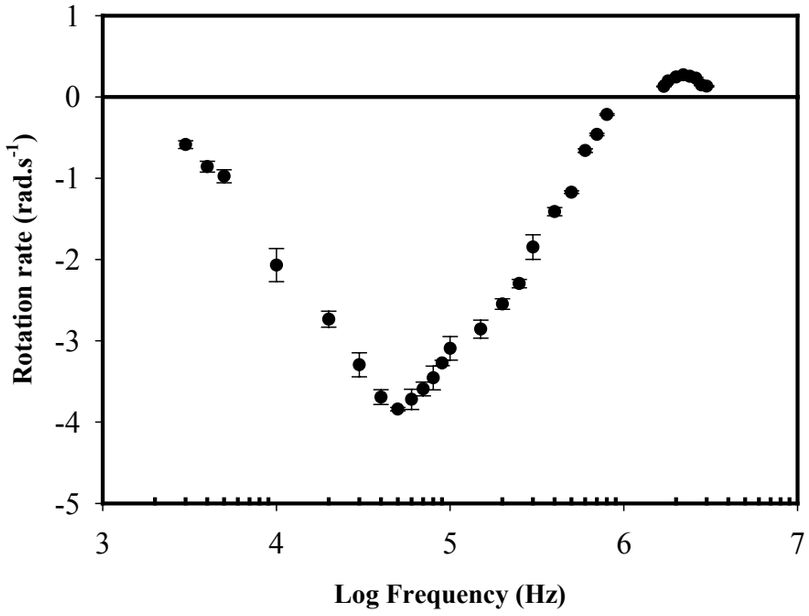
การเตรียมเซลล์มีชีวิตตามวิธีในบทที่ 3 ข้อ 3.3.3.2 ทำการทดลองเช่นเดียวกับวิธีในข้อ 4.3.1 โดยคงสนามไฟฟ้าที่ 11.3 $kV.m^{-1}$ เปลี่ยนค่า σ_s = 1.4 , 5 , 10 ,15 , 18 และ 24 $mS.m^{-1}$ พบอัตราหมุน R_1 และ R_2 ของเซลล์มีขนาดลดลง เมื่อ σ_s เพิ่มขึ้นและ fc_1 , fc_2 เลื่อนไปทางความถี่ที่สูงขึ้น ดังภาพประกอบ 4.6 a,b,c,d ,e และ f ผลสรุปค่า R_1 , fc_1, fc_0, R_2 และ fc_2 ของเซลล์แสดงในตาราง 4.2 จะพบว่าการเพิ่มค่าสภาพนำไฟฟ้าของสารละลายที่ใช้แขวนลอยเซลล์ทำให้ค่า R_1 ลดลงจาก 4.10 $rad.s^{-1}$ เป็น 3.46 $rad.s^{-1}$ และความถี่เฉพาะตัว ค่อยๆเลื่อนไปทางความถี่ที่สูงขึ้น ทั้งนี้ไม่พบ R_2 , fc_2 และ fc_0 ที่ σ_s มากกว่า 10 $mS.m^{-1}$ ขึ้นไป อาจเป็นเพราะข้อจำกัดของ PSU2 ที่สัญญาณไฟฟ้าเปลี่ยนรูปหากความถี่มากกว่า 3 MHz

ในงานวิจัยนี้สอดคล้องกับงานวิจัยอื่นๆหลายงานที่มีลักษณะของการเลื่อนของความถี่ fc_1 และ fc_2 ไปยังความถี่ที่สูงขึ้น และการลดลงของอัตราหมุน R_1 และ R_2 ของเซลล์ เช่น Wicher และ Gudel (1989) ศึกษาอัตราหมุนของเซลล์ไลโปโซมที่แขวนลอยในสารละลายที่มีสภาพนำไฟฟ้าตั้งแต่ 1.4 – 6.5 $mS.m^{-1}$ พบว่าค่า fc_1 และ fc_2 เพิ่มขึ้นจาก 10 kHz เป็น 40 kHz และค่า R_1 ลดลงจาก 0.9 $rad.s^{-1}$

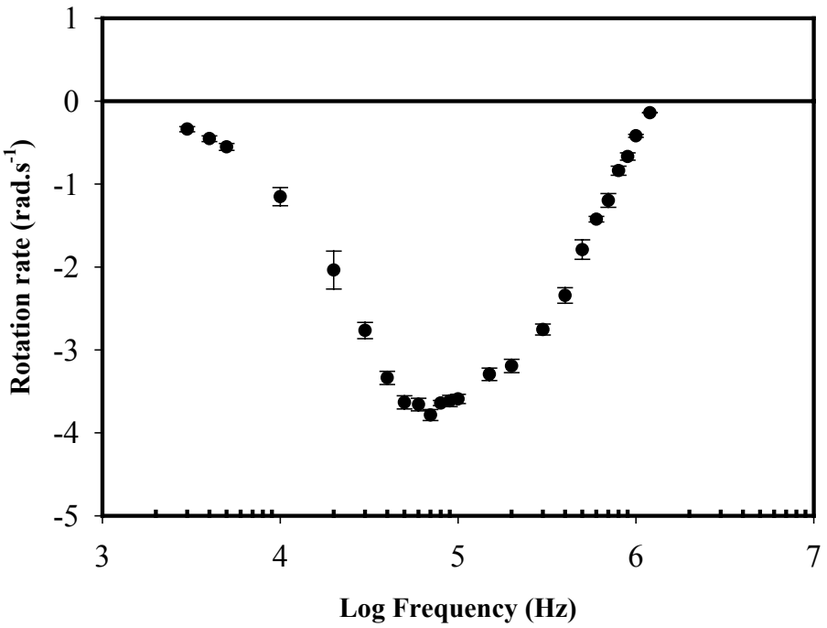
เป็น 0.2 rad.s^{-1}, Kakutani และคณะ (1993) ศึกษาโพรโทพลาสของใบบาร์เลย์ ในสารละลายที่มีสภาพนำไฟฟ้า σ_s = 5.33 mS.m^{-1} และ 11.0 mS.m^{-1} พบว่าค่า fc_1 และ fc_2 เพิ่มขึ้นจาก 20 kHz เป็น 50 kHz และพบค่า R_1 ลดลงจาก 4.9 rad.s^{-1} เป็น 3.5 rad.s^{-1} และ Kriegmaier และคณะ (2001) ศึกษาเซลล์ยีสต์ *Schizosaccharomyces pombe* ที่ผันแปรค่า σ_s ตั้งแต่ 11 ถึง 600 mS.m^{-1} พบว่าค่า fc_1 และ fc_2 เพิ่มขึ้นจาก 10 kHz เป็น 1.6 MHz และยังพบค่า R_1 ลดลงจาก 2.4 rad.s^{-1} เป็น 0.8 rad.s^{-1} เป็นที่น่าสังเกตุคือ เซลล์ไลโปโซมซึ่งไม่มีผนังเซลล์ใช้สารละลายที่แขวนลอยเซลล์ที่มี σ_s น้อย (σ_s = 6.5 mS.m^{-1}) พบ R_1 ลดลงอย่างชัดเจน ขณะที่โพรโทพลาสของใบบาร์เลย์ และ เซลล์ยีสต์ ซึ่งมีผนังเซลล์ต้องใช้ σ_s ค่อนข้างสูง (σ_s = 11.0 และ 600 mS.m^{-1} ตามลำดับ) จึงจะเห็นการลดลงของค่า R_1 ได้ชัดเจน



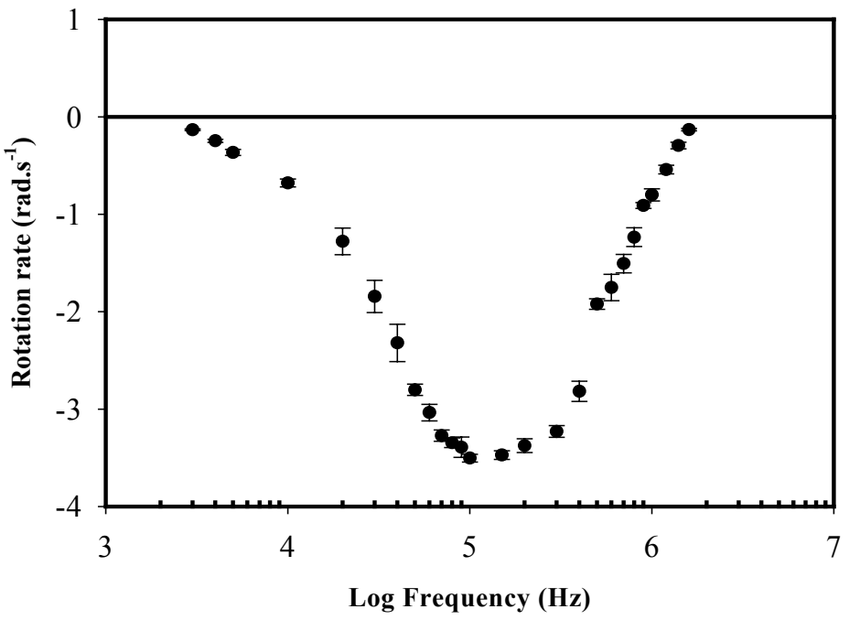
(a) 1.4 mS.m^{-1}



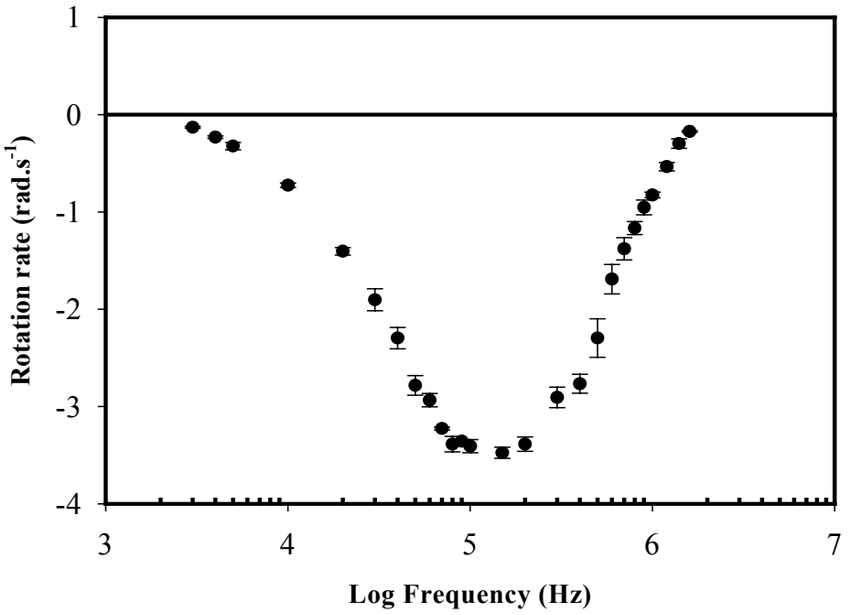
(b) 5 mS.m^{-1}



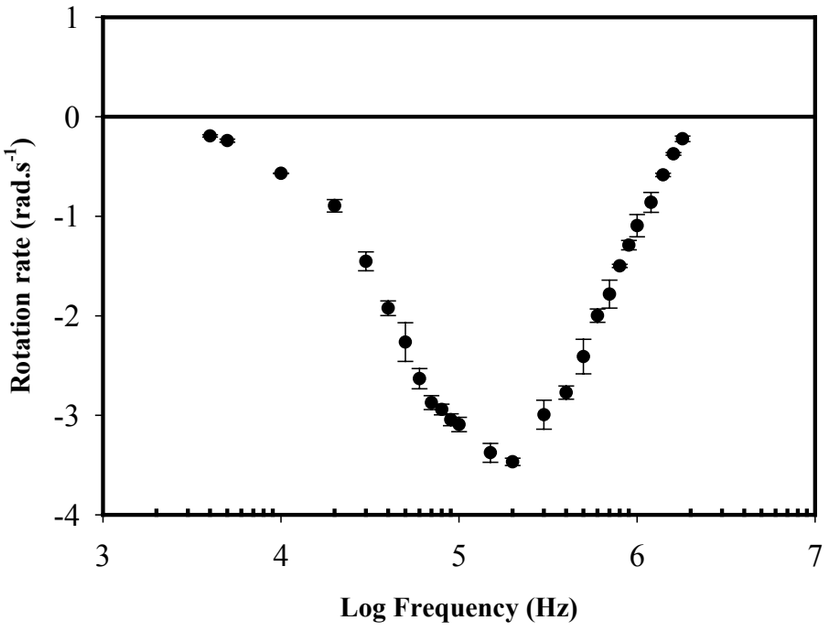
(c) 10 mS.m^{-1}



(d) 15 mS.m^{-1}



(e) 18 mS.m^{-1}



(f) 24 $mS.m^{-1}$

ภาพประกอบ 4.6 เปรียบเทียบอัตราหมุนของเซลล์แพลงก์ตอน *Tetraselmis* sp. มีชีวิตโดยผันแปรค่า σ_s เฉลี่ยจาก 5 การทดลอง

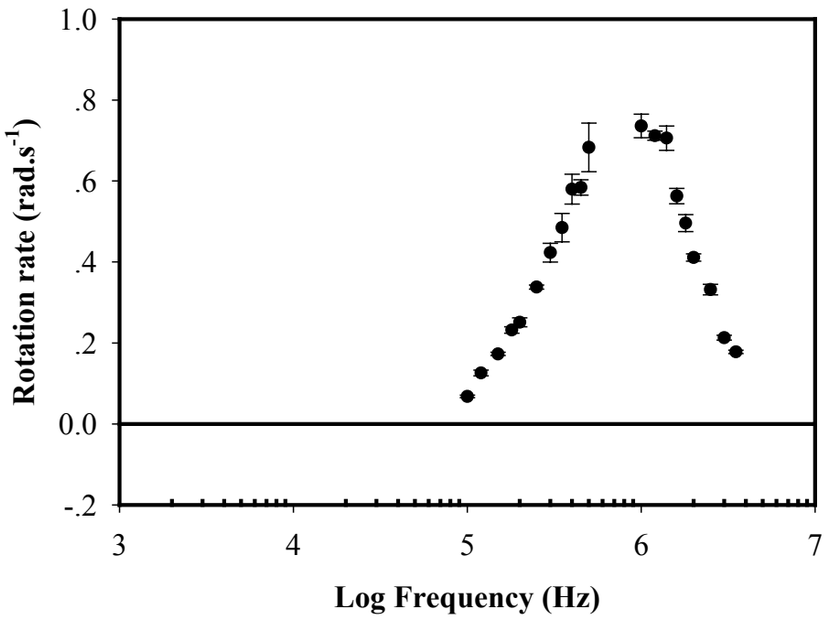
ตาราง 4.2 แสดงค่า R_1 , fc_1, fc_0, R_2 และ fc_2 ของเซลล์มีชีวิต โดยผันแปรค่า σ_s ต่างๆเฉลี่ยจาก 5 การทดลอง

σ_s	1.4 $mS.m^{-1}$	5 $mS.m^{-1}$	10 $mS.m^{-1}$	15 $mS.m^{-1}$	18 $mS.m^{-1}$	24 $mS.m^{-1}$
R_1 ($rad.s^{-1}$)	4.10	3.84	3.76	3.48	3.46	3.46
fc_1 (kHz)	20	50	70	100	150	200
fc_0 (kHz)	300	900	-	-	-	-
R_2 ($rad.s^{-1}$)	0.76	0.27	-	-	-	-
fc_2 (MHz)	1.4	2.4	-	-	-	-

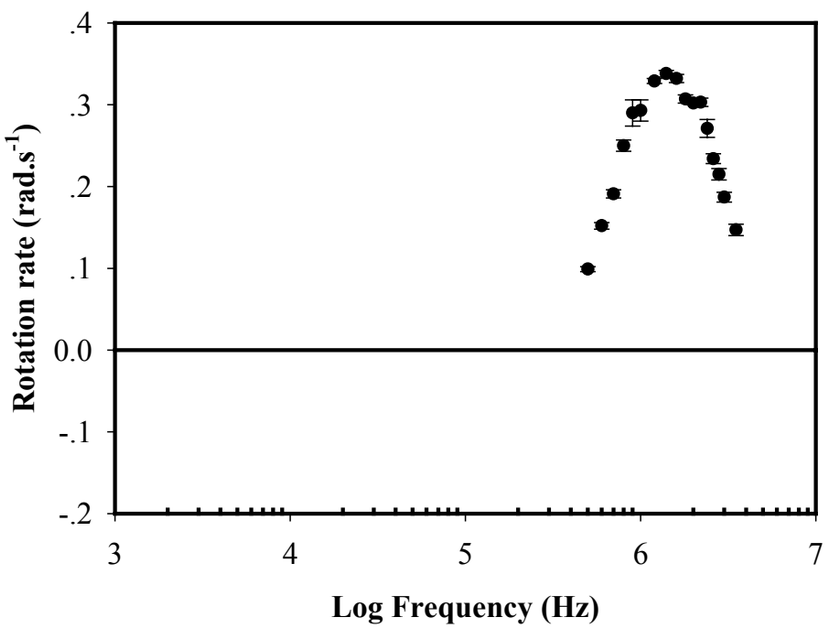
4.3.3 ผลของค่าสภาพนำไฟฟ้าของสารละลายต่ออัตราหมุนของเซลล์ตาย

การศึกษานี้ต้องการทดสอบว่า เทคนิคการหมุนเซลล์ในสนามไฟฟ้า สามารถนำไปใช้วินิจฉัยการมีชีวิตของเซลล์ได้หรือไม่ จึงทำการทดลองกับเซลล์ตาย ซึ่งเตรียมเซลล์ตามวิธีในบทที่ 3 ข้อ 3.3.3.2 ทำการทดลองเช่นเดียวกับวิธีที่บรรยาย ในข้อ 4.3.2 และใช้สนามไฟฟ้าขนาด 11.3 $kV.m^{-1}$ ผลการทดลองไม่พบอัตราหมุน R_1 และ fc_1 ที่ทุกค่า σ_s ระหว่าง 1.4 ถึง 10 $mS.m^{-1}$ โดยเซลล์จะเริ่มหมุนที่ความถี่ 100 kHz อัตราหมุน R_2 ค่อยๆลดลงเมื่อเพิ่ม σ_s และfc_2 เลื่อนไปทางความถี่สูงขึ้นด้วยทำนองเดียวกับที่พบในเซลล์ที่มีชีวิต ดังภาพประกอบ 4.7 a,b และ c ผลสรุปของการทดลองนี้ได้แสดงในตาราง 4.3 นอกจากนี้ได้ทำการทดลองที่ σ_s สูงกว่า 10 $mS.m^{-1}$ พบว่าอัตราการหมุน R_2 มีค่าน้อยมากจึงไม่ได้ทำการบันทึกผล

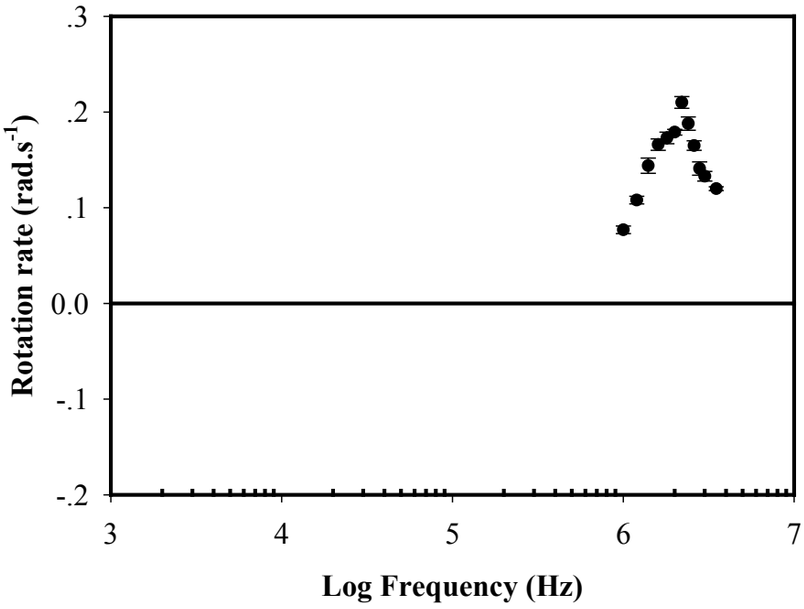
การพบค่า R_1 ของเซลล์ชุดควบคุมมีค่าสูงกว่า R_1 ของเซลล์ตาย สอดคล้องกับการศึกษาในซิสต์ของปรสิต Glardla murls และ Cyclospora cayetamensis (Dalton *et al*., 2001)ทำนองเดียวกันการต้มเซลล์ยีสต์ที่อุณหภูมิระหว่าง 21 ^{0}C จนถึง 44 ^{0}C ของ Zhou และคณะ (1998) พบว่า R_1 ค่อยๆลดลงตามอุณหภูมิที่เพิ่มขึ้น ขณะที่งานวิจัยนี้ต้มเซลล์ที่อุณหภูมิสูงถึง 80 ^{0}C น่าจะเป็นผลให้ค่า R_1 ต่ำมากจนไม่สามารถตรวจวัดได้ในช่วงเวลาที่ทดลอง



(a) 1.4 mS.m^{-1}



(b) 5 mS.m^{-1}



(c) 10 $mS.m^{-1}$

ภาพประกอบ 4.7 เปรียบเทียบอัตราหมุนของเซลล์แพลงก์ตอน *Tetraselmis* sp.ที่ตาย โดยผันแปรค่า σ_s เฉลี่ยจาก 5 การทดลอง

ตาราง 4.3 แสดงค่า R_2 และ fc_2 ของเซลล์ตายโดยผันแปรค่า σ_s ต่างๆเฉลี่ยจาก 5 การทดลอง

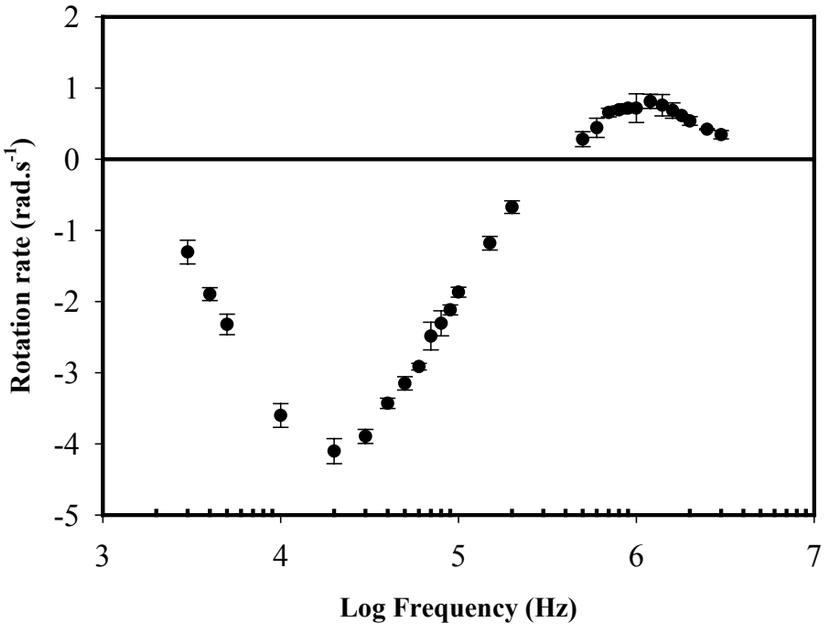
σ_s	1.4 $mS.m^{-1}$	5 $mS.m^{-1}$	10 $mS.m^{-1}$
R_2 ($rad.s^{-1}$)	0.74	0.34	0.21
fc_2 (MHz)	1	1.4	2.2

4.4 ผลของสารหนูต่อการหมุนของเซลล์

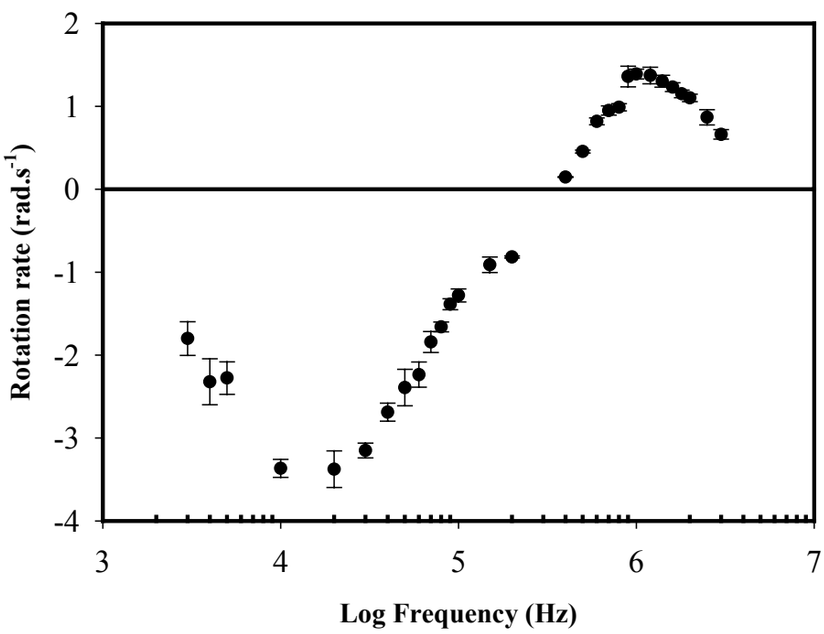
เพื่อศึกษาพฤกติกรรมของเซลล์ที่ปนเปื้อนสารหนูในสนามไฟฟ้าแบบหมุน หัวข้อนี้จะเตรียมเซลล์ที่ปนเปื้อนสารหนูตามวิธีการ ในบทที่ 3 ข้อ 3.3.3.3 ทำการทดลองเช่นเดียวกับวิธีในข้อ 4.3.1 โดยคงสนามไฟฟ้าที่ 11.3 $kV.m^{-1}$ ซึ่งจากผลการทดลองในข้อ 4.3.2 พบว่าเมื่อ σ_s เพิ่มสูงขึ้น อัตราหมุนของเซลล์จะลดลงและเลื่อนไปทางความถี่สูง เพื่อให้ผลการทดลองมีความชัดเจน ดังนั้นจึงเลือกใช้ σ_s = 1.40 $mS.m^{-1}$ และใช้สารละลายที่มีสารหนูเข้มข้นต่างๆ (10 ppm ,30 ppm, 50 ppm, 70 ppm และ 100 ppm) พบว่าค่า R_1 มีค่าลดลงแต่ R_2 เพิ่มขึ้นดังภาพประกอบ 4.8 a,b,c,d ,e และ f ผลการทดลองได้สรุปค่า R_1 , fc_1, fc_0, R_2 และ fc_2 ดังตาราง 4.4 เมื่อความเข้มข้นสารหนูเพิ่มขึ้น พบว่าค่า R_1 ค่อยๆลดลงจาก 3.38 $rad.s^{-1}$ เป็น 0.87 $rad.s^{-1}$ ขณะที่เซลล์ที่ปนเปื้อนสารหนูจากเข้มข้น 10 ppm ถึง 50 ppm มีค่า R_2 เพิ่มขึ้นจาก 1.39 $rad.s^{-1}$ ถึง 2.29 $rad.s^{-1}$และเซลล์ที่ปนเปื้อนสารหนูเข้มข้นจาก 70 ppm ถึง 100 ppm กลับมีค่า R_2 ลดลงจาก 2.29 $rad.s^{-1}$ ถึง 2.06 $rad.s^{-1}$ มีข้อสังเกตุว่า fc_1, fc_0 และ fc_2 มีแนวโน้มเลื่อนไปทางความถี่ที่น้อยลง ยกเว้นในเซลล์ที่ปนเปื้อนสารหนู 100 ppm ค่า fc_1 และ fc_2 กลับเพิ่มขึ้น

การพบอัตราหมุนเฉพาะที่ความถี่ fc_2 ของเซลล์ปนเปื้อนสารหนูระดับ 100 ppm สอดคล้องกับงานของ Geier และคณะ (1987) ซึ่งรายงานโดยใช้ยีสต์ที่ปนเปื้อน $HgCl_2$ 0.18 ppm และการพบค่า R_1 ลดลงพร้อมกับการเพิ่มของค่า R_2 เมื่อความเข้มข้นสารหนูเพิ่มขึ้น เป็นไปทำนองเดียวกันกับการรายงานในยีสต์ เช่นกัน โดย Zhou และคณะ (1996) เมื่อเติมสารควบคุมจุลชีวะ(polyhexanide)ถึงระดับ500 ppm

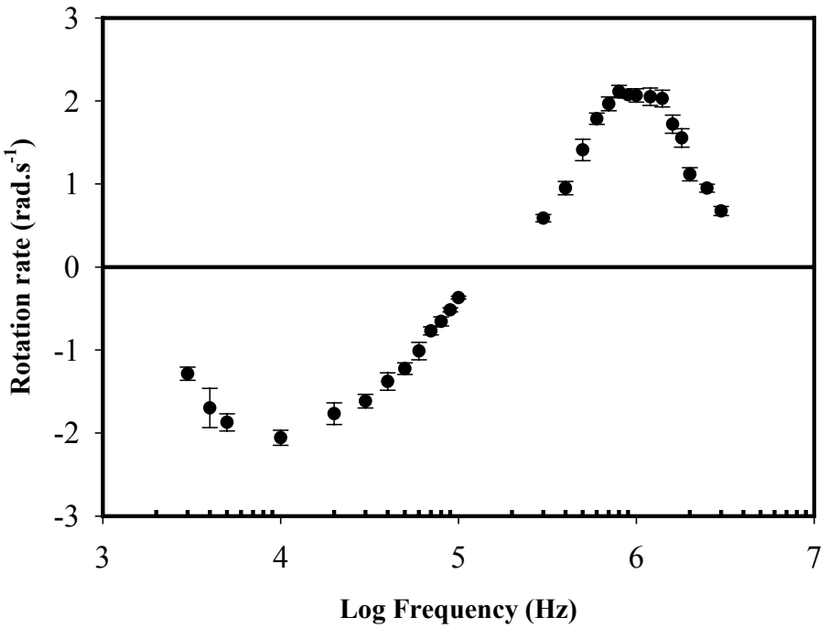
ซึ่งผลการทดลองนี้มีแนวโน้มคล้ายกับเซลล์ตาย (ข้อ 4.3.3) หากเพิ่มความเข้มของสารหนู หรือ เวลาที่แช่เซลล์ให้มากขึ้น จึงคาดว่าค่า R_1 ของเซลล์ที่ปนเปื้อนสารหนู จะไม่ปรากฏทำนองเดียวกับพฤติกรรมของเซลล์ตาย



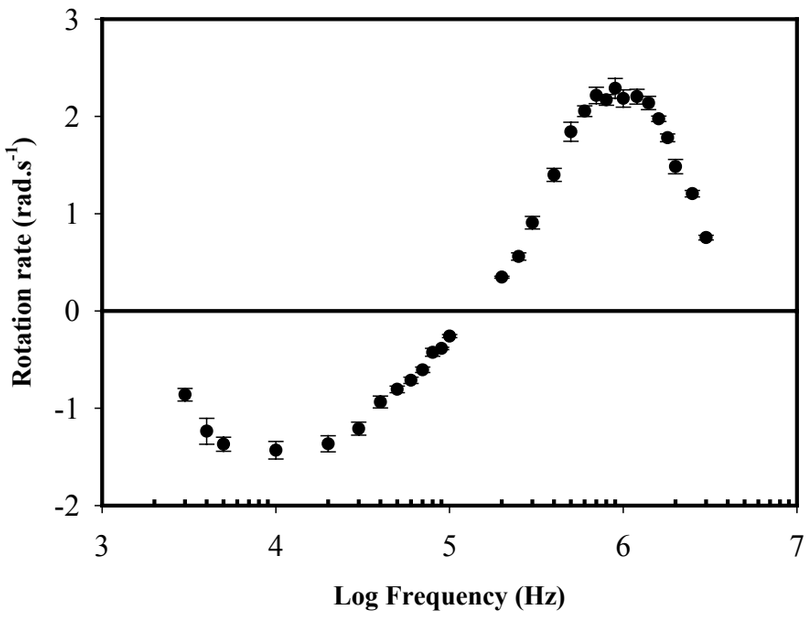
(a) Control



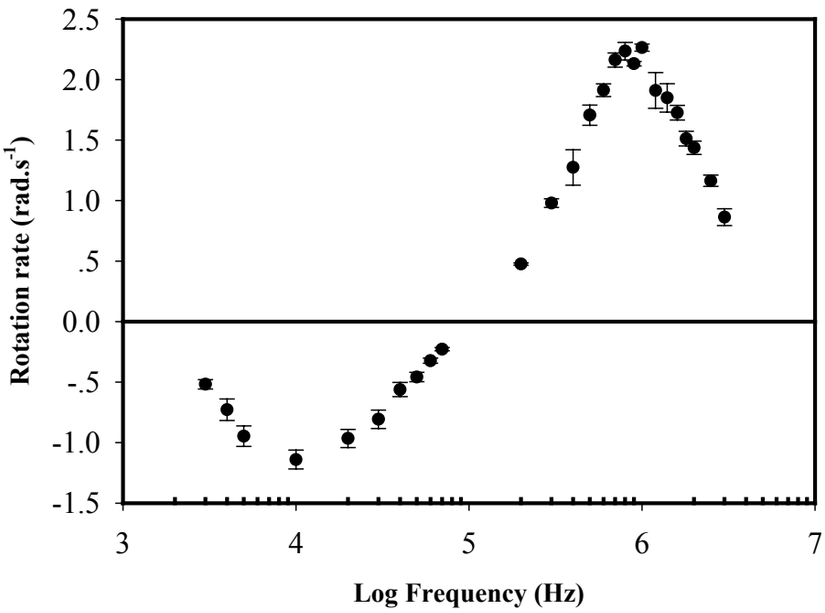
(b) As 10 ppm



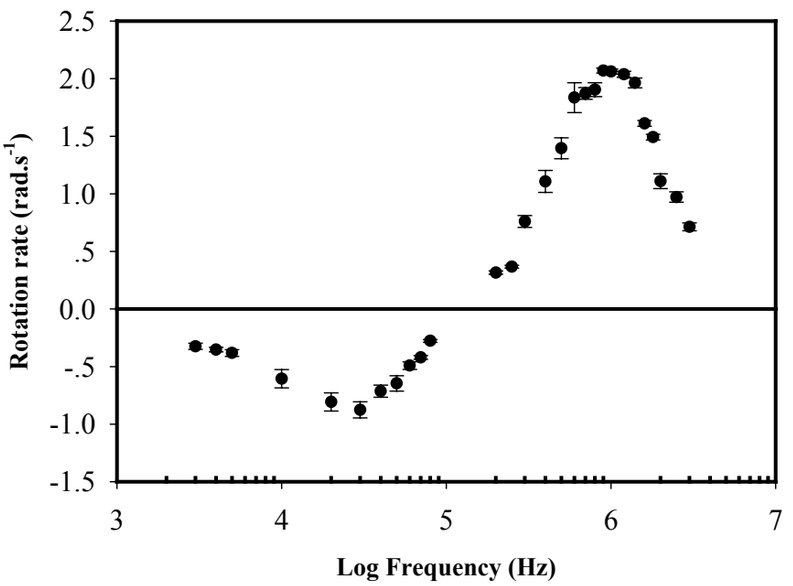
(c) As 30 ppm



(d) As 50 ppm



(d) As 70 ppm



(d) As 100 ppm

ภาพประกอบ 4.8 เปรียบเทียบการหมุนของเซลล์แพลงก์ตอน *Tetraselmis* sp. ระหว่าง ชุด control และชุดที่ปนเปื้อนสารหนูในระดับต่างๆ เฉลี่ยจาก 5 การทดลอง

ตาราง 4.4 แสดงค่า R_1 , fc_1, fc_0, R_2 และ fc_2 ของเซลล์ที่เปื้อนสารหนูความเข้มต่างๆค่าเฉลี่ยจาก 5 การทดลอง

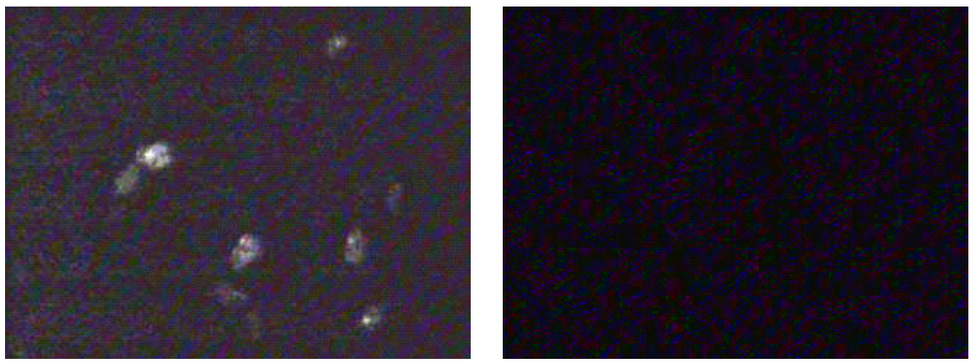
	control	10 ppm	30 ppm	50 ppm	70 ppm	100 ppm
R_1 ($rad.s^{-1}$)	4.10	3.38	2.00	1.46	1.13	0.87
fc_1 (kHz)	20	20	10	10	10	30
fc_0 (kHz)	300	300	300	150	100	100
R_2 ($rad.s^{-1}$)	0.76	1.39	2.07	2.29	2.24	2.06
fc_2 (MHz)	1.4	1	1	0.9	0.8	1

4.5 ทดสอบการมีชีวิตของเซลล์ *Tetraselmis* sp.

ในงานวิจัยนี้เลือกใช้ 2 วิธีคือ การย้อมสีและการเพาะเลี้ยงเซลล์ โดยมีรายละเอียดดังนี้

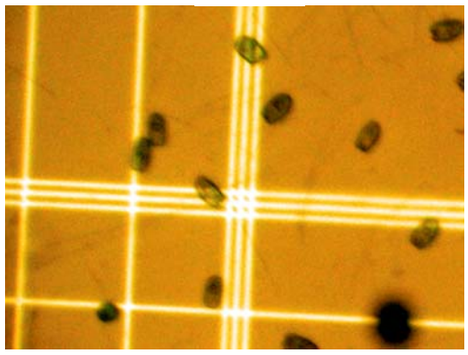
4.5.1 ทดสอบการมีชีวิตของเซลล์ *Tetraselmis* sp. โดยใช้สีย้อม

การทดสอบการมีชีวิตของเซลล์ตามวิธีในบทที่ 3 ข้อ 3.3.3.5 เปรียบเทียบระหว่างเซลล์ที่ผ่านการต้ม และไม่ผ่านการต้ม พบว่าเซลล์ที่ติดสีคือเซลล์มีชีวิต (ไม่ผ่านการต้ม) ดังภาพประกอบ 4.9 a เนื่องจากเซลล์ที่มีชีวิตจะมีการดูดซึมสาร FDA เข้าสู่เซลล์ เมื่อเปิดแสงยูวีจะส่งผลให้สาร FDA ภายในเซลล์เรืองแสง ขณะที่เซลล์ที่ผ่านการต้มจะไม่พบการเรืองแสง (b) สำหรับเซลล์ที่ปนเปื้อนสารหนู พบการเรืองแสงของเซลล์ชุดควบคุม (c) แต่ไม่พบการเรืองแสงของเซลล์ที่มีการปนเปื้อนสารหนูตั้งแต่ 10 ถึง 100 ppm เมื่อตรวจสอบเซลล์แพลงก์ตอนที่ปนเปื้อนสารหนู ด้วยกล้องจุลทรรศน์ พบว่าเซลล์แพลงก์ตอนยังสามารถเคลื่อนที่ได้ จึงคาดว่าเซลล์แพลงก์ตอนที่ปนเปื้อนสารหนูน่าจะยังมีชีวิต ดังนั้นจึงทำการทดสอบด้วยการเพาะเลี้ยงเซลล์ต่อไป

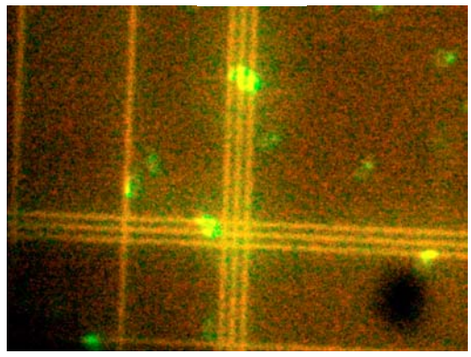


(a)

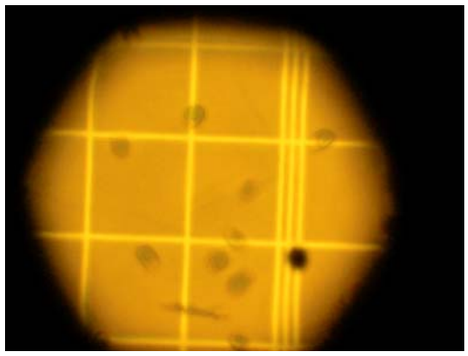
(b)



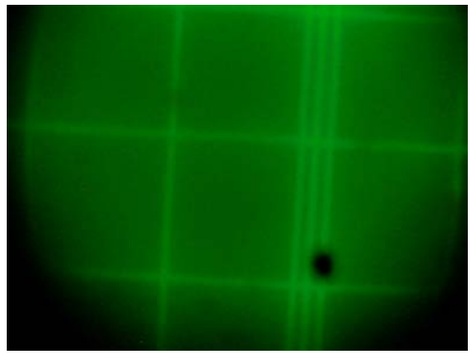
(c)



(d)



(e)



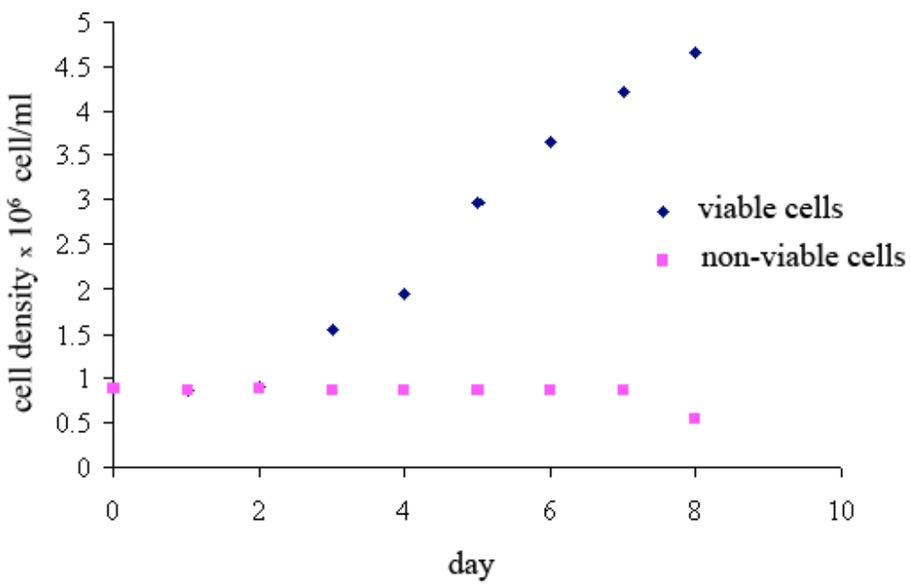
(f)

ภาพประกอบ 4.9 เปรียบเทียบการเรืองแสงของเซลล์ที่ไม่ผ่านการต้ม (a) เซลล์ที่ผ่านการต้ม (b) เซลล์ชุดควบคุม (c) การเรืองแสงของเซลล์ควบคุม (d) เซลล์ปนเปื้อนสารหนู 10 ppm (e) และเซลล์ปนเปื้อนสารหนู 10 ppm ซึ่งไม่พบการเรืองแสง(f)

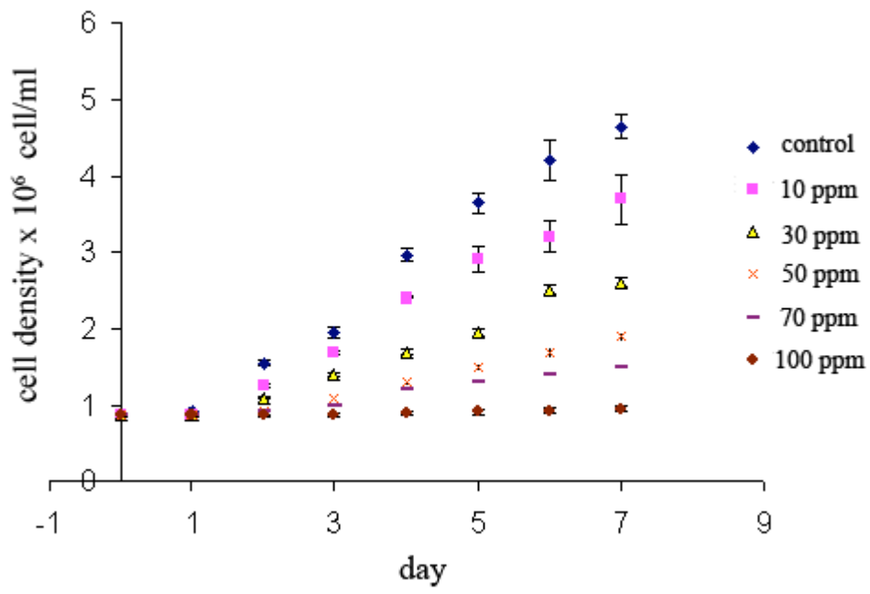
4.5.2 การเพาะเลี้ยงแพลงก์ตอน *Tetraselmis* sp.เพื่อศึกษาการเจริญเติบโต

ได้ศึกษาการเจริญเติบโตของเซลล์ 2 กลุ่มคือ เซลล์ที่ผ่านการต้ม และเซลล์ปนเปื้อนสารหนู โดยนับความหนาแน่นเซลล์ทุกวัน จากภาพประกอบ 4.10 เปรียบเทียบการเจริญเติบโตของเซลล์ที่ผ่านการต้มกับเซลล์ปกติ หลังการเพาะเลี้ยงเซลล์ทั้งสองได้ 3 วันพบว่า เซลล์ปกติมีการเพิ่มความหนาแน่นในขณะที่เซลล์ที่ผ่านการต้มนาน 10 นาทีไม่มีการเพิ่มความหนาแน่น ดังนั้นจึงสรุปได้ว่า เซลล์ที่ผ่านการต้มนาน 10 นาทีเป็นเซลล์ตายทั้งหมด ซึ่งสอดคล้องกับผลทดสอบการมีชีวิตของเซลล์โดยใช้สีย้อม

เมื่อเพาะเลี้ยงเซลล์ในน้ำเลี้ยงที่มีการปนเปื้อนสารหนูที่ความเข้มข้น 10 ppm ,30 ppm, 50 ppm, 70 ppm และ100 ppm แล้วหาความหนาแน่นเซลล์ทุกวัน โดยเปรียบเทียบผลกับเซลล์ชุดควบคุม ดังภาพประกอบ 4.11 พบว่าความหนาแน่นของเซลล์เพิ่มขึ้นทุกชุดการทดลองแต่เพิ่มช้ากว่าชุดควบคุม และเซลล์ที่เปื้อนสารหนูสูง มีการเพิ่มจำนวนเซลล์ต่ำ ยกเว้นที่ระดับความเข้มข้น 100 ppm ซึ่งความหนาแน่นค่อนข้างคงที่ จึงเป็นไปได้ว่า สารหนูสะสมที่เยื่อหุ้มเซลล์ในปริมาณที่สูงขึ้น ทำให้ปิดกั้นความสามารถในการดูดซึมอาหารจากสิ่งแวดล้อม และอาจทำให้สาร FDA ไม่สามารถเกาะเยื่อหุ้มเซลล์ได้ จึงไม่ปรากฏการเรืองแสงของเซลล์เหล่านี้



ภาพประกอบ 4.10 เปรียบเทียบการเพิ่มจำนวนของแพลงก์ตอน *Tetraselmis* sp. ที่มีชีวิต และไม่มีชีวิต



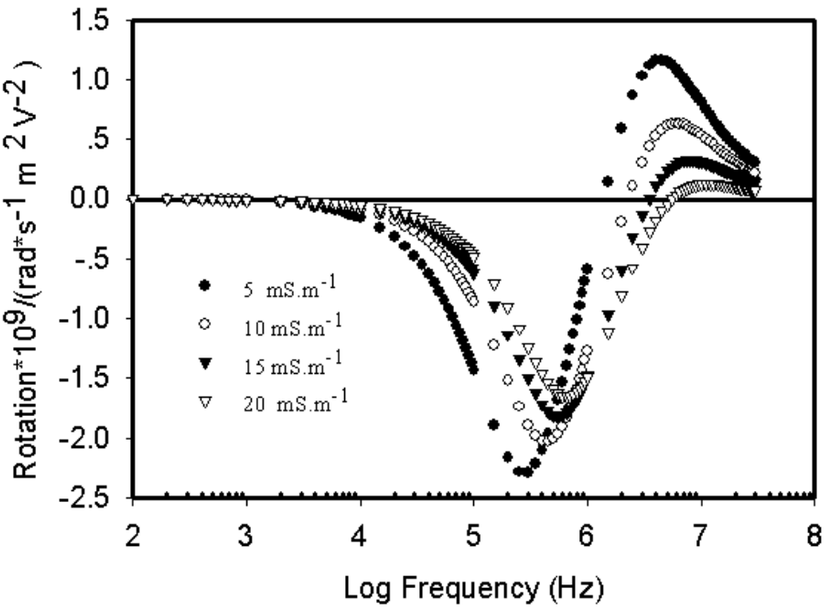
ภาพประกอบ 4.11 แสดงความหนาแน่นของแพลงก์ตอน *Tetraselmis* sp. ที่การปนเปื้อนสารหนู ระดับความเข้มต่างๆเทียบ

4.6 ผลของการผันแปรพารามิเตอร์ทางไฟฟ้าของเซลล์ต่ออัตราการหมุน

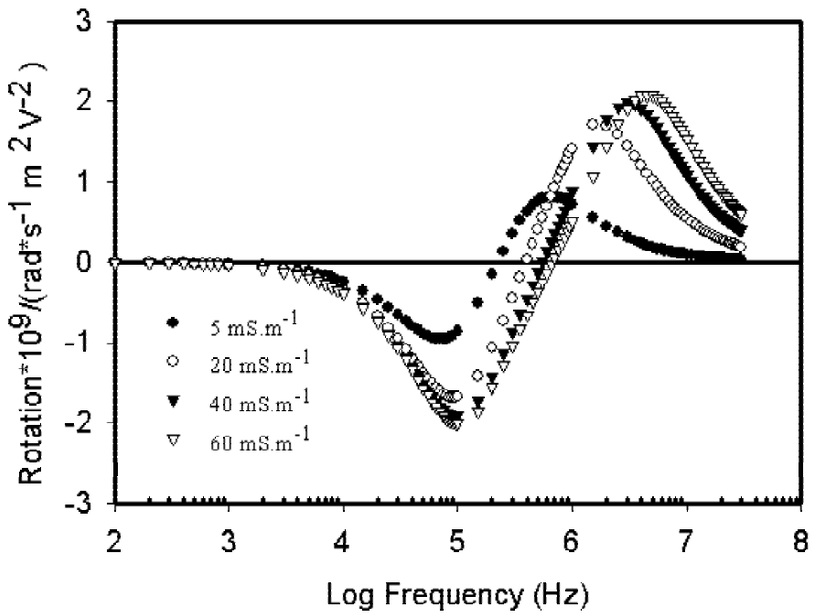
จากแบบจำลองเซลล์เดี่ยวทรงกลมเปลือกเซลล์ชั้นเดียว (สมการ 2.13 ถึง 2.18) ค่า E , η , r (ซึ่งคำนวณจากระยะเฉลี่ยระหว่าง a/2 และ b/2) และ σ_s เป็นค่าที่ได้จากการวัด สำหรับค่า σ_c , ε_c , C_m และ G_m เป็นค่าที่ได้จากการประมาณโดยใช้แบบจำลองดังกล่าว ภาพประกอบ 4.12 a,b,c,d และ e แสดงผลกระทบของค่าทั้งสี่ต่อค่า fc_1, fc_2 , R_1 และ R_2 ของเซลล์ โดยมีค่า E = 13.2 kV/m ,η = 0.001 N.s.m^{-2}, r = 5.9 $\pm$ 0.8 μm, σ_s = 1 mS.m^{-1} และ ϒ©⊄≠×©⊄⌈ $\varepsilon_s = 80\varepsilon_0$ (Kakutani *et al*.,1993)

การที่พบว่าเมื่อเพิ่มค่า σ_s สูงขึ้นค่า R_1 และ R_2 ลดลง และค่า fc_1 และ fc_2 เลื่อนไปทางความถี่ที่สูงขึ้นนั้น สอดคล้องกับผลการทดลองในข้อ 4.3.2 และ 4.3.3 ขณะที่การเพิ่ม σ_c ทำให้ค่า R_1 และ R_2 เพิ่มขึ้น และค่า fc_1 และ fc_2 เลื่อนไปทางความถี่ที่สูงขึ้น การเพิ่ม ε_c ทำให้ค่า R_1 และ fc_1 คงที่แต่ R_2 ลดลง และค่า fc_2 เลื่อนไปทางความถี่ต่ำ การเพิ่ม C_m ทำให้ค่า R_1 , R_2 และค่า fc_2 คงที่ แต่ fc_1 เลื่อนไปทางความถี่ต่ำ และเมื่อเพิ่ม G_m พบว่า ค่า R_2 และค่า fc_2 คงที่ แต่ R_1 มีขนาดลดลง และ fc_1 เลื่อนไปทางความถี่ที่สูงขึ้น เป็นที่น่าสังเกตุว่า ผลการทดลองของเซลล์ตาย (ข้อ 4.3.3) พบค่า R_1 ลดลง จึงเป็นไปได้ว่าเกิดจากค่า G_m ที่เพิ่มขึ้น แสดงว่าเซลล์แพลงก์ตอน *Tetraselmis* sp. ที่ตาย น่าจะมีค่า G_m

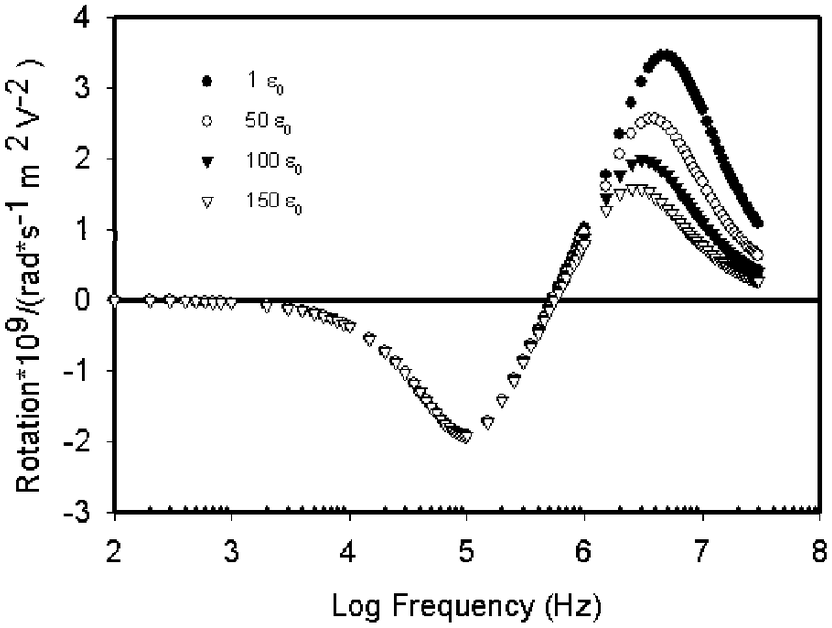
เพิ่มสูงขึ้น จากผลของการผันแปรค่าพารามิเตอร์ทางไฟฟ้าของเซลล์ต่ออัตราหมุนของเซลล์นี้ ช่วยให้การประมาณค่าคงที่ทางไฟฟ้าของเซลล์ในตอน 4.7 ทำได้ง่ายขึ้น



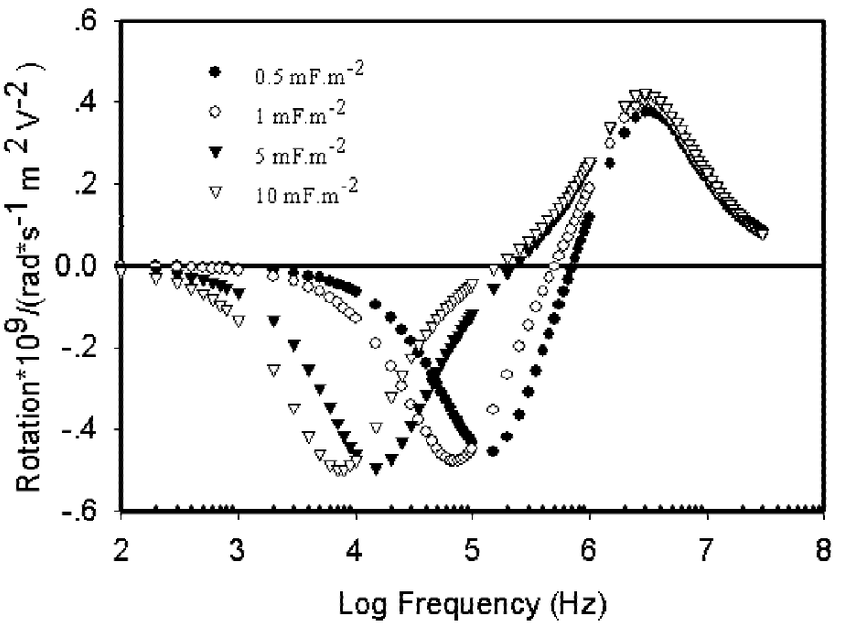
(a) ผลของการเปลี่ยนแปลง □□ ต่ออัตราหมุนของเซลล์



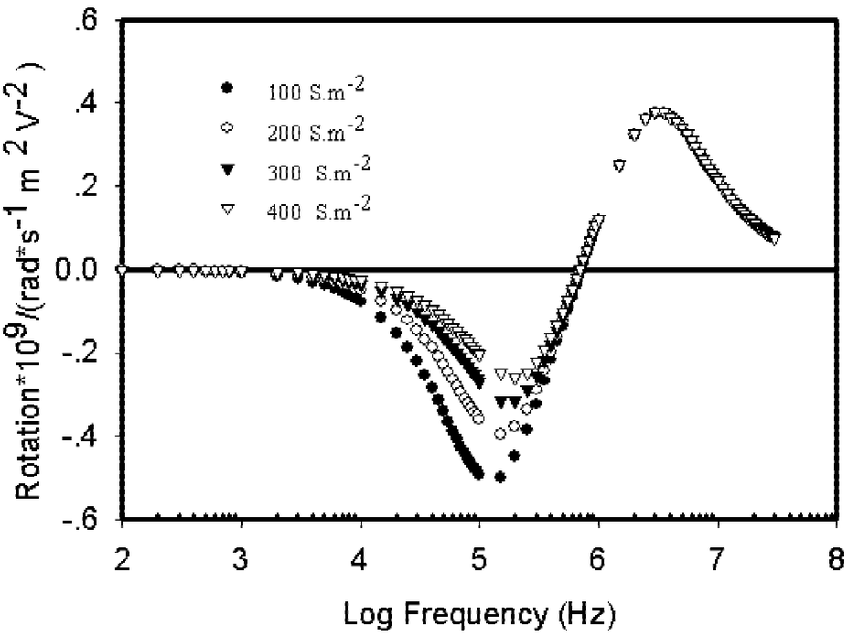
(b) ผลของการเปลี่ยนแปลง □ ต่ออัตราหมุนของเซลล์



(c) ผลของการเปลี่ยนแปลง □ ต่ออัตราหมุนของเซลล์



(d) ผลของการเปลี่ยนแปลง C_m ต่ออัตราหมุนของเซลล์

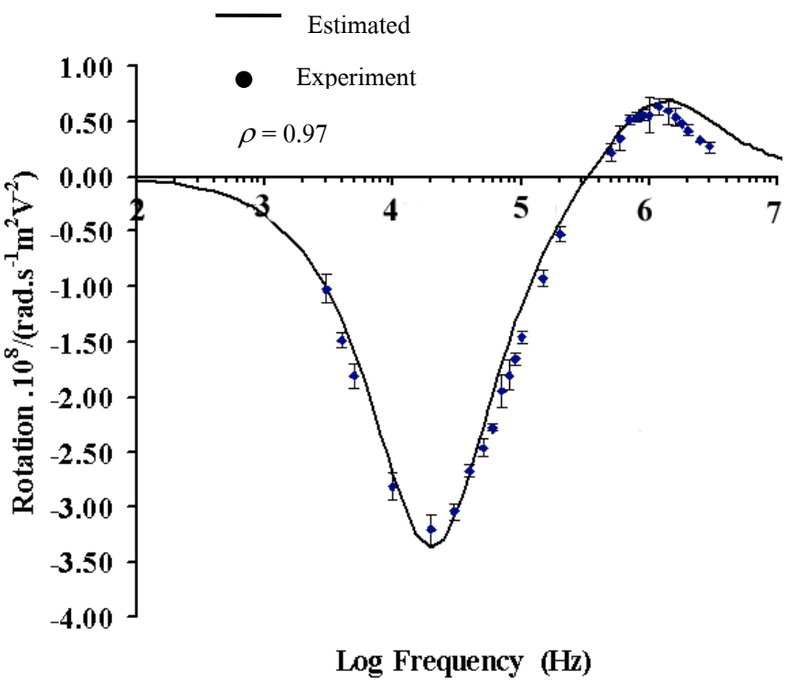


(e) ผลของการเปลี่ยนแปลง G_m ต่ออัตราหมุนของเซลล์

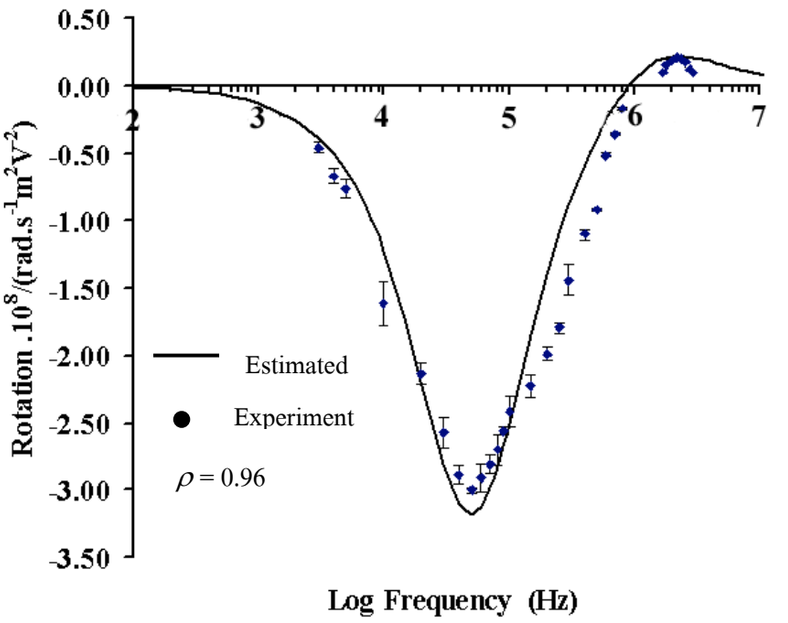
ภาพประกอบ 4.12 ผลของการเปลี่ยนค่าคงที่ทางไฟฟ้ากับอัตราหมุนของเซลล์ในเชิงทฤษฎี

4.7 ประมาณค่าคงที่ทางไฟฟ้าของเซลล์แพลงก์ตอน *Tetraselmis* sp.

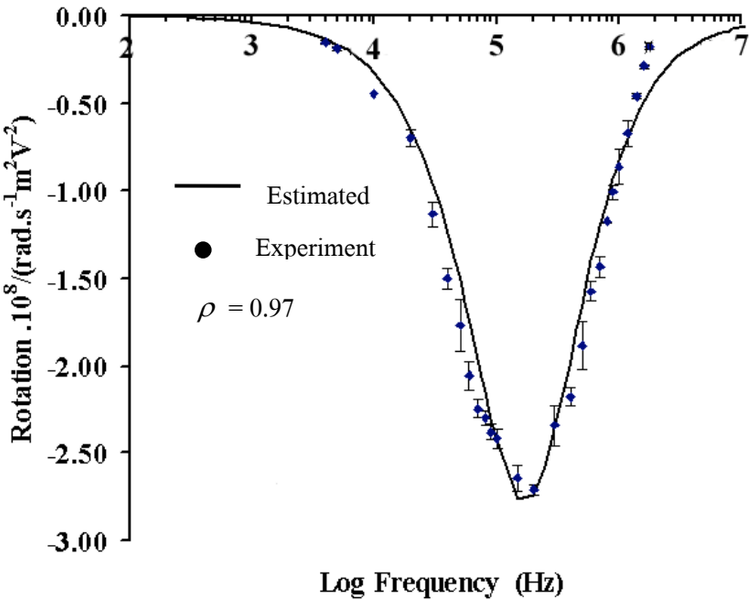
จากกราฟในภาพประกอบที่ 4.6 ,4.7 และ 4.8 ได้ลากเส้นโดยอาศัยข้อมูลอัตราหมุนและแบบจำลองเซลล์เดี่ยวเปลือกหนึ่งชั้นและอิงการเปลี่ยนแปลง R_1 , fc_1, R_2 และ fc_2 ที่เสนอในข้อ 4.6 ทำการปรับเปลี่ยนค่าตัวแปร σ_c , ε_c , C_m และ G_m หลายๆครั้ง จนกระทั่งความผิดพลาดน้อยที่สุด($\rho \approx 1$) จะได้ภาพประกอบที่ 4.13 ซึ่งผลการประมาณค่าโดยวิธีดังกล่าวแสดงในตาราง 4.5



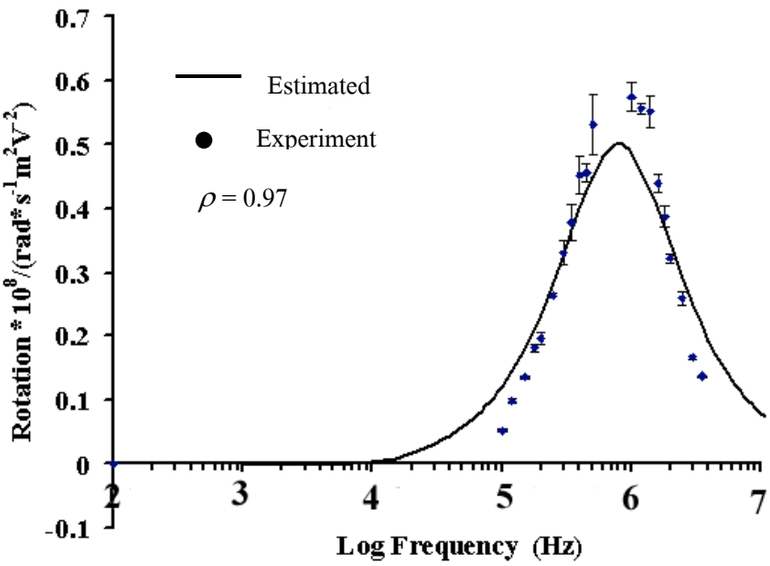
(a) Viable cell σ_s = 1.4 mS.m^{-1}



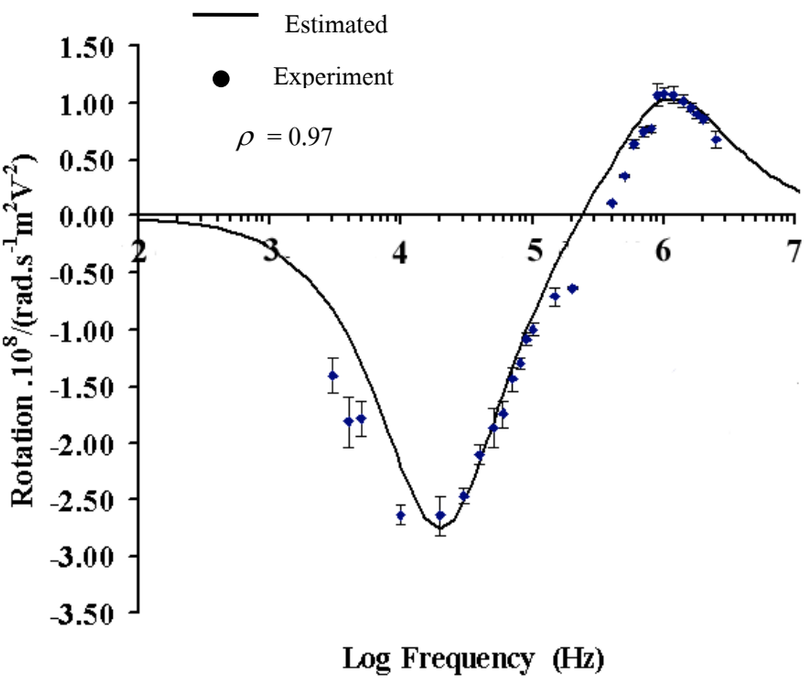
(b) Viable cell σ_s = 5 mS.m^{-1}



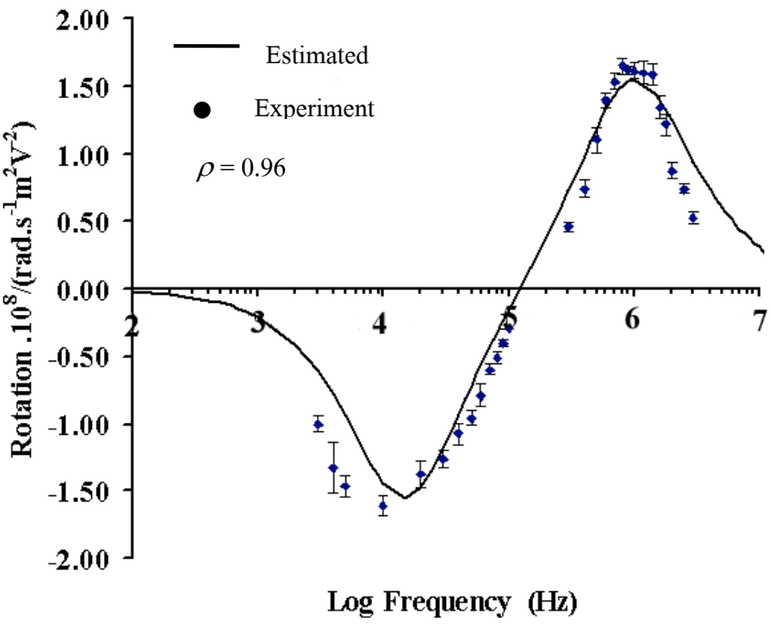
(c) Viable cell σ_s = 24 mS.m^{-1}



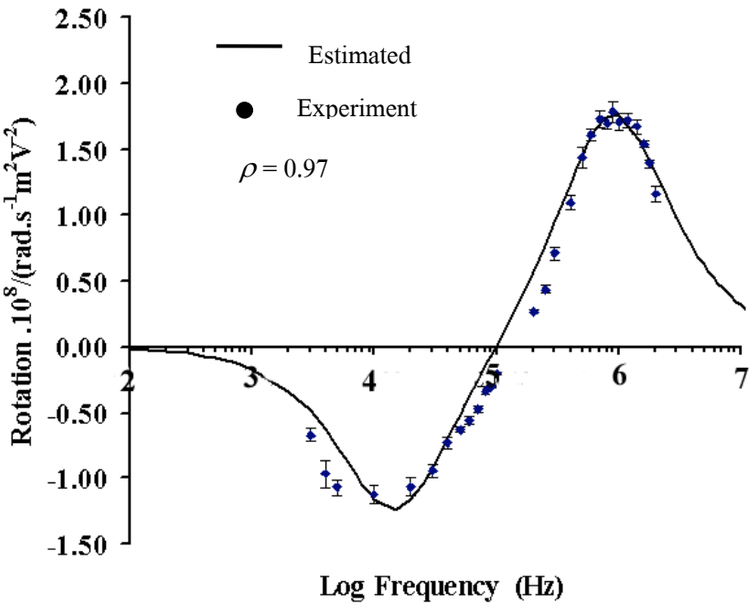
(d) Non-viable cell σ_s = 1.4 mS.m^{-1}



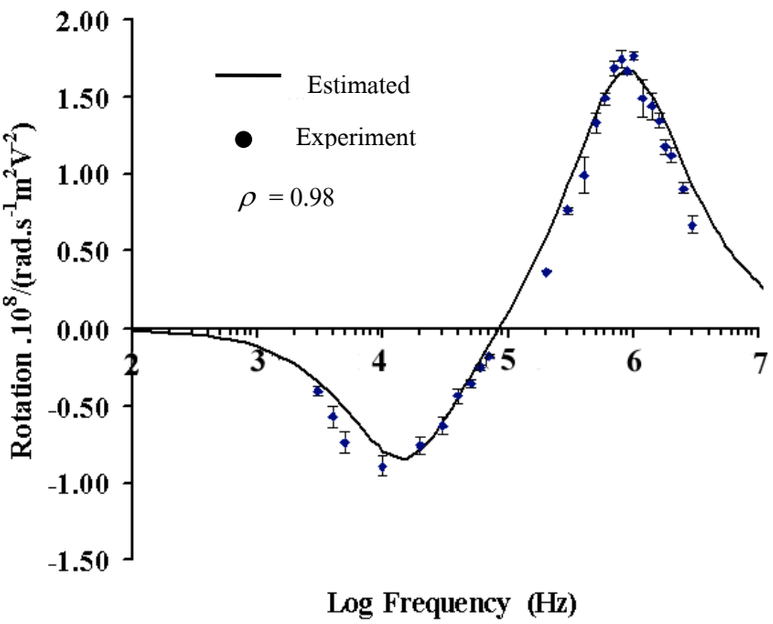
(e) 10 ppm



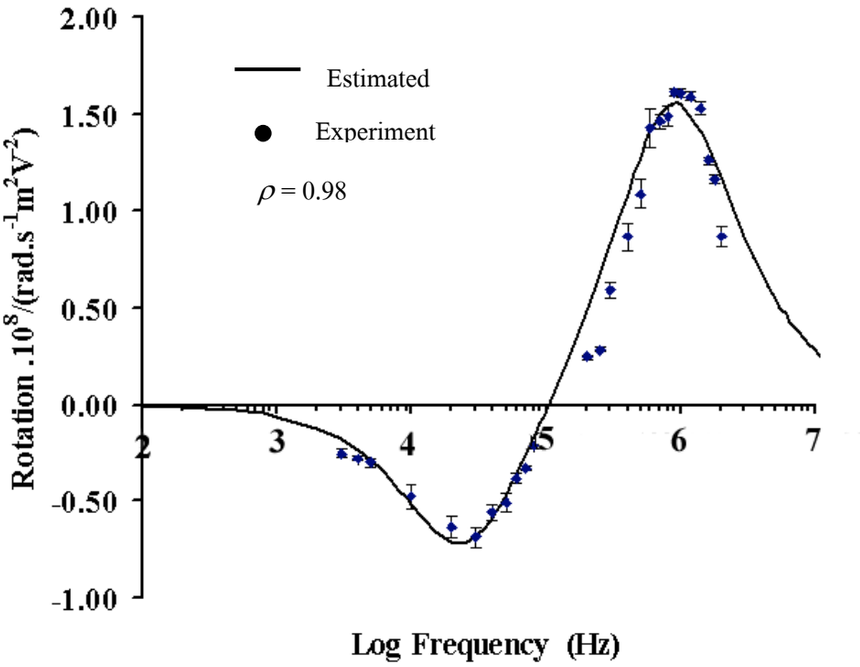
(f) 30 ppm



(g) 50 ppm



(h) 70 ppm



(i) 100 ppm

ภาพประกอบ 4.13 แสดงอัตราหมุนที่ได้จากการนำค่า fc_1, fc_2 , R_1 และ R_2 ของผลการทดลองในเซลล์เป็นที่ σ_s = 1.4 , 5 และ 24 $mS.m^{-1}$ เซลล์ตายที่ σ_s = 1.4 $mS.m^{-1}$ และ เซลล์ที่ปนเปื้อนสารหนูเข้มข้น 10 ,30, 50 ,70 และ 100 ppm เทียบกับค่าที่คำนวณเชิงทฤษฎี โดย ρ คือสัมประสิทธิ์การถดถอย

ตาราง 4.5 ค่าคงที่ทางไฟฟ้าที่น่าจะเป็นของเซลล์ภายใต้เงื่อนไขต่างๆเปรียบเทียบกับเซลล์ชนิดอื่นๆ

Tetraselmis sp.	σ_s ($mS.m^{-1}$)	σ_c ($mS.m^{-1}$)	ε_c (ε_0)	C_m ($mF.\ m^{-2}$)	G_m ($kS.m^{-2}$)	Ref.
เซลล์เป็น	1.4	5.4	39.3	3.5	0.5	-
	5	31.4	128.4	2.7	1.6	-
	24	408.0	647.4	2.6	6.5	-
เซลล์ตาย	1.4	7.0	94.4	1.6 $F.m^{-2}$	98.9	-
+As 10 ppm	1.4	3.9	14.5	12.0	0.2	-
+As 30 ppm	1.4	3.6	12.3	49.2	1.7	-
+As 50 ppm	1.4	3.4	10.7	60.1	5.1	-
+As 70 ppm	1.4	3.5	13.1	70.4	8.5	-
+As 100 ppm	1.4	3.6	14.0	71.4	8.8	-
โพรโทพลาสเกสรดอกลิลลี่	3-20	500-700	50-60	8-10	0.05-0.2	Sukhorukov *et al.* (1998)
	แบบจำลองเซลล์เดี่ยวเปลือกเซลล์ชั้นเดียว					
เซลล์ยีสต์	10-30	950-1000	85	6.71	3-5	Kriegmaier *et al.* (2001)
	แบบจำลองเซลล์เดี่ยวเปลือกเซลล์ 2 ชั้น					
โพรโทพลาสใบบาร์เลย์	5.33	500	60	5.5	0.001	Kakutani *et al.* (1993)
	แบบจำลองเซลล์เดี่ยวเปลือกเซลล์ 3 ชั้น					

ตาราง 4.5 (ต่อ)

	σ_s ($mS.m^{-1}$)	σ_c ($mS.m^{-1}$)	ε_c (ε_0)	C_m ($mF.\ m^{-2}$)	G_m ($kS.m^{-2}$)	Ref.
Tetraselmis sp.	6-24	13-40	105-150	5.9-8.8	-	Wanichapichart *et al.* (2002)
	วิธีไดอิเล็กโทรฟอเรซิส					

จากตารางจะพบว่าค่า σ_c , ε_c และ G_m มีค่าเพิ่มขึ้น ตามการเพิ่มของ σ_s แต่ C_m มีค่าลดลง เนื่องจาก C_m มีค่าเท่ากับ $\frac{\varepsilon_m}{\delta}$ ค่า C_m จึงขึ้นกับ ε_m แต่ทฤษฎีที่ใช้ไม่ได้แสดงให้เห็นการเปลี่ยนแปลงของ ε_m จึงไม่สามารถอธิบายได้จากงานวิจัยนี้

เปรียบเทียบค่าคงที่ทางไฟฟ้าระหว่างเซลล์เป็นและเซลล์ตาย พบว่า ค่า C_m และ G_m ของเซลล์ตายสูงกว่าเซลล์เป็นประมาณ 1,000 เท่าอธิบายว่า การให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 80 ^{0}C เป็นเวลา 10 นาทีแก่เซลล์ น่าจะทำให้เยื่อหุ้มเซลล์สูญเสียความสามารถเก็บกักอิเล็กโทรไลท์ภายใน ทำให้สารละลายภายนอกไหลเข้าสู่ภายในเซลล์ได้ง่ายขึ้น ในขณะที่ค่า σ_c และ ε_c ของเซลล์ตายไม่เปลี่ยนแปลงมากนักอาจเกิดจากเซลล์มีผนังหุ้มเยื่อหุ้มเซลล์อีกชั้นหนึ่ง ทำให้ไซโทพลาสซึมแพร่ออกมายาก

เมื่อเปรียบเทียบค่าคงที่ทางไฟฟ้าระหว่างเซลล์ที่ปนเปื้อนสารหนูเข้มข้นที่ระดับต่างๆ พบว่าค่า G_m และ C_m เพิ่มขึ้นตามการเพิ่มปริมาณของสารหนู ขณะที่ค่า σ_c และ ε_c ค่อนข้างคงที่มีค่าเฉลี่ย 3.6 ± 0.2 $mS.m^{-1}$ และ $13\varepsilon_0 \pm 1\varepsilon_0$ ตามลำดับ เป็นที่สังเกตุว่าการเพิ่มของ G_m และ C_m เป็นไปในทำนองเดียวกับที่พบในเซลล์ตาย ทั้งนี้อาจเป็นเพราะสารหนูซึ่งเป็นโลหะหนักสะสมที่เยื่อหุ้มเซลล์จึงเพิ่มค่า σ_m จึงทำให้ G_m เพิ่มตามการเกาะของสารหนูที่เยื่อหุ้มเซลล์ อาจเป็นสาเหตุที่ทำให้ไม่พบการเรืองแสงของ FDA (ข้อ 4.5.1)แม้จะใช้สารหนูปริมาณต่ำ

เมื่อเปรียบเทียบค่าคงที่ทางไฟฟ้าที่ศึกษาจากงานนี้กับ โพรโทพลาสของเกสรดอกลิลลี่ (Sukhorukov *et al.*,1998)ซึ่งใช้แบบจำลองเดียวกันพบว่าค่า σ_c สูงกว่า ขณะที่ G_m ต่ำกว่ามาก เมื่อเปรียบเทียบค่าคงที่ทางไฟฟ้าที่ได้กับเซลล์ยีสต์ (Kriegmaier *et al.*,2001) ซึ่งใช้แบบจำลองเซลล์เดี่ยวทรงกลมเปลือกเซลล์ 2 ชั้นพบว่า ค่า C_m และ G_m มีค่าอยู่ในลำดับเดียวกัน จึงคาดว่าองค์ประกอบของเยื่อหุ้มเซลล์ทั้งสองน่าจะไม่ต่างกันมากนักและเปรียบเทียบค่าC_m ของเซลล์ *Tetraselmis* sp. ที่ได้จาก

วิธีไดอิเล็กโทรฟอเรซิส (Wanichapichart *et al*., 2002) เมื่อ σ_s = 24 mS.m^{-1} พบว่า ค่า C_m ในงานวิจัยนี้กลับมีค่าน้อยกว่า C_m ที่ได้จากวิธีไดอิเล็กโทรฟอเรซิส อาจเกิดจากความแตกต่างระหว่างความเข้มสนามไฟฟ้าที่ใช้ กล่าวคือวิธีไดอิเล็กโทรฟอเรซิสใช้สนามไฟฟ้าความเข้มประมาณ 85 kV.m^{-1} ขณะที่งานวิจัยนี้ใช้ สนามไฟฟ้าความเข้ม 11.3 kV.m^{-1} อธิบายว่าที่ความเข้มของสนามไฟฟ้าสูงๆ ค่าความต้านทานความจุของเยื่อหุ้มเซลล์จะสูงตาม แต่การพบความขัดแย้งของค่า σ_c และ ε_c ที่ไม่สอดคล้องกัน น่าจะเกิดจาก การเคลื่อนที่ของเซลล์ในระหว่างลวดทรงกระบอกมีความเร่งเกิดขึ้นด้วย ทำให้การวัดความเร็วบางช่วงไม่เป็นไปตามเงื่อนไขเชิงทฤษฎี