

#### 4. วิจารณ์และสรุปผลการทดลอง

ในบทนี้จะกล่าวถึงการวิจารณ์และสรุปผลการวิจัยรวมถึงข้อเสนอแนะสำหรับการศึกษาวิจัยในครั้งต่อไป โดยแบ่งการวิจารณ์ออกเป็นข้อๆดังนี้

1. ข้อวิจารณ์และสรุปผลการทดลองเพื่อหาช่วงการเจริญเติบโตของเซลล์
2. ข้อวิจารณ์และสรุปผลการทดลองเพื่อหาช่วงความถี่ไดอิเล็กทริกพอร์เรติกของเซลล์
3. ข้อวิจารณ์และสรุปผลการทดลองเพื่อหาช่วงความถี่ไดอิเล็กทริกพอร์เรติกเมื่อเซลล์แขวนลอยในสารละลาย  $\text{Na}_2\text{HAsO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$
4. ข้อวิจารณ์และสรุปผลการทดลองเพื่อหาช่วงความถี่ไดอิเล็กทริกพอร์เรติกเมื่อเซลล์แขวนลอยในสารละลาย  $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$
5. ข้อวิจารณ์และสรุปผลการทดลองเพื่อหาปริมาณโลหะหนักที่เหลือหลังจากแขวนลอยเซลล์

##### 1. ข้อวิจารณ์และสรุปผลเพื่อหาช่วงการเจริญเติบโตของเซลล์

เซลล์ *Chlorella* sp. นำมาเลี้ยงในห้องปฏิบัติการที่ความหนาแน่น  $(4 - 5) \times 10^5$  cell/ml (อิทธิพร จันท์เพ็ญ ,2532 ) และจากการเลี้ยงเซลล์ของ จุติพร สุดศิริ ,( 2541) พบว่าความหนาแน่นเซลล์ที่เหมาะสมคือช่วง  $(1 - 9) \times 10^5$  cell/ml แต่เพื่อป้องกันการผิดพลาดของจำนวนเซลล์เริ่มต้นงานวิจัยนี้จึงเลือกใช้ความหนาแน่นในช่วง  $(4-5) \times 10^5$  cell/ml เลี้ยงในน้ำเลี้ยง sato & semikawa ผลปรากฏว่าการเจริญเติบโตของเซลล์เติบโตได้ไม่เต็มที่เท่าที่ควร กล่าวคือช่วง log - phas ของการเจริญเติบโตของเซลล์จะสั้น คือประมาณวันที่ 3 - 5 ของการเลี้ยง สีของสารละลายจะเป็นสีเขียวอ่อน เซลล์ในขวดเพาะเลี้ยงจะตกตะกอนเร็ว จึงทดลองเลี้ยงเซลล์ในน้ำเลี้ยงสูตร provasoli ตามศูนย์พัฒนาการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง สุราษฎร์ธานี และตาม ลัดดา วงศ์วัฒน์ ,( 2539) ที่ว่า สูตรน้ำเลี้ยง provasoli เหมาะสำหรับที่จะเลี้ยงเซลล์เพื่อที่จะรักษาสภาพสภาพเดิมของเซลล์ให้นานที่สุดเพื่อการศึกษารูปร่างของเซลล์ และจากผลการทดลองพบว่าเมื่อเลี้ยงเซลล์ด้วยสูตร

& serikawa แสดงว่าเซลล์มีการเติบโตได้ดีกว่า ดังนั้นจึงเลือกใช้น้ำเลี้ยงสูตร provasoli เลี้ยงเซลล์ตลอดการวิจัย

## 2. ข้อวิจารณ์และสรุปผลการทดลองเพื่อหาช่วงความถี่ไดโอดีเล็กโทรฟอเรติกของเซลล์

ทำการทดลองโดยแขวนลอยเซลล์ในสารละลายน้ำตาลซูโครสที่มีค่าสภาพนำไฟฟ้า  $50 \mu\text{ S/cm}$  ตาม Gimsa et.al , 1991 กล่าวว่าค่าสภาพนำไฟฟ้าที่เหมาะสมต่อการเกิดไดโอดีเล็กโทรฟอเรซิสอยู่ในช่วง  $11 - 800 \mu\text{ S/cm}$  ปรับค่าสภาพนำไฟฟ้าด้วยสารละลายโพแทสเซียมคลอไรด์ ตาม Kaler และ Jone (1990) ระยะห่างระหว่างขั้วอิเล็กโทรด  $240 \mu\text{ m}$  ค่าความต่างศักย์  $20 V_{pp}$  ตาม จุติพร สุดศิริ, (2541) ส่วนความเข้มข้นไฟฟ้าอ้างอิงตามสมการของ Mahaworasilpa et. Al , (1994) คือ

$$E(z) = \frac{Vd}{2 \ln(d-a) \left[ \frac{d^2}{4} - z^2 \right]} \quad (3)$$

เมื่อ	$E(z)$	คือความเข้มข้นไฟฟ้าในแนวแกน Z
	V	คือความต่างศักย์ไฟฟ้า
	d	คือระยะห่างระหว่างขั้วอิเล็กโทรด
	a	คือรัศมีของอิเล็กโทรด
	Z	คือระยะห่างในแนวแกน Z

และเมื่อแทนค่าตามตัวแปรต่างในสมการจะได้ความเข้มข้นไฟฟ้าในการทดลอง  $60 \text{ kV/m}$  และจากการทดลองตามเงื่อนไขตัวแปรต่างๆ ดังกล่าวจะได้ค่าความถี่ไดโอดีเล็กโทรฟอเรติกของเซลล์ ( $f_1-f_2$ ) อยู่ในช่วง  $400 \text{ kHz} - 13 \text{ MHz}$  ซึ่งเป็นช่วงความถี่ไดโอดีเล็กโทรฟอเรติกของเซลล์ที่เข้าเกาะอิเล็กโทรด ในงานวิจัยครั้งนี้เลือกใช้ค่าสภาพนำไฟฟ้าค่าเดียวและไม่ได้ศึกษากับสารละลายที่ค่าสภาพนำไฟฟ้าค่าอื่นๆ เพราะจากการทดลองของ Gimsa et. Al , ( 1991) และ จุติพร สุดศิริ , (2541) พบว่าค่าความถี่ไดโอดีเล็กโทรฟอเรติกจะมีค่าเพิ่มขึ้นตามค่าสภาพนำไฟฟ้าของสารละลาย ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงเลือกใช้ค่าสภาพนำไฟฟ้าของสารละลายค่าเดียวคือ  $50 \mu\text{ S/cm}$  ตลอดการวิจัย

3. ข้อวิจารณ์และสรุปผลการทดลองเพื่อหาช่วงความถี่ไดโพลโทรฟอเรติกเมื่อแขวนลอยเซลล์ในสารละลาย  $\text{Na}_2\text{HAsO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$

ในขั้นนี้ทำการทดลองโดยให้เซลล์แขวนลอยในสารละลายที่มี  $\text{Na}_2\text{HAsO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  ปน จากผลการทดลองพบว่าเมื่อเซลล์แขวนลอยในสารละลายที่มีโลหะหนักปนค่าความถี่ช่วงต่ำ ( $f_1$ ) จะเป็น 346.6 kHz ซึ่งจะลดลงเมื่อเทียบกับเซลล์ที่ไม่มีโลหะหนักปนและพบว่าค่าความเข้มข้นของสารละลายที่ความถี่เริ่มเปลี่ยนคือ 1 ppm และเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารละลายที่แขวนลอยเซลล์ค่าความถี่  $f_1$  จะยิ่งลดลง ส่วนความถี่  $f_2$  ไม่เปลี่ยนแปลง และเมื่อแขวนลอยเซลล์ในสารละลายที่ความเข้มข้นเดียวกันแต่เวลาต่างกัน พบว่าที่เวลา 10 นาทีความถี่  $f_1$  จะเริ่มเปลี่ยนส่วนความถี่  $f_2$  ยังคงไม่เปลี่ยนแปลงเช่นเดิม จากผลการทดลองดังกล่าวสามารถอธิบายได้ว่าภายในเซลล์เกิดการเปลี่ยนแปลงซึ่งการเปลี่ยนแปลงดังกล่าวน่าจะเกิดจากการที่เซลล์ดูดซับโลหะหนักเข้าไปในเซลล์และเมื่อพิจารณาสมการการเหนี่ยวนำไดโพลโมเมนต์ของ Mahaworasilpa .( 1994 ) (ภาคผนวก จ)

$$\bar{\mu}(\omega) = 4\pi R^3 \epsilon_s \left[ \frac{\epsilon'_{eff} - \epsilon'_s}{\epsilon'_{eff} + 2\epsilon'_s} \right] \bar{E} \quad (4)$$

เมื่อ  $\bar{\mu}(\omega)$  คือไดโพลโมเมนต์ของการเหนี่ยวนำเซลล์

$\epsilon'_{eff}$  คือค่าคงที่ไดโพลโทรฟอเรติกเชิงซ้อนของเซลล์โดยที่

$$\epsilon'_{eff} = - \frac{\epsilon'_m [2(R - \delta)^3 (\epsilon'_c - \epsilon'_m) + R^3 (\epsilon'_c + 2\epsilon'_m)]}{[(R - \delta)^3 (\epsilon'_c - \epsilon'_m) - R^3 (\epsilon'_c + 2\epsilon'_m)]} \quad (5)$$

$\epsilon'_s$  คือค่าคงที่ไดโพลโทรฟอเรติกเชิงซ้อนของสารละลาย

$\bar{E}$  คือความเข้มสนามไฟฟ้ากระแสสลับ

R คือรัศมีของเซลล์

และสมการอันตรกิริยาทางไฟฟ้ากับไดโพลโมเมนต์ทำให้เกิดแรงไดโพลโทรฟอเรติกที่กระทำกับเซลล์คือ

$$\bar{F}_{DEP} = \text{Re} \left[ (\bar{\mu}(\omega) \cdot \nabla) \bar{E} \right] \quad (6)$$

จะเห็นว่าความถี่ไดโพลีโพรเฟอริกที่ทำให้เซลล์เข้าเกาะอเล็กโทรดขึ้นอยู่กับ ค่า  $\bar{\mu}(\omega)$  และค่าสภาพยอมทางไฟฟ้า ( permittivity ) ของเมมเบรน ( $\epsilon' m$ ) กล่าวคือที่ความถี่ต่ำเซลล์จะยังไม่เข้าเกาะอเล็กโทรด เพราะขณะนั้นเซลล์ยังมีสภาพเป็นวัตถุไดโพลีโพรเฟอริกอยู่ เซลล์เมมเบรนยังมีค่าสภาพต้านทานรวมทางไฟฟ้า ( Impedance) สูงเซลล์ทิศของไดโพลโมเมนต์ตรงข้ามกับทิศของสนาม (ดูรายละเอียดการเกิดไดโพลโมเมนต์ในภาคผนวก ก) แต่เมื่อเซลล์ดูดซับโลหะหนักไว้ที่เมมเบรนเซลล์เข้าเกาะอเล็กโทรดที่ความถี่ต่ำกว่าเดิมแสดงว่า สภาพต้านทานของเมมเบรนลดลงทำให้เกิดไดโพลโมเมนต์มีทิศเดียวกับทิศของสนามและยังความเข้มข้นของโลหะหนักเพิ่มขึ้น ความถี่ไดโพลีโพรเฟอริกลดลงแสดงว่าโลหะหนักซึ่งเป็นอนุภาคที่นำไฟฟ้าไปทำให้สภาพต้านทานทางไฟฟ้าของเมมเบรนลดลง และที่ความเข้มข้นเดียวกันพบว่าที่เวลา 10 นาทีความถี่  $f_1$  จะลดลงแสดงว่าช่วงเวลาในการที่เซลล์ดูดซับโลหะหนักเข้าสู่ผนังเซลล์ใช้เวลา 10 นาที ซึ่งการทดลองนี้สอดคล้องกับการทดลองของ Gimsa et. al , (1990) และ Mahaworasilpa et al , (1994) ที่ว่าการแลกเปลี่ยนไอออนของสารละลายต่างๆระหว่างภายในและภายนอกเซลล์จะเกิดขึ้นในช่วงเวลาประมาณ 15 นาทีขึ้นอยู่กับชนิดของเซลล์

#### 4. ข้อวิจารณ์ผลการทดลองเพื่อหาช่วงความถี่ไดโพลีโพรเฟอริกเมื่อเซลล์แขวนลอยในสารละลาย $Pb(NO_3)_2$

ในขั้นนี้ทำการทดลองโดยให้เซลล์แขวนลอยในสารละลาย  $Pb(NO_3)_2$  จากผลการทดลองพบว่าความถี่ไดโพลีโพรเฟอริกช่วงต่ำ ( $f_1$ ) ลดลงเช่นเดียวกับกรณีแขวนลอยเซลล์ในสารละลาย  $Na_2AsO_4 \cdot 7H_2O$  และพบว่าความถี่เริ่มเปลี่ยนที่ความเข้มข้นของสารละลาย 1 ppm เท่ากัน แต่ความถี่  $f_1$  ในกรณีนี้คือ 396.6 kHz ซึ่งสูงกว่าในกรณีที่เซลล์แขวนลอยในสารละลาย  $Na_2AsO_4 \cdot 7H_2O$  นั้นแสดงว่าสภาพต้านทานของเมมเบรนของเซลล์เมื่อเซลล์ดูดซับสารละลาย  $Pb(NO_3)_2$  จะสูงกว่าแต่สภาพนำไฟฟ้าจะต่ำกว่าเมื่อเซลล์ดูดซับสารละลาย  $Na_2AsO_4 \cdot 7H_2O$  เมื่อเซลล์ดูดซับสารละลาย  $Na_2AsO_4 \cdot 7H_2O$  แล้วให้ค่า  $f_1$  ต่ำกว่า เมื่อเซลล์ดูดซับสารละลาย  $Pb(NO_3)_2$  การที่เป็นเช่นนี้อธิบายได้ว่า เมื่อพิจารณาเลขออกซิเดชันของ As ในสารละลาย  $Na_2AsO_4 \cdot 7H_2O$  จะมีค่า +5 ส่วน Pb ในสารละลาย  $Pb(NO_3)_2$  จะมีค่า +2 เมื่อสารละลายถูกดูดซับที่เซลล์เมมเบรน สารละลายของ  $Na_2AsO_4 \cdot 7H_2O$  จะทำให้ค่าความต้านทานของเซลล์เมมเบรนลดลงมากกว่าจึงทำให้ได้ค่า  $f_1$  ต่ำกว่าในสารละลาย  $Pb(NO_3)_2$

จากผลการทดลองทั้ง 4 ตอนทำให้ทราบว่าเมื่อเซลล์ดูดซับโลหะหนักต่างชนิดกันจะให้ค่าความถี่ไดโพลีโพรเฟอริก  $f_1$  ต่างกัน และค่าความถี่  $f_1$  เท่านั้นที่เปลี่ยนแปลงส่วนค่าความถี่  $f_2$  ซึ่งเป็นความถี่ค่าสูงไม่เปลี่ยนแปลง เป็นการยืนยันผลว่าโลหะหนักถูกดูดซับที่ผนังเซลล์เพราะค่า  $f_1$

ขึ้นอยู่กับสภาพต้านทานของผนังเซลล์ ( $\epsilon_m$ ) และโลหะหนักไม่ได้เข้าไปในไซโตพลาสซึมเพราะค่าความถี่  $f_2$  ซึ่งขึ้นอยู่กับค่าสภาพต้านทานของไซโตพลาสซึมของเซลล์ ( $\epsilon_c$ ) ไม่เปลี่ยน จากผลการทดลองทั้งหมดทำให้บอกได้ว่าสามารถใช้วิธีไดอิเล็กโทรฟอเรซิสในการศึกษาการดูดซับโลหะหนักของแพลงก์ตอนพืชได้ และทราบว่าโลหะหนักจะถูกดูดซับที่เซลล์เมมเบรน ซึ่งผลอันนี้จะเป็นความรู้ขั้นพื้นฐานในการศึกษาการใช้แพลงก์ตอนพืชในการดูดซับโลหะหนัก เพื่อแก้ปัญหาสิ่งแวดล้อมแต่ก่อนที่จะนำไปประยุกต์ใช้จริงยังจะต้องศึกษาปัจจัยอื่นๆอีกมากมายเช่น ปริมาณความหนาแน่นของเซลล์ ปริมาณของโลหะหนักที่เซลล์สามารถดูดซับได้ และอีกหลายปัจจัยซึ่งจะต้องศึกษาวิจัยในขั้นต่อไป ข้อได้เปรียบของวิธีนี้คือวิธีใหม่ ละดันต่ำเพราะแพลงก์ตอนเลี้ยงง่ายและโตเร็วแต่ในงานวิจัยครั้งนี้มีขอบเขตการวิจัยเพียงแค่ศึกษาปัจจัยในห้องปฏิบัติการเท่านั้นส่วนการนำไปใช้จริงจะต้องทำการศึกษาต่อไป

ตอนที่ 5 ข้อวิจารณ์และสรุปผลการทดลองเพื่อหาปริมาณโลหะหนักที่เหลือหลังจากการแขวนลอย

การทดลองโดยให้เซลล์แขวนลอยในสารละลายที่มีโลหะหนักปน แล้วเซนตริฟิวจ์เอาเซลล์ออก นำสารละลายที่แขวนลอยเซลล์ ไปตรวจหาปริมาณโลหะหนัก ตรวจพบว่าปริมาณสารละลาย  $\text{Na}_2\text{HAsO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  หายไปเป็นปริมาณมากกว่า สารละลาย  $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$  การที่เป็นเช่นนี้คาดว่าสารละลายที่หายไปจะถูกดูดซับโดยเซลล์ และเซลล์ดูดซับสารละลาย  $\text{Na}_2\text{HAsO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  ได้มากกว่า สารละลาย  $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$  เมื่อเปรียบเทียบกับค่า  $f_1$  พบว่าค่า  $f_1$  ของเซลล์ที่แขวนลอยในสารละลาย  $\text{Na}_2\text{HAsO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  จะต่ำกว่าค่า  $f_1$  ของเซลล์ที่แขวนลอยในสารละลาย  $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$  แสดงว่าปริมาณโลหะหนักที่เซลล์ดูดซับจะเป็นตัวทำให้ค่าความถี่ ค่าต่ำของเซลล์เปลี่ยน และคาดว่าเปลี่ยนเนื่องจากโลหะหนักจะไปทำให้ค่าความต้านทานของผนังเซลล์ลดลง ดังนั้นเมื่อเซลล์ดูดซับ  $\text{Na}_2\text{HAsO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  เป็นปริมาณมากกว่าความต้านทานของผนังเซลล์จะน้อยกว่าและทำให้ค่าความถี่  $f_1$  ต่ำกว่ากรณีเซลล์ดูดซับ  $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$