1. บทนำ

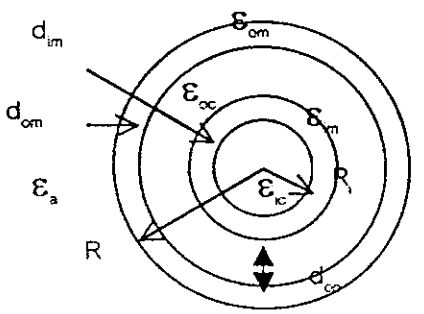
ปัญหาสิ่งแวดล้อมในปัจจุบันยังคงสร้างปัญหาให้กับสิ่งมีชีวิตเป็นอย่างมาก โดยเฉพาะสิ่งแวดล้อมทางน้ำ ซึ่งมีผลกระทบต่อการดำเนินชีวิตเป็นอย่างมาก ในปัจจุบันแหล่งน้ำธรรมชาติส่วนใหญ่ ถูกทำลายด้วยฝีมือมนุษย์อันเนื่องมาจาก การเจริญก้าวหน้าทางวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี เช่นการปล่อยน้ำเสียจากโรงงานต่างๆ จากโรงงานอุตสาหกรรม ซึ่งไม่ได้ทำการบำบัดก่อนที่จะปล่อยลงแหล่งน้ำ สารพิษ สารเคมีต่างๆ โลหะหนักที่ปนอยู่กับน้ำเสียจึงถูกปล่อยลงสู่แหล่งน้ำ ซึ่งสารพวกนี้ล้วนแล้วแต่เป็นมลภาวะแก่สิ่งแวดล้อม และเป็นอันตรายแก่สิ่งมีชีวิตทั้งสิ้น การตรวจหาโลหะหนักที่ปะปนในน้ำ จะต้องใช้เครื่องมือที่มีราคาสูงและจะมีเฉพาะบางหน่วยงานเท่านั้นที่สามารถมีเครื่องมือนั้นได้ และถึงแม้จะตรวจพบว่าในแหล่งน้ำนั้นมีโลหะหนักปน แต่การบำบัดน้ำเสียที่มีโลหะหนักปน ก่อนปล่อยทิ้งลงสู่แหล่งน้ำ ก็ยังมีต้นทุนที่ค่อนข้างสูง ดังนั้นหากมีวิธีที่สามารถตรวจหาโลหะหนักที่ปะปนในน้ำได้ และสามารถหาวิธีที่บำบัดน้ำเสียที่มีโลหะหนักปน ก่อนปล่อยลงสู่แหล่งน้ำได้ ก็นับว่าจะมีประโยชน์ต่อการอนุรักษ์สิ่งแวดล้อมเป็นอย่างมาก

แพลงก์ตอนพืชชนิด Chlorella sp. เป็นแพลงก์ตอนพืชสีเขียวจัดอยู่ใน Division Chlorophyta , Class Chlorophyceae , Oder Chlorellales, Family Chlorellaceae. เซลล์มีรูปร่างเป็นทรงกลม เส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 3-5 μm ผนังเซลล์3 ชั้นซึ่งหนาและแข็ง ผนังชั้นในเป็นเยื่อหุ้มเซลล์ ผนังชั้นกลางหนาที่สุดเป็นพวกเซลลูโลส ผนังชั้นนอกเป็นพวกพอลิเมอร์ ซึ่งทำหน้าที่จับโลหะหนัก (สุนีย์ สุวภีพันธ์ , 2527) โดยปกติเซลล์สิ่งมีชีวิตซึ่งรวมทั้งเซลล์ Chlorella sp. ในสภาพปกติจะมีสมบัติทางไฟฟ้าเป็นวัตถุไดอิเล็กทริก (dielectric)คือประจุภายในเซลล์จะจัดเรียงตัวกันอย่างไม่มีระเบียบ ไม่แสดงอำนาจขั้วทางไฟฟ้า (non electric dipole) คือจะเป็นกลางทางไฟฟ้า แต่เมื่อให้เซลล์แขวนลอยในสารละลายที่มีค่าสภาพนำไฟฟ้าต่ำและให้สนามไฟฟ้าที่มีความเข้มสูงๆ ประจุภายในเซลล์จะเกิดการโพลาไรซ์ (polarization) โดยประจุจะจัดเรียงตัวกันอย่างเป็นระเบียบเกิดเป็นขั้วทางไฟฟ้า (electric dipole) และการเกิดขั้วทางไฟฟ้านี้จะทำให้เซลล์เกิดแรงดึงดูดซึ่งกันและกันระหว่างเซลล์ และถ้าเซลล์อยู่ในสนามไฟฟ้าแบบไม่สม่ำเสมอ(non- uniform) เซลล์จะเคลื่อนที่เข้าหาอิเล็กโทรดที่มีความเข้มของสนามไฟฟ้าสูงกว่า แรงที่ทำให้เกิดการเคลื่อนที่ดังกล่าวเรียกว่าแรงไดอิเล็กโทรฟอเรทิก (dielectrophoretic force) และเรียกปรากฏการณ์นี้ว่าไดอิเล็กโทรฟอเรซีส (dielectrophoresis) (Cran และ Pohl , 1968) จากทฤษฎีดังกล่าว ได้มีการนำมาประยุกต์ใช้เพื่ออธิบายกับเซลล์สิ่งมีชีวิต โดยถือว่าเซลล์สิ่งมีชีวิตเป็นวัตถุไดอิเล็กทริก เมื่อแขวนลอยในสารละลายที่มีค่าสภาพนำไฟฟ้าต่ำ จะเกิดการโพลาไรซ์ภายในเซลล์ Pohl ,(1978) เสนอว่าการที่เซลล์สิ่งมีชีวิตเกิดการโพลาไรซ์ภายในเซลล์เป็นผลมาจากสาเหตุ 4 ประการดังนี้

1. เซลล์สิ่งมีชีวิตมีส่วนประกอบของเซลล์ส่วนใหญ่เป็นน้ำ
2. ภายในเซลล์ประกอบด้วยโมเลกุลของสารที่มีขั้วทางไฟฟ้า (polar molecule) อันได้แก่ โปรตีน ดีเอ็นเอ อาร์เอ็นเอ ซึ่งเป็นตัวที่ทำให้เกิดขั้วทางไฟฟ้าได้ดี

3. ชั้นเมมเบรนของเซลล์ทำหน้าที่คล้ายตัวเก็บประจุ โดยชั้นไขมันของเมมเบรนคร่อมสารละลายอิเล็กโทรไลต์ทำให้เกิดการกระจายของประจุไฟฟ้าได้ดี
4. ผิวเซลล์มีโครงสร้าง 2 ชั้น (double layer) ซึ่งประกอบด้วยฟอสโฟโปรตีนที่มีประจุต่างกัน ซึ่งจะเป็นตัวกำหนดการเกิดโพลาไรซ์ และจะมีผลต่อค่าความถี่สนามไฟฟ้า

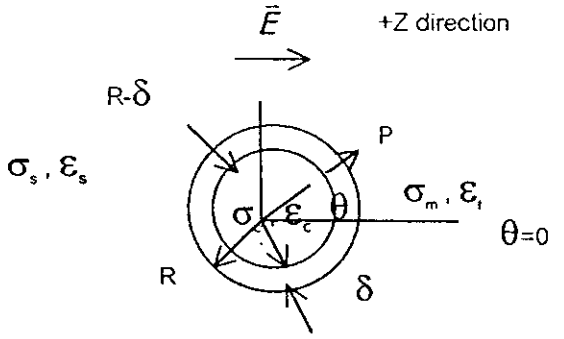
Masszalek et. al (1989) ได้เสนอรูปแบบของเซลล์สิ่งมีชีวิตที่มีผนังเซลล์ 2 ชั้น ตามภาพประกอบ 1



ภาพประกอบ 1 แสดงโมเดลของเซลล์สิ่งมีชีวิตที่มีผนังเซลล์ 2 ชั้นเมื่อแขวนลอยเซลล์ในสารละลายภายนอก

ε_a	คือค่าคงที่ไดอิเล็กทริกของสารละลายภายนอกเซลล์
ε_{om}	คือค่าคงที่ไดอิเล็กทริกของเมมเบรนชั้นนอก
ε_{im}	คือค่าคงที่ไดอิเล็กทริกของเมมเบรนชั้นใน
ε_{ic}	คือค่าคงที่ไดอิเล็กทริกของไซโตพลาสซึม
d_{im}	คือความหนาของเมมเบรนชั้นใน
d_{om}	คือความหนาของเมมเบรนชั้นนอก
d_{oc}	คือความกว้างของไซโตพลาสซึมของเซลล์
R	คือรัศมีเซลล์จากจุดศูนย์กลางเซลล์ถึงเปลือกเซลล์ชั้นนอก
R_i	คือรัศมีเซลล์จากจุดศูนย์กลางเซลล์ถึงเปลือกเซลล์ชั้นใน

Mahaworasilpa et. Al (1994) เสนอว่าเมื่อเซลล์แขวนลอยในสารละลายที่มีค่าสภาพนำไฟฟ้าต่ำและอยู่ในสนามไฟฟ้า เซลล์จะแสดงค่าพารามิเตอร์ทางไฟฟ้าดังภาพประกอบ 2 (ดูรายละเอียดในภาคผนวก จ)



ภาพประกอบ 2 ค่าพารามิเตอร์ของเซลล์เมื่อแขวนลอยในสารละลายภายนอกและอยู่ในสนามไฟฟ้า

และเซลล์จะเกิดไดโพลโมเมนต์ (dipole moment) ดังสมการที่ (1) (ดูรายละเอียดสมการในภาคผนวก ฉ)

$$\vec{\mu}(\omega) = 4\pi R^3 \varepsilon_s \left[\frac{\varepsilon^*_{eff} - \varepsilon^*_s}{\varepsilon^*_{eff} + \varepsilon^*_s}\right]\vec{E}$$

$$= 4\pi R^3 \varepsilon_s f(\omega)\vec{E} \qquad (1)$$

Schwan (1984) เสนอว่าเซลล์สิ่งมีชีวิตจะตอบสนองต่อความถี่สนามไฟฟ้าในช่วง 1 -10^9 Hz โดยแบ่งช่วงความถี่ออกเป็น 3 ช่วงคือ ช่วงความถี่สูงซึ่งความถี่จะสูงกว่า 10^6 Hz เรียกช่วงนี้ว่าช่วง γ ช่วงความถี่กลางความถี่อยู่ในช่วง 10^2 - 10^6 Hz เรียกช่วงนี้ว่าช่วง β และช่วงความถี่ต่ำ ความถี่ต่ำกว่า 10^2 H z เรียกช่วงนี้ว่าช่วง α ช่วงความถี่ที่ทำให้เกิดการโพลาไรซ์ในเซลล์คือช่วง β ซึ่งเป็นช่วงที่ความถี่มีผลต่อค่าคงที่ทางไฟฟ้าอันได้แก่ค่าคงที่ไดอิเล็กทริกของเซลล์เมมเบรน (ε_m) ค่าคงที่ไดอิเล็กทริกของอนุภาค (ε_p) ค่าสภาพนำไฟฟ้าของเซลล์เมมเบรน (σ_m) ค่าสภาพนำไฟฟ้าของไซโตพลาสซึม (σ_c) และพบว่าความถี่ช่วงนี้จะเกิดผลกับเซลล์ที่แขวนลอยในสารละลายที่มีค่าสภาพนำไฟฟ้าต่ำ

ได้มีงานวิจัยจำนวนมากได้ประยุกต์ใช้หลักไดอิเล็กโทรฟอเรซีสกับเซลล์ซึ่งมีคุณสมบัติเป็นวัตถุไดอิเล็กทริก แขวนลอยในสารละลายที่มีค่าสภาพนำไฟฟ้าต่ำ Kaler และ Jone (1990) พบว่าค่าสภาพนำไฟฟ้าของสารละลายในช่วง 11-800 μS/cm เป็นค่าสภาพนำไฟฟ้าที่เหมาะต่อการศึกษาไดอิเล็กโทรฟอเรซีสของเซลล์พืช Marky และคณะ (1993) อาศัยหลักไดอิเล็กโทรฟอเรซีส แยกยีสต์เป็นกับยีสต์ตาย ทำให้ยีสต์ตายโดยใช้ความร้อนซึ่ง Hauang และคณะ (1992) พบว่าการกระทำทางความร้อนกับยีสต์ทำให้สภาพนำไฟฟ้าของเซลล์เมมเบรนเพิ่มขึ้นซึ่งการเปลี่ยนแปลงดังกล่าวจะทำให้เกิดความแตกต่างในพฤติกรรมของไดอิเล็กโทรฟอเรซีส

อาศัยทฤษฎีและงานวิจัยในเรื่องของไดอิเล็กโทรฟอเรซีสกับเซลล์สิ่งมีชีวิตที่ผ่านมา และพบว่าเมื่อเซลล์มีคุณสมบัติภายในเซลล์ที่ต่างกันจะเป็นผลให้ค่าความถี่ไดอิเล็กโทรฟอเรทิกต่างกันด้วย ในการวิจัยนี้ได้

ทำการศึกษาความแตกต่างของความถี่ไดอิเล็กโทรฟอเรทิกของแพลงก์ตอนพืชชนิด Chlorella sp. ในภาวะปกติกับเซลล์ที่ดูดซับโลหะหนัก โลหะหนักที่ใช้ในงานวิจัยนี้คือสารหนู (Arsenic) ซึ่งอยู่ในรูปสารประกอบ $Na_2HAsO_4 .7H_2O$ และ ตะกั่ว (Lead) ซึ่งอยู่ในรูปสารประกอบ $Pb(NO_3)_2$ โดยปกติแล้วสารหนูที่ปนอยู่ในแหล่งน้ำจะอยู่ในรูปของสารประกอบอนินทรีย์ (inorganic) ในรูปของอาซีน (Arsine, As^{-3}) อาซีไนต์ (Arsenite,As^{+3}) อาซีเนต (Arsenate, As^{+5}) ซึ่งพวกนี้จะเป็นพิษต่อสิ่งมีชีวิต (Coddington ,1986) โดยทั่วไปแล้วสารหนูจะปนอยู่ในสิ่งแวดล้อมเฉลี่ยที่ความเข้มข้นประมาณ 15 nM ไม่รวมบริเวณใกล้โรงงานอุตสาหกรรมเกี่ยวกับโลหะหนักพวกนี้ (Sander และ Cibik , 1985) แต่แพลงก์ตอนพืชสีเขียว (green algae) สามารถจับโลหะหนักได้ที่ความเข้มข้นในหน่วย ppm (part per million) (Morita และ Shibata , 1990)

ในงานวิจัยนี้ต้องการศึกษาหาช่วงความถี่ไดอิเล็กโทรฟอเรทิก ที่แตกต่างกันของแพลงก์ตอนพืชชนิด Chlorella sp. ในภาวะปกติและภาวะที่ดูดซับโลหะหนักโดยตั้งสมมุติฐานว่า เมื่อเซลล์ดูดซับโลหะหนัก จะทำให้องค์ประกอบของผนังเซลล์ (cell membran) เปลี่ยนไป เนื่องจากคาดว่าโลหะหนักจะดูดซับที่ผนังเซลล์ และจะทำให้ความถี่ไดอิเล็กโทรฟอเรซีสเปลี่ยนไปด้วย อาศัยความแตกต่างของความถี่ดังกล่าวจึงใช้ Chlorella sp. เป็นตัวตรวจจับโลหะหนักที่ปะปนในน้ำ โดยงานวิจัยนี้เป็นการวิจัยในห้องปฏิบัติการเพื่อหาค่าความถี่ไดอิเล็กโทรฟอเรซีสของเซลล์ที่ไม่มีโลหะหนักปนและค่าความถี่ของเซลล์ที่มีโลหะหนักปน และอาศัยความแตกต่างนี้เป็นตัวบอกว่า ในสารละลายที่เซลล์แขวนลอยมีโลหะหนักปนหรือไม่ เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานในการที่จะนำไปใช้ประโยชน์จริงต่อไป ข้อดีของวิธีการนี้คือการที่สามารถใช้แพลงก์ตอนพืชชนิด Chlorella sp. ตรวจหาโลหะหนักที่ปะปนในน้ำได้ ในพื้นที่ที่ไม่มีเครื่องมือตรวจหาโลหะหนักและเป็นวิธีการใหม่ในการตรวจหาโลหะหนักในน้ำโดยใช้สิ่งมีชีวิต

วัตถุประสงค์การวิจัย

1. เพื่อทดลองใช้แพลงก์ตอนพืชชนิด Chlorella sp.ในการตรวจจับโลหะหนักที่ปะปนในน้ำโดยวิธีไดอิเล็กโทรฟอเรซีส
2. เพื่อเปรียบเทียบค่าความถี่ไดอิเล็กโทรฟอเรซีสของ Chlorella sp.ที่มีโลหะหนักปนกับไม่มีโลหะหนักปน
3. เพื่อศึกษาการใช้วิธีไดอิเล็กโทรฟอเรซีสในการบอกการปะปนของโลหะหนักในน้ำโดยอาศัยความแตกต่างของความถี่ไดอิเล็กโทรฟอเรทิก
4. เพื่อศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการดูดซับโลหะหนักของ Chlorell sp.โดยวิธีไดอิเล็กโทรฟอเรทิก

ขอบเขตการวิจัย

งานวิจัยครั้งนี้เป็นการวิจัยในห้องปฏิบัติการ เพื่อทดลองว่า Chlorella sp. มีผนังเซลล์ที่มีคุณสมบัติดูดซับโลหะหนัก โดยการศึกษาถึงปัจจัยที่มีผลต่อการดูดซับอันได้แก่ ความเข้มข้นของโลหะหนัก เวลาที่เซลล์สามารถดูดซับได้ ความถี่ไดอิเล็กโทรฟอเรทิกที่เปลี่ยนไป การศึกษาครั้งนี้จะศึกษาในห้องปฏิบัติการเพื่อให้ได้ผลที่แน่นอนก่อนที่จะนำไปประยุกต์ใช้ในการศึกษาในธรรมชาติต่อไป

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. สามารถใช้ Chlorella sp. ตรวจจับโลหะหนักที่ปะปนในน้ำโดยอาศัยวิธีไดอิเล็กโทรฟอเรซีส
2. ทราบปัจจัยที่เหมาะสมในการดูดซับโลหะหนักของ Chlorella sp.
3. เป็นข้อมูลพื้นฐานในการศึกษาการดูดซับโลหะหนักของ Chlorella sp.
4. เป็นข้อมูลพื้นฐานในการวิจัยที่เกี่ยวข้องกับไดอิเล็กโทรฟอเรซีส หรือเกี่ยวข้องกับแพลงก์ตอนในเรื่องของการดูดซับโลหะหนักต่อไป
5. เพื่อเป็นวิธีการใหม่ในการที่จะตรวจหาโลหะหนักที่ปะปนในน้ำโดยชีววิธี