

ผลกระทบของแนฟทาลินและแอนทราซีนต่อการเจริญของ *Spirulina platensis* และ

Chroococcus minor TISTR 8574

The Effect of Naphthalene and Anthracene on the Growth of *Spirulina platensis* and

Chroococcus minor TISTR 8574

รุ่งตะวัน บุญด้วง (Rungtawan Boonduang)* ดร. สุมณฑิพย์ นูนนาค (Dr. Sumontip Bunnag)**

ดร. วัฒนชัย ล้นทม (Dr. Watanachai Lontom)***

บทคัดย่อ

สาหร่าย *Spirulina platensis* และ *Chroococcus minor* TISTR 8574 เป็นสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินเซลล์เดี่ยว ซึ่งสามารถเจริญได้ในน้ำเสีย ในการศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาปัจจัยต่างๆ ที่มีผลต่อการเจริญของ *S. platensis* และ *C. minor* โดยเฉพาะเลี้ยงในอาหารสูตร BG-11 ที่มีสารผสมของแนฟทาลินและแอนทราซีน ความเข้มข้น 0-75 ppm โดยเฉพาะเลี้ยงในห้องเพาะเลี้ยงสาหร่ายที่มีอุณหภูมิ 28 ± 1 องศาเซลเซียส ให้แสง 3,000 ลักซ์ เป็นเวลา 7 วัน พบว่า *S. platensis* และ *C. minor* สามารถเจริญได้ดีในอาหาร BG-11 ที่มีสารผสมของแนฟทาลินและแอนทราซีน ความเข้มข้น 5 ppm จากนั้นศึกษาผลของ pH ต่อการเจริญของ *S. platensis* และ *C. minor* พบว่า *S. platensis* และ *C. minor* เจริญได้ดีในอาหาร BG-11 ที่มีสารผสมของแนฟทาลินและแอนทราซีนความเข้มข้น 5 ppm ที่ pH 9 และ 7.4 ตามลำดับ

ABSTRACT

Spirulina platensis and *Chroococcus minor* TISTR 8574, the single-cell blue-green algae, were often found in polluted water. The objective of this study was carried out to evaluate the effect of naphthalene and anthracene on the growth of *S. platensis* and *C. minor*. They were inoculated in the BG-11 medium supplemented with the mixture of naphthalene and anthracene at the concentration of 0-75 ppm. They were kept in the culture room at $28 \pm 1^\circ\text{C}$ under a light intensity of 3,000 lux, for 7 days. It was found that the growth of *S. platensis* and *C. minor* were achieved in the BG-11 medium containing mixture of naphthalene and anthracene at the concentration of 5 ppm. Additional experiments were performed to determine the effect of pH on the growth of *S. platensis* and *C. minor*. It was found that the suitable pH for both blue green algae in BG-11 medium with 5 ppm of naphthalene and anthracene were 9 and 7.4, respectively.

คำสำคัญ : สไปรูลิน่า โคร โอคอกคัส สารประกอบไฮโดรคาร์บอน

Key words : *Spirulina platensis*, *Chroococcus minor*, Hydrocarbon Compounds

* นักศึกษา หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

** รองศาสตราจารย์ ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

*** อาจารย์ ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

บทนำ

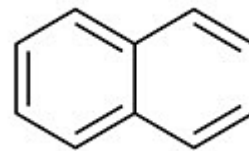
ในปัจจุบันปัญหามลภาวะทางน้ำเป็นผลกระทบอย่างมากต่อสิ่งแวดล้อม น้ำเป็นทรัพยากรธรรมชาติที่จำเป็นต่อการดำรงชีวิตของมนุษย์และสิ่งมีชีวิตทุกชนิด และยังมีความสำคัญต่อการพัฒนาเศรษฐกิจของประเทศ ในด้านการเกษตร การประมง และการพัฒนาอุตสาหกรรม ปัจจุบันมนุษย์เล็งเห็นปัญหาและให้ความสำคัญกับปัญหาการปนเปื้อนในแหล่งน้ำมากขึ้น โดยเฉพาะอย่างยิ่งปัญหาการปนเปื้อนของสารประกอบไฮโดรคาร์บอนในแหล่งน้ำ เนื่องจากการปนเปื้อนดังกล่าวส่งผลเสียต่อสัตว์น้ำและสัตว์ที่หากินบริเวณแหล่งน้ำโดยตรง ส่งผลให้ระบบนิเวศเสียสมดุล สาเหตุหลักของการปนเปื้อนของสารประกอบไฮโดรคาร์บอนในแหล่งน้ำเกิดจากกิจกรรมต่างๆ ของมนุษย์ เช่น การปล่อยน้ำมันเชื้อเพลิงและน้ำมันเครื่องจากอุโมงค์รถตามท้องถนน การรั่วไหลของถังเก็บน้ำมันในปั้มน้ำมัน และอื่นๆ เป็นต้น

นอกจากนี้ยังมีสารประกอบไฮโดรคาร์บอนอีกหลายประเภทที่ส่งผลกระทบต่อระบบนิเวศแหล่งน้ำได้เช่นเดียวกัน เช่น สารประกอบโพลีไซคลิกอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอน หรือ พีเอเอช (polycyclic aromatic hydrocarbons; PAHs) เป็นสารปนเปื้อนอีกกลุ่มหนึ่งที่ทำให้เกิดความเสียหายต่อสิ่งมีชีวิตในน้ำ สารพีเอเอชสามารถเกิดได้เองตามธรรมชาติจากกระบวนการเผาไหม้ที่ไม่สมบูรณ์ของสารอินทรีย์ รวมทั้งควันจากท่อไอเสียรถยนต์และควันบุหรี่ การเปลี่ยนถ่ายน้ำมันเครื่องจากเครื่องยนต์ที่ผ่านการใช้งานแล้ว การเผาไหม้ของเชื้อเพลิงในโรงงานอุตสาหกรรม การกลั่นน้ำมันดิบ อุตสาหกรรมไม้ซึ่งใช้สารเคลือบทาเนื้อไม้เพื่อป้องกันแมลงที่มีพีเอเอชเป็นองค์ประกอบ เช่น anthracene oil เป็นต้น สารเหล่านี้ได้ถูกจัดเป็นสารที่ส่งผลกระทบต่อมลภาวะสิ่งแวดล้อมโดยสำนักงานปกป้องสิ่งแวดล้อม หรือ อีพีเอ (environmental protection agency; EPA) (Pathak et al., 2008) พีเอเอชที่ปนเปื้อนในแหล่งน้ำธรรมชาติถูกดูดซับอยู่บนอนุภาคแขวนลอยในน้ำ บางส่วนตกลงสู่พื้นน้ำสะสม

อยู่ที่ตะกอนและพืชน้ำ พีเอเอชสะสมในแหล่งน้ำได้นานกว่าในอากาศ เพราะในน้ำพีเอเอชเกิดออกซิเดชันได้ช้ากว่าในอากาศ ทำให้สิ่งมีชีวิตในน้ำเสี่ยงต่อการได้รับพีเอเอชสูง (Kanaly, 2002) มีงานวิจัยเกี่ยวกับสารประกอบพีเอเอชบางชนิดก่อให้เกิดมะเร็งและเป็นพิษต่อสัตว์ทดลอง และพบว่าก่อให้เกิดมะเร็งเต้านม มะเร็งปอด และมะเร็งลำไส้ใหญ่ในมนุษย์ (Ishizaki et al., 2010)

ข้อมูลทั่วไป

แนฟทาลิน (naphthalene)

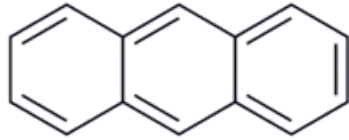


ภาพที่ 1 โครงสร้างแนฟทาลิน (วรรณข, 2552)

แนฟทาลินเป็นสารประกอบโพลีไซคลิกอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอนที่เป็นของแข็ง มีลักษณะเป็นผลึกสีขาว มีกลิ่น สูตรโมเลกุลเป็น $C_{10}H_8$ โครงสร้างประกอบด้วยวงเบนซีนสองวงเชื่อมต่อกัน น้ำหนักโมเลกุล 128.17 กรัมต่อโมล ความหนาแน่น 1.14 กรัมต่อลูกบาศก์เซนติเมตร ไม่ละลายน้ำ จุดหลอมเหลว 80.6 องศาเซลเซียส จุดเดือด 218 องศาเซลเซียส ติดไฟได้ ว่องไวในการเกิดปฏิกิริยา มีการนำแนฟทาลินไปใช้ผลิตสารเคมีต่างๆ เช่น สี สาร phthalic anhydride สารกำจัดแมลงคาร์บาริล (carbaryl) ใช้เป็นตัวทำละลายซึ่งใช้ในการผลิตกระดาษสำเนาชนิด ซึ่งไม่ต้องใช้กระดาษคาร์บอน (carbonless copy paper) และใช้เป็นส่วนประกอบของลูกเหม็นซึ่งสามารถระเหิดได้ที่อุณหภูมิห้อง และความเป็นพิษของแนฟทาลินสามารถเข้าไปจับกับโมเลกุลของดีดีที ปอด ขับยั้งกระบวนการหายใจที่ไม่โคคอนเดรีย เป็นพิษต่อระบบประสาท ระคายเคืองต่อผิวหนังและตา ก่อให้เกิดการแพ้แสง และเป็นสารก่อภูมิแพ้ที่อ่อนแอ นอกจากนั้นยังทำให้เกิดการแลกเปลี่ยนชิ้นส่วนระหว่างโครโมโซมคู่เหมือนมากขึ้น ยับยั้งการส่งสัญญาณผ่านช่องว่างระหว่างเซลล์ ลดระดับอิมมูโนโกลบูลินเอและอิมมู

โนโกลบูลินจีในระบบภูมิคุ้มกันและยังเป็นสารก่อมะเร็ง

แอนทราซีน (anthracene)



ภาพที่ 2 โครงสร้างแอนทราซีน (วรรณช, 2552)

แอนทราซีนเป็นสารประกอบโพลีไซคลิกอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอนที่เป็นของแข็ง สูตรโมเลกุลเป็น $C_{14}H_{10}$ ประกอบด้วยวงเบนซีน 3 วงเป็นสารไม่มีสี มีความหนาแน่น 1.25 กรัมต่อลูกบาศก์เซนติเมตรที่อุณหภูมิ 19.85 องศาเซลเซียสในรูปของแข็ง และ 0.969 กรัมต่อลูกบาศก์เซนติเมตรที่อุณหภูมิ 220 องศาเซลเซียสในรูปของเหลว จุดหลอมเหลว 218 องศาเซลเซียส จุดเดือด 340 องศาเซลเซียส ไม่ละลายน้ำ สามารถละลายได้ในตัวทำละลายเมทานอลและเฮกเซน สามารถใช้เป็นสารตรวจวัดกัมมันตรังสี (scintillant) และใช้ผลิต anthraquinone ซึ่งใช้ผลิตสี (dyestuffs) ชนิดต่างๆ เช่น alizarin ใช้ในการรักษาเนื้อไม้ ย้อมผ้าแมลง และสารเคลือบ ความเป็นพิษของแอนทราซีน มีฤทธิ์ในการกระตุ้นร่างกายให้มีความไวต่อแสงมากขึ้น (photo sensitivity) ในมนุษย์มากขึ้น มีรายงานว่าแอนทราซีนทำให้เกิดอาการผดผื่นของผิวหนัง แสบร้อน คัน และมีอาการระคายเคืองของเยื่อตาและหลอดลมด้วย (กรมควบคุมมลพิษกระทรวงวิทยาศาสตร์ เทคโนโลยี และสิ่งแวดล้อม, 2543)

วัตถุประสงค์การวิจัย

1. เพื่อศึกษาหาความเข้มข้นของสารผสมแนฟทาลินและแอนทราซีนที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน *S. platensis* และ *C. minor* TISTR 8574

2. เพื่อศึกษาหา pH ที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน *S. platensis* และ *C. minor* TISTR 8574 ในอาหาร BG-11 ที่มีสารผสมแนฟทาลินและแอนทราซีน

วิธีการวิจัย

การทดลองที่ 1 ศึกษาความเข้มข้นของสารผสมแนฟทาลินและแอนทราซีน ที่มีผลกระทบต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน *S. platensis* และ *C. minor* TISTR 8574

เพาะเลี้ยงสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน *S. platensis* และ *C. minor* TISTR 8574 ในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร ที่มีอาหารเหลวสูตร BG-11 จากนั้นเติมสารละลายแนฟทาลินและแอนทราซีน ความเข้มข้น 0, 5, 25, 50 และ 75 ppm ปรับปริมาตรสุดท้ายให้เป็น 25 มิลลิลิตร แล้วปิดขวดรูปชมพู่ด้วยอะลูมิเนียมฟลอยด์ หลังจากนั้นนำชุดการทดลองไปเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 7 วัน ในห้องเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 28 ± 1 องศาเซลเซียส ให้แสง 3,000 ลักซ์ 16 ชั่วโมงต่อวัน เก็บผลการทดลองโดยการวิเคราะห์หามวลชีวภาพ (ดัดแปลงวิธีจาก Chrzanowski et al., 2006) วิเคราะห์ปริมาณคลอโรฟิลล์เอ (ดัดแปลงวิธีจาก Vonshak, 1997) และวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน (ดัดแปลงวิธีจาก Bradford, 1976)

การทดลองที่ 2 ศึกษา pH ที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน *S. platensis* และ *C. minor* TISTR 8574 ในอาหาร BG-11 ที่มีสารผสมแนฟทาลินและแอนทราซีน

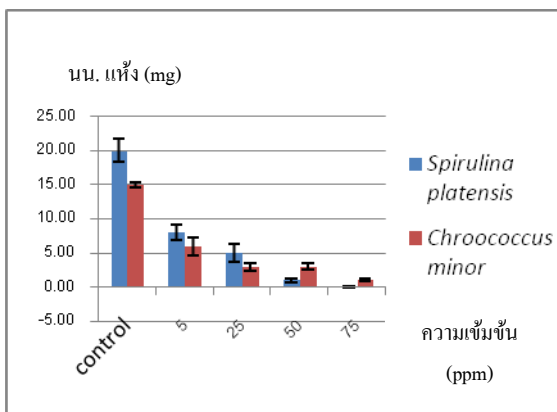
เพาะเลี้ยงสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน *S. platensis* และ *C. minor* TISTR 8574 ในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร ที่มีอาหารเหลวสูตร BG-11 โดยปรับให้มีค่า pH ต่างๆคือ ค่า pH 5, 6, 7.4, 8 และ 9 จากนั้นใช้ไมโครไปเปิดดูสารผสมแนฟทาลินและแอนทราซีน ความเข้มข้นที่เหมาะสมจากการทดลองที่ 1 ปรับปริมาตรสุดท้ายให้เป็น 25 มิลลิลิตร แล้วปิดขวดรูปชมพู่ด้วยอะลูมิเนียมฟลอยด์ หลังจากนั้นนำชุดการทดลองไปวางในห้องเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 7 วัน ในห้องเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 28 ± 1 องศาเซลเซียส ให้แสง 3,000 ลักซ์ 16 ชั่วโมงต่อวัน เก็บผลการทดลองโดยวิเคราะห์ผลหามวลชีวภาพ (ดัดแปลงวิธีจาก Chrzanowski et al., 2006) วิเคราะห์ปริมาณ

คลอโรฟิลล์เอ (ดัดแปลงวิธีจาก Vonshak, 1997) และ
วิเคราะห์ปริมาณโปรตีน (ดัดแปลงวิธีจาก Bradford,
1976)

ผลการวิจัย

การทดลองที่ 1 ศึกษาหาความเข้มข้นของสาร
ผสมแนฟทาลินและแอนทราซีน ที่มีผลกระทบต่อการ
เจริญเติบโตของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน *S. platensis*
และ *C. minor* TISTR 8574

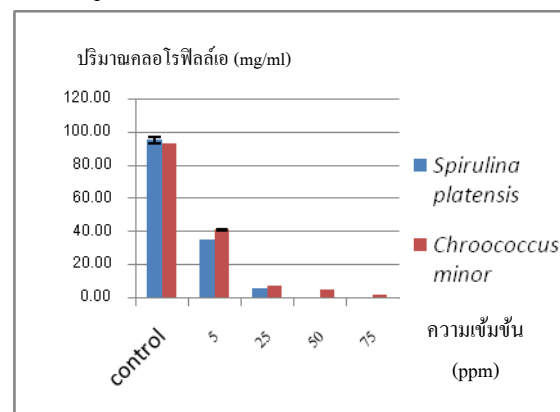
จากการศึกษาหาความเข้มข้นที่เหมาะสมต่อ
สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน *S. platensis* และ *C. minor*
TISTR 8574 เพาะเลี้ยงในสูตรอาหาร BG-11 ที่มีสาร
ผสมแนฟทาลินและแอนทราซีนความเข้มข้น 0, 5, 25,
50 และ 75 ppm พบว่า *S. platensis* มีมวลชีวภาพ
เท่ากับ 20.00, 8.00, 5.00, 1.00 และ 0.00 มิลลิกรัม
ตามลำดับ และ *C. minor* TISTR 8574 มีมวลชีวภาพ
เท่ากับ 15.00, 6.00, 4.00, 3.00 และ 1.00 มิลลิกรัม
ตามลำดับ ดังภาพที่ 3 จากผลการทดลองสาหร่ายสี
เขียวแกมน้ำเงินทั้งสองชนิดจะเห็นได้ว่าสามารถ
เจริญเติบโตได้ดีที่สุดในสูตรอาหาร BG-11 ที่มีสารผสม
แนฟทาลินและแอนทราซีน ความเข้มข้น 5 ppm ดีที่สุด
และผลการทดสอบทางสถิติพบว่าแตกต่างอย่างมี
นัยสำคัญ ($p < 0.05$)



ภาพที่ 3 มวลชีวภาพของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน
S. platensis และ *C. minor* TISTR 8574 ที่เพาะเลี้ยงใน
สูตรอาหาร BG-11 ที่มีสารผสมแนฟทาลินและแอนท
ราซีนความเข้มข้น 0-75 ppm

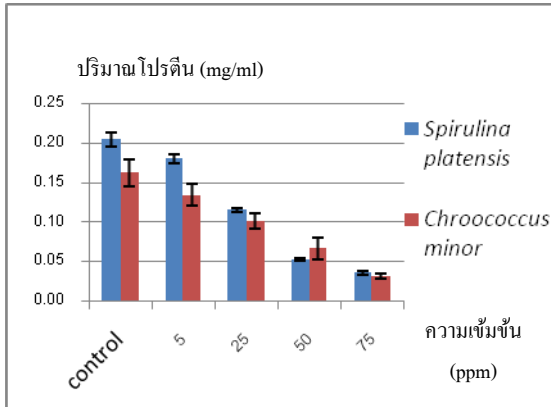
การวิเคราะห์ปริมาณคลอโรฟิลล์เอของสาหร่าย
สีเขียวแกมน้ำเงิน *S. platensis* และ *C. minor* TISTR

8574 เพาะเลี้ยงในสูตรอาหาร BG-11 ที่มีสารผสม
แนฟทาลินและแอนทราซีนความเข้มข้น 0, 5, 25, 50
และ 75 ppm พบว่า *S. platensis* เท่ากับ 94.89, 35.07,
5.48, 0.24 และ 0.16 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ
และปริมาณคลอโรฟิลล์เอของ *C. minor* TISTR 8574
เท่ากับ 92.67, 40.77, 6.72, 4.79 และ 1.90 มิลลิกรัมต่อ
มิลลิลิตร ตามลำดับ ดังภาพที่ 4 โดยพบว่าความเข้มข้น
5 ppm มีปริมาณคลอโรฟิลล์เอสูงสุด และลดลงเมื่อ
ความเข้มข้นของสารผสมแนฟทาลินและแอนทราซีน
สูงขึ้น ผลการทดสอบทางสถิติพบว่าแตกต่างอย่างมี
นัยสำคัญ ($p < 0.05$)

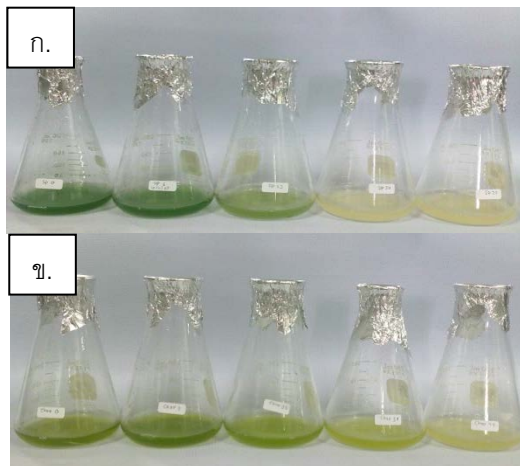


ภาพที่ 4 ปริมาณคลอโรฟิลล์เอของสาหร่ายสีเขียวแก
มน้ำเงิน *S. platensis* และ *C. minor* TISTR 8574 ที่
เพาะเลี้ยงในสูตรอาหาร BG-11 ที่มีสารผสมแนฟทาลิน
และแอนทราซีนความเข้มข้น 0-75 ppm

วิเคราะห์ปริมาณโปรตีนของสาหร่ายสีเขียว
แกมน้ำเงิน *S. platensis* และ *C. minor* TISTR 8574
เพาะเลี้ยงในสูตรอาหาร BG-11 ที่มีสารผสมแนฟทาลิน
และแอนทราซีนความเข้มข้น 0, 5, 25, 50 และ 75 ppm
พบว่า *S. platensis* มีปริมาณโปรตีนเท่ากับ 0.20, 0.18,
0.11, 0.05 และ 0.04 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ
และ *C. minor* TISTR 8574 มีปริมาณโปรตีนเท่ากับ
0.16, 0.13, 0.10, 0.07 และ 0.03 ตามลำดับ ดังภาพที่ 5
โดยพบว่าความเข้มข้น 5 ppm มีปริมาณโปรตีนสูงสุด
และลดลงเมื่อความเข้มข้นสูงขึ้น และผลการทดสอบ
ทางสถิติพบว่าแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$)



ภาพที่ 5 ปริมาณโปรตีนของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน *S. platensis* และ *C. minor* TISTR 8574 ที่เพาะเลี้ยงในสูตรอาหาร BG-11 ที่มีสารผสมแนฟทาไลน์และแอนทราซีนความเข้มข้น 0-75 ppm

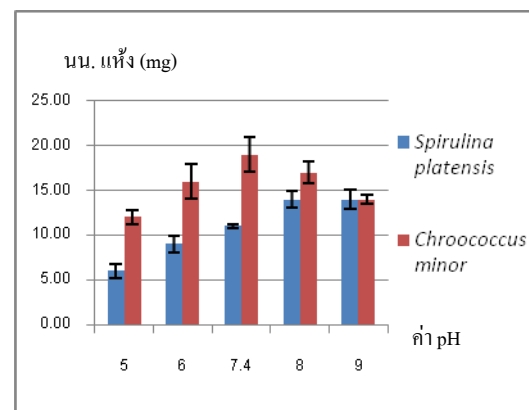


ภาพที่ 6 การเพาะเลี้ยงสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน *S. platensis* (ก.) และ *C. minor* TISTR 8574 (ข.) ที่เพาะเลี้ยงในสูตรอาหาร BG-11 ที่มีสารผสมแนฟทาไลน์และแอนทราซีน ความเข้มข้น 0-75 ppm

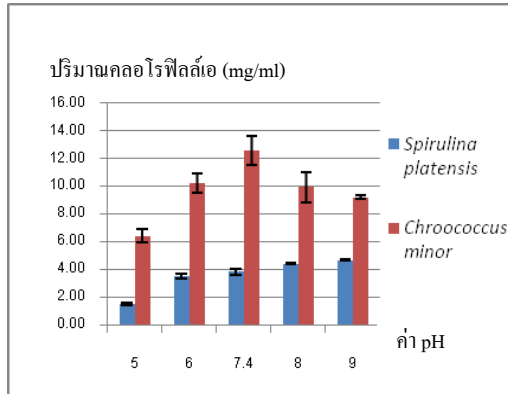
การทดลองที่ 2 ศึกษาหา pH ที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน *S. platensis* และ *C. minor* TISTR 8574 ในอาหาร BG-11 ที่มีสารผสมแนฟทาไลน์และแอนทราซีน

จากการศึกษา pH ที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน *S. platensis* และ *C. minor* TISTR 8574 ในสูตรอาหาร BG-11 ที่มีสารผสมแนฟทาไลน์และแอนทราซีนความเข้มข้น 5 ppm และปรับ pH 5, 6, 7.4, 8 และ 9 พบว่า *S. platensis* มีมวล

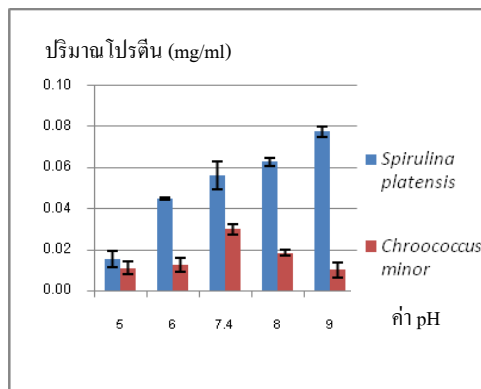
ชีวภาพเท่ากับ 6.00, 9.00, 11.00, 14.00 และ 14.00 มิลลิกรัม ตามลำดับ และมวลชีวภาพ *C. minor* TISTR 8574 เท่ากับ 12.00, 16.00, 19.00, 17.00 และ 14.00 มิลลิกรัม ตามลำดับ ดังภาพที่ 7 *S. platensis* มีปริมาณคลอโรฟิลล์เท่ากับ 1.52, 3.47, 3.81, 4.40 และ 4.64 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ และปริมาณคลอโรฟิลล์ของ *C. minor* TISTR 8574 เท่ากับ 6.41, 10.21, 12.55, 9.94 และ 9.22 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ดังภาพที่ 8 และ *S. platensis* มีปริมาณโปรตีนเท่ากับ 0.02, 0.04, 0.06, 0.06 และ 0.08 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ปริมาณโปรตีนของ *C. minor* TISTR 8574 เท่ากับ 0.01, 0.01, 0.03, 0.02 และ 0.01 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ดังภาพที่ 9 จากผลการทดลองที่ 2 โดยจะเห็นว่าสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน *S. platensis* และ *C. minor* TISTR 8574 มีการเจริญเติบโตสูงสุดที่ค่า pH 9 และ pH 7.4 ตามลำดับ โดยผลการทดสอบทางสถิติพบว่าไม่แตกต่างกัน ($p > 0.05$)



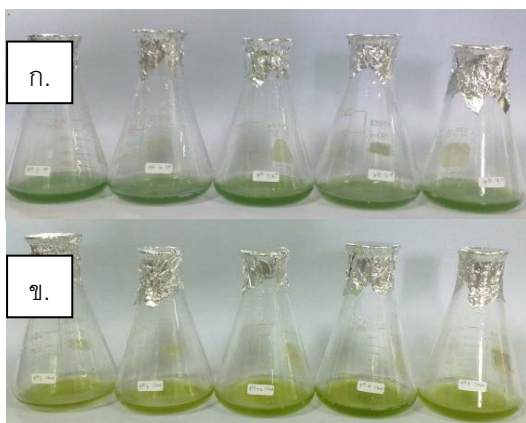
ภาพที่ 7 มวลชีวภาพของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน *S. platensis* และ *C. minor* TISTR 8574 ที่เพาะเลี้ยงในสูตรอาหาร BG-11 ที่มีสารผสมแนฟทาไลน์และแอนทราซีนความเข้มข้น 5 ppm โดยปรับ pH 5-9



ภาพที่ 8 ปริมาณคลอโรฟิลล์เอของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน *S. platensis* และ *C. minor* TISTR 8574 ที่เพาะเลี้ยงในสูตรอาหาร BG-11 ที่มีสารผสมแนฟทาไลน์และแอนทราซีนความเข้มข้น 5 ppm โดยปรับ pH 5-9



ภาพที่ 9 ปริมาณโปรตีนของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน *S. platensis* และ *C. minor* TISTR 8574 ที่เพาะเลี้ยงในสูตรอาหาร BG-11 ที่มีสารผสมแนฟทาไลน์และแอนทราซีนความเข้มข้น 5 ppm โดยปรับ pH 5-9



ภาพที่ 10 การเพาะเลี้ยงสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน *S. platensis* (ก.) และ *C. minor* TISTR 8574 (ข.) ที่เพาะเลี้ยงในสูตรอาหาร BG-11 ที่มีสารผสมแนฟทาไลน์และแอนทราซีน ความเข้มข้น 5 ppm โดยปรับ pH 5-9

อภิปรายและสรุปผลการวิจัย

จากการศึกษาหาความเข้มข้นของสารผสมแนฟทาไลน์และแอนทราซีน ที่มีผลกระทบต่อ การเจริญเติบโตของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน *S. platensis* และ *C. minor* TISTR 8574 เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมจะเห็นว่าความเข้มข้นที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายทั้งสองชนิด คือ 5 ppm โดยมีมวลชีวภาพสูงสุดเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมและจะเริ่มลดลงเมื่อความเข้มข้นของสารผสมแนฟทาไลน์และแอนทราซีนสูงขึ้น สอดคล้องกับงานวิจัยของ Odokuma (2007) โดยศึกษาการเจริญของสาหร่ายสีเขียว *Chlorella* และสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน *Chroococcus* sp. ในน้ำมันดิบ ความเข้มข้น 0-1000 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าความเข้มข้นน้ำมันดิบ 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร มีอัตราการเจริญสูงใกล้เคียงกับชุดควบคุมมากที่สุด Kong et al. (2011) รายงานว่า ความ เป็นพิษของแนฟทาไลน์ สอดคล้องกับอัตราการเจริญเติบโตอย่างจำเพาะหรือค่า specific growth rate (SGR) ของสาหร่าย *C. pyrenoidosa* ซึ่งในสารละลายแนฟทาไลน์ความเข้มข้นต่ำสาหร่าย *C. pyrenoidosa* มีอัตราการเจริญเติบโตดีกว่าสารละลายแนฟทาไลน์ความเข้มข้นสูง ซึ่งมีผลทดสอบทางสถิติแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม ในการวิเคราะห์ปริมาณคลอโรฟิลล์เอ และปริมาณโปรตีนเปรียบเทียบกับชุดควบคุมจะเห็นว่าความเข้มข้นที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายทั้งสองชนิด คือ 5 ppm และจะเริ่มลดลงเมื่อความเข้มข้นของสารผสมแนฟทาไลน์และแอนทราซีนสูงขึ้น จะเห็นได้ชัดเจนในความเข้มข้น 50 และ 75 ppm ซึ่งการเจริญเติบโตที่ลดลงนั้นอาจเป็นผลมาจากการกระตุ้นหรือกระบวนการเผาผลาญสารผสมแนฟทาไลน์และแอนทราซีนของสาหร่ายทั้งสองชนิด Haritash and Kaushik (2009) รายงานว่า ความเป็นพิษของแนฟทาไลน์ต่อสิ่งมีชีวิตนั้นส่วนใหญ่เกิดขึ้นในระหว่างกระบวนการเผาผลาญอาหาร การเผาผลาญของแนฟทาไลน์เกิดขึ้นโดยจุลินทรีย์ขนาดเล็ก และจะเผา

ผลยาก่อนข้างง่ายกว่าสาร PAHs ตัวอื่นๆ สำหรับสีเขียวใช้เอนไซม์ dioxygenase เป็นตัวเริ่มต้นในการย่อยสลายแนฟทาลีน เช่นเดียวกันกับแบคทีเรีย ผลผลิตของการเผาผลาญจากแนฟทาลีน เช่น 1-naphthol, 4-hydroxy-1-tetralone, naphthalene *cis*-1,2-dihydrodiol โดยจะแตกต่างกันไป ในปกติของการเจริญเติบโตของสิ่งมีชีวิตจะมีการผลิต reactive oxygen species (ROS) โดยจะอยู่ในระดับต่ำๆ แต่ถ้าหากเกิดความเครียดการผลิต ROS จะมีปริมาณเพิ่มมากขึ้น ซึ่งความเป็นพิษของ PAHs นั้นเป็นตัวการหลักในการผลิต ROS เป็นอย่างมากเมื่อสาหร่ายมีการหลั่งเอนไซม์ในการเผาผลาญอาหาร สอดคล้องกับ Kong et al. (2011) พบว่าความเข้มข้นของแนฟทาลีน 100 มิลลิกรัมต่อลิตร มีผลกระทบต่อคลอโรฟิลล์เอ บี และผลรวมคลอโรฟิลล์ของสาหร่าย *C. pyrenoidosa* ซึ่งมีผลกระทบอย่างมีนัยสำคัญ Soto et al. (1975) รายงานว่า สาหร่ายสีเขียวขนาดเล็ก *Chlamydomonas angulosa* บางเซลล์ไม่สามารถทนความเป็นพิษของแนฟทาลีนได้จึงมีบางเซลล์ตายไป แต่มีบางเซลล์มีชีวิตรอดอยู่ได้เมื่อความเข้มข้นของแนฟทาลีนลดลงเรื่อยๆ หรืออาจเกิดการระเหยไป และยังสอดคล้องกับงานวิจัยของ Pimda and Bunnag (2012) ซึ่งศึกษาการเจริญเติบโตของ *Nostoc piscinale* TISTR 8401 ที่เพาะเลี้ยงในน้ำมันเครื่องที่ใช้แล้ว เข้มข้น 0-15% พบว่าเมื่อวัดมวลชีวภาพ ปริมาณคลอโรฟิลล์เอ และปริมาณโปรตีนของสาหร่ายมีการเจริญได้ในน้ำมันเครื่องที่ใช้แล้วความเข้มข้น 3% ดีที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม และการเจริญเติบโตจะลดลงเมื่อความเข้มข้นของน้ำมันเครื่องสูงขึ้น

การศึกษาหา pH ที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน *S. platensis* และ *C. minor* TISTR 8574 ในอาหาร BG-11 ที่มีสารผสมแนฟทาลีนและแอนทราซีนความเข้มข้น 5 ppm จากการทดลองพบว่า สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน *S. platensis* และ *C. minor* TISTR 8574 มีการเจริญเติบโตสูงสุดที่ pH 9 และ pH 7.4 ตามลำดับ และการเจริญเติบโตจะลดลงที่

pH 5 สอดคล้องกับ Stevenson (2012) รายงานว่า ค่า pH ต่ำ มีผลกระทบต่อการทำงานของสาหร่ายจากการทดลองจะเห็นว่าการเจริญเติบโตของสาหร่ายทั้งสองชนิดสามารถเจริญเติบโตได้ดีใน pH ที่เป็นกลางจนเป็นด่าง โดยผลการทดสอบทางสถิติไม่แตกต่างกัน ($p > 0.05$) สอดคล้องกับงานวิจัยของ Liu et al. (2007) ศึกษาผลกระทบของ pyrogallol ต่อการเจริญและรงควัตถุของไซยาโนแบคทีเรีย *Microcystis aeruginosa* พบว่า มวลชีวภาพของ *M. aeruginosa* สามารถเจริญเติบโตได้ดีใน pH 8, 8.5 และ 9 โดยผลการทดสอบทางสถิติไม่แตกต่างกัน สำหรับค่า pH เป็นปัจจัยที่สำคัญอีกอย่างหนึ่งที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินเพราะสาหร่ายแต่ละชนิด ต้องการ pH ในระดับต่างกัน เช่นสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินเจริญเติบโตได้ดีในน้ำที่มีสภาพเป็นกลางจนเป็นด่าง (สิรินภา, 2553) ในการศึกษาครั้งนี้สามารถใช้เป็นความรู้พื้นฐานในการทดลองต่อไป โดยคาดหวังว่าในอนาคตจะสามารถนำสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน *S. platensis* และ *C. minor* TISTR 8574 ไปใช้แก้ปัญหาแหล่งน้ำเสียที่ปนเปื้อนสารประกอบไฮโดรคาร์บอนได้

กิตติกรรมประกาศ

ขอบคุณศูนย์วิจัยอนุกรมวิธานประยุกต์ ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ที่สนับสนุนการดำเนินงานวิจัย

ขอบคุณทุนอุดหนุนและส่งเสริมการทำวิทยานิพนธ์สำหรับนักศึกษาระดับบัณฑิตศึกษา ประจำปีภาคต้น ปีการศึกษา 2555 บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยขอนแก่น

ขอบคุณภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ ที่สนับสนุนอุปกรณ์ และสถานที่ในการดำเนินการวิจัย เอกสารอ้างอิง

กรมควบคุมมลพิษ กระทรวงวิทยาศาสตร์ เทคโนโลยี และสิ่งแวดล้อม. 2543. พีเอเอช (PAH). กรุงเทพฯ: บริษัท วรรณเพรส จำกัด.

- วรรณช คีละมัน. 2552. การกระจายตัวของสารโพลีไซคลิกอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอนในตะกอนทะเลสาบสงขลาตอนนอก จังหวัดสงขลา และตะกอนอ่าวทับละมุ จังหวัดพังงา. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. สาขาวิชาการจัดการสิ่งแวดล้อม. มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.
- ศิริภา พงษ์พีระ. 2553. การบำบัดน้ำทิ้งจากโรงงานผลิตเส้นขนมจีนโดยใช้สไปรูลินา (*Spirulina* sp.) และ คลอเรลลา (*Chlorella* sp.). วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. สาขาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น.
- Bradford, MM. 1976. A Rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *analytical biochemistry*. 72: 248-254.
- Chrzanowski, L., Kaczorek, E., and Olszanowski, A. 2006. The ability of *Candida maltosa* for hydrocarbon and emulsified hydrocarbon degradation. *Polish Journal of Environmental Studies*. 15(1): 47-51.
- Haritash, AK., and Kaushik, CP. 2009. Biodegradation aspects of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs): A review. *Journal of Hazardous Materials*. 169: 1-15.
- Ishizaki, A., Saito, K., Hanioka, N., Narimatsu, S., and Kataoka, H. 2010. Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in food samples by automated on-line in-tube solid-phase microextraction coupled with high performance liquid chromatography-fluorescence detection. *Journal of Chromatography*. 1217: 5555-5563.
- Kanally, RA. 2002. Biodegradation of Polynuclear Aromatic Hydrocarbons (PAHs). Retrieved April 19, 2010, from <http://salmon.mbio.co.jp/mbi/english/program/PAHs/rob.html>.
- Kong, Q., Zhu, L., and Shen, X. 2011. Effect of nutrient conditions on the toxicity of naphthalene to *Chlorella pyrenoidosa*. *Journal of Environmental Sciences*. 23(2): 307-314.
- Liu, BY., Zhou, PJ., Tian, JR., and Jiang, SY. 2007. Effect of Pyrogallol on the Growth and Pigment Content of Cyanobacteria-Blooming Toxic and Nontoxic *Microcystis Aeruginosa*. *Bull Environ Contam Toxicol*. 78:499-502.
- Odokuma, LO., and Smith, VA. 2007. Biodegradation of A Nigerian crude oil by a micro alga and a cyanobacterium. *Tropical Freshwater Biology* 16(1): 17-30.
- Pathak, H., Kantharia, D., Malpani, A., and Madamwar, D. 2008. Naphthalene degradation by *Pseudomonas* sp. HOB1: *In vitro* studies and assessment of naphthalene degradation efficiency in simulated microcosms [Electronic version]. *Journal of Hazardous Materials*. 166(2-3): 1466-1473.
- Pimda, W., and Bunnag, S. 2012. Biodegradation of used motor oil by *Nostoc piscinale* TISTR 8401. *African Journal of Microbiology* 6(10): 2367-2372.
- Stevenson, RJ., Bennett, BJ. Jordan, DN., and French, RD. 2012. Phosphorus regulates stream injury by filamentous green algae, DO, and pH with thresholds in responses. *Hydrobiologia*. 695: 25-42.

Soto, C., Hellebust, JA., and Hutchinson, TC. 1975.
Effect of naphthalene and aqueous crude oil
extracts on the green flagellate
Chlamydomonas angulosa. I. Growth.
Canadian Journal of Botany. 53: 109–117.

Vonshak, A. 1997. *Spirulina platensis* (*Arthrospira*),
Physiology, Cellbiology and
Biotechnology. London. Taylor and
Francis.