

- Mierle G, and Stokes P.M. (1976) Heavy metal tolerance and metal accumulation by planktonic algae, in Trace Substances in Environmental Health, Vol. 10, Hemphill, D.D. Ed., University of Missouri, Columbia; 113.
- McLean R.O. and Williamson F.B. (1977) Cadmium accumulation by the marine red alga *Porphyra umbilicalis*. *Physio. Plant.*, 41; 268.
- Monahan T.H.(1976) Lead inhibition of Chlorophycean microalgae. *J. Phycol.*, 12; 358.
- Monahan T.H. (1973) Lead inhibition in *Hoemotila blennista* (chlorophyceae, Chlorophyta). *Phycologia.*, 12; 247
- McLean R.O. (1974) The tolerance of *Stigeoclonium tenue* Kütz to heavy metals in South Wales. *Br. Phycol. J.*, 9.
- Morris O.P. and Russel, G. (1973) Effect of chelation on toxicity of copper. *Mar. Pollut. Bull.*, 4;159.
- Müller K.W. and Payer H.D. (1979) The influence of pH on the cadmium-repressed growth of the alga *Coelastrum proboscideum*. *Physiol. Plant.*, 45; 415.
- Mangi J., Schmidt K., Pankow J., Gaines L. and Turner P. (1978) Effect of chromium on some aquatic plants. *Environ. Pollut.*, 16; 285.
- Matson R.S. , Mustoe G.E. and Chang S.B. (1972) Mercury inhibition on lipid biosynthesis in freshwater algae. *Environ. Sci. Technol.*, 6; 158.
- Mackerras A.H. and Smith G.D. (1986) Urease activity of the cyanobacterium *Anabaena cylindrica*. *J. Gen. Microbiol.*, 132; 2749.
- Nakamura H. (1961) Report on the present situation of the microalgae Research Institute of Japan. *Rep. Microalgae Res. Inst. Jap.*, 2; 1.
- Nakano Y., Okamoto K., Toda S. and Fuwa K. (1978) Toxic effects of cadmium of *Euglena gracilis* grown in zinc deficient and zinc sufficient media. *Agric. Biol. Chem.*, 42;901.
- Nuzzi R. (1972) Toxicity of mercury to phytoplankton. *Nature.*, 237; 38
- Neilands J.B. (1967) Hydroxamic acid in nature. *Science.*, 156; 1443.
- Neilands J.B. (1973) Microbial iron transport compounds (siderochromes), in *Inorganic Biochemistry*, Eichhorn G.I., Ed., Elsevier, New York; 167.
- Neilands J.B. (1974) Iron and its role in microbial physiology, in *Microbial Iron Metabolism*, Neilands, J.B. Ed., Academic Press, New York; 3.

- Neilands J.B. (1981) Iron absorption and transport in microorganisms. *Ann. Rev. Nutr.*, 1; 27.
- Nieboer E. and Richardson D.H.S. (1980) The replacement of the nondescript term "heavy metal" by a biologically and chemically significant classification of metal ions, *Environ. Pollut.*, 1; 3.
- Overnell J. (1975) The effect of some heavy metal ions on photosynthesis in a freshwater alga, *Pestic. Biochem. Physiol.*, 5; 19.
- Overnell J. (1975) The effect of heavy metals on photosynthesis and loss of cell potassium in two species of marine algae, *Dunaliella tertiolecta* and *Phaeodactylum tricornutum*. *Mar. biol.*, 29; 99.
- Passow H., Rothstein A. and Clarkson T.W. (1961) The general pharmacology of the heavy metals, *Pharmacol Rev.*, 13; 185.
- Parry G.D.R. and Hayward J. (1973) The uptake of ^{65}Zn by *Dunaliella tertiolecta* Butcher. *J. Mar. Biol. Ass. U.K.*, 53; 915.
- Prakash A., Rashid M.A., Jensen A. and Subba Rao, D.V. (1973) Influence of humic substances on the growth of marine phytoplankton: diatom. *Limnol. Oceanogr.*, 18; 516.
- Petria V. (1978) Effect of chromium salts from water sediments on physiological processes in the alga *Chlorella vulgaris*, *Rev Roum. Biol., Ser. Biol. Veg.*, 23; 55.
- Pace F., Ferrara R. and Del Carratore G. (1977) Effects of sub-lethal dose of copper sulphate and lead nitrate on growth and pigment composition of *Dunaliella salina* Teod., *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 17; 679.
- Oliveira L. and Antia N.J. (1984) Evidence of nickel and iron requirement for autotrophic growth of a marine diatom with urea serving as nitrogen source. *Br. Phycol. J.*, 19; 125.
- Özer A., Özer D., Durson D. And Bulak S. (1996) Cadmium (II) adsorption on *Cladophora crispate* in batch stirred reactor in series. *Waste Management.*, 19; 233-240.
- Rachlin J.W., Warkentine B. and Jensen T.E. (1982) The growth response of *Chlorella saccharophila*, *Navicula incerta* and *Nitzschia closterium* to selected concentrations of cadmium. *Bull. Torrey Bot. Club.*, 109; 129.

- Rachlin J.W., Jensen T.E. and Warkentine B. (1982) The growth response of the green alga (*Chlorella saccharophila*) to selected concentrations of the heavy metals Cd, Cu, Pb and Zn., in Trace substances in environmental Health XVI, Hemphill D.D., Ed., University of Missouri, Columbia; 145.
- Rachlin J.W., Jensen T.E., Baxter M. and Jani V., (1982) Utilization of morphometric analysis in evaluating response of *Plectonema boryanum* (Cyanophyceae) to exposure to eight heavy metals. Arch. Environ. Contam. Toxicol., 11; 323.
- Rachlin J.W., Jensen T.E. and Warkentine B. (1983) The growth response of the diatom *Navicula incerta* to selected concentrations of the metals: cadmium, Rana, B.C. and Kumar, H.D. (1974) The toxicity of zinc to *Chlorella vulgaris* and *Plectonema boryanum* and its protection by phosphate. Phycos., 13; 60.
- Rachlin J.W., Jensen T.E. and Warkentine B. (1984) The toxicological response of the alga *Anabaena flos-aquae* (Cyanophyceae) to cadmium. Arch. Environ. Contam. Toxicol., 13; 143.
- Rangsayatorn N., Pokethitiyook P., Upatham E.S., Lanza G.R. (2004) Cadmium biosorption by cell of *Spirulina platensis* TISTR 827 immobilized in alginate and silica gel. Environment International, 30; 57-63.
- Rana B.C. and Kumar H.D. (1974) Effects of toxic waste and waste water components on algae. Phycos., 13; 67.
- Rai L.C. (1979) Mercury toxicity to *Chlorella vulgaris*. I. Reduction of toxicity by ascorbic acid and reduced glutathione (GSH). Phycos., 18; 105.
- Rai L.C. and Khatoniar, N. (1980) Response of *Chlorella* to mercury pollution. Ind. J. Environ. Health., 22; 113.
- Rai L.C. and Dey R. (1980) Environmental effects on the toxicity of methylmercuric chloride to *Chlorella vulgaris*. Acta hydrochi, Hydrobiol., 8; 319.
- Rai L.C., Gaur J.P and Kumar H.D. (1981) Phycology and heavy-metal pollution. Biol Rev., 56; 99.
- Raskin I. and Kumar P.B.A.N., Dushenkov S. and Salt D.E (1994) Bioconcentration of heavy metals by plants. Curr. Opinion Biotechnol., 5; 275-290.
- Ramamoorthy S. and Kushner D.J. (1975) Heavy metal binding components of river water. J. Fish. Res. Board Can., 32; 1755.

- Rao V.N.R. and Subramanian S.K. (1982) Metal toxicity tests on growth of some diatoms. *Acta Bot. Indica.*, 10; 274.
- Reed R.H. and Moffat L. (1983) Copper toxicity and copper tolerance in *Enteromorpha compressa* (L.) Grev. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 68; 85.
- Rosko J.J. and Rachlin J.W. (1977) The effect of cadmium, copper, mercury, zinc and lead on the cell division, growth, chlorophyll content of the chlorophyte *Chlorella vulgaris*, *Bull. Torrey Bot. Club.*, 104; 226.
- Ukeles R. (1962) Growth of pure cultures of marine phytoplankton in the presence of toxicants, *Appl. Microbiol.*, 10, 532.
- Reed R.H. and Gadd G.M.(1989) Metal tolerance in eukaryotic and prokaryotic algae, in heavy metal tolerance in plants: Evolutionary Aspects. Shaw J.A., Ed., CRC Press Boca Raton, Florida; 105.
- Rebhun S. and Ben-Amotz A. (1984) The distribution of cadmium between the marine alga *Chlorella stigmatophora* and sea water medium. *Water Res.*, 18; 173.
- Rebhun S. and Ben-Amotz A. (1988) Antagonistic effect of manganese to cadmium toxicity in the alga *Dunaliella salina*. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 42; 97.
- Rothstein A. (1959) Cell membrane as a site of action of heavy metals. *Fed. Proc. Fed. Am. Soc. Exp. Biol.*, 18; 1026.
- Richards O. (1963) Killing organisms with chromium. *Physiol. Zool.*, 9, 246; 1936.
- Rivkin R.B. (1979) Effect of lead on growth of the marine diatom *Skeletonema costatum*. *Mar. boil.*, 50; 239.
- Röderer G. (1980) On the toxic effects of tetraethyl lead and its derivatives on the chrysophyte *Poteriochromonas malhamensis*. I. Tetraethyl lead. *Environ. Res.*, 23; 371.
- Röderer G. (1981) On the toxic effects of tetraethyl lead and its derivatives in the Chrysophyte *Poteriochromonas malhamensis*. II. Triethyl lead, diethyl lead and anorganic lead. *Environ. Res.*, 25; 361.
- Romanenko V.I. and Velichko I.A.(1974) Influence of chromium ions on bacteria and algae. *Biol. Inland. Water.*, 21; 12.

- Rice T.R. (1963) Accumulation of radionuclides by aquatic organisms, in Studies of the fate of certain radionuclides in estuarine and other aquatic environments, Saho J.J. and Bedrosian, P.H., Eds, U.S. Public Health Service publ. No. 999-R-3; 35.
- Rice H.V., Leighty D.A. and McLeod G.C. (1973) The effects of some trace metals on marine phytoplankton, CRC Crit. Rev. Microbiol., 3; 27.
- Rees T.A.V. and Bekheet I.A. (1982) The role of nickel in urea assimilation by algae. Planta., 156; 385.
- Richardson T.R., Millington W.F. and Miles H.M. (1975) Mercury accumulation in *Pediastrum boryanum* (Chlorophyceae). J. Phycol., 11; 320.
- Sakagucki T., Tsuji T., Nakajima A. and Horikosji T. (1979) Accumilation of cadmium by green microalgae. Eur. J. Appl. Microbiol. Biotechnol., 8; 207-215.
- Salinas E., Elorza de Orellano M., Rezza I., Martinez L., Marchesvky E. And Sanz de Tosetti M. (2000) removal of cadmium and lead from dilute aqueous solution by *Rhodotorula rubra*. Bioresour. Technol., 72; 107-112.
- Sarsfield L.J. and Mancy K.H. (1977) The properties of cadmium complexes and their effect of toxicity to a biological systems, in Proc. Symp. Biological implications of metals in the environment, Drucker H. and Wildung R.E., Eds, Energy Res. And Develop. Admin., Richland, Washington; 335.
- Salt D.E., Blaylock M., Kumar P.B.A., Dushenkov V., Ensley B.D., Chet I. and Raskin, (1995) Phytoremediation: A novel strategy for the removal of toxic metals from the environment using plants. Biotechnol., 14; 468-474.
- Saxena P.K., KrishnaRaj S., Dan T., Perras M.R. and Vettakkorumakankav N.N. (1999) Phytoremediation of heavy metal contaminated and polluted soils. In: Prasad, M.N.V. and Hagemeyer, J (Eds) heavy metal stress in plants from molecules to ecosystems. Springer ; 305-329.
- Say P.J., Diaz B.M. and Whitton B.A. (1977) Influence of zinc on lotic plants. I. Tolerance of *Hormidium* species to zinc. Freshwater Biol., 7; 357.
- Say P.J. and Whitton B.A. (1977) Influence of zinc on lotic plants. II. Environmental effects on toxicity of zinc to *Hormidium rivulare*. Freshwater Biol., 7; 377.
- Say P.J. and Whitton B.A. (1982) Chemistry and plant ecology of zinc-rich streams in France. 2. The Pyrénées, Annls. Limnol., 18; 19.

- Schroll H. (1978) Determination of the absorption of Cr^{6+} and Cr^{3+} in an algal culture of *Chlorella pyrenoidosa* using ^{51}Cr . Bull. Environ. Contam. Toxicol., 20; 721.
- Schiff J.A. (1962) Sulfur, in Physiology and Biochemistry of algae, Lewin, R.A., Ed., Academic Press, New York.
- Schulz-Baldes M. and Lewin R.A. (1976) Lead uptake in two marine phytoplankton organisms. Biol. Bull., 150; 118.
- Shrift A. (1954) Sulfur-selenium antagonism. I. Antimetabolite action of selenate on the growth of *Chlorella vulgaris*. Am. J. Bot., 41; 223.
- Shrift A. (1981) Biological activities of selenium compounds. Bot. Rev., 24, 550; 1958.
- Silverberg B.A. (1976) Cadmium-induced ultrastructural changes in the mitochondria of freshwater green algae. Phycologia., 15; 155.
- Sick L.V. and Windom H.L. (1974) Effects of environmental levels of mercury and cadmium on rates of metal uptake and growth physiology of selected genera of marine phytoplankton, in Proc. Symp. Mineral Cycling in Southeastern Ecosystems. Publ. Energy Research and Development Administration Augusta, Georgia; 239.
- Stromgren T. (1980) The effect of lead, cadmium and mercury on the increase in length of five intertidal Fucales. J. Exp. Mar. Biol. Ecol., 43; 107.
- Strokes P.M., Hutchinson T.C. and Krauter K. (1973) Heavy metal tolerance in algae isolate from contaminated lakes near Sudbury, Ontario. Can. J. Bot., 51; 2155.
- Shioi Y., Tamai H. and Sasa T. (1978) Inhibition of photosystem II in the green alga *Ankistrodesmus falcatus* by copper. Physiol. Plant., 44; 434.
- Skowronski T., Szubinska S., Pawlik B., Jakubowski M., Bilewicz R., and Cukrowska E. (1991) The influence of pH on cadmium toxicity to the green alga *Stichococcus bacillaris* and on the cadmium forms present in the culture medium. Environ. Pollut., 74; 89.
- Sorrentino C., (1979) The effects of heavy metals on phytoplankton: a review, Phycos., 18; 149.
- Shieh Y.J. and Barber J. (1973) Uptake of mercury by *Chlorella* and its effects on potassium regulation. Planta., 109, 49; 1973.

- Starý J. and Havlík B., Zeman A., Kratzer K., Prasilova J. and Hanusova J. (1982) Chromium (III) and chromium (VI) circulation in aquatic biocenoses. *Acta Hydrochim. Hydrobiol.*, 10; 251.
- Steeman-Nielsen E. and Wium-Andersen S. (1970) Copper ions as poison in the sea and in freshwater. *Mar. Biol.*, 6; 93.
- Steeman-Nielsen E., Wium-Andersen S. (1971) The influence of Cu on photosynthesis and growth in diatom. *Physiol. Plant.*, 24; 480.
- Smith M.A. (1983) The effects of heavy metals on the cytoplasmic fine structure of *Skeletonema costatum* (Bacillariophyceae), *Protoplasma.*, 116; 14.
- Shehata F.H.A. and Whitton B.A. (1982) Zinc tolerance in strains of the blue-green alga *Anacystis nidulans*. *Br. Phycol. J.*, 17; 5.
- Silverberg B.A., Stokes P.M. and Ferstenberg L.B. (1976) Intracellular complexes in a copper tolerant green alga. *J. Cell Biol.*, 69; 210.
- Silverberg B.A. (1975) Ultrastructural localization of lead in *Stigeoclonium tenue* (Chlorophyceae, Ulotrichales) as demonstrated by cytochemical and X-ray microanalysis, *Phycologia.*, 14; 265.
- Sicko-Goad L., and Stoermer E.F. (1979) A morphometric study of lead and copper effects on *Diatoma tenue* var. *elongatum* (Bacillariophyta), *J. Phycol.*, 15; 316.
- Sicko-Goad L. (1982) A morphometric analysis of algal response to low dose, short-term heavy metal exposure. *Protoplasma.*, 110; 75.
- Sicko-Goad L., Stoermer E.F. and Ladewski B.G. (1977) A morphometric method for correcting phytoplankton cell volume estimates. *Protoplasma.*, 93; 147.
- Sicko-Goad L., Ladewski B.G. and Lazinsky D. (1986) Synergistic effects of nutrients and lead on the quantitative ultrastructure of *Cyclotella* (Bacillariophyceae). *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 15; 291.
- Sicko-Goad L. and Lazinsky D. (1983) Synergistic effects of phosphorus nutrient status and lead exposure in three algae. *Micron. Microscop. Acta.*, 14; 261.
- Sicko-Goad L. and Lazinsky D. (1986) Quantitative ultrastructural changes associated with lead-complex luxury phosphate uptake and polyphosphate utilization. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 15; 617.

- Sicko-Goad L. and Lazinsky D. (1981) Accumulation and cellular effects on heavy metals in bentic and planktonic algae. *Micron.*, 22; 289.
- Simpson F.B. and Neilands J.B. (1976) Siderochromes in cyanophyceae: Isolation and characterization of schizokinen from *Anabaena* sp., *J. Phycol.*, 12; 44.
- Singh S.P. and Yadava V. (1983) Cadmium induced inhibition of nitrate uptake by *Anacystis nidulans*: interaction with other divalent cations. *J. Appl. Microbiol.*, 29;297.
- Simkiss K. (1979) Metal ions in cells. *Endeavour.*, 3, 2.
- Skaar H., Ophus, E. and Gullvag B.M. (1973) Lead accumulation within nuclei of moss leaf cells. *Nature.*, 241; 215.
- Skaar H. Rystad B. and Jensen A. (1974) The uptake of ^{63}Ni by the diatom *Phaeodactylum tricornutum*, *Physiol. Plant.*, 32; 353.
- Stokes P.M., Hutchinson T.C. and Krauter K. (1973) Heavy metal tolerance in algae isolated from contaminated lakes near Sudbury, Ontario. *Can. J. Bot.*, 51; 2155.
- Stary J. and Kratzer K. (1982) The accumulation of toxic metals on alga. *J. Environ. Anal. Chem.*, 12; 65.
- Stary J., Havlik B., Kratzer .K., Prasilova, J. and Hanusova , J. (1983) Cumulation of zinc, cadmium and mercury in the alga *Scenedesmus obliquus*. *Acta Hydrochim. Hydrobiol.*, 11; 401.
- Steeman-Nielsen E. and Kamp-Nielsen L. (1970) Influence of deleterious concentrations of copper on the growth of *Chlorella pyrenoidosa*. *Physiol. Plant.*, 23; 828.
- Steeman –Nielsen E. and Kamp-Nielsen L. and Wium-Andersen S. (1969) The effect of deleterious concentrations of copper on the photosynthesis of *Chlorella pyrenoidosa*. *Physiol. Plant.*, 22; 1121.
- Stokes P.M. (1983) Responses of freshwater algae to metals, in *Progress in Phycological Research*. Vol. 2, Round, F.E. and Chapman D.J., Eds., Elsevier Amsterdam; 87.
- Stratton G.W. and Corke C.T. (1979) The effect of cadmium ion on the growth, photosynthesis and nitrogenase activity of *Anabaena inaequalis*. *Chemosphere.*, 8; 277.
- Stuve J. and Galle P. (1970) Role of mitochondria in the handing of gold by the kidney. *J. Cell. Biol.*, 44; 667.

- Sunda W.G. and Gillepsie P.A. (1979) The response of a marine bacterial clone to cupric ion and its use to estimate cupric activity in seawater. *J. Mar. Res.*, 37; 761.
- Say P.J. and Whitton B.A. Chemistry and plant ecology of zinc-rich streams in France.2. The Pyrénées, *Annls. Limnol.*, 18(19); 1982.
- Stokes P.M. (1975) Uptake and accumulation of copper and nickel by metal-tolerant strains of *Scenedesmus*, *Verh. Internat. Verein. Limnol.*, 19; 2128
- Thomas W.H., Hollibaugh J.T. and Seibert D.L.R. (1980) Effects of heavy metals on the morphology of some marine phytoplankton. *Phycologia.*, 19; 202.
- Thomas D.L. and Montes J.G. (1978) Spectrophotometrically assayed inhibitory effects of mercuric compounds on *Anabaena flos-aquae* and *Anacystis nidulans* (Cyanophyceae). *J. Phycol.*, 14; 494.
- Thomas W.H., Hollibaugh J.T., Seibert D.L.R. and Wallace G.T. Jr. (1980) Toxicity of a mixture of ten metals to phytoplankton. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 2; 213.
- Ting Y.P., Lawson F. and Prince G.I. (1989) Uptake of cadmium and zinc by the algae *Chlorella vulgaris*: I. Individual ion species. *Biotechnol. Bioengineering.*, 34; 990-999.
- Trevors J.T., Stratton G.W. and Gadd G.M. (1986) Cadmium transport, resistance and toxicity in bacteria, algae and fungi. *Can. J. Microbiol.*, 32; 447.
- Truhaut R., Ferard J.F. and Jouany J.M. (1980) Cadmium IC₅₀ determination on *Chlorella vulgaris* involving different parameters. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 4; 215.
- Thomas D.J. and Grill E.V.(1977) The effect of exchange reactions between Fraser River sediment and seawater on dissolved Cu and Zn concentration in the Strait of Georgia. *Estuar. Coast. Mar. Sci.*, 5; 421
- Thomas D.M. and Goodwin T.W. (1965) Nature and distribution of carotenoids in the Xanthophyta (Heterokontae). *J. Phycol.*, 1; 118.
- Tompkins T. and Blinn D.W. (1976) Effect of mercury on growth rate of *Fragilaria crotonensis* Kitton and *Asterionella Formosa* Hass., *Hydrobiologia.*, 49; 111.
- Twiss M.R. and Nalewajko C. (1992) Influence of phosphorus nutrient on copper toxicity to three strains of *Senedesmus acutus* (Chlorophyceae). *J. Phycol.*, 28; 291.
- Van Baalen C. and O'Donnell R.(1978) Isolation of nickel-dependent blue-green alga. *J.Gen. Microbiol.*, 105; 351.

- Vallee B.L. and Ulmer D.D. (1972) Biochemical effects of mercury, cadmium and lead. *Ann Rev. Biochem.*, 41; 91.
- Van der Berg C.M.G., Wong P.T.S. and Chau Y.K. (1979) Measurement of complexing materials excreted from algae and their ability to ameliorate copper toxicity. *J. Fish. Res. Board. Can.*, 36; 901.
- Veroy R.L., Montano N., De Guzman M.L.B., Laserna F.C. and Cajipe G.J.B. (1980) Studies on the binding of heavy metals to algae polysaccharides from Philippine seaweed. I. Carrageenan and the binding of lead and cadmium. *Bot. Mar.*, 23; 59.
- Veglio F. and Beolchini F. (1997) Removal of metals by biosorption: review. *Hydrometallurgy.*, 44; 301-316.
- Vymazal J. (1984) Short-term uptake of heavy metals by periphyton algae. *Hydrobiologia.*, 119; 171.
- Vymazal J. (1986) Occurrence and chemistry of zinc in freshwater-its toxicity and bioaccumulation with respect of algae: a review. Part 2. Toxicity and bioaccumulation with respect of algae. *Acta Hydrochim. Hydrobiol.*, 14; 83.
- Vymazal J. (1987) Toxicity and accumulation of cadmium with respect to algae and cyanobacteria: a review. *Toxic. Assess.*, 2; 387.
- Vymazal J. (1990) Toxicity and accumulation of lead with respect to algae and cyanobacteria: a review. *Acta Hydrochim. Hydrobiol.*, 18; 513.
- Vymazal J. (1990) Uptake of lead, chromium, cadmium and cobalt by *Cladophora glomerata*. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 44; 468.
- Vymazal J. (1987) Zn uptake by *Cladophora glomerata*. *Hydrobiologia.* 148; 97.
- Vymazal J. (1988) The influence of pH on heavy metal uptake by *Cladophora glomerata*. *Br. Phycol. J.*, 23; 297.
- Wallen D.G. (1990) The toxicity of chromium (VI) to photosynthesis of the phytoplankton assemblage of Lake Erie and the diatom *Fragilaria crotonensis* Kitton. *Aquat. Bot.*, 38; 331.
- Watanabae M., Takamatsu T., Kohata K., Kunugi M., Kawashima M. and Koyama M. (1989) Luxury phosphate uptake and variation of intracellular metal concentrations in *Heterosigma akashiwo* (Raphidophyceae). *J. Phycol.*, 25; 428.

- Warkentine B.E. and Rachlin J.W. (1986) A test of responded organizational framework for the ordering of algal toxicity response. Bull. Torrey. Bot. Club., 113; 12.
- Wehr J.D. and Whitton B.A.(1983) Aquatic cryptogams of natural acid springs enriched with heavy metals: kootenay Paint Pots, British Columbia, Hydrobiologia., 98; 97.
- Whitton B.A. (1970) Toxicity of heavy metals to freshwater algae: a review, Phykos., 9; 116.
- Whitton B.A. (1970) Toxicity of zinc, copper and lead to Chlorophyta from flowing waters. Arch. Mikrobiol., 72; 353.
- Whitton B.A. and Say P.J. (1975) Heavy metals, in River Eccology. Whitton B.A., Ed., Blackwell Scientific Publications, Oxford; 286.
- Whitton B.A., Gale N.L. and Wixson B.G. (1981) Chemistry and plant ecology of zinc-rich wastes dominated by blue-green algae, Hydrobiologia., 83; 331.
- Whitton B.A. and Shehata F.H.A. (1982) Influence of cobalt, nikel, copper and cadmium on the blue-green alga *Anacyatis nidulans*. Environ. Pollut., 27; 275.
- Wong P.T.S., Silverberg B.A., Chau Y.K. and Hodson P.V.(1987) Lead and the aquatic biota, in The biogeochemistry of lead in the environment. Part B. Biological effects. Nriagu., J.O. Ed., Elsevier/North Holland Biomedical Press, New York; 279.
- Wong M.H., and Cheung Y.H. (1984) Heavy metal contents of *Macrobrachium hainaneuse* fed with waste-grown *Chlorella pyrenoidosa*. Agri. Waste., (13)1; 1-14.
- Widra A. (1959) Metachromatic granules of microorganisms. J. Bact., 78; 664.
- Wild E.W. and Benemann J.R. (1993) Bioremoval of heavy metals by the use of microalgae. Biotechnol. Adv., 11; 781-812.
- Wium-Andersen S. (1974) The effect of chromium on the photosynthesis and growth of diatom and green algae. Physiol. Plant., 32; 308.
- Wood J.M. and Wang H.K. (1983) Microbial resistance to heavy metals. Environ. Sci. Technol., 15; 582.
- Wood J.M. (1974) Biological cycles for toxic elements in the environment, Science., 183; 1049.
- Woolery M.L. and Lewin R.A.(1977) The effects of lead on alge. IV. Effect on respiration and photosynthesis of phaeodactylum tricornutum (Bacillariophyceae). Water Air Soil Pollut., 6; 25.

- Yaowakhan P., Kruatrachue M., Pokethitiyook P. and Soonthornsarathool V. (2005). Removal of lead using some aquatic macrophytes. Bull. Environ. Contamin. Toxicol., 75; 723-730.
- Young R.G. and Lisk D.J.(1972) Effect of copper and silver ions on algae. J. Water Pollut. Control Fed., 44; 1643.
- Zirino A. and Yamamoto S. (1972) A-pH dependent model for the chemical speciation of copper, zinc, cadmium and lead in seawater. Limnol. Oceanogr., 17; 661.
- Zingmark R.G. and Miller, T.G. (1975) The effects of mercury on the photosynthesis and growth of estuarine and oceanic phytoplankton, in Physiological ecology of estuarine organisms, Vernberg, F.J., Ed., Belle W. Baruch Library of Marine Science, University of South Carolina Press, Columbia; 45.

วิทยานิพนธ์ที่เกี่ยวข้อง

- มารุต ไหลสกุล (2546) การกำจัดตะกั่วในน้ำเสียโดยสาหร่ายอบแห้ง *Sagassum polycystum* และ *Hydrilla verticillata* (L.F.) Royle สารานุกรมสุขศาสตร์มหาบัณฑิต ปริญญาโท สาขาวิชาอนามัยสิ่งแวดล้อม ISBN: 974-329-629-8 บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยมหิดล
- พิรดา บุญนาค (2542) การกำจัดสารหนูออกจากน้ำโดยใช้สาหร่ายน้ำจืด วิทยานิพนธ์มหาบัณฑิต. วิทยาศาสตร์ สาขาชีววิทยาสภาวะแวดล้อม บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยมหิดล
- นลิน สิทธิธรรณ์ (2543) การใช้สาหร่ายกำจัดปรอทแคดเมียมและตะกั่ว วิทยานิพนธ์มหาบัณฑิต วิทยาศาสตร์ สาขาสุขภาพสิ่งแวดล้อม บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยมหิดล
- บุษบา วรคามิน (2546) การดูดซับโลหะหนักแคดเมียมโดยใช้สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินชนิด *Oscillatoria subtilissima* และ *Oscillatoria jatorvensis* (Biosorption by cyanobacteria, *Ocillatoria subtilissima* and *Oscillatoria jatorvensis*) วิทยานิพนธ์มหาบัณฑิต. วิทยาศาสตร์ สาขาชีววิทยาสภาวะแวดล้อม บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยมหิดล
- อุไรพร ปุณณนิธิ (2545) การพัฒนาตัวดูดซับชีวภาพ โดยการตรึงชีวมวลสาหร่ายทะเลสีน้ำตาล *Sargassum polycystum* ด้วยไคโตแซนเพื่อการจัดแคดเมียม (Development of Biosorbent by Immobilization of Dry Biomass Marine Algae *Sargassum polycystum* in Chitosan Matrix for Cadmium Removal) วิทยานิพนธ์ วท.ม. สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี
- วชิรศรณา เจริญศักดิ์สุวรรณ (2531) การศึกษาการสะสมของสังกะสีและแคดเมียม โดยสาหร่ายสีเขียวเซลล์เดียว *Chlorella* sp. (Study of the Accumulation of Zinc and Cadmium by

- Unicellular Algae, *Chlorella* sp.) วิทยานิพนธ์ วท.ม. สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี
- พิรลดา บุณนาถ (2542) การกำจัดสารหนูออกจากน้ำโดยใช้สาหร่ายน้ำจืด วิทยานิพนธ์มหาบัณฑิต วิทยาศาสตร์ สาขาชีววิทยาสิ่งแวดล้อม บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยมหิดล
- ณรงค์ศักดิ์ โควิ (2545) การศึกษาประสิทธิภาพการดูดซับแคดเมียมของตัวดูดซับชีวภาพที่ได้จากการตรึงชีวมวลสาหร่ายทะเลสีน้ำตาล *Sargassum polycystum* ด้วยไคโตซานในระบบคอลัมน์ (Study of Column Performance of Biosorbent from Immobilization of *Sargassum polycystum* in Chitosan Matrix for Cadmium Removal) วิทยานิพนธ์ วท.ม. สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี
- สุเทพ มงคลเลิศพล (2530) การสะสมสังกะสีโดยสาหร่ายเซลล์เดียว *Chlorella* SP. (Uptake of Zinc by Unicellular Algae, *Chlorella* SP.) วิทยานิพนธ์ วท.ม. สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี
- สุพรรณวิภา ศรีกระจิบ (2541) การใช้สาหร่าย *Sargassum polycystum* อบแห้งในการกำจัดแคดเมียม 2541 วิทยานิพนธ์มหาบัณฑิต วิทยาศาสตร์ สาขาเทคโนโลยีสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยมหิดล บัณฑิตวิทยาลัย
- สุदारตน์ ไชยเฉลิม (2549) การกำจัดแคดเมียมโดยใช้ไซยาโนแบคทีเรียที่ผ่านการตรึงเซลล์อิสระในระบบการเลี้ยงแบบกะ (Cadmium removal by immobilized and free cell of cyanobacteria in a batch system) วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาสุขาภิบาลสิ่งแวดล้อม บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยมหิดล
- ศิริพร สมบัติจินดา (2547) การเปรียบเทียบการกำจัดแคดเมียมโดยใช้ไซยาโนแบคทีเรียที่ผ่านการตรึงเซลล์และเซลล์อิสระ (Comparison of cadmium removal by immobilized and free cell of cyanobacteria) วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาสุขาภิบาลสิ่งแวดล้อม บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยมหิดล
- วิมลรัตน์ สังข์คุ้ม (2545) Sorption of Heavy Metals by the Green Macroalga, *Caulerpa lentillifera* วท.ม. สาขาวิชาการจัดการสิ่งแวดล้อม บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
- รณบรรจบ อภิรติกุล (2546) Biosorption of heavy metals mixture solution by green microalga, *Caulerpa lentillifera* วท.ม. สาขาวิชาการจัดการสิ่งแวดล้อม จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

- Boonyapookana B. (2000) Toxicity and biosorption of chromium and cadmium by using duckweed *Wolffia globosa* Hartog & Plas, M.Sc Thesis in Environmental Biology, Faculty of Graduate Studies, Mahidol University
- Jantana T. (2001) Cadmium biosorption by bacteria biomass. M.Sc. Thesis in Environmental Biology, Faculty of Graduate Studies, Mahidol University
- Kularb P. (2002) Comparative study on heavy metal biosorption of cadmium alginate and polyethylenimine immobilized *Saccharomyces cerevisiae*, M.Sc. Thesis in Technology of Environmental Management, Faculty of Graduate Studies, Mahidol University
- Lamai C. (2002) Toxicity and bioaccumulation of lead and cadmium in green macroalgae *Cladophora fracta*, M.Sc. Thesis in Environmental Biology, Faculty of Graduate Studies, Mahidol University
- Namphung Dungkokkruad. (2002) Removal of cadmium and lead in aqueous solution by *Nostoc paludosum* and *Phormidium angustissimum*, M.Sc. Thesis in Environmental Sanitation, Faculty of Graduate Studies, Mahidol University
- Nattaporn Boonthong (2005) Cadmium removal by immobilized cyanobacteria in a plug flow system, Msc. Thesis in Environmental Sanitation, Faculty of Graduate Studies, Mahidol University
- Pissopa Kitjakarn. (1991) Utilization of blue green algae for removal of some heavy metals from wastewater, M.Sc. Thesis in Environmental Biology, Faculty of Graduate Studies, Chulalongkorn University
- Rangsayatorn N, (2002) Toxicity and accumulation of cadmium adsorbed cyanobacteria *Spirulina* (ARTHROSPIRA) *platensis* on various organs of fish, *Puntius gonionotus* bleeker., D.Sc. Thesis in Biology, Faculty of Graduate Studies, Mahidol University
- Tangaromsuk J. (2001) Cadmium from aqueous solution by bacteria biomass, M.Sc. Thesis in Environmental Biology, Faculty of Graduate Studies, Mahidol University

โครงการวิจัยและงานตีพิมพ์ที่เกี่ยวข้อง

กาญจนาภรณ์ ลีวมโนมนต์, ผู้ร่วมงาน : สุจินต์ ดีแท้, เต็มศักดิ์ โชติวรรณวิรัช (2526) ปริมาณโลหะหนักในสาหร่ายทะเลของไทย (Concentrations of heavy metals in the seaweeds of Thailand) คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

- กฤษณะ เพ็ชรมุ่งสัมพันธ์, จิระภาคย์ แดงอินทวัฒน์, ชนิกานต์ ทศนกุลวงศ์ (2545) การใช้ไฮเดียมอัลจิเนตตรึงรูปสาหร่าย *Chlorella* sp. A0505 ในการดูดซับ โครเมียม สังกะสี ทองแดงและนิกเกิล (The absorption chromium zinc copper and nickel by *chlorella* sp. A0505 immobilized with sodium alginate) โครงการพิเศษ วท.บ.สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
- กันตสุดา นันทวรกุล, ดวงใจ มรรพพงษ์สาร และ นันทนา กำนารายณ์ (2543) ปัจจัยที่มีผลต่อการดูดซับแมงกานีสโดยสาหร่าย *Cladophora* sp. (Factor affecting on manganese adsorption by *Cladophora* sp.) โครงการพิเศษ วท.บ.สาขาชีววิทยาประยุกต์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
- ขนิษฐา คำวิสัยศักดิ์ (2543) การกำจัดโครเมียม (VI) โดยสาหร่ายเซลล์เดียว *Chlorella* sp. (Removal of chromium (VI) by unicellular algae, *chlorella* sp.)การประชุมวิชาการวิศวกรรมเคมีและเคมีประยุกต์แห่งประเทศไทย ครั้งที่ 10, เล่ม 1 หน้า 389-396
- พิศโสภา กิจจาหาญ อรัญ อินเจริญศักดิ์ (2535) ปัจจัยที่มีผลต่อการสะสมตะกั่วในสาหร่ายอะฟาโนธิซาไลฟิติก้า (Factors Affecting the Accumulation of Lead by *Aphanothece halophytica*) Journal of scientific research, Chulalongkorn University 17(2) ;141-147
- ประทีป สุทธิปริญญาพันธ์ (2548) การปรับปรุงคุณภาพสาหร่ายช่อพริกไทยเพื่อกำจัดโลหะหนัก ว.สิ่งแวดล้อม ปีที่ 9, ฉบับที่ 1 (ม.ค.-มี.ค. 48), หน้า 35-37
- ยุพดี ชัยสุขสันต์ (2547) การดูดซับทางชีวภาพของตะกั่วและทองแดงโดยชีวมวลของสาหร่ายทะเลบางชนิด วารสารสงขลานครินทร์ ปีที่ 26, ฉบับที่ 5 (ก.ย.-ต.ค. 47), หน้า 727-740
- รินดา คันธวร, อัมภา เจริญปรีดามย์, อุดมฤทธิ์ วิฑูรชวลิตวงศ์. (2541) การใช้ไคโตเซนตรึงรูปสาหร่ายสีเขียว *Chlorella vulgaris* TISTR 8261 เพื่อดูดซับโครเมียม (+6) (The absorption chromium (+6) by *Chlorella vulgaris* immobilized with chitosan) 2541 โครงการพิเศษ วท.บ.สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
- สุภาณี เลิศไตรรักษ์ และคณะ (2531) รายงานการวิจัยการสะสมสังกะสีโดยสาหร่ายเซลล์เดียว *Chlorella* sp. (Accumulation of Zinc in unicellular algae, *Chlorella* sp.) ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากสำนักคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ประจำปี งานส่งเสริมการวิจัย สจธ.

บทที่ 5 การกำจัดไฮโดรคาร์บอน (Hydrocarbon Bioremediation)

ไฮโดรคาร์บอน (Hydrocarbon) คือกลุ่มของสารประกอบอินทรีย์ที่ประกอบด้วยอะตอมของธาตุคาร์บอนและไฮโดรเจน ไฮโดรคาร์บอนจัดเป็นสารที่มีสูตรโครงสร้างอย่างง่ายและสามารถนำไปใช้สร้างอนุพันธ์ต่างๆ ที่มีโครงสร้างซับซ้อนได้มากมาย โดยปกติจะพบไฮโดรคาร์บอนเป็นองค์ประกอบในน้ำมันที่ได้จากกระบวนการกลั่นปิโตรเลียม นอกจากในน้ำมันจะมีธาตุคาร์บอนและไฮโดรเจนเป็นจำนวนมากแล้ว ยังสามารถพบธาตุออกซิเจน ไนโตรเจน และซัลเฟอร์ในปริมาณน้อยอีกด้วย ไฮโดรคาร์บอนจากน้ำมันจะสามารถจัดจำแนกได้เป็น 3 กลุ่ม คือ ไฮโดรคาร์บอนที่มีน้ำหนักโมเลกุลน้อย มีคาร์บอนตั้งแต่ 1-10 อะตอม ไฮโดรคาร์บอนที่มีน้ำหนักโมเลกุลปานกลาง มีคาร์บอนตั้งแต่ 11-35 อะตอม และ ไฮโดรคาร์บอนที่มีน้ำหนักโมเลกุลมาก มีคาร์บอนตั้งแต่ 36-50 อะตอม นอกจากนี้ ยังสามารถพบไฮโดรคาร์บอนได้ในถ่านหินและก๊าซธรรมชาติอีกด้วย ปัจจุบันไฮโดรคาร์บอนถูกนำมาใช้เป็นแหล่งพลังงาน เป็นน้ำมันเชื้อเพลิง ผลิตน้ำมันหล่อลื่น และเป็นวัตถุดิบในการผลิตพลาสติก ยาง ไฟเบอร์ และสารเคมีต่างๆ ในโรงงานอุตสาหกรรม จากที่กล่าวมาจะพบว่าการนำสารประกอบไฮโดรคาร์บอนไปใช้เป็นจำนวนมากในชีวิตประจำวันและในอุตสาหกรรม ซึ่งหากนำไปใช้ไม่ถูกวิธีหรือไม่ระมัดระวังก็จะนำไปสู่การเกิดปัญหาทางด้านสิ่งแวดล้อมตามมา เช่น การรั่วของเรือบรรทุกน้ำมัน และการชะล้างทำความสะอาดถังบรรจุน้ำมัน ผลที่ตามมาก็คือทำให้สิ่งแวดล้อมเปลี่ยนแปลงไปและอาจเป็นอันตรายต่อสิ่งมีชีวิตที่อาศัยในบริเวณนั้นๆ และบริเวณใกล้เคียงได้ การกำจัดสารประกอบไฮโดรคาร์บอนจึงเป็นภารกิจที่ทั้งภาครัฐและเอกชนต้องให้ความสนใจและทำการศึกษาอย่างจริงจัง โดยเฉพาะอย่างยิ่งการกำจัดไฮโดรคาร์บอนโดยไม่ใช้สารเคมี หากแต่ใช้ประโยชน์จากสิ่งมีชีวิตที่สามารถกำจัดสารประกอบไฮโดรคาร์บอนได้โดยธรรมชาติ เนื่องจากจะไม่ส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม

ได้มีรายงานจำนวนมากกล่าวถึงการใช้แบคทีเรีย (bacteria) และฟังไจ (fungi) ในการย่อยสลายสารประกอบไฮโดรคาร์บอน (Klug และ Markovetz 1971, Radwan และ Sorkhoh 1993) การกำจัดไฮโดรคาร์บอนในน้ำเสียโดยวิธีทางชีวภาพ อาจทำได้โดยการใช้แบคทีเรียหลายสายพันธุ์ที่มีความสามารถในการย่อยไฮโดรคาร์บอนรวมกับการใช้สาหร่ายหรือไซยาโนแบคทีเรียซึ่งมีคุณสมบัติในการตรึงคาร์บอน ไดออกไซด์ผ่านกระบวนการสังเคราะห์แสงและผลิตออกซิเจนสู่บรรยากาศ นอกจากจะเป็นการกำจัดไฮโดรคาร์บอนในน้ำเสียแล้ว สาหร่ายยังสามารถใช้อินทรีย์สารและอนินทรีย์สารในน้ำเสียเพื่อเพิ่มปริมาณชีวมวล (biomass) ของสาหร่ายได้อีกด้วย ในงานวิจัยระยะแรก ได้มีความสนใจนำเหาจุลสาหร่ายมาใช้ในการกำจัดไฮโดรคาร์บอนในน้ำเสียโดยกระจายจุลสาหร่ายในบ่อ facultative ที่ไม่มีอากาศที่ก้นบ่อและบ่อที่มีการให้อากาศโดยการกวนอย่างต่อเนื่อง เพื่อให้สาหร่ายเจริญเติบโตได้ดี แต่เนื่องจากปัญหาความยากลำบากในการเก็บเกี่ยว

และสิ้นเปลืองค่าใช้จ่าย งานวิจัยในระยะหลังจึงมีความสนใจในการใช้สาหร่ายที่ถูกตรึงบนพื้นผิวหรือทำเป็นแผ่นฟิล์มแทน

5.1 ระบบการใช้สาหร่ายในการกำจัดน้ำมันและสารประกอบไฮโดรคาร์บอนในน้ำเสีย

ระบบการกำจัดน้ำมันและสารประกอบไฮโดรคาร์บอนในน้ำเสียโดยใช้สาหร่ายสามารถแบ่งได้เป็น 2 ระบบ ดังนี้

5.1.1 ระบบการเพาะเลี้ยงร่วมกันระหว่างสาหร่ายและแบคทีเรียที่สามารถย่อยไฮโดรคาร์บอนในบ่อเดียวกัน

ระบบการเพาะเลี้ยงวิธีนี้ เป็นวิธีที่ง่ายและสะดวกที่สุดในการใช้ประโยชน์ของการเจริญแบบพึ่งพาอาศัยระหว่างสาหร่ายและแบคทีเรียที่สามารถย่อยไฮโดรคาร์บอนโดยแบคทีเรียสามารถย่อยไฮโดรคาร์บอนได้ผลผลิตเป็นสารอินทรีย์และคาร์บอนไดออกไซด์ ซึ่งสาหร่ายนำไปใช้ในการเจริญเติบโตได้ ในขณะที่สาหร่ายเจริญเติบโตจะมีการสังเคราะห์แสงและผลิตออกซิเจนออกมา ซึ่งทำให้แบคทีเรียเจริญเติบโตได้ดีและย่อยไฮโดรคาร์บอนเพิ่มขึ้น อย่างไรก็ตาม การเพาะเลี้ยงสาหร่ายและแบคทีเรียในบ่อเดียวกันทำได้ค่อนข้างยาก เนื่องจากสภาวะที่เหมาะสมในการเจริญเติบโตของสิ่งมีชีวิตแต่ละชนิดแตกต่างกัน สภาวะที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงแบคทีเรียที่สามารถย่อยไฮโดรคาร์บอนอาจไม่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงสาหร่าย นอกจากนี้ หากสิ่งมีชีวิตทั้งสองชนิดแข่งขันกันใช้สารอาหารในบ่อ ก็จะทำให้การอาศัยอยู่ร่วมกันเกิดปัญหาขึ้น ดังนั้นในการศึกษาระบบการเพาะเลี้ยงร่วมกันจะสามารถทำได้โดยเรียนรู้เชื้อและปรับสภาวะใหม่ให้เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงเชื้อทั้งสองชนิด

สาหร่ายและไซยาโนแบคทีเรียหลายชนิดสามารถออกซิไดซ์ไฮโดรคาร์บอนประเภทอะโรมาติกได้ บางชนิดสามารถดูดซับและสะสมสารประกอบไฮโดรคาร์บอนได้ เช่น ไซยาโนแบคทีเรีย *Microcystis aeruginosa* และสาหร่าย *Selenastrum capricornatum* สามารถสะสมเบนซีน (benzene) โทลูอีน (toluene) แนพทาซีน (naphthalene) ฟีนแอนทรีน (phenanthrene) และไพรีน (pyrene) (Kobayashi และ Rittmann 1982) นอกจากนี้ยังมีการศึกษาการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของ benzo(a)pyrene (BaP) ในสาหร่ายสีน้ำตาล *Fucus vesiculosus* และ *Chorda filum* สาหร่ายสีแดง *Furcellaria lumbricalis* สาหร่ายสีเขียว *Enteromorpha intestinalis* และ *Cladophora glomerata* โดยระบบเอนไซม์ภายในเซลล์ เช่น o-diphenol oxidase, cytochrome P450 และ peroxidase (Kirso และ Irha 1998)

วิธีการที่ง่ายในการเก็บเกี่ยวมวลชีวภาพของสาหร่ายทำได้โดยใช้เซลล์สาหร่ายตรึง (immobilized algal cells) สาหร่ายจะถูกตรึงกับพอลิเมอร์บางชนิด เช่น คาร์ราจีแนน (carrageenan) อัลจิเนต (alginate) อะกาโรส (agarose) หรือ ไคโตซาน (chitosan) ระบบการตรึงเซลล์จะมีข้อได้เปรียบในการควบคุมชนิดของสิ่งมีชีวิตได้ดีขึ้นและ effluent ที่ปราศจากเซลล์ (Hoffman 1998) ได้มีการศึกษาการกำจัดไนโตรเจนและฟอสฟอรัสที่มีประสิทธิภาพและรวดเร็วของน้ำเสียโดยใช้สาหร่ายตรึงในแปรรูปสถานะความเป็นกรดต่าง อุณหภูมิและความเข้มแสงต่างๆ (Chevalier และ De la Noüe 1985, De la Noüe และ Proulx 1988, Kaya และคณะ 1994) การใช้สาหร่ายที่ถูกตรึงในการกำจัดไฮโดรคาร์บอน นอกจากจะทำให้เก็บเกี่ยวได้ง่ายแล้ว ยังมีประโยชน์ในการปกป้องเซลล์สาหร่ายอีกด้วย เซลล์สาหร่ายที่ห่อหุ้มไว้ภายในพอลิเมอร์จะได้รับความเป็นพิษ (toxicity) ของไฮโดรคาร์บอนที่มีอยู่ในน้ำมันน้อยกว่าสาหร่ายที่ไม่ถูกตรึง เนื่องจากไฮโดรคาร์บอนซึ่งมีคุณสมบัติไม่มีขั้วจะไม่แพร่ผ่านเข้าไปภายในพอลิเมอร์ แต่หากเป็นเช่นนั้น เซลล์สาหร่ายก็จะไม่เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน ไม่เปลี่ยนแปลงรูปแบบหรือสะสมสาไฮโดรคาร์บอนขึ้น ดังนั้น วิธีการที่ดีในการใช้สาหร่ายตรึงคือต้องทำให้มีการแลกเปลี่ยนสารอาหารหรือแร่ธาตุเกิดขึ้นภายในพอลิเมอร์ได้ และอาจต้องให้สารอาหารบางอย่างแก่สาหร่ายเพื่อให้สาหร่ายมีการเจริญเติบโตในระบบได้ ในปัจจุบัน การใช้สาหร่ายตรึงในการกำจัดไฮโดรคาร์บอนในระดับอุตสาหกรรมทำได้ยาก เนื่องจากเสียค่าใช้จ่ายสูง

5.1.2 ระบบการเพาะเลี้ยงแยกกันระหว่างสาหร่ายและแบคทีเรียที่สามารถย่อยไฮโดรคาร์บอนโดยใช้เมมเบรนที่ก๊าซสามารถผ่านได้

ทางเลือกอีกทางหนึ่งในการนำเซลล์สาหร่ายมาใช้ในการกำจัดไฮโดรคาร์บอน พร้อมกับการให้อากาศและมีการหมุนเวียนของธาตุคาร์บอนก็คือ การใช้แผ่นเมมเบรนที่ยอมให้ก๊าซผ่านเข้าออกได้กั้นระหว่างเซลล์ของสาหร่ายและเซลล์ของแบคทีเรียที่สามารถย่อยไฮโดรคาร์บอนได้ ดังนั้น เซลล์ของสาหร่ายและแบคทีเรียจะไม่มีปฏิสัมพันธ์ (interaction) ระหว่างกัน การใช้เมมเบรนนี้ไม่ก่อผลเสียในการเก็บเกี่ยวเซลล์สาหร่าย และยังช่วยให้การปรับสภาวะการเลี้ยงของสาหร่ายและแบคทีเรียแยกกันได้

ในปัจจุบัน ได้มีความสนใจในการใช้เทคโนโลยีของเมมเบรนสำหรับถังหมัก (fermentor) หรือถังปฏิกรณ์ชีวภาพ (bioreactor) ในการบำบัดน้ำเสียของโรงงานอุตสาหกรรม (Brindle และ Stephenson 1996, Pankania และคณะ 1994) ถังปฏิกรณ์ชีวภาพที่ได้เรียกว่า Membrane-aerated biofilm reactor (MABR) ซึ่งชีวมวลจะถูกตรึงเป็นแผ่นเมมเบรนและสามารถย่อย

ไฮโดรคาร์บอนได้ เช่น รายงานของ Debus และ Wanner (1992) ที่มีการนำเอา MABR มาใช้ในการย่อยไฮโดรคาร์บอนไซลีน (xylene)

5.2 การย่อยสารประกอบไฮโดรคาร์บอนในน้ำมันปิโตรเลียมที่ปนเปื้อนในทะเลโดย

ไซยาโนแบคทีเรีย

ในบรรดาจุลินทรีย์ที่มีอยู่ในธรรมชาติจำนวนมาก มีจุลินทรีย์อยู่หลายชนิดด้วยกันที่มีคุณสมบัติในการย่อยสารประกอบไฮโดรคาร์บอนที่อยู่ในน้ำทะเลได้ จุลินทรีย์เหล่านี้ ได้แก่ แบคทีเรียบางชนิด ราที่เป็นเส้นสาย ยีสต์ และ ไซยาโนแบคทีเรีย (Leahy และ Colwell 1990) ซึ่งจะต้องมีคุณสมบัติในการเจริญเติบโตในสิ่งแวดล้อมทางทะเลได้ การกักน้ำมันในธรรมชาติมักเกิดจากสิ่งมีชีวิตหลายๆ ชนิดร่วมกันในการทำงาน โดยอาจอยู่ในรูปของจุลินทรีย์ธรรมชาติ (native microbe) ที่มีประชากรร่วมกัน (mix population) (Atlas 1991, Harayama และคณะ 1996) หรือใช้ microbial mats (Al Hasan และคณะ 1994)

จากวิกฤตการณ์สงครามอ่าวเปอร์เซีย ในปีคริสต์ศักราช 1991 ได้มีน้ำมันดิบไหลลงสู่ทะเลจำนวนมากถึง 8 ล้านบาร์เรล และตามชายฝั่งทะเลพบคราบน้ำมันดิบเป็นระยะทางกว่า 770 กิโลเมตร ซึ่งนำความเสียหายมาสู่สิ่งแวดล้อมบริเวณนั้นเป็นอย่างมาก สิ่งมีชีวิตในบริเวณที่ได้รับผลกระทบบางชนิดอาจไม่สามารถเจริญเติบโตและอยู่รอดได้ ในขณะที่สิ่งมีชีวิตบางชนิดเช่นกันที่สามารถปรับตัวและดำรงชีวิตได้ โดยพบว่าในอีกหลายเดือนถัดมาจะพบกลุ่มสิ่งมีชีวิตหลายชนิดเจริญอยู่ในบริเวณนั้น สาหร่ายและไซยาโนแบคทีเรียซึ่งต้องการแสงในการเจริญเติบโตจะเจริญอยู่ด้านบนของน้ำมัน ในขณะที่แบคทีเรียประเภท heterotrophic จะเจริญอยู่ด้านล่างของน้ำมัน Raghukumar และคณะ (2001) รายงานถึงไซยาโนแบคทีเรียหลายชนิดที่ย่อยน้ำมันดิบได้ และพบว่ามีไซยาโนแบคทีเรีย 3 ชนิด *Oscillatoria salina* Biswas, *Plectonema terebrans* Bornet et Flahault และ *Aphanocapsa* sp. ย่อยน้ำมันดิบได้มากกว่า 40 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ ยังมีรายงานไซยาโนแบคทีเรียที่อยู่ในทะเลหลายชนิดที่สามารถออกซิไดซ์สารประกอบไฮโดรคาร์บอนประเภทอะโรมาติกได้ เช่น *Oscillatoria* sp. strain JCM สามารถออกซิไดซ์แนพทาเลิน (naphthalene) (Cerniglia และคณะ 1980a) และไบฟีนิล (biphenyl) (Cerniglia และคณะ 1980b) ไซยาโนแบคทีเรียทะเลเซลล์เดี่ยว *Agmenellum quadruplicatum* PR-6 สามารถเมตาบอลิซึมฟีนานทรีน (phenanthrene) (Narro และคณะ 1992)

จากการค้นพบข้างต้น พบว่าไซยาโนแบคทีเรียมีข้อได้เปรียบในการกำจัดมลพิษของน้ำมันดิบในทะเลหรือตามชายฝั่ง เนื่องจาก เป็นสิ่งมีชีวิตที่เจริญเติบโต ปรับตัวง่าย สามารถนำมาใช้ได้โดย

ปราศจากการเสริมด้วยสารอาหารอื่นๆ บางชนิดยังมีคุณสมบัติตรึงไนโตรเจนจากอากาศได้อีกด้วย ในการนำไฮยาโนแบคทีเรียมาใช้งานยังอาจทำให้อยู่ในรูปของ microbial mat หรือตรึงเซลล์กับวัสดุ ตรึงได้

5.3 การย่อยสลายประกอบอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอนโดยสาหร่าย

นอกจากแบคทีเรียและฟังไจแล้ว สาหร่ายสีเขียวประเภทยูคาริโอตก็เป็นสิ่งมีชีวิตอีกประเภทหนึ่งที่มีการรายงานการย่อยสลาย (biodegradation) หรือเปลี่ยนแปลงโครงสร้าง (biotransformation) ของสารประกอบอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอนได้ ข้อดีในการใช้สาหร่ายสีเขียว คือ สามารถเจริญได้ดีในแหล่งน้ำ เป็นสิ่งมีชีวิตที่มีความสำคัญต่อห่วงโซ่อาหารในแหล่งน้ำ โดยสามารถผลิตสารประกอบคาร์บอนและไนโตรเจนที่พืชหรือสัตว์สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ นอกจากนี้ สาหร่ายสีเขียวบางชนิดยังสามารถใช้เป็นอินดิเคเตอร์ของมลพิษทางสิ่งแวดล้อมและเป็นตัวทดสอบความเป็นพิษได้อีกด้วย (Nyholm และ Källquist 1989)

ในการศึกษาการย่อยสลายไฮโดรคาร์บอนที่ก่อมลพิษโดยสาหร่ายนั้น จะต้องเริ่มจากการทำให้เซลล์สาหร่ายเจริญได้ในสภาวะมลพิษนั้นๆ ก่อน (Semple และคณะ 1999) สาหร่ายบางชนิดสามารถนำคาร์บอนในสารประกอบไปใช้เป็นแหล่งคาร์บอนได้และนำไปสู่การเจริญเติบโตแบบเฮเทอโรโทฟิก ในบรรดาสารประกอบอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอน มีรายงานการศึกษาการย่อยสลายสารประกอบอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอนประเภทโพลีไซคลิก (polycyclic aromatic hydrocarbon, PAH) โดยใช้แบคทีเรีย ฟังไจและสาหร่ายเป็นจำนวนมาก สารประกอบอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอนประเภทโพลีไซคลิก คือ สารประกอบไฮโดรคาร์บอนที่ภายในมีโครงสร้างวงแหวนเบนซีน 2 หรือมากกว่า 2 วงเชื่อมต่อกัน (Sims และ Overcash 1983) มีคุณสมบัติไฮโดรโฟบิก ทำให้ละลายน้ำได้น้อย (Cerniglia 1992) โดยหากมีวงแหวนเบนซีนเพิ่มขึ้นจะทำให้มีคุณสมบัติไฮโดรโฟบิกมากขึ้น ทำให้ละลายน้ำได้น้อยลงอีก ตัวอย่างของสารประกอบอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอนประเภทโพลีไซคลิก ได้แก่ ฟีนานทรีน (phenanthrene) และแอนทราซีน (anthracene) ที่มีวงแหวนเบนซีน 3 วง ฟลูออแรนทรีน (fluoranthrene) เบนซแอนทราซีน (benz[a]anthracene) ไพรีน (pyrene) ไครซีน (chrysene) ที่มีวงแหวนเบนซีน 4 วง เบนโซไพรีน (benzo[a]pyrene) ที่มีวงแหวนเบนซีน 5 วง จำนวนวงแหวนและคุณสมบัติของสารประกอบอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอนประเภทโพลีไซคลิกเหล่านี้แสดงดังตารางที่

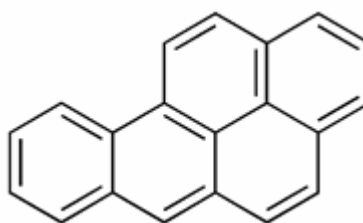
ตารางที่ 5.1 ชนิด โครงสร้างและคุณสมบัติของสารประกอบโพลีไซคลิกอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอน

ที่มา : Juhasz และ Naidu 2000

สารประกอบโพลีไซคลิกอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอน	จำนวนวงแหวน	จุดหลอมเหลว (°C)	จุดเดือด (°C)	การละลาย (มก./ลิตร)
Phenanthrene	3	101	340	1.29
Anthracene	3	216	340	0.07
Fluoranthrene	4	111	250	0.26
Benz[a]anthrene	4	158	400	0.014
Pyrene	4	149	360	0.14
Chrysene	4	255	488	0.002
Benzo[a]pyrene	5	179	496	0.0038
Dibenz[a,h]anthrene	5	262	524	0.0005
Benzo[g,h,i]perylene	6	222	-	0.0003
Indenol[1,2,3-c,d]pyrene	6	163	536	0.062

เบนโซไพรีน (benzo[a]pyrene) หรือเรียกย่อๆ ว่า BaP (รูปที่ 5.1) เป็นสารที่ US Environmental Protection Agency (USEPA) จัดว่าเป็นสารก่อมลพิษอันดับต้นๆ มีพิษเฉียบพลัน (acute toxicity) และจัดว่าเป็นสารก่อมะเร็งที่อันตรายต่อมนุษย์และสัตว์ (Cerniglia 1992) เบนโซไพรีน (benzo[a]pyrene) สามารถพบได้ทั่วไปในธรรมชาติ เกิดจากการเผาป่า เผาไหม้ไม้ เชื้อเพลิง ผลิตภัณฑ์ปิโตรเลียม หรือสารประกอบอินทรีย์ต่างๆ จนในที่สุดมีการสะสมในอากาศ ในดิน ในสิ่งมีชีวิตในทะเล หรือ ในพืชมากขึ้น มีการศึกษาการย่อยสารเบนโซไพรีน (benzo[a]pyrene) โดยสิ่งมีชีวิตประเภทแบคทีเรียและฟังไจเป็นจำนวนมากเมื่อเทียบกับการย่อยสารนี้จากสาหร่าย มีรายงานพบว่าสาหร่ายสีเขียว *Selenastrum capricornutum* สามารถออกซิไดส์สารเบนโซไพรีน (benzo[a]pyrene) ได้ผลผลิตเป็น cis-4,5-, 7,8-, 9,10- และ 11,12-BaP-dihydrodiols โดยเอนไซม์

ไดออกซีจีเนส (Lindquist และ Warshawsky 1985, Warshawsky และคณะ 1988) นอกจากสารเบนโซไพรีนแล้ว ยังมีสารประกอบอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอนชนิดอื่น เช่น แนพทาซีน และ ฟีนานทรีน ที่ถูกย่อยสลายด้วยไซยาโนแบคทีเรียและสาหร่ายได้ สาหร่ายที่สามารถย่อยแนพทาซีน ได้แก่ *Oscillatoria* sp., *Microcoleus chthonoplastes*, *Nostoc* sp., *Anabaena* sp., *Agmenellum quadruplicatum*, *Coccochloris elebens*, *Aphanocapsa* sp., *Chlorella sorokiniana*, *Chlorella autotrophica*, *Dunaliella tertiolecta*, *Chlamydomonas angulosa*, *Ulva fasciata*, *Cylindrotheca* sp., *Amphora* sp., *Nitzschia* sp., *Navicula* sp. และ *Porphyridium cruentum* และสาหร่ายที่สามารถย่อยฟีนานทรีน ได้แก่ *Oscillatoria* sp. และ *Agmenellum quadruplicatum* (Juhasz และ Naidu 2000)



รูปที่ 5.1 โครงสร้างของเบนโซไพรีน (benzo[a]pyrene)

เอกสารอ้างอิง

- Al Hasan, R.H., Sorkhoh, N.A., Al Bader, D. and Radwan, S.S. (1994) Utilization of hydrocarbons by cyanobacteria from microbial mats on oily coasts of the Gulf. Appl. Microbiol. Biotechnol., 41; 615-619.
- Atlas R.M. (1991) Microbial hydrocarbon degradation-bioremediation of oil spills. J. Chem. Tech. Biotechnol., 52; 149-156.
- Brindle K. and Stephenson T. (1996) The application of membrane biological reactors for the treatment of wastewaters. Biotechnol. Bioeng., 49; 601-610.
- Cerniglia C.E., Van Baalen C. and Gibson D.T. (1980a) Metabolism of naphthalene by the cyanobacterium *Oscillatoria* sp. strain JCM. J. Gen. Microbiol., 116; 485-494.
- Cerniglia C.E., Van Baalen C. and Gibson D.T. (1980b) Oxidation of A biphenyl by the cyanobacterium *Oscillatoria* sp. strain JCM. Arch. Microbiol., 125; 203-207.

- Cerniglia C.E. (1992) Biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons. *Biodegradation.*, 3; 351-368.
- Chevalier P. and De la Noüe J. (1985) Wastewater nutrient removal with microalgae immobilized in carraggenan. *Enz. Microb. Technol.*, 7; 621-624.
- Debus O. and Wanner O. (1992) Degradation of xylene by a biofilm growing on a gas-permeable membrane. *Wat. Sci. Technol.*, 26(3-4); 607-617.
- De la Noüe J. and Proulx D. (1988) Biological tertiary treatment of urban wastewaters with chitosan-immobilized *Phormidium*. *Appl. Microbiol. Biotech.*, 29; 292-297.
- Harayama S., Venkateswaran K., Toki H., Komukai S., Goto M., Tanaka H. and Ishihara M. (1996) Degradation of crude oil by marine bacteria. *J. Mar. Biotechnol.*, 3; 239-243.
- Hoffman J.P. (1998) Wastewater treatment with suspended and nonsuspended algae. *J. Phycol.*, 34; 757-763.
- Juhasz A.L. and Naidu R. (2000) Bioremediation of high molecular weight polycyclic aromatic hydrocarbons: a review of the microbial degradation of benzo[a]pyrene. *International Biodeterioration & Biodegradation.*, 45; 57-88.
- Kaya V.M., De la Noüe J., Picard G. and Lee Y.K. (1994) A comparative study of four systems for tertiary wastewater treatment by *Scenedesmus bicellularis*: new technology for immobilization. *J. Appl. Phycol.*, 7; 85-95.
- Klug M.J. and Markovetz A.J. (1971) Utilization of aliphatic hydrocarbons by microorganism. *Adv. Microb. Physiol.*, 5; 1-43.
- Kirso U. and Irha N. (1998) Role of algae in fate of carcinogenic polycyclic aromatic hydrocarbons in the aquatic environment. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 41(1); 83-89.
- Kobayashi H. and Rittmann B.F. (1982) Microbial removal of hazardous organic compounds. *Environ. Sci. Technol.*, 16; 170A-183A.
- Leahy J.G. and Cowell R.R. (1990) Microbial degradation of hydrocarbons in the environment. *Microbiol. Rev.*, 54; 305-315.
- Lindquist B. and Warshawsky D. (1985) Identification of the 11,12-dihydro-11,12-dihydroxybenzo(a)pyrene as a major metabolite by the green alga, *Selenastrum capricornutum*. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 152; 540-544.

- Narro M.L., Cerniglia C.E., Van Baalen C. and Gibson D.T. (1992) Metabolism of phenanthrene by the marine cyanobacterium *Agmenellum quadruplicatum* PR-6. *Appl. Environ. Microbiol.*, 58; 1351-1359.
- Nyholm N. and Källquist T. (1989) Methods for growth inhibition toxicity tests with freshwater algae. *Environ. Toxicol. Chem.*, 8; 689-703.
- Pankania M., Stephenson T. and Senmens M.J. (1994) Hollow fiber bioreactor for wastewater treatment using bubbleless membrane aeration. *Wat. Res.*, 28(10); 2233-2236.
- Radwan S.S. and Sorkhoh N.A. (1993) Lipids of n-alkane utilizing microorganisms and their application potential. *Adv. Appl. Microbiol.*, 39; 29-90.
- Raghukumar C., Vipparthy V., David J.J. and Chandramohan D. (2001) Degradation of crude oil by marine cyanobacteria. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 57; 433-436.
- Semple K.T., Cain R.B. and Schmidt S. (1999) Biodegradation of aromatic compounds by microalgae. *FEMS Microbiology Letters.*, 170; 291-300.
- Sims R.C. and Overcash M.R. (1983) Polynuclear aromatic compounds (PNAs) in soil-plant systems. *Residue Rev.*, 88; 1-68.
- Warshawsky D., Adike M., Jayasimhulu K. and Cody T. (1988) Metabolism of benzo(a)pyrene by a dioxygenase system of the fresh green alga *Selenastrum capricornutum*. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 152; 540-544.

บทที่ 6 ปรากฏการณ์เรือนกระจก (Greenhouse gas mitigation)

6.1 การตรึงคาร์บอนไดออกไซด์ (CO₂ fixation)

สาหร่ายจัดเป็นสิ่งมีชีวิตที่มีคุณสมบัติหนึ่งที่เหมือนกับพืชชั้นสูง นั่นคือ สามารถตรึงคาร์บอนไดออกไซด์จากอากาศผ่านกระบวนการสังเคราะห์แสง และได้ผลิตภัณฑ์เป็นน้ำตาลและออกซิเจน จากคุณสมบัติดังกล่าว จะพบว่าพืชและสาหร่ายสามารถนำมาเพาะปลูกเพื่อวัตถุประสงค์ในการลดปริมาณก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่มีอยู่ในชั้นบรรยากาศได้ ทำให้ลดปัญหาโลกร้อน (Global warming) หรือการเกิดปรากฏการณ์เรือนกระจก (Greenhouse gas mitigation) ซึ่งเป็นปัญหาสิ่งแวดล้อมที่สำคัญของโลก การเพาะเลี้ยงสาหร่ายมีข้อได้เปรียบเมื่อเทียบกับการเพาะปลูกพืช กล่าวคือ สาหร่ายสามารถเพาะเลี้ยงได้ในเวลาอันรวดเร็วเมื่อเทียบกับการเพาะปลูกพืช นอกจากนี้ ยังได้มีการเพาะเลี้ยงสาหร่ายเศรษฐกิจในประเทศต่างๆ ทั่วโลกเพื่อใช้เป็นอาหารสัตว์ อาหารเสริมสุขภาพ ตลอดจนผลิตยาต่างๆ ด้วยเหตุนี้ จึงได้มีนักวิจัยจำนวนมากให้ความสนใจในการนำเอาแสงอาทิตย์ที่มีอยู่อย่างไม่จำกัดมาใช้เป็นแหล่งพลังงาน และนำเอาก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์มาใช้เป็นแหล่งคาร์บอนเพื่อสร้างมวลชีวภาพของสาหร่าย พร้อมกันกับการนำมวลชีวภาพเหล่านี้ไปใช้ประโยชน์ในการสร้างผลิตภัณฑ์ทางการค้าหลากหลายชนิด อาทิ เช่น เชื้อเพลิง มีเทน เอทานอล ไบโอดีเซล น้ำมัน ไฮโดรเจน หรืออาจนำไปใช้ทางเกษตรกรรม เป็นปุ๋ยชีวภาพ เป็นอาหารของมนุษย์และสัตว์ เป็นต้น นอกจากนี้จะเป็นการสร้างมวลชีวภาพของสาหร่ายแล้ว ยังนำไปสู่การแก้ไขและลดปัญหาสิ่งแวดล้อมที่เกิดจากมลพิษของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์อีกด้วย

ในปี ค.ศ. 1990 รัฐบาลประเทศญี่ปุ่นได้เล็งเห็นความสำคัญของการนำสาหร่ายมาใช้ในการตรึงคาร์บอนไดออกไซด์ โดยได้จัดตั้งหน่วยงานวิจัย Research Institute of Innovative Technology for the Earth (RITE) ภายใต้การดูแลของกระทรวงการค้าและอุตสาหกรรมระหว่างประเทศ (Ministry of International Trade and Industry (MITI)) และรวบรวมนักวิจัยมากกว่า 150 ท่านจากหน่วยงานและบริษัทต่างๆ มาวิจัยร่วมกันเพื่อให้บรรลุวัตถุประสงค์ในการนำสาหร่ายมาใช้ตรึงคาร์บอนไดออกไซด์และให้ได้ประสิทธิภาพสูงกว่าการตรึงคาร์บอนไดออกไซด์ของต้นไม้ถึง 10 เท่า โดยเริ่มจากการวิจัยคัดแยกและพัฒนาสายพันธุ์ของแบคทีเรียสังเคราะห์แสง (Photosynthetic bacteria) และจุลสาหร่าย (Microalgae) ให้มีประสิทธิภาพในการตรึงคาร์บอนไดออกไซด์หรือทำให้เกิดกระบวนการสังเคราะห์แสงมากขึ้น หลังจากนั้นจึงทำการวิจัยนำสาหร่ายที่คัดเลือกมาทำการเพาะเลี้ยงและขยายขนาดระบบการเพาะเลี้ยงในถังหมักชีวภาพ ตลอดจนศึกษาการนำมวลชีวภาพของสาหร่ายไปใช้ประโยชน์ ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่นำมาให้สาหร่ายตรึงอาจได้มาจากการ

ปลดปล่อยของโรงงานอุตสาหกรรม เนื่องจากมีปริมาณมากและยังช่วยลดมลภาวะทางอากาศได้อีกด้วย (Usui and Ikenouchi 1997)

6.2 การเพาะเลี้ยงสาหร่ายชนิดต่างๆ เพื่อตรึงคาร์บอนไดออกไซด์

สาหร่ายที่มีการศึกษาและวิจัยการตรึงคาร์บอนไดออกไซด์มีหลายชนิด แต่ในที่นี้จะขอกกล่าวเพียง 2 ชนิด เนื่องจากสาหร่ายทั้งสองชนิดนี้มีการเพาะเลี้ยงในประเทศไทย และเป็นสาหร่ายเศรษฐกิจที่รู้จักกันเป็นอย่างดี

6.2.1 สาหร่าย *Spirulina* sp.

สาหร่าย *Spirulina* sp. หรือสาหร่ายเกลียวทองเป็นสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินหรือไซยาโนแบคทีเรีย มีรูปร่างขดเป็นเกลียว ไม่สร้างเฮเทอโรซิสต์ เจริญเติบโตอย่างรวดเร็วและสามารถปรับตัวได้ดีในสภาวะแวดล้อมต่างๆ สาหร่าย *Spirulina* sp. จัดว่าเป็นสาหร่ายเศรษฐกิจ เนื่องจากมีคุณค่าทางอาหารสูง ประกอบด้วยโปรตีนประมาณ 55-77 เปอร์เซ็นต์ ไขมัน 11-16.6 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีกรดไขมันแกมมาลิโนเลอิกในปริมาณสูง ปัจจุบันได้มีการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Spirulina* sp. ในประเทศไทยอย่างแพร่หลายเพื่อใช้เป็นอาหารเสริมสุขภาพ และอาหารสัตว์

ในการเพาะเลี้ยง มักจะนิยมเพาะเลี้ยงในบ่อเปิด ทำให้สามารถตรึงคาร์บอนไดออกไซด์จากบรรยากาศได้ในปริมาณมากและได้มวลชีวภาพในปริมาณสูง หากแต่การเพาะเลี้ยงในบ่อเปิดมีข้อเสียคือใช้พื้นที่ในการเลี้ยงมาก การควบคุมสภาวะการเพาะเลี้ยงได้ยาก มีการระเหยของอาหารเลี้ยงเชื้อและก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่นำมาใช้ตรึงมีความเข้มข้นต่ำเมื่อเทียบกับจากโรงงานอุตสาหกรรม นักวิจัยหลายท่านจึงได้ให้ความสนใจในการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Spirulina* sp. ในถังหมักทางชีวภาพที่ใช้แสง (photobioreactor) โดยส่วนใหญ่จะออกแบบเป็นท่อขดไปมา Watanabe และ Hall (1995, 1996) ได้ทดลองออกแบบถังหมักชีวภาพ 2 แบบ เพื่อใช้ในการเพาะเลี้ยง *Spirulina platensis* สำหรับเพิ่มประสิทธิภาพในการตรึงคาร์บอนไดออกไซด์จากกระบวนการสังเคราะห์แสง ชนิดแรกเป็นถังหมักชีวภาพที่มีรูปร่างเป็นท่อเกลียวขดเป็นทรงกระบอก (cylindrical-shaped helical tubular photobioreactor) เรียกชื่อว่า "Biocoil" ซึ่งได้รับการออกแบบและจดลิขสิทธิ์โดยบริษัท Biotechna Graesser A.P. (London UK) เมื่อเพาะเลี้ยงสาหร่าย *S. platensis* ในถังหมักชนิดนี้จะได้มวลชีวภาพสูงถึง 30.2 กรัม/น้ำหนักแห้งต่อตารางเมตรต่อวัน โดยมีประสิทธิภาพการสังเคราะห์แสงต่อวัน (PAR) สูงสุด 5.45 เปอร์เซ็นต์ (Watanabe and Hall 1995) ชนิดที่สองเป็นถังหมักชีวภาพที่มีรูปร่างเป็นท่อเกลียวขดเป็นรูปโคน (conical-shaped helical tubular photobioreactor) เมื่อเพาะเลี้ยงสาหร่าย *S. platensis* ในถังหมักชนิดนี้จะได้มวลชีวภาพ

0.51 กรัม/น้ำหนักแห้งต่อลิตรต่อวัน โดยมีประสิทธิภาพการสังเคราะห์แสงต่อวัน (PAR) สูงสุด 6.83 เปอร์เซ็นต์ (Watanabe และ Hall 1996)

6.2.2 สาหร่าย *Chlorella* sp.

สาหร่าย *Chlorella* sp. จัดเป็นสาหร่ายสีเขียวเซลล์เดี่ยว มีผนังเซลล์หนาและแข็ง ในระยะเวลาหลายสิบปีที่ผ่านมา ได้มีการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Chlorella* sp. ขึ้นในระดับอุตสาหกรรมเพื่อใช้เป็นอาหารเสริมสุขภาพ เนื่องจากประกอบด้วยโปรตีนในปริมาณสูง นอกจากนี้ ยังมีเบต้าแคโรทีนและ growth factor ที่ช่วยเร่งการเจริญเติบโตอีกด้วย

Watanabe และคณะ (1992) ได้ทดลองคัดแยกสายพันธุ์สาหร่าย *Chlorella* sp. จากน้ำข้าว และได้สาหร่าย *Chlorella* sp. HA-1 ที่มีความสามารถในการทนคาร์บอนไดออกไซด์ได้ในปริมาณสูง โดยปกติการเจริญเติบโตของสาหร่ายจะลดลง เมื่อความเข้มข้นของคาร์บอนไดออกไซด์มากกว่า 5 เปอร์เซ็นต์ (Lee และ Tay 1991, Silva และ Pirt 1984) แต่สาหร่าย *Chlorella* sp. HA-1 มีการเจริญเติบโตสูงสุดเมื่อให้คาร์บอนไดออกไซด์ที่มีความเข้มข้น 5 และ 10 เปอร์เซ็นต์ และอัตราการเจริญจะลดลงเมื่อความเข้มข้นมากกว่า 10 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ สาหร่ายสายพันธุ์นี้ยังมีข้อได้เปรียบ คือ สามารถทนและตอบสนองต่อการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิและค่าความเป็นกรดต่างได้ในช่วงกว้างๆ

การตรึงคาร์บอนไดออกไซด์ของสาหร่าย *Chlorella* sp. ในถังหมักทางชีวภาพที่ใช้แสงได้มีการศึกษาในสาหร่าย *Chlorella* sp. UK001 ซึ่งมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 4 ไมโครเมตร สามารถเจริญเติบโตได้ในบรรยากาศที่มีก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 0.03 ถึง 40 เปอร์เซ็นต์ อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญ คือ 30 องศาเซลเซียส และค่าความเป็นกรด-ด่างที่เหมาะสม คือ 5.5 ถึง 6.0 จากการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Chlorella* sp. UK001 แบบกะ (batch culture) เป็นเวลา 200 ชั่วโมง พบว่า มีอัตราการตรึงคาร์บอนไดออกไซด์ระหว่างการเพาะเลี้ยง 31.8 มิลลิกรัมคาร์บอนไดออกไซด์ต่อลูกบาศก์เดซิเมตรต่อวัน และมีประสิทธิภาพการเปลี่ยนพลังงานเป็นมวลชีวภาพเท่ากับ 4.3 เปอร์เซ็นต์ (Hirata และคณะ 1996) อย่างไรก็ตาม ยังพบปัญหาข้อจำกัดของความเข้มแสงจากแสงอาทิตย์สำหรับการเพาะเลี้ยง ในระยะต่อมา ได้มีการพัฒนาการออกแบบถังหมักทางชีวภาพที่ใช้แสงสำหรับเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Chlorella* sp. UK001 ในหลายลักษณะ แต่ถังหมักที่เหมาะสมมีทั้งสิ้น 3 แบบ คือ แบบเพลทแบน (flat-plate type) แบบกวน (stirrer type) และ แบบน้ำพุ (fountain type) (Usui และ Ikenouchi 1997)

ในปี ค.ศ. 1998 Sung และคณะได้ทำการคัดแยกสาหร่าย *Chlorella* sp. ที่ทนคาร์บอนไดออกไซด์ได้ในปริมาณสูง และตั้งชื่อว่าสาหร่าย *Chlorella* sp. KR-1 จากการศึกษการตรึงคาร์บอนไดออกไซด์ พบว่า สาหร่าย *Chlorella* sp. KR-1 มีอัตราการเจริญสูงสุดเมื่อใช้

คาร์บอนไดออกไซด์ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ และสามารถเจริญเติบโตและทนต่อคาร์บอนไดออกไซด์ได้สูงถึง 50 เปอร์เซ็นต์ (Sung และคณะ 1999) ดังนั้น สาหร่าย *Chlorella* sp. KR-1 สายพันธุ์นี้จึงเป็นสายพันธุ์ที่เหมาะสมสำหรับการเพาะเลี้ยง เพื่อเพิ่มผลผลิตชีวมวล ภายใต้สภาวะก๊าซที่ปลดปล่อยจากโรงงานอุตสาหกรรมที่มีความเข้มข้นของคาร์บอนไดออกไซด์สูง เนื่องจากสาหร่ายสายพันธุ์นี้ทนความเข้มข้นของคาร์บอนไดออกไซด์ได้ในปริมาณสูง มีอัตราการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็ว ทนต่อการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิและค่าความเป็นกรด-ด่างได้ในช่วงกว้าง

ในประเทศไทยมีการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการใช้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ของสาหร่ายขนาดเล็ก *Chlorella* sp. ที่เลี้ยงในอาหารสูตร NS III ภายใต้สภาวะความเข้มแสง 3,000 ลักซ์ อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ช่วงมืดสลับกับช่วงสว่าง 12 ชั่วโมง พีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อเท่ากับ 6.6 พบว่าอาหารที่มีไนโตรเจน 10 ไมโครโมลต่อลิตรและฟอสฟอรัส 1.69 มิลลิโมลต่อลิตร ทำให้สาหร่ายมีค่าสัมประสิทธิ์การเติบโตสูงสุดเท่ากับ 1.36 ± 0.01 ต่อวัน ประสิทธิภาพการใช้คาร์บอนไดออกไซด์สูงสุดในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีน้ำแข็งแห้ง 5 กรัมต่อลิตร และความสามารถในการเปลี่ยนคาร์บอนไดออกไซด์เป็นมวลสูงสุดในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีน้ำแข็งแห้ง 10 กรัมต่อลิตร (สมรลักษณ์ แจ่มแจ้ง 2542)

ผลิตภัณฑ์ที่สำคัญจากการตรึงคาร์บอนไดออกไซด์ของสาหร่ายผ่านกระบวนการสังเคราะห์แสง คือ มวลชีวภาพของสาหร่าย และสารที่มีคุณค่าทางเศรษฐกิจ เช่น ไฮโดรคาร์บอน ลิพิด คาร์โบไฮเดรต เบต้าแคโรทีน กรดไอโคซะเพนตะอีโนอิก (EPA) สำหรับสารเหล่านี้ จำเป็นต้องมีการศึกษาและพัฒนาเทคนิคการสกัด การทำให้บริสุทธิ์ตลอดจนวิเคราะห์ความคุ้มค่าของการลงทุนด้วย การเพิ่มปริมาณมวลชีวภาพของสาหร่ายที่ได้กล่าวไว้ในบทนี้ คือ การนำสาหร่ายมาเพาะเลี้ยงและให้ตรึงคาร์บอนไดออกไซด์ที่ได้จากโรงงานอุตสาหกรรมหรือโรงงานผลิตไฟฟ้า เมื่อได้มวลชีวภาพสูง ก็จะทำให้มีการศึกษาผลิตภัณฑ์จากสาหร่ายในรูปแบบอื่นๆมากขึ้น อาทิ เช่น พลังงาน ปุ๋ย อาหารสัตว์ พลาสติก ฯลฯ

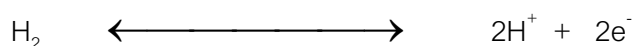
6.3 การใช้สาหร่ายในการผลิตก๊าซไฮโดรเจน (H_2 production)

ในปัจจุบันมีการใช้ทรัพยากรพลังงานอย่างมากทั้งในด้านการผลิตและการบริโภคในทุกประเทศทั่วโลกไม่ว่าจะเป็นพลังงานจากน้ำมัน ถ่านหิน และก๊าซธรรมชาติ พลังงานเหล่านี้เป็นพลังงานที่มีอยู่จำกัด และคาดว่าแหล่งพลังงานดังกล่าวจะหมดไปในระยะเวลาอีกไม่นานนัก การใช้เชื้อเพลิงเหล่านี้ยังทำให้เกิดผลเสียตามมา คือ ก่อให้เกิดปัญหาสิ่งแวดล้อม เนื่องจากการเผาผลาญเชื้อเพลิงเหล่านี้นำไปสู่การเกิดมลพิษ ความร้อน ฝนกรด และภาวะเรือนกระจก ฯลฯ ซึ่งเป็นปัญหากระทบโดยตรงต่อมนุษย์ ด้วยเหตุนี้หน่วยงานต่างๆ ทั่วโลกจึงได้มีความพยายามในการ

ค้นหาและศึกษาพลังงานทดแทน เช่น พลังงานลม พลังงานความร้อนใต้พิภพ น้ำพุร้อน พลังงานในมหาสมุทร พลังงานคลื่นทะเล รวมถึงพลังงานนิวเคลียร์ (ดิสิต เครื่องาม 2540) พลังงานจากก๊าซไฮโดรเจน (H_2) เป็นพลังงานที่ได้รับความสนใจอย่างมากในปัจจุบัน เนื่องจากเมื่อเผาไหม้ก๊าซไฮโดรเจนจะให้พลังงานสูงถึง 120.7 กิโลจูลต่อกรัม และไม่ก่อให้เกิดปัญหามลพิษทางอากาศ นอกจากนี้ ก๊าซไฮโดรเจนยังมีน้ำหนักเบาจึงใช้เป็นพลังงานในการขับเคลื่อนจรวดและยานอวกาศ ในธรรมชาติไฮโดรเจนอยู่ในรูปของสารอินทรีย์และเป็นส่วนประกอบของน้ำ การผลิตไฮโดรเจนมีด้วยกันหลายวิธี ในประเทศสหรัฐอเมริกา ไฮโดรเจนในระดับอุตสาหกรรมส่วนใหญ่ผลิตได้จากกระบวนการสตีร์มีฟอร์มมิง (steam reforming) หรือเป็นผลพลอยได้จากกระบวนการทางปิโตรเลียมและทางเคมี กระบวนการสตีร์มีฟอร์มมิงใช้ความร้อนในการแยกไฮโดรเจนออกจากองค์ประกอบคาร์บอนในมีเทนและเมทานอล โดยขั้นแรกของปฏิกิริยา เชื้อเพลิงถูกสลายไปเป็นไฮโดรเจนและคาร์บอนมอนอกไซด์ ปฏิกิริยาจะดำเนินต่อไปโดยเปลี่ยนคาร์บอนมอนอกไซด์และน้ำให้เป็นคาร์บอนไดออกไซด์และไฮโดรเจน ซึ่งปฏิกิริยาเหล่านี้ต้องใช้อุณหภูมิสูงถึง 392 องศาฟาเรนไฮต์ อีกวิธีหนึ่งที่สามารถใช้ในการผลิตไฮโดรเจนได้คือ การแยกด้วยกระแสไฟฟ้า (electrolysis) โดยที่อุณหภูมิ 77 องศาฟาเรนไฮต์ กระแสไฟฟ้าจะทำให้เกิดการแตกตัวเป็นไฮโดรเจนและออกซิเจน ใช้ค่าศักย์ไฟฟ้าในการสลายพันธะเคมีระหว่างไฮโดรเจนกับออกซิเจน 1.24 โวลต์ และใช้ความดัน 14.7 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว ด้วยเหตุที่วิธีการผลิตพลังงานไฮโดรเจนดังกล่าว ต้องเสียค่าใช้จ่ายสูงและเสี่ยงต่อการระเบิด ทำให้มีการคิดค้นและพัฒนาการผลิตไฮโดรเจนจากสิ่งมีชีวิต (biohydrogen) โดยเฉพาะจากสาหร่ายและไซยาโนแบคทีเรีย ในกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสงของสาหร่ายและไซยาโนแบคทีเรีย พลังงานแสงจะถูกนำไปใช้ในกระบวนการทางไฟฟ้าเคมีของแสง (photoelectrochemical process) และได้ผลผลิตเป็นไฮโดรเจน สภาวะที่เหมาะสมในการผลิตไฮโดรเจนจากกระบวนการนี้จะขึ้นอยู่กับชนิดของสิ่งมีชีวิตนั้นๆ

6.4 ปฏิกิริยาและเอนไซม์ในการผลิตไฮโดรเจนจากสิ่งมีชีวิต

เอนไซม์ไฮโดรจีเนส (hydrogenase : acceptor oxidoreductase, EC 1.12.1.2, 1.12.2.1 และ 1.18.99) เป็นเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการผลิตไฮโดรเจนในสิ่งมีชีวิต โดยทำหน้าที่เร่งปฏิกิริยารีดักชันของโปรตอนไปเป็นไฮโดรเจนและเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันของไฮโดรเจนไปเป็นโปรตอน ดังสมการ



Stephenson และ Stickland (1931) บัญญัติศัพท์ “hydrogenase” ขึ้นเป็นครั้งแรกหลังการค้นพบการเกิดไฮโดรเจนในแบคทีเรียที่ใช้เมทิลีนบลู (methylene blue) เป็นตัวรับอิเล็กตรอน เอนไซม์นี้พบทั่วไปในสิ่งมีชีวิตหลายชนิดทั้งในโปรคาริโอตและยูคาริโอต ซึ่งส่วนใหญ่จะไวต่อออกซิเจนและใช้นิกเกิลในการเร่งปฏิกิริยา

6.5 ชนิดของเอนไซม์ไฮโดรจีเนส

ไฮโดรจีเนสสามารถจำแนกได้ 2 ชนิดตามทิศทางการเกิดปฏิกิริยา ดังนี้

1. อัปเดตไฮโดรจีเนส (uptake hydrogenase) เร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันของโมเลกุลไฮโดรเจนเป็นโปรตอน
2. รีเวอร์สซิเบิลไฮโดรจีเนส (reversible hydrogenase) เร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันของโมเลกุลไฮโดรเจนไปเป็นโปรตอนและปฏิกิริยารีดักชันของโปรตอนไปเป็นโมเลกุลไฮโดรเจน

ในระยะเวลา 20 ปีที่ผ่านมา มีนักวิจัยจำนวนมากศึกษาเอนไซม์ไฮโดรจีเนสจากสิ่งมีชีวิตหลายชนิด เริ่มตั้งแต่แบคทีเรียโบราณเช่นแบคทีเรียที่ผลิตมีเทน (methanogenic bacteria) ได้แก่ *Methanococcus vannielii* และ *Methanococcus voltae* แบคทีเรีย *Escherichia coli* แบคทีเรียที่สามารถรีดิวซ์ซัลเฟต เช่น แบคทีเรียในสกุล *Desulfovibrio* แบคทีเรียที่สามารถออกซิไดซ์ไฮโดรเจน เช่น *Alcaligenes* แบคทีเรียสีม่วง เช่น *Rhodobacter* แบคทีเรียที่สามารถตรึงไนโตรเจนจากอากาศ เช่น *Rhizobium* เอนไซม์นี้ทำหน้าที่เร่งการผลิตและการใช้ไฮโดรเจนในสภาวะที่มีตัวให้อิเล็กตรอนที่เหมาะสม สิ่งมีชีวิตต่างๆ ใช้เอนไซม์ไฮโดรจีเนสในการควบคุมสมดุลของพลังงาน การใช้ไฮโดรเจนโมเลกุลทำให้เซลล์ผลิตตัวรีดิวซ์สำหรับปฏิกิริยาการสร้างสารโมเลกุลใหญ่ หรือใช้ในกระบวนการขนส่งอิเล็กตรอน หรือเพื่อสังเคราะห์สารพลังงาน ATP ในทางตรงกันข้ามการผลิตไฮโดรเจนจากเอนไซม์ไฮโดรจีเนสช่วยกำจัดตัวรีดิวซ์ที่มีมากเกินไป ทั้งนี้เมตาบอลิซึมของไฮโดรเจนยังขึ้นกับชนิดของสิ่งมีชีวิตและชนิดของเอนไซม์

นอกจากนี้ เอนไซม์ไฮโดรจีเนสยังสามารถจำแนกตามองค์ประกอบของโลหะที่มีอยู่ในศูนย์กลางของบริเวณกระตุ้นได้เป็น

1. ไฮโดรจีเนสชนิดนิกเกิล-เหล็ก (NiFe-hydrogenase) ที่มีนิกเกิลและคลัสเตอร์ของเหล็กและ ซัลเฟอร์ (Fe-S clusters) ภายใน
2. ไฮโดรจีเนสชนิดเหล็ก (Fe-hydrogenase) ประกอบด้วยคลัสเตอร์ของเหล็กและซัลเฟอร์เพียงอย่างเดียว
3. ไฮโดรจีเนสชนิดที่ไม่มีโลหะเป็นองค์ประกอบอยู่ในโมเลกุล (Metal-free hydrogenase)

โดยส่วนใหญ่จะพบไฮโดรจีเนสชนิดนิกเกิล-เหล็ก ซึ่งจะมีนิกเกิล 1 อะตอมและเหล็ก 4-40 กรัมอะตอมต่อ 1 โมเลกุลของเอนไซม์ นิกเกิลจำเป็นต่อการกระตุ้นของไฮโดรเจนและจะพบนิกเกิลที่บริเวณเร่งของหน่วยย่อยใหญ่ของเอนไซม์ เอนไซม์ชนิดนี้สามารถใช้ทั้งตัวให้และตัวรับอิเล็กตรอนจากธรรมชาติและที่สังเคราะห์ขึ้นได้ เช่น เมทิลีน บลู สีย้อมไวโอลินเจน เพอร์รีดอกซิน เฟลวินดอกซิน และนิโคตินาไมด์อะดีโนซีนไดนิวคลีโอไทด์ และสามารถอยู่ติดกับเมมเบรน ในไซโตพลาสซึม หรือ ในเพอร์พลาสซึม

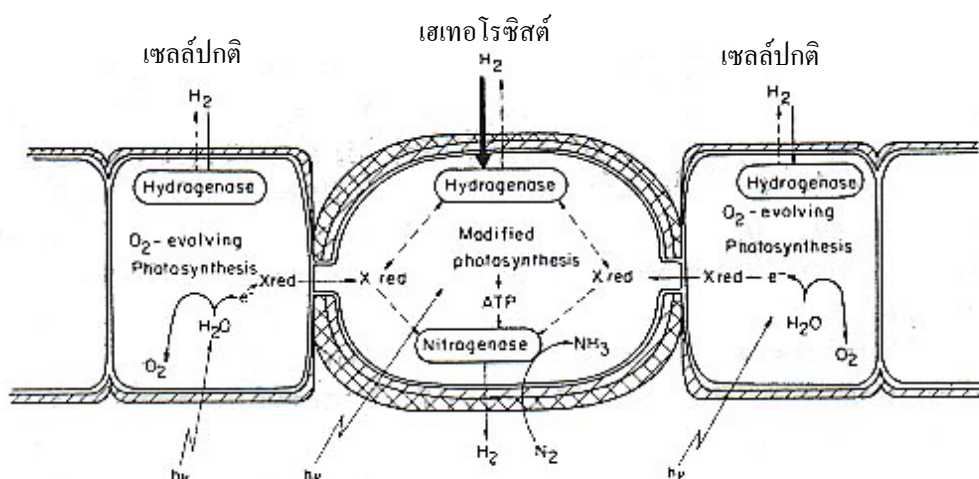
6.6 การผลิตไฮโดรเจนจากสาหร่ายและไซยาโนแบคทีเรีย

ในจำนวนสิ่งมีชีวิตที่กล่าวมาข้างต้น ไซยาโนแบคทีเรียและสาหร่ายสีเขียวมีข้อได้เปรียบในการผลิตไบโอไฮโดรเจนเมื่อเทียบกับสิ่งมีชีวิตอื่น เนื่องจากการนำเอาพลังงานแสงอาทิตย์ที่มีอยู่อย่างไม่จำกัดมาใช้เป็นแหล่งพลังงานผ่านกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสง และได้ผลพลอยได้ในวิถีเป็นพลังงานไฮโดรเจน สิ่งมีชีวิตทั้งสองชนิดไม่เพียงแต่จะผลิตก๊าซไฮโดรเจนหากยังลดมลพิษทางอากาศอีกด้วย แบคทีเรียก็สามารถผลิตไฮโดรเจนได้เช่นกันแต่จำเป็นต้องมีสารอาหารเพื่อใช้สำหรับการเจริญเติบโต เมื่อเร็วๆ นี้ นักวิทยาศาสตร์จากมหาวิทยาลัยแคลิฟอร์เนียและห้องปฏิบัติการพลังงานแห่งชาติของสหรัฐอเมริกา ได้ค้นพบกุญแจสำคัญในการศึกษาการผลิตไฮโดรเจนในสาหร่าย โดยหลังจากเพาะเลี้ยงสาหร่ายในสภาวะปกติให้เจริญเติบโตถึงระดับหนึ่งจึงทำการย้ายไปใส่ในอาหารที่ขาดทั้งซัลเฟอร์และออกซิเจน ทำให้สาหร่ายเปลี่ยนระบบเมตาบอลิซึมภายในไปผลิตไฮโดรเจนแทน หลังจากการผลิตไฮโดรเจนเป็นเวลาหลายวัน นำสาหร่ายมาเลี้ยงในสภาวะอาหารปกติอีกครั้งเพื่อเพิ่มการผลิตและเก็บสะสมพลังงานมากขึ้น ขบวนการนี้สามารถทำได้หลายครั้งและเสียค่าใช้จ่ายไม่มากนัก

สาหร่ายสีเขียวและไซยาโนแบคทีเรียผลิตไฮโดรเจนในปริมาณสูง หากแต่เอนไซม์ไฮโดรจีเนสในสาหร่ายสีเขียวสูญเสียแอกติวิตีอย่างรวดเร็วในสภาวะที่มีออกซิเจน ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์หลักในกระบวนการสังเคราะห์แสงอย่างหลีกเลี่ยงไม่ได้ ทำให้ไม่สามารถสอดคล้องกับความต้องการของมนุษย์ได้ ดังนั้นไซยาโนแบคทีเรียจึงได้รับความสนใจเพิ่มขึ้นในฐานะที่สามารถสังเคราะห์ด้วยแสงได้เช่นกัน และมีเอนไซม์ที่ไวต่อออกซิเจนไม่มากนัก นอกจากนี้ไซยาโนแบคทีเรียมีคุณลักษณะเด่นและแตกต่างจากสิ่งมีชีวิตชนิดอื่นคือ สามารถหายใจแบบใช้ออกซิเจนและสังเคราะห์ด้วยแสงได้ออกซิเจนในออร์กาเนลล์เดียวกัน ไซยาโนแบคทีเรียยังมีระบบการสังเคราะห์ด้วยแสงและการถ่ายทอดอิเล็กตรอนที่คล้ายพืช เอนไซม์ไฮโดรจีเนสในไซยาโนแบคทีเรียมีบทบาทสำคัญในการถ่ายทอดอิเล็กตรอนที่มีมากเกินไปในเซลล์ ได้มีรายงานการศึกษาเมตาบอลิซึมของไฮโดรเจนและไฮโดรจีเนสในไซยาโนแบคทีเรีย (Kerfin และ Böger 1982; Houchins 1984; Boichenko และ

Hoffmann 1994, Schulz 1996, Appel และ Schulz 1998) อีกทั้งมีรายงานการใช้ไบโอไฮโดรเจน (biohydrogen) เป็นแหล่งพลังงานที่ไม่ก่อให้เกิดมลภาวะ (Hall และคณะ 1995; Schulz, 1996)

ในไซยาโนแบคทีเรีย การผลิตไฮโดรเจนจากกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสงสามารถพบได้ทั้งในเฮเทอโรซิสต์และในเซลล์ปกติ โดยเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการผลิตไฮโดรเจน ได้แก่ เอนไซม์ไนโตรจีเนสและเอนไซม์ไฮโดรจีเนส เอนไซม์ไนโตรจีเนสพบในเฮเทอโรซิสต์ทำหน้าที่ตรึงไนโตรเจนจากอากาศเปลี่ยนให้อยู่ในรูปของแอมโมเนีย โดยปฏิกิริยาดังกล่าวต้องอาศัยพลังงาน ATP และรีดิวซิงพาวเวอร์ (reducing power) ซึ่งในระหว่างการตรึงไนโตรเจนจะได้ไฮโดรเจนเกิดขึ้น ไฮโดรจีเนสเป็นเอนไซม์อีกชนิดหนึ่งที่เกี่ยวข้องกับการผลิตไฮโดรเจน โดยเมื่อเกิดกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสงในเซลล์ปกติ จะเกิดกระบวนการขนส่งอิเล็กตรอนจากน้ำไปยังตัวรับอิเล็กตรอนและผ่านเข้าสู่เฮเทอโรซิสต์ จากนั้นอิเล็กตรอนจะถูกส่งต่อไปให้กับเอนไซม์ไฮโดรจีเนส เพื่อทำหน้าที่สร้างไฮโดรเจนต่อไป (รูปที่ 6.1)

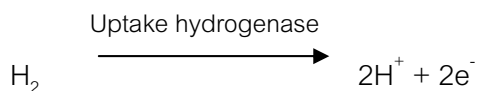


รูปที่ 6.1 การผลิตไฮโดรเจนในไซยาโนแบคทีเรีย

ที่มา : Tel-Or และคณะ 1978

ในไซยาโนแบคทีเรียพบเอนไซม์ไฮโดรจีเนสทั้ง 2 ชนิดข้างต้น คือ uptake และ reversible hydrogenase โดย uptake hydrogenase พบเฉพาะในไซยาโนแบคทีเรียที่ตรึงไนโตรเจน หรือที่มีเฮเทอโรซิสต์ (heterocyst) และไซยาโนแบคทีเรียเซลล์เดียวที่ไม่ตรึงไนโตรเจน *Anacystis nidulans* (Peschek 1979a, 1979b) เอนไซม์อัฟเทคไฮโดรจีเนสอาจเรียกอีกชื่อหนึ่งว่า membrane-bound hydrogenase เนื่องจากเป็นเอนไซม์ที่พบในไซโตพลาสซึมเมมเบรน (cytoplasmic membrane) หรือในไทลาคอยด์เมมเบรน (thylakoid membrane) ของเฮเทอโรซิสต์ (Appel และ Schulz 1998, Eisbrenner และคณะ 1978) เอนไซม์อัฟเทคไฮโดรจีเนสทำหน้าที่เร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันของ

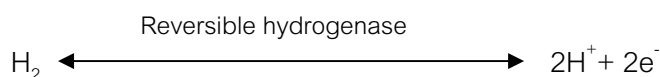
โมเลกุลไฮโดรเจนไปเป็นโปรตอน ดังสมการ



เอนไซม์อัฟเทคไฮโดรจีเนส สามารถพบในไซยาโนแบคทีเรียที่สามารถตรึงไนโตรเจนได้ทุกชนิด (Houchins 1984) รวมถึงไซยาโนแบคทีเรียเซลล์เดี่ยวที่ไม่สามารถตรึงไนโตรเจน *Synechococcus* สายพันธุ์ PCC 6301 (*Anacystis nidulans*) (Peschek 1979a; 1979b; Boison และคณะ 1996; Eisbrenner และคณะ 1978) เนื่องจากเอนไซม์อัฟเทคไฮโดรจีเนสมีหน้าที่หลักที่เกี่ยวข้องกับการสลายไฮโดรเจน ซึ่งไฮโดรเจนเป็นผลผลิตที่ได้จากกระบวนการตรึงไนโตรเจนที่เกิดขึ้นภายในเฮเทอโรซิสต์จากการทำงานของเอนไซม์ไนโตรจีเนส ดังนั้นไซยาโนแบคทีเรียที่มีลักษณะเป็นเส้นสายและสร้างเฮเทอโรซิสต์ได้ จึงได้รับความสนใจนำมาศึกษาเอนไซม์อัฟเทคไฮโดรจีเนส (Houchins 1984, Lambert และ Smith 1980, Oxelfelt และคณะ 1995) โดยสามารถพบกิจกรรมของเอนไซม์ได้ทั้งในเฮเทอโรซิสต์ (Eisbrenner และคณะ 1978) และในเซลล์ปกติ (Houchins และ Burris 1981a, Lindblad และ Sellstedt 1990, Rai และคณะ 1992) ระดับกิจกรรมของเอนไซม์ขึ้นอยู่กับสถานะที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงและความถี่ในการเกิดเฮเทอโรซิสต์ (Tamagnini และคณะ 2002) นอกจากนี้ยังมีการศึกษาพบว่าปัจจัยภายนอกได้แก่ แสง นิกเกิล ไฮโดรเจน และสารอินทรีย์คาร์บอนมีผลต่อปฏิกิริยาการสลายไฮโดรเจน (Oxelfelt และคณะ 1995) โดยมีการศึกษาเปรียบเทียบกิจกรรมของเอนไซม์อัฟเทคไฮโดรจีเนสใน *Anabaena* sp. และ *Nostoc* sp. ที่เลี้ยงภายใต้สภาวะที่ให้อากาศปกติกับสภาวะอากาศที่มีการเติมไฮโดรเจน 4 ถึง 20 เปอร์เซ็นต์ พบว่ากิจกรรมของเอนไซม์ในเชื้อที่เลี้ยงภายใต้สภาวะที่มีไฮโดรเจนในอากาศจะมีสูงกว่าเชื้อที่เลี้ยงภายใต้สภาวะอากาศปกติ (Eisbrenner และคณะ 1978) ใน *Anabaena variabilis* ATCC 29413 มีการศึกษาพบว่าการเติมไฮโดรเจนและสารอินทรีย์คาร์บอนมีผลเพียงเล็กน้อยต่อการสลายไฮโดรเจนภายในเซลล์ปกติที่อยู่ในระหว่างการเปลี่ยนแปลงไปเป็นเฮเทอโรซิสต์ (Troshina และคณะ 1996) และจากงานวิจัยของ Zhang และคณะ (1984) ที่ศึกษาผลของนิกเกิลต่อการสลายไฮโดรเจนใน *Anabaena* สายพันธุ์ CA และ 1F พบว่าการเกิดกิจกรรมของเอนไซม์อัฟเทคไฮโดรจีเนสขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของนิกเกิลที่เติมลงไปในการเลี้ยง ซึ่งนอกเหนือจาก *Anabaena* แล้วยังมีรายงานอื่นที่ยืนยันว่าในไซยาโนแบคทีเรียสายพันธุ์อื่นๆ อีกหลายสายพันธุ์ที่กิจกรรมของการสลายไฮโดรเจนขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของนิกเกิลที่เติมลงในอาหารเลี้ยงเชื้อเช่นเดียวกัน (Daday และคณะ 1985, Oxelfelt และคณะ 1995)

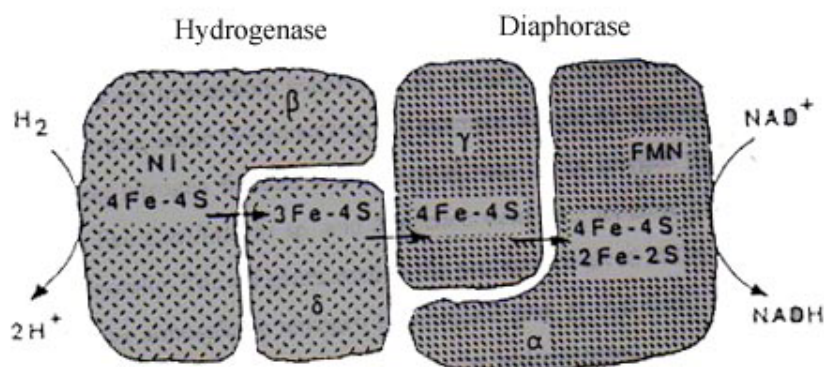
การศึกษาลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีนแอฟเทคไฮโดรจีเนส เริ่มต้นโดย Carrasco และคณะ (1995) ได้อธิบายการจัดเรียงดีเอ็นเอของยีนแอฟเทคไฮโดรจีเนสหน่วยย่อยใหญ่ใน *Anabaena* สายพันธุ์ PCC 7120 ในช่วงที่มีการเปลี่ยนแปลงจากเซลล์ปกติไปเป็นเฮเทอโรซิสต์ และต่อมาได้มีการศึกษาลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีนแอฟเทคไฮโดรจีเนสทั้งหน่วยย่อยเล็ก (*hupS*) และหน่วยย่อยใหญ่ (*hupL*) ใน *Anabaena* สายพันธุ์ PCC 7120 *Nostoc* สายพันธุ์ PCC 73102 (Oxelfelt และคณะ 1998) และ *Anabaena variabilis* (Happe และคณะ 2000)

ส่วนเอนไซม์ไฮโดรจีเนสชนิดที่สอง เอนไซม์รีเวอร์สซิเบิลไฮโดรจีเนสทำหน้าที่เร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันของโมเลกุลไฮโดรเจนไปเป็นโปรตอนและปฏิกิริยารีดักชันของโปรตอนไปเป็นโมเลกุลไฮโดรเจน ดังสมการ



เอนไซม์รีเวอร์สซิเบิลไฮโดรจีเนส เป็นเอนไซม์ที่พบทั้งในไซยาโนแบคทีเรียที่ตรึงไนโตรเจนและไม่ตรึงไนโตรเจน (Hansel และ Lindblad 1998, Kentemich และคณะ 1989) โดยก่อนหน้านี้มีรายงานการศึกษาพบกิจกรรมของเอนไซม์ชนิดนี้ในไซยาโนแบคทีเรียเซลล์เดี่ยว เช่น *Synechocystis* sp. และ *Synechococcus* sp. (Frenkel และคณะ 1950) ไซยาโนแบคทีเรียที่มีลักษณะเป็นเส้นสาย เช่น *Spirulina maxima* (Llama และคณะ 1979) และ *Oscillatoria* sp. (Belkin และ Paden, 1978; Lambert และ Smith, 1980) รวมถึงไซยาโนแบคทีเรียที่สร้างเฮเทอโรซิสต์ *Anabaena* sp., *Nostoc* sp. และ *Mastigocladus* sp. (Tel-Or และคณะ 1978, Lambert and Smith 1980, Houchins และ Burris 1981a, 1981b) เมื่อศึกษาคุณลักษณะของเอนไซม์รีเวอร์สซิเบิลไฮโดรจีเนสเทียบกับเอนไซม์แอฟเทคไฮโดรจีเนส พบว่าเอนไซม์รีเวอร์สซิเบิลไฮโดรจีเนสมีความไวต่อออกซิเจนและคาร์บอนมอนอกไซด์มากกว่าเอนไซม์แอฟเทคไฮโดรจีเนส แต่ทนความร้อนได้ดีกว่าเอนไซม์แอฟเทคไฮโดรจีเนส (Houchins 1984) กิจกรรมของเอนไซม์รีเวอร์สซิเบิลไฮโดรจีเนสในไซยาโนแบคทีเรียที่สร้างเฮเทอโรซิสต์จะเพิ่มขึ้นอย่างเห็นได้ชัดในสภาวะที่ไม่มีอากาศ (anaerobic condition) เอนไซม์รีเวอร์สซิเบิลไฮโดรจีเนสทำงานได้โดยอาศัยหน่วยย่อยของโปรตีน 4 หน่วยย่อยที่แตกต่างกัน (heterotetrameric enzyme) มารวมกัน โดยที่สองหน่วยย่อยรวมกันเรียกว่าไฮโดรจีเนส (hydrogenase) และอีกสองหน่วยย่อยที่เหลือรวมเรียกว่า ไดอะฟอเรส (diaphorase) (รูปที่ 5.2) หน่วยย่อยของไฮโดรจีเนส δ และ β ถูกถอดและแปลรหัสมาจากยีน *hoxY* และ *hoxH* ตามลำดับ (*hox* มาจาก *hydrogen oxidation*) ส่วนหน่วยย่อยของไดอะฟอเรส α และ γ ถูกถอดและแปล

รหัสมาจากยีน *hoxF* และ *hoxU* โดยทั้งสองส่วนทำหน้าที่ช่วยในการขนส่งอิเล็กตรอนไปยัง NAD^+ หรือ NAD(P)^+



รูปที่ 6.2 แบบจำลองโครงสร้างและการทำงานของเอนไซม์รีเวอร์สซิเบิลไฮโดรจีเนสใน *Alcaligenes eutrophus*

ที่มา : Friedrich และ Schwartz, 1993

จนกระทั่งปัจจุบัน มีรายงานลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีนรีเวอร์สซิเบิลไฮโดรจีเนสในไซยาโนแบคทีเรีย *Anabaena cylindrica* (Ewart และคณะ 1989) *A. variabilis* ATCC 29413 (Schmitz และคณะ 1995) *Synechocystis* สายพันธุ์ PCC 6803 (Appel และ Schulz 1996) และ *A. nidulans* (Boison และคณะ 1996) เมื่อเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีนรีเวอร์สซิเบิลไฮโดรจีเนสของไซยาโนแบคทีเรียกับแบคทีเรียอื่นๆ พบว่ามีลำดับนิวคลีโอไทด์คล้ายคลึงกับลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน NAD^+ -reducing hydrogenase ของ *Alcaligenes eutrophus* และยีน methylviologen-reducing hydrogenase ของ *Methanococcus voltae* (Schmitz และคณะ 1995) เป็นที่น่าสนใจว่า นอกจากยีน *hoxFUYH* แล้ว ยังมีการพบยีน *hoxE* ในไซยาโนแบคทีเรีย *Synechocystis* สายพันธุ์ PCC 6803 และ *Anacystis nidulans* อีกด้วย ยีน *hoxE* สามารถถอดและแปลรหัสเป็นโปรตีนที่ทำงานเกี่ยวข้องกับการขนส่งอิเล็กตรอนไปยังไดอะฟอรัส ดังนั้นจึงจัดยีน *hoxE* เป็นส่วนหนึ่งในกลุ่มของยีน *hox* กลุ่มของยีนรีเวอร์สซิเบิลไฮโดรจีเนสของ *A. variabilis* และ *Synechocystis* สายพันธุ์ PCC 6803 มียีน *hoxFUYH* ที่เรียงต่อกันและแทรกด้วย open reading frame สำหรับ *A. nidulans* ยีน *hoxEF* จะแยกจากยีน *hoxUYH* เป็นระยะทางถึง 16 กิโลเบส ทำให้การถอดรหัสของยีน *hoxEF* แยกจากการถอดรหัสของยีน *hoxUYH* (Boison และคณะ 1998) การศึกษาเปรียบเทียบลำดับกรดอะมิโนที่แปลมาจากยีนของเอนไซม์รีเวอร์สซิเบิลไฮโดรจีเนสใน *A. variabilis* ATCC 29413, *Anabaena* สายพันธุ์ PCC 7120, *A. nidulans* และ *Synechocystis* สายพันธุ์ PCC 6803 พบว่าระหว่าง *Anabaena* ด้วยกันจะมีลำดับกรดอะมิโน

คล้ายคลึงกันถึง 95 เปอร์เซ็นต์ และ *Anabaena* ทั้งสองชนิดจะมีความคล้ายคลึงของกรดอะมิโน 58 ถึง 71 เปอร์เซ็นต์เมื่อเปรียบเทียบกับไซยาโนแบคทีเรียชนิดอื่น (Tamagnini และคณะ 2002)

งานวิจัยที่ศึกษาในขณะนี้ส่วนใหญ่เป็นงานวิจัยขั้นพื้นฐานเพื่อศึกษาเมตาบอลิซึมในการผลิตไฮโดรเจนจากไซยาโนแบคทีเรีย ด้วยความหวังที่จะใช้เป็นแนวทางเริ่มต้นในการพัฒนาสายพันธุ์ด้วยเทคนิคทางพันธุวิศวกรรมและนำไปสู่การเพาะเลี้ยงเพื่อการผลิตพลังงานไฮโดรเจน สำหรับรองรับและแก้ปัญหาพลังงานที่มีอยู่อย่างจำกัดในอนาคต

6.7 การใช้สาหร่ายในการกำจัด NO_x และ SO_x

ก๊าซที่ทำให้เกิด NO_x และ SO_x คือไนตริกออกไซด์ (NO) และซัลเฟอร์ไดออกไซด์ (SO_2) NO คือออกไซด์ของไนโตรเจนและไนโตรเจนไดออกไซด์ (NO₂) เป็นแหล่งไนโตรเจนได้ มีการศึกษาการกำจัด NO_x , SO_x และ CO_2 โดยใช้ long tubular photobioreactor โดยทีมวิจัยของ Dr. Hiroyasu Nahase มหาวิทยาลัยโอซาก้า ประเทศญี่ปุ่น พบว่าสาหร่ายสามารถกำจัด NO และ CO_2 โดยใช้ long tubular photobioreactor ที่เป็นระบบต่อเนื่อง โดยทำการทดลองโดยใช้สาหร่ายทะเล *Dunaliella teriolecta* ในสภาวะการทดลองที่ให้ออกซิเจนร้อยละ 2 และคาร์บอนไดออกไซด์ร้อยละ 15 แก่สาหร่ายเพื่อการเจริญเติบโตและใส่ NO 300 พีพีเอ็ม เมื่อเริ่มต้นการทดลอง ที่ flow rate 150 มิลลิลิตรต่อนาที ภายใต้สภาวะมืดและสว่างสลับกัน พบว่าสามารถกำจัด NO ได้ 50-60 % และการกำจัดจะลดลงจนถึง 40% ภายหลัง 12 วัน (Nagase และคณะ 1997, Nagase และคณะ 1998, Yoshihara และคณะ 1996)

เอกสารอ้างอิง

- ดุสิต เครื่องาม (2540) แหล่งพลังงานทดแทนและแนวโน้มการนำพลังงานแสงอาทิตย์มาใช้ภายในประเทศ. วารสารพลังงาน. 37:12-15.
- สมรลักษณ์ แจ่มแจ้ง (2542) สภาวะที่เหมาะสมในการใช้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ของสาหร่ายขนาดเล็ก วิทยานิพนธ์สหสาขาวิชาวิทยาศาสตร์สภาวะแวดล้อม จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย 92 หน้า
- Appel J., and Schulz R. (1996) Sequence analysis of an operon of a NAD(P)-reducing nickel hydrogenase from the cyanobacterium *Synechocystis* sp. PCC 6803 gives additional evidence for direct coupling of the enzyme to NAD(P)H-dehydrogenase (complex I). *Biochim. Biophys. Acta.*, 1298; 141-147.

- Appel J., and Schulz R. (1998) Hydrogen metabolism in organisms with oxygenic photosynthesis: hydrogenases as important regulatory devices for a proper redox poising J. Photochem. Photobiol., 47; 1-11.
- Belkin S., and Paden E. (1978) Sulfide dependent hydrogen evolution in the cyanobacterium *Oscillatoria limnetica*. FEBS Lett., 94; 291-294.
- Boichenko V.A., and Hoffmann P. (1994) Photosynthetic hydrogen production in prokaryotes and eukaryotes: occurrence, mechanism and function. Photosynthetica., 30; 527-552.
- Boison G., Schmitz O., Mikheeva L., Shestakov S., and Bothe H. (1996) Cloning, molecular analysis and insertional mutagenesis of the bidirectional hydrogenase genes from the cyanobacterium *Anacystis nidulans*. FEBS Lett., 394; 153-158.
- Boison G., Schmitz O., Schmitz B., and Bothe H. (1998) Unusual gene arrangement of the bidirectional hydrogenase and functional analysis of its diaphorase subunit HoxU in respiration of the unicellular cyanobacterium *Anacystis nidulans*. Curr. Microbiol., 35; 405-452.
- Carrasco C.D., Buettner J.A., and Golden J.W. (1995) Programmed DNA rearrangement of a cyanobacterial *hupL* gene in heterocysts. Proc. Natl. Acad. Sci. USA., 92; 791-795.
- Daday A., Mackerras A.H. and Smith D. (1985) The effect of nickel on hydrogen metabolism and nitrogen fixation in the cyanobacterium *Anabaena cylindrica*. J. Gen. Microbiol., 131; 231-238.
- Eisbrenner G., Distler L. Floener L. and Bothe H. (1978) The occurrence of the hydrogenase in some blue-green algae. Arch. Microbiol., 118; 117-184.
- Ewart G.E., and Smith G.D. (1989) Purification and properties of soluble hydrogenase from the cyanobacterium *Anabaena cylindrica*. Arch. Biochem. Biophys., 268; 327-337.
- Frenkel A., Gaffron H., and Battley E.H. (1950) Photosynthesis and photoreduction by the blue green alga *Synechococcus elongatus*. NÄG. Biol. Bull., 99; 157-162.
- Friedrich B., and Schwartz E. (1993) Molecular biology of hydrogen utilization in aerobic chemolithotrophs. Ann. Rev. Microbiol., 47; 351-383.
- Hall D.O., Markov S.A., Watanabe Y., and Rao K.K. (1995) The potential applications of cyanobacteria photosynthesis for clean technologies. Photosynthesis Res., 46; 159-167.

- Hansel A. and Lindblad P. (1998) Towards optimization of cyanobacteria as biotechnologically relevant producers of molecular hydrogen, a clean and renewable energy source. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 50; 153-160.
- Happe T., Schutz K. and Bohme H. (2000) "Transcriptional and mutational analysis of the uptake hydrogenase of the filamentous cyanobacterium *Anabaena variabilis* ATCC 29413". *Curr. Microbiol.*, 40; 315-321.
- Hirata S., Hayashitani M., Taya M. and Tone S. (1996) Carbon dioxide fixation in batch culture of *Chlorella* sp. Using a photobioreactor with a sunlight-collection device. *Journal of Fermentation and Bioengineering.*, 81(5); 470-472.
- Houchins J.P., and Burris R.H. (1981a) Occurrence and localization of two distinct forms of hydrogenase in the cyanobacterium *Anabaena* sp. 7120. *J. Bacteriol.*, 146; 209-214.
- Houchins J.P., and Burris R.H. (1981b) Comparative characterization of two distinct hydrogenase from *Anabaena* sp. strain 7120. *J. Bacteriol.*, 146; 215-221.
- Houchins J.P. (1984) The physiology and biochemistry of hydrogen metabolism in cyanobacteria. *Biochim. Biophys. Acta.*, 768; 227-255.
- Yoshihara K., Nagase H., Eguchi K., Hirata K. And Miyamoto K. (1996) Biological elimination of nitric oxide and carbon dioxide from flue gas by marine microalga NOA-113 cultivated in a long tubular photobioreactor. *J. Ferment. Bioeng.*, 82;351-354.
- Kentemich T., Bahnweg M., Mayer F., and Bothe H. (1989) Localization of the reversible hydrogenase in cyanobacteria. *Z. Naturforsch.*, 44; 384-391.
- Kerfin W., and Böger P. (1982) Light-induced hydrogen evolution by blue-green algae (cyanobacteria). *Physiol. Plant.*, 54; 93-98.
- Lambert G.R., and Smith G.D. (1980) Hydrogen metabolism by the filamentous cyanobacteria. *Arch. Biochem. Biophys.*, 205; 36-50.
- Lee Y. and Tay H.S. (1991) High CO₂ partial pressure depresses productivity and bioenergetic growth yield of *Chlorella pyrenoidosa* culture. *Applied Phycology.*, 3; 95-101.

- Lindblad P. and Sellstedt A. (1990) Occurrence and localization of an uptake hydrogenase in the filamentous heterocystous cyanobacterium *Nostoc* PCC 73102. *Protoplasma.*, 159; 9-15.
- Llama M.J., Serra J.L., Rao K.K., and Hall D.O. (1979) Isolation and characterization of the hydrogenase activity from the non-heterocystous cyanobacterium *Spirulina maxima*. *FEBS. Lett.*, 98;342-346.
- Nagase H., Yoshihara K., Eguchi K., Yokota Y., Matsui R., Hirata K. and Miyamoto K (1997) characteristics of biological NO_x removal from flue gas in a *Dunaliella tertiolecta* culture system. *J. Ferment. Bioeng.*, 83;461-465.
- Nagase H., Eguchi K., Yoshihara K., Hirata K and Miyamoto K (1998) Improvement of microalgal NO_x removal in bubble column and airlift reactors. *J. Ferment. Bioeng.*, 86; 421-423.
- Oxelfelt F., Tamagmimi P., Salema R., and Lindblad P. (1995) Hydrogen uptake in *Nostoc* strain PCC 73102: Effects of nickel, hydrogen, carbon and nitrogen. *Plant Physiol. Biochem.*, 33; 617-623.
- Oxelfelt F., Tamagnini P., and Lindblad P. (1998) Hydrogen uptake in *Nostoc* sp. strain PCC 73102. Cloning and characterization of a *hupSL* homologue. *Arch. Microbiol.*, 169; 267-274.
- Peschek G.A. (1979a) Anaerobic hydrogenase activity in *Anacystis nidulans*. H₂-dependent photoreduction and related reactions. *Biochim. Biophys. Acta.*, 548; 187-202.
- Peschek G.A. (1979b) Aerobic hydrogenase activity in *Anacystis nidulans*. The oxyhydrogen reaction. *Biochim. Biophys. Acta.*, 548; 203-221
- Rai A. N., Borthakur M., Söderbäck E. and Bergman B. (1992) Immunogold localization of hydrogenase in the cyanobacterial-plant symbioses *Peltigera canina*, *Anthoceros punctatus* and *Gunnera magellanica*. *Symbiosis.*, 12;131-144
- Schmitz O., Boison G., Hilscher R., Hundeshagen B., Zimmer W., Lottspeich F., and Bothe H. (1995) Molecular biological analysis of a bidirectional hydrogenase from cyanobacteria. *Eur.J.Biochem.*, 233; 266-276.

- Schulz R. (1996) Hydrogenases and hydrogen production in eukaryotic organisms and cyanobacteria. *J. Mar. Biotechnol.*, 4; 16-22.
- Silva H.J. and Pirt S.J. (1984) Carbon dioxide inhibition of photosynthetic growth of *Chlorella*. *Journal of General Microbiology.*, 130; 2833-2838.
- Stephenson M., and Stickland L.H. (1931) Hydrogenase: A bacterial enzyme activating molecular hydrogen. I. The properties of the enzyme. *Biochem. J.*, 25; 205-214.
- Sung K.D., Lee J.S., Shin C.S. and Park S.C. (1998) Isolation of a new highly CO₂-tolerant fresh-water microalga *Chlorella* KR-1. *Korean Journal of Chemical Engineering.*, 15(4); 449-450.
- Sung K.D., Lee J.S., Shin C.S., Park S.C. and Choi M.J. (1999) CO₂ fixation by *Chlorella* sp. KR-1 and its cultural characteristics. *Bioresource Technology.*, 68; 269-273.
- Tamagnini P., Axelsson R., Lindberg P., Oxelfelt F. and WÜnschiers R. (2002) Hydrogenase and hydrogen metabolism of cyanobacteria. *Microbiology and Molecular Biology Reviews.*, 66; 1-20.
- Tel-Or E., Luijk L.W., and Packer L. (1978) Hydrogenase in N₂-fixing bacteria. *Arch. Biochem. Biophys.*, 185; 185-194.
- Troshina O. Y., Larissa T. S and Peter L. (1996) Induction of H₂-uptake and nitrogenase activities in the cyanobacterium *Anabaena variabilis* ATCC 29413: effects of hydrogen and organic substrate. *Current Microbiol.*, 33; 11-15.
- Usui N. and Ikenouchi M. (1997) The biological CO₂ fixation and utilization project by RITE(1) –Highly-effective photobioreactor system-. *Energy Conversion and Management* .,38; 487-492.
- Watanabe Y., Ohmura N., Saiki H. (1992) Isolation and determination of cultural characteristics of microalgae which functions under CO₂ enriched atmosphere. *Energy Conversion and Management.*, 33(5-8); 261-267.
- Watanabe Y. and Hall D.O. (1995) Photosynthetic CO₂ fixation technologies using a helical tubular bioreactor incorporating the filamentous cyanobacterium *Spirulina platensis*. *Energy Conversion and Management.*, 36(6-9); 721-724.

- Watanabe Y. and Hall D.O. (1996) Photosynthetic CO₂ conversion technologies using a photobioreactor incorporating microalgae –energy and material balances-. Energy Conversion and Management., 37(6-8); 1321-1326.
- Zhang X., Robert T. and Chase Van B. (1984) Nickel control of hydrogen production and uptake in *Anabaena* sp. strain CA and 1F. J. Gen. Microbiol., 130; 1815-1818.

บทที่ 7 การนำสาหร่ายมาใช้ในการเกษตร

มีการทำวิจัยแพร่หลายในการนำสาหร่ายมาปรับปรุงคุณภาพดินในต่างประเทศ โดยเฉพาะในประเทศจีน ในบริเวณที่มีความแห้งแล้งหรือทะเลทราย

สำหรับเทคโนโลยีสาหร่ายในการเกษตรในประเทศไทย ดร.อาภารัตน์ มหาพันธ์ ได้สรุปไว้เป็นอย่างดีในหนังสือ เทคโนโลยีสาหร่ายกับอนาคตการเกษตรของประเทศไทย

7.1 ประโยชน์ของสาหร่ายด้านการเกษตร

7.1.1 การนำสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินมาผลิตเป็นปุ๋ยชีวภาพ (Biofertilizer from algae)

ประเทศไทยมีการส่งออกข้าวระหว่างปี 2538-2547 และมีปริมาณส่งออกข้าวทุกระดับคุณภาพ 4.17-10 ล้านตัน คิดเป็นมูลค่าประมาณ 50,000-110,000 ล้านบาท โดยประเทศไทยเป็นผู้ส่งออกข้าวอันดับหนึ่งของโลก ซึ่งมีส่วนแบ่งในการตลาดประมาณร้อยละ 30 ของมูลค่าการส่งออกข้าวของโลก ปัญหาสำคัญของการผลิตข้าวคือผลผลิตข้าวต่อไร่ต่ำประมาณ 380 กิโลกรัมต่อไร่ ซึ่งเกิดจากทรัพยากรดินอยู่ในสภาพที่เสื่อมโทรมจึงทำให้มีการนำเข้าและใช้ปุ๋ยเคมีสูงเนื่องจากยังไม่สามารถผลิตใช้เองได้เพราะต้นทุนการผลิตสูง แม่ปุ๋ยจากต่างประเทศที่นำเข้ามาได้แก่ แม่ปุ๋ยที่ให้อาตุไนโตรเจน นำเข้าจากประเทศ ซาอุดีอาระเบียและสหรัฐอเมริกา แม่ปุ๋ยฟอสฟอรัสมีขายทั่วโลก แม่ปุ๋ยโพแทสเซียมนำเข้าจากแคนาดาและเยอรมนี ในปีพ.ศ. 2542 ประเทศไทยมีการนำเข้าปุ๋ยทั้งสิ้น 3.5 ล้านตัน คิดเป็นมูลค่า 17,000 ล้านบาท ในปี 2547 นำเข้าปุ๋ย 3.9 ล้านตันคิดเป็นมูลค่า 33,000 ล้านบาทซึ่งเป็นการสูญเสียเงินมหาศาล (อาภารัตน์)

ในต่างประเทศมีการผลิตปุ๋ยชีวภาพประสิทธิภาพสูงของ Soil Technologies Corporation ในสหรัฐอเมริกา ที่ผลิตและส่งจำหน่ายทั่วโลก และมีการผลิตฮอร์โมนพืชจากสาหร่ายในประเทศจีน ฝรั่งเศส ในระดับอุตสาหกรรม

ในประเทศไทยได้มีการประยุกต์ใช้สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินมาผลิตเป็นปุ๋ยชีวภาพ (Biofertilizer from algae) และใช้เป็นแหล่งอาหารแก่พืชโดยเฉพาะข้าว ในการผลิตปุ๋ยชีวภาพในระดับอุตสาหกรรมนั้นทางสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วว.) ได้ดำเนินการสร้างโรงงานต้นแบบเพื่อการผลิตปุ๋ยชีวภาพจากสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินที่เทคโนโลยี จัหวัดประทุมธานี ทำการผลิตปุ๋ยชีวภาพจากสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินมีชื่อว่า “อัลจีนา” โดยในตัวปุ๋ยนี้ประกอบด้วยสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินที่มีความสามารถในการตรึงไนโตรเจนจากอากาศ คือ *Anabaena* sp., *Calothrix* sp., *Cylindrospermum* sp., *Hapalosiphon* sp., *Nostoc* sp., *Scytonema* sp., และ *Tolypothrix* sp. เป็นต้น รัฐบาลได้มอบหมายให้ วว. ดำเนินการผลิตปุ๋ยชีวภาพให้แก่กระทรวงเกษตรและสหกรณ์เป็นระยะเวลา 5 ปี เริ่มตั้งแต่ปี พ.ศ. 2535 ถึงปี 2539 เพื่อแจกจ่ายให้กับเกษตรกรทั่วประเทศ พร้อมทั้งถ่ายทอดเทคโนโลยีการใช้ปุ๋ยชีวภาพให้กับ

เจ้าหน้าที่ของรัฐ(เกษตรจังหวัด เกษตรกรอำเภอ กำนัน ผู้ใหญ่บ้าน) และเกษตรกร และผลการประเมินการใช้ปุ๋ยชีวภาพพบว่า ปุ๋ยชีวภาพเพิ่มผลผลิตได้จริงในช่วงนาปี 2536-2537 และเกษตรกรในโครงการมีกำไรสุทธิเพิ่มขึ้นร้อยละประมาณ 100 บาท ในช่วงระยะหลังได้มีการส่งเสริมให้มีการใช้ปุ๋ยทั่วประเทศ อันจะทำให้เกษตรกรมีรายได้เพิ่มขึ้นและมีคุณภาพชีวิตที่ดีขึ้น

มีการพัฒนาการผลิตและนำไปใช้ในหลายประเทศ เช่น อินเดีย จีน เวียดนาม บังคลาเทศ และสถาบันวิจัยได้ถ่ายทอดเทคโนโลยีให้แก่บริษัท อัลโกเทค จำกัด เพื่อผลิตและจำหน่ายผลิตภัณฑ์อัลจินัว

สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินมีประโยชน์ต่อดินและพืชดังนี้

1. เพิ่มไนโตรเจนให้กับดิน เนื่องจากสาหร่ายมีความสามารถในการเปลี่ยนก๊าซไนโตรเจนเป็นสารประกอบไนโตรเจนได้ ส่วนหนึ่งจะนำไปสร้างเซลล์และปลดปล่อยบางส่วนออกมาในดินและน้ำรอบๆเซลล์ของสาหร่ายทำให้พืชสามารถดึงไปใช้ได้ง่าย ทำให้พืชเจริญเติบโตได้ดี
2. สาหร่ายจะปลดปล่อยสารจำพวกฮอร์โมนพืชที่สามารถกระตุ้นการเจริญเติบโตของพืช ทำให้ผลผลิตสูงขึ้น
3. สาหร่ายจะปลดปล่อยออกซิเจนออกมาในน้ำที่สาหร่ายเจริญอยู่ในขณะสังเคราะห์แสง ทำให้จุลินทรีย์ที่มีประโยชน์อื่นๆในดินเจริญเติบโตได้ดี สามารถสลายอินทรีย์วัตถุรอบข้างได้อย่างมีประสิทธิภาพ จึงปลดปล่อยธาตุอาหารพืชได้เร็ว
4. เมื่อสาหร่ายขึ้นในดินอย่างหนาแน่นจะทำหน้าที่ยึดเหนี่ยวอนุภาคของดินให้จับกันเป็นโครงสร้าง ทำให้ทนต่อการชะล้างของน้ำฝน และทำให้ดินอุ้มน้ำได้ดี ความร่วนซุยของดินจะทำให้รากพืชชอนไชเจริญเติบโตได้ดี ทำให้การระบายอากาศเป็นไปได้ดีขึ้น

ทีมวิจัยของรศ.ดร.หนึ่ง เตียอำรุง สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ได้ศึกษาความหลากหลายทางชีวภาพและการประยุกต์ใช้ไซยาโนแบคทีเรียเพื่อการเกษตรและสิ่งแวดล้อม ได้มีการศึกษาจำนวนประชากรพลวัตประชากร และระบบนิเวศที่เหมาะสมรวมถึงความหลากหลายทางพันธุกรรมของไซยาโนแบคทีเรียตรึงไนโตรเจนจากตัวอย่างดินในประเทศไทย พื้นที่นา พื้นที่รกร้างว่างเปล่า แปลงผัก พื้นที่ป่าที่เริ่มเปิดป่าในปีที่ 1-2 และพื้นที่เพาะปลูกแล้ว 3 ปี พบว่า ระบบนิเวศที่พบประชากรในกลุ่มไซยาโนแบคทีเรียมากที่สุดในทุกภาคของประเทศ คือ พื้นที่ปลูกพืชไร่สลับข้าว โดยประชากรส่วนใหญ่อยู่ในจีนัส *Anabaena* และ *Nostoc* (Chunleuchanon และคณะ 2003) และมีความหลากหลายทางสปีชีส์มากที่สุดเมื่อทำการทดสอบโดยเทคนิคการผนวกรวม DAF8.7b, DAF10.6e และ STRR-

PCR (Teaumroong และคณะ 2002) และได้มีการนำไซยาโนแบคทีเรียที่มีประสิทธิภาพในการตรึงไนโตรเจนสูง (*Nostoc* sp. strain VICCR1-1) มาประยุกต์ใช้ในกระถางปลูก โดยทำการประเมินการดูดใช้ไนโตรเจนในต้นข้าวโดยใช้ ^{15}N พบว่าในระยะเวลาเจริญเติบโตที่แตกต่างกันจะมีการนำไนโตรเจนไปใช้ในปริมาณไม่เท่ากัน ได้แก่ 29.7%, 35.9% และ 23.6% ในระยะแตกกอ ระยะออกรวง และระยะเก็บเกี่ยว ตามลำดับ ในขณะที่ข้าวจะได้รับไนโตรเจนจากปุ๋ยแอมโมเนียมซัลเฟต 51.8%, 64.8% และ 38.2% ในระยะแตกกอ ระยะออกรวง และระยะเก็บเกี่ยว ตามลำดับ แต่อย่างไรก็ตามไนโตรเจนจากไซยาโนแบคทีเรียจะยังคงเหลืออยู่ในดินหลังจากเก็บเกี่ยวแล้ว 40.2% ส่วนไนโตรเจนจากปุ๋ยเคมีจะมีคงเหลืออยู่ในดินเพียง 4.3% แสดงให้เห็นว่าการใช้ไซยาโนแบคทีเรียจะทำให้มีการสะสมของไนโตรเจนในดินซึ่งเป็นผลดีต่อการเพาะปลูกต่อไป (Chairin และคณะ 2004) นอกจากนี้ได้มีการนำไซยาโนแบคทีเรียดังกล่าวมาปรับปรุงประสิทธิภาพในการตรึงไนโตรเจน โดยการกระตุ้นการสร้างเซลล์พิเศษ ได้แก่ เซลล์เฮเทอโรซิสต์ (heterocyst cell) ซึ่งเป็นเซลล์ที่มีบทบาทในการตรึงไนโตรเจน และเซลล์อะไคเนต (akinet cell) ซึ่งเป็นเซลล์ที่สามารถทนอยู่ในสภาวะไม่เหมาะสมได้ เพื่อประยุกต์ใช้เป็นปุ๋ยชีวภาพในนาข้าวโดยทำในรูป akinete inoculum ใน montmorillonite clay ซึ่งดินดังกล่าวจะยับยั้งการเจริญเติบโตของไซยาโนแบคทีเรีย และสามารถเก็บรักษาไว้ในรูป akinete cells ได้อย่างน้อย 1 ปี เมื่อนำไปใช้ในแปลงทดลองข้าว พบว่าผลผลิตที่ได้ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับการใช้ปุ๋ยเคมีไนโตรเจน (นันทกร และคณะ 2548, Innok 2006) (ยื่นจดสิทธิบัตร เลขที่คำขอ 105617 เมื่อ 28 ต.ค. 2548) แต่ทั้งนี้ยังต้องมีการทดลองใช้ akinete inoculum เพิ่มเติมในพื้นที่ที่มีสภาพภูมิประเทศ ภูมิอากาศ และชนิดของดินที่ต่างกัน เพื่อนำมาประยุกต์ใช้เป็นปุ๋ยชีวภาพอย่างมีประสิทธิภาพอย่างมีประโยชน์สูงสุดในพื้นที่นาต่อไปในอนาคต และได้จดสิทธิบัตร กรรมวิธีการผลิตหัวเชื้ออะไคเนตเซลล์ของไซยาโนแบคทีเรียเพื่อใช้เป็นปุ๋ยชีวภาพ 28 ตุลาคม 2548 เลขที่คำขอ 105617

7.2 การใช้สาหร่ายในการผลิตฮอร์โมนพืช

มีรายงานวิจัยในต่างประเทศพบสาหร่ายหลายกลุ่มสามารถผลิตฮอร์โมนพืชได้ เช่น ไฮโดรไคนิน กรดแอบซิสสิก ออกซิน จิบเบอเรลลิน เอทิลิน เป็นต้น ฮอร์โมนพืชจากจุลสาหร่ายสามารถกระตุ้นการเจริญเติบโตของข้าว และเพิ่มปริมาณวิตามิน ซี ปริมาณไนโตรเจนในพริกหวาน และผักกาดหอม และพืชผักหลายชนิด

7.3 การใช้สารสกัดจากสาหร่ายในการกำจัดแมลงศัตรูพืชและเชื้อรา

7.3.1 สารกำจัดแมลง

งานวิจัยของสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทยนำสารสกัดจากไซยาโนแบคทีเรียมาควบคุมแมลงพบว่า *Hapalosiphon* sp. มีประสิทธิภาพในการควบคุมหนอนกระทู้หอมและหนอนเจาะสมอฝ้ายได้ดี ซึ่งสารออกฤทธิ์ที่สาหร่ายสร้างขึ้นเป็นอัลคาลอยด์ ในกลุ่ม แฮพาลินโดล (hapalindole)

วัชรพร ลือคำหาญ (2544) ศึกษาการผลิตสารกำจัดแมลงศัตรูพืชจากไซยาโนแบคทีเรีย *Hapalosiphon* TISTR 8252 ในบ่อเพาะเลี้ยงกลางแจ้ง พบว่าสารออกฤทธิ์ที่ผลิตในวันที่ 21 ถึง 22 ของการเพาะเลี้ยงสามารถควบคุมหนอนกระทู้หอม (*Spodoptera xigua* (Hubner) วัย 2 ได้ดี โดยมีผลต่อการตายของหนอนคิดเป็นร้อยละ 33-50 พบว่าปริมาณเชื้อเริ่มต้นของไซยาโนแบคทีเรีย 0.06 กรัม/น้ำหนักแห้งต่อลิตรมีความเหมาะสมต่อการเจริญเติบโตและผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพมากที่สุดคิดเทียบเป็นความเข้มข้นกับ gentamicin เท่ากับ 0.27- 0.53 มิลลิกรัมต่อกรัม/น้ำหนักแห้งสาหร่าย

7.3.2 สารกำจัดเชื้อรา

ปัจจุบันมีการนำเข้าสู่สารกำจัดเชื้อราจากต่างประเทศทั้งในรูปแบบเข้มข้นและผลิตภัณฑ์สำเร็จรูป สารกำจัดเชื้อราที่มีการนำเข้ามา มากที่สุดในกลุ่มซัลเฟอร์ รองลงมาคือ คอปเปอร์ออกซีคลอไรด์ และไซเนบ เช่นกันในปัจจุบันมีความสนใจในการนำสารจากธรรมชาติมาใช้ทดแทนมากขึ้น เช่น การนำสารสกัดจากสมุนไพร มาใช้ทดแทน เช่น ขมิ้นเครือ หว้าพล พบว่ายับยั้งเชื้อราได้ดีและไม่มีผลตกค้างในสิ่งแวดล้อม

งานวิจัยของสถาบันวิจัยสิ่งแวดล้อมแห่งประเทศไทย มีการพัฒนาการใช้วิธีทางชีวภาพเข้ามาควบคุมเชื้อราที่เกิดโรคพืชโดยใช้สาหร่ายน้ำจืด สกุล *Anabaena* มาผลิตสารต้านเชื้อรา และ *Lyngbya majuscula* ซึ่งผลิตสาร lyngbyatoxins ซึ่งสามารถต้านเชื้อราได้ และพบว่าสารสกัดจาก *Calothrix* sp. ผลิตสารในกลุ่ม พูไวนาไฟซิน (puwainaphycin) ซึ่งสามารถยับยั้ง แมคโครโฟมินา ฟาซีโอลินา (*Macrothromina phaseolina*) ซึ่งก่อโรคเน่าดำ

สวรส (2540) ศึกษาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากไซยาโนแบคทีเรียเพื่อใช้ในการควบคุมเชื้อราโรคพืช โดยนำสารสกัดจากไซยาโนแบคทีเรีย 11 สกุล 161 สายพันธุ์มาทดสอบกับเชื้อราด้วยวิธี paper disc plate พบว่าไซยาโนแบคทีเรีย 13 สายพันธุ์สามารถยับยั้งเชื้อราได้ โดย *Calothrix* sp. TISTR 8913 มีประสิทธิภาพในการต่อต้านเชื้อรา *Colletotrichum truncatum* ซึ่งเป็นสาเหตุของโรคแอนแทรคโนสของถั่วเหลือง รวมทั้งเชื้อรา *Bipolaris maydis*, *Fusarium oxysporum* และ *Macrothromina phaseolina*

พัชรี ผดุงวงศ์ (2540) ศึกษาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากไชยานินแบคทีเรียเพื่อใช้ในการควบคุมเชื้อราโรคพืช โดยนำสารสกัดจากไชยานินแบคทีเรีย 11 สกุล 165 สายพันธุ์มาทดสอบกับเชื้อราด้วยวิธี paper disc plate พบว่าไชยานินแบคทีเรีย 8 สกุล สามารถยับยั้งเชื้อราได้ โดย *Calothrix* sp. TISTR 8906 มีประสิทธิภาพในการต่อต้าน *Macrophomina phaseolina* ซึ่งเป็นสาเหตุโรคเน่าดำของถั่วเขียว เชื้อรา *Colletotrichum truncatum*, *Bipolaris maydis* และ *Fusarium oxysporum* ได้ดีที่สุด และพบว่าสารสกัดละลายในเมทานอลผสมสารลดแรงตึงผิวเหมาะสมในการยับยั้งเชื้อรา *M. Phaseolina* ที่ติดบนถั่วเขียว และความเข้มข้นของสารสกัดตั้งแต่ 250 ไมโครกรัมต่อเมล็ดสามารถยับยั้งเชื้อราได้ในระดับเดียวกับการใช้สารเคมี mancozeb ที่ความเข้มข้น 200 ไมโครกรัมต่อเมล็ด

7.3 สารกำจัดวัชพืช

ณัฐรา เสนีवास (2543) ศึกษาผลของสารสกัดจากไชยานินแบคทีเรีย *Scytonema* sp. และ *Hapalosiphon* sp. ต่อการเจริญเติบโตของวัชพืชและพืชที่ปลูกบางชนิด พบว่าสารสกัดจาก *Scytonema* sp. และ *Hapalosiphon* sp. ที่สกัดด้วยเมทานอล และทริสไฮโดรคลอริกบัฟเฟอร์ มีผลต่อการงอก การเจริญของยอดและรากของ หญ้ารงนก ไมยราบยักษ์ ถั่วผี และข้าวดอกมะลิ 105 ผักกาดขาวปลี และถั่วเหลือง โดยสารสกัดด้วยน้ำของ *Hapalosiphon* sp. มีผลยับยั้งการงอกของหญ้ารงนกและผักกาดขาวปลี และสารสกัดด้วยน้ำ ของ *Scytonema* sp. ยับยั้งการเจริญของถั่วผี และผักกาดขาวปลี

กลุ่มผู้วิจัยในประเทศไทย

1. กลุ่มวิจัยของ ดร. อารัตน์ มหาจันทร์ สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์แห่งประเทศไทย (วว.)
2. กลุ่มวิจัย รศ. ดร. หนึ่ง เตียอำรุง สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ศึกษาความหลากหลายทางชีวภาพและการประยุกต์ใช้ไชยานินแบคทีเรียเพื่อการเกษตรและสิ่งแวดล้อม

แนวทางการทำวิจัยในอนาคต

การศึกษาเกี่ยวกับเรื่องฮอโมนพืชในสาหร่ายยังมีการทำวิจัยน้อยในประเทศไทย จึงควรมีการทำวิจัยเพิ่มเติมในเรื่องเหล่านี้เพื่อทดแทนการใช้สารเคมีที่จะตกค้างในสิ่งแวดล้อม

การวิจัยเรื่องการผลิตฮอโมนพืชจากสาหร่าย

การศึกษารายการออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่าย เพื่อยับยั้งเชื้อราโรคพืชและด้านอื่นๆ

การศึกษาความหลากหลายทางชีวภาพและการประยุกต์ใช้ไซยาโนแบคทีเรียเพื่อการเกษตรและสิ่งแวดล้อม โดยทดลองใช้ *akinete inoculum* เพิ่มเติมในพื้นที่ที่มีสภาพภูมิประเทศภูมิอากาศ และชนิดของดินที่ต่างกัน เพื่อนำมาประยุกต์ใช้เป็นปุ๋ยชีวภาพอย่างมีประสิทธิภาพในพื้นที่นาต่อไปในอนาคต

เอกสารอ้างอิง

- ณัฐรา เสนีवास (2543) ผลของสารสกัดจากสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินในสกุล *Scytonema* และ *Hapalosiphon* ต่อการเจริญเติบโตของวัชพืชและพืชปลูกบางชนิด (Effects of crude extracts of blue green algae : genus *Scytonema* and *Hapalosiphon* on growth of some weeds and crops) วิทยานิพนธ์ วท.ม. สาขาพฤกษศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ISBN 974-461-030-1
- พัชรี ผดุงวงศ์ (2540) การใช้สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินเพื่อควบคุมเชื้อราโรคพืช (Utilization of bioactive compounds from blue-green algae to control phytopathogenic fungi) วิทยานิพนธ์ วท.ม.สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
- วัชรวิพร ลือคำหาญ (2544) การผลิตสารกำจัดแมลงศัตรูพืชจากสาหร่ายสีน้ำเงินแกมเขียว *Hapalosiphon* sp. TISTR 8252 ในบ่อเพาะเลี้ยง วิทยานิพนธ์มหาบัณฑิต วิทยาศาสตร์ สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ บัณฑิตวิทยาลัย สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
- สรวส ดำริชอบ (2540) การผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน เพื่อใช้ในการควบคุมเชื้อราโรคพืช วิทยานิพนธ์มหาบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีการบริหารสิ่งแวดล้อม บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยมหิดล
- อาภารัตน์ มหำพันธ์ (2548) เทคโนโลยีสาหร่ายกับอนาคตการเกษตรของประเทศไทย ISBN 974-9534-21-2 จัดพิมพ์โดย สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วว.)
- Chairin E., Prasatsrisupab J and Choonluchanon S. (2004) Evaluation of nitrogen uptake by rice from ¹⁵N labeled cyanobacteria. *Biotechnol. Sustain. Util. Resour. Trop.*, 17;195-201.
- Chunleuchanon S., Sooksawang A., Teaumroong N. and Nantakorn B. (2003). Diversity of nitrogen-fixing cyanobacteria under various ecosystems of Thailand: Population dynamics as affected by environmental factors. *World Journal of Microbiology & Biotechnology.*, 19; 167-173.

- Innok S. (2006) Application of DNA techniques to monitor cyanobacterial behaviour in environments. PhD Thesis, Suranaree University of Technology, Thailand.
- Mahakhant A, Tungtanuwat M, Kaya K, Tachibana K. and Arunpairojana V. (1999) Bioactive compounds producing cyanobacterial strains at MIRCEN, TISTR. Proceedings of International conference on Asian Network on Microbial Research (ANMR). Nov 29-Dec 1, 1999. Chiang Mai, Thailand p 95-103.
- Teaumroong N., Innok S., Chunleuchanon S. and Boonkerd N. (2002) Diversity of nitrogen-fixing cyanobacteria under various ecosystems of Thailand: I Morphology, physiology and genetic diversity. World Journal of Microbiology & Biotechnology., 18; 673-682.

สิทธิบัตร

นันทกร บุญเกิด, สมพร ชุณหะวัณ, หนึ่ง เตียอำรุง, รัตนวรรณ เกียรติโกมล และ ศศิธร อินทร์นอก. “กรรมวิธีการผลิตหัวเชื้ออะไคโนทะเลล์ของไซยาโนแบคทีเรียเพื่อใช้เป็นปุ๋ยชีวภาพ” 28 ตุลาคม 2548, เลขที่คำขอ 105617.

วิทยานิพนธ์ที่เกี่ยวข้อง

- ณัฐฐา เสนีवास (2543) ผลของสารสกัดจากสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินในสกุล *Scytonema* และ *Hapalosiphon* ต่อการเจริญเติบโตของวัชพืชและพืชปลูกบางชนิด (Effects of crude extracts of blue green algae : genus *Scytonema* and *Hapalosiphon* on growth of some weeds and crops) วิทยานิพนธ์ วท.ม. สาขาพฤกษศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ISBN 974-461-030-1
- พัชรี ผดุงวงศ์ (2540) การใช้สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินเพื่อควบคุมเชื้อราโรคพืช (Utilization of bioactive compounds from blue-green algae to control phytopathogenic fungi) วิทยานิพนธ์ วท.ม.สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
- วัชรินทร์ ลือคำหาญ (2544) การผลิตสารกำจัดแมลงศัตรูพืชจากสาหร่ายสีน้ำเงินแกมเขียว *Hapalosiphon* sp. TISTR 8252 ในบ่อเพาะเลี้ยง วิทยานิพนธ์มหาบัณฑิต. วิทยาศาสตร์สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ บัณฑิตวิทยาลัย สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

วิทยา น้อยประเทศ (2539) ความสัมพันธ์ระหว่างระดับปุ๋ยฟอสเฟต และสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน ที่มีต่อการเจริญเติบโตของข้าวพันธุ์สุพรรณบุรี 90 (Interaction between phosphate fertilizer levels and blue-green algae on growth of rice (*Oryza sativa* L.) var. SP. 90) วิทยานิพนธ์ วท.ม. สาขาพฤกษศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วนิดา ศรีอินทร์ (2545) ประสิทธิภาพของสารสกัดจากสาหร่ายทะเลบางชนิดในการยับยั้งแบคทีเรีย และการเป็นสารกันเหี่ยว (The efficiency of seaweed extracts as antibacterial and antioxidant activity) วิทยานิพนธ์ วท.ม. สาขาผลิตภัณฑ์ประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
 สวรรศ ดำริชอบ (2540) การผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน เพื่อใช้ในการควบคุมเชื้อราโรคพืช วิทยานิพนธ์มหาบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีการบริหารสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยมหิดล บัณฑิตวิทยาลัย

สมถวิล วัลลิสุต (2531) การศึกษาการแพร่กระจายและคัดเลือกสาหร่ายสีน้ำเงินแกมเขียวที่ตรึงไนโตรเจนได้เพื่อนำมาใช้เป็นปุ๋ยชีวภาพ (A study on distribution and selection of N_2 -fixing blue-green algae for use as biofertilizer) วิทยานิพนธ์ วท.ด. สาขาปฐพีวิทยา มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เอกธิดา ไชยรินทร์ การประเมินการดูดใช้ในโตรเจนโดยต้นข้าวโดยใช้ไนโตรเจน-15 ที่ได้จากสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน.สาขาวิชาปฐพีศาสตร์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

โครงการวิจัยและงานตีพิมพ์ที่เกี่ยวข้อง

ธนุ อุดมพันธ์ (2532) รายงานการวิจัย เรื่อง การสกัดจากสาหร่ายทะเลสกุลกราซิลารีเยเพื่อนำไปเพาะเลี้ยงกล้วยไม้

ปิยาลย์ เหมทานนท์ สถาพร ดิเรกบุษราคม และ วิษณุ บุญญวิวัฒน์ (2547) การใช้สาหร่ายสไปรูลินา (*Spirulina platensis*) ในการป้องกันโรคตัวแดงดวงขาวในกุ้งกุลาดำ (*Penaeus monodon*) Application of *Spirulina platensis* for prevention of white spot syndrome in black tiger shrimp (*Penaeus monodon*) วารสารการประมง 575 (กย-ตค 2547) 353-356

พงศ์เทพ อันตะริกานนท์ ผลของสาหร่ายสีน้ำเงินแกมเขียวและปุ๋ยไนโตรเจนต่อผลผลิตของข้าวในดินเค็ม(Influence of Blue-green Algae and Nitrogen Fertilizer on Rice Yield in Saline Soils) วิทยาศาสตร์เกษตรศาสตร์ สาขาวิทยาศาสตร์ 25, 1 (ม.ค.-มี.ค. 34) 18-25

พงศ์เทพ อันตะริกานนท์ (2536) สรุปผลการประเมินความปลอดภัยทางชีววิทยาของปุ๋ยชีวภาพจาก
สาหร่าย สีนํ้าเงินแกมเขียว วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี 8, 1 (ม.ค.-เม.ย. 2536) 75-76

พงศ์เทพ อันตะริกานนท์ สุริยา สาสนรักกิจ และประเสริฐ อะมริต ปุ๋ยชีวภาพจากสาหร่ายสีนํ้าเงิน
แกมเขียว กสิกร ปีที่ 66, ฉบับที่ 4 (กค.-สค.) หน้า 323-327

รัชณี ชัยยาภรณ์ (2539) ผลของสารสกัดจากสาหร่ายทะเลต่อการเจริญเติบโตของฝรั่ง พันธุ์บางกอก
แอปเปิล (Effect of seaweed exaweed extracts on growth guava (*Psidium guajava*
Linn.) cv. Bangkok-apple) ปัญหาพิเศษปริญญาตรี มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ สาขาพืช
สวน

ศิริลักษณ์ เขี่ยมธรรม, ประเสริฐ อะมริต และสยามรัฐ ป่านภูมิ (2538) งานวิจัยกับการพัฒนา การ
เพาะเลี้ยงสาหร่ายสีนํ้าเงินแกมเขียวเพื่อผลิตปุ๋ยชีวภาพ วารสารเกษตรก้าวหน้า ปีที่ 10,
ฉบับที่ 6 (พ.ย.-ธ.ค. 38) หน้า 64-70

เสนาะ บุญมี (2533) รายงานผลการวิจัยเรื่องการวิเคราะห์สายพันธุ์สาหร่ายสีนํ้าเงินแกมเขียวที่
ช่วยเพิ่มความสมบูรณ์ของดินในพื้นที่ อำเภอองครักษ์ จังหวัดนครนายก งานวิจัยนี้ได้รับทุน
สนับสนุนจากฝ่ายวิจัย มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒวิทยาเขตกลางประสานมิตร

เสนาะ บุญมี และคณะ (2533) โครงการศึกษาสาหร่ายที่เป็นองค์ประกอบในการพัฒนาคุณภาพดิน
และเพิ่มผลผลิตในแหล่งนํ้า มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒวิทยาเขตกลางประสานมิตร
โครงการมหาวิทยาลัยสนับสนุนงานพัฒนาตามโครงการนํ้าพระทัยจากในหลวงเพื่อพัฒนา
ภาคตะวันออกเฉียงเหนือตามแนวพระราชดำริ โครงการอีสานเขียว

สมเจตน์ สุขจุ่น (2539) ผลของสารสกัดจากสาหร่ายทะเล การเจริญเติบโต และคุณภาพของผลฝรั่ง
พันธุ์กลมสลี (Effect of seaweed extracts on fruit growth and quality of 'Klom Sali'
guava (*Psidium guajava* Linn.)) มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ปัญหาพิเศษ. วท.บ. สาขา
เกษตรศาสตร์

สาหร่ายสีเขียวแกมนํ้าเงิน เพิ่มผลผลิตข้าวจริงหรือ? จดหมายข่าวผลิใบ 3, 1 (ก.พ. 2543) 7-8, 14
อาภารัตน์ มหาพันธ์ (2538) เทคโนโลยีสาหร่ายเพื่อการฟื้นฟูสภาพดิน ปีที่ 14, ฉบับที่ 2 (มี.ค.-เม.ย.
38) 15-21 จุลสารสภาวะแวดล้อม

บทที่ 8 การใช้สารร้ายในงานทางพิษวิทยาสิ่งแวดล้อมและการแพร่กระจายของสารร้าย และสารพิษจากสารร้ายในแหล่งน้ำ

ในต่างประเทศมีการทำวิจัยทางพิษวิทยาโดยใช้สารร้ายเป็นสิ่งมีชีวิตที่ทดสอบความเป็นพิษกันมาก ในประเทศไทยมีการศึกษาวิจัยค่อนข้างน้อย งานวิจัยทางด้านพิษวิทยาส่วนใหญ่ในประเทศไทยจะเน้นที่การทดสอบความเป็นพิษของสารพิษต่างๆ เช่น ยาฆ่าแมลง สารอะโรมาติก เพื่อหาความความเป็นพิษในรูปของ LC_{50} มีการทำวิจัยกันมากโดยใช้การทดสอบในสิ่งมีชีวิตหลายชนิด เช่น สัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม ชนิดต่างๆ เช่น หนูชนิดต่างๆ กระต่าย เป็นต้น นอกจากนี้ยังมีการทำการทดลองทางพิษวิทยาใน สิ่งมีชีวิตในน้ำต่างๆ (aquatic test) เพื่อทดสอบความเป็นพิษของสารพิษตัวอย่าง ในกลุ่มที่อาจปนเปื้อนในแหล่งน้ำ เช่น ในปลา กุ้ง หอย ต่างๆ เป็นต้น

ซึ่งโดยทั่วไปในการทดสอบ ความเป็นพิษในสัตว์น้ำ (Aquatic toxicity testing) จะมีการทดสอบในหลายลักษณะ ได้แก่

1. การทดสอบแบบเฉียบพลัน (Acute toxicity test) ซึ่งจะดูผลของความเป็นพิษของสารที่ทดสอบเพียงชนิดเดียวหรือหลายชนิดรวมกันในระยะเวลาสั้นภายใน 24-96 ชั่วโมง (Chan และคณะ 1991) และจะดูที่ ความสัมพันธ์ของ dose-response หรือ concentration-response ในการอยู่รอดของสิ่งมีชีวิตที่ใช้ทดสอบ (Hoffman และคณะ 1995) ซึ่งมักจะทำการทดลองใน 5 ความเข้มข้น และสภาวะควบคุม จะใส่สิ่งมีชีวิตที่ใช้ทดสอบ 10-20 ตัวต่อหนึ่งความเข้มข้น และวัดคุณภาพน้ำของชุดการทดลองตอนเริ่มต้นและสุดท้าย การทดสอบแบบเฉียบพลันจะมีทั้ง static non-renewal test , renewal test และ flow-through test

2. การทดสอบแบบกึ่งเฉียบพลัน (Subacute toxicity test) จะทำการทดลองนานกว่า 14 วัน

3. การทดสอบแบบกึ่งเรื้อรัง (Subchronic toxicity test) การทดลองจะสามารถทำได้ในระยะเวลาสั้นแตกต่างกันไป แต่โดยปกติการทดสอบแบบกึ่งเรื้อรังจะไม่เกิน 90 วัน

4. การทดสอบแบบเรื้อรัง (Chronic toxicity test) จะเป็นการศึกษาผลของสารพิษในช่วงต่างๆ ของวงจรชีวิต ซึ่งจะทำการทดลองนาน 6 เดือนถึง 2 ปี ซึ่งการทนสารพิษได้สูงสุดจะทำให้หา ค่า Maximum tolerable dose (MTD) ได้

สิ่งที่ผู้วิจัยคิดว่าน่าสนใจและเป็น แนวทาง ใหม่ที่เราน่าจะทำวิจัยกันจริงจังมากขึ้น และกรมควบคุมมลพิษก็มีความสนใจที่จะใช้ การทดสอบความเป็นพิษของน้ำทิ้งรวม (WET testing) มาเป็นข้อกำหนดเรื่องมาตรฐานน้ำทิ้งของประเทศในอนาคต เพราะว่ามาตรฐานน้ำทิ้งของเราและกฎหมายยังไม่เข้มงวดเพียงพอที่จะป้องกันสิ่งแวดล้อม เช่น เรื่องมาตรฐานน้ำทิ้งที่มีสปีนเปื้อนจาก

โรงงานประเภทฟอกย้อม มาตรฐานเรื่อง สี ก็ระบุเพียงว่าสีที่ไม่พึงรังเกียจ แต่ไม่มีมาตรฐานที่ชัดเจนว่ามีค่าห้ามเกินค่าเท่าไร นอกจากนี้ประเทศไทยยังไม่มีข้อกำหนดเรื่องการฆ่าเชื้อน้ำทิ้งก่อนปล่อยลงสู่แหล่งน้ำ โดยไม่มีค่ามาตรฐานของแบคทีเรีย Coliform ในน้ำทิ้ง เป็นต้น ดังจะเห็นเป็นข่าวอยู่เสมอเรื่องที่ชาวบ้านร้องเรียนโรงงานที่ปล่อยน้ำทิ้งออกมา และเกิดปัญหาน้ำเน่า ปลาตายเป็นจำนวนมาก

ปัจจุบันในต่างประเทศ เช่น เนเธอร์แลนด์ (Tonkes และคณะ 1999) จีน (Jin และคณะ 1999) สเปน (Ferre and Barcelo 2003) ได้พยายามที่จะเริ่มใช้ WET testing โดยเฉพาะในอเมริกามีความสนใจในการนำ Whole Effluent Testing (WET testing) มาใช้ในการทดสอบน้ำทิ้งรวมจากโรงงานอุตสาหกรรม และ US EPA มีการทำวิจัยโดยมี WET protocol ซึ่งได้ใช้ประมาณมหาวิทยาลัยในการทำวิจัย เพื่อหาวิธีมาตรฐานโดยใช้สิ่งมีชีวิตในน้ำเป็นตัวทดสอบ ซึ่งก็มีหลายรายรวมอยู่ในนั้นด้วย (Tchobanoglous and Burton 1991)

การทดสอบความเป็นพิษของน้ำทิ้งรวม (WET testing) หมายถึง การทดสอบน้ำทิ้งรวมจากโรงงานอุตสาหกรรม ก่อนที่จะปล่อยจากท่อน้ำทิ้งที่ทำการบำบัดแล้วลงสู่สิ่งแวดล้อม เช่น แม่น้ำ ลำคลอง โดยทำการศึกษาค่าผลของความเป็นพิษโดยตรงด้วยวิธีทางพิษวิทยา โดยใช้สิ่งมีชีวิตในน้ำ (aquatic test) ที่เหมาะสมในการทดสอบ (Hoffman และคณะ 1995, Smith 1998) ซึ่งการทดสอบโดยทั่วไปจะใช้การทดสอบแบบเฉียบพลัน ใน 24-96 ชั่วโมงและการทดสอบแบบเรื้อรังระยะเวลายาว ในเวลา 6-7 วัน (Heneberry และคณะ 2006)

พัฒนาการของ WET (Whole effluent testing) ในสหรัฐอเมริกา

เมื่อ EPA เริ่มเขียนเกี่ยวกับใบอนุญาตในเรื่อง Water Quality-based ได้มีความพยายามในการทำวิจัยอย่างมากเพื่อสร้าง เกณฑ์การควบคุมคุณภาพน้ำ (water quality criteria) เกณฑ์เหล่านี้ได้มาจากการทำวิจัยในสารเคมีหลายชนิดและในหลายความเข้มข้น (มิลลิกรัม/ลิตร หรือ ไมโครกรัม/ลิตร) ซึ่งค่าที่ได้นั้นเป็นค่าที่คิดว่าจะสามารถนำมาใช้ในการป้องกันสิ่งแวดล้อมได้เป็นอย่างดี ซึ่งเกณฑ์แบบเฉียบพลัน (Acute criteria) คือความเข้มข้นที่สามารถป้องกันการตายและส่วน เกณฑ์แบบเรื้อรัง (Chronic criteria) นั้นเป็นตัวที่จะป้องกันการตายในบางส่วน (Sub-lethal) เช่น ยับยั้งการเจริญ หรือยับยั้งการสืบพันธุ์ เป็นต้น

Water Quality-based ได้รับการพัฒนาจากการศึกษาเกี่ยวกับ WET ในระยะเบื้องต้น สารเคมีแต่ละชนิด (ในกรณีนี้หมายถึงสารบริสุทธิ์ที่ใช้ในการทดลอง) อย่างน้อย 8 ชนิด จะถูกทดสอบเพื่อหา LC_{50} (ซึ่งหมายถึงความเข้มข้นของสารเคมีที่ทำให้สัตว์ทดลองตายครึ่งหนึ่ง) และความเข้มข้นที่ NOEC: No observed effect concentration การทดสอบโดยใช้เกณฑ์แบบเรื้อรังมักจะทำในระยะที่สองของการทดลอง และจะทำกับสัตว์ทดลองที่ไวต่อการทดสอบ (sensitive)

การทำ WET ในระยะแรกๆ นั้นยังไม่มีมาตรฐานที่แน่นอน มักจะมีการเจือจางของน้ำที่แตกต่างกัน ระยะเวลาในการทดสอบจะอยู่ระหว่าง 24 และ 96 ชั่วโมง แต่ในบางครั้งการทดสอบอาจจะยาวนานได้ถึง 7 วัน และมีการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิในห้องทดลอง ภาชนะที่ใช้ในการทดลอง อายุของสัตว์ทดลอง และชนิดของสารเคมีที่ใช้ทดสอบ

ข้อมูลส่วนมากที่ใช้ในการพัฒนาการทดสอบ WET จะอยู่ในฐานข้อมูลของ EPA ซึ่งมีใน เว็บไซต์ www.epa.gov (Weber 1993, Lewis และคณะ 1994, Klemm และคณะ 1994)

จากประสบการณ์ส่วนมากที่ได้จากการทำการวิจัยเพื่อทำเกณฑ์มาตรฐานคุณภาพน้ำ ได้ทำให้รู้วิธีการทดสอบที่เหมาะสมที่จะทำในห้องปฏิบัติการ และสัตว์ที่ใช้ในการทดสอบหลายชนิดที่สามารถใช้ได้ดีในการทดสอบและได้นำมาใช้เป็นตัวที่อ่อนไหวได้ดีต่อการทดสอบ ตลอดจนสามารถให้ผลการทดลองที่เหมือนเดิมโดยสามารถทำซ้ำใหม่ได้ นอกจากนี้ยังได้มีการทดสอบในน้ำทิ้งจริง และน้ำในธรรมชาติมากกว่าใช้น้ำทิ้งสังเคราะห์ที่เป็นสารเคมี ซึ่งสิ่งเหล่านี้เป็นพื้นฐานของการทดสอบ WET

EPA ได้เริ่มทำการวิจัยทางด้านพิษวิทยาซึ่งทำให้เกิดการทดสอบ WET และได้มีการใช้ในปัจจุบันนี้ ซึ่งได้นำการวิจัยในระดับห้องปฏิบัติการออกมาใช้ประโยชน์จริง ซึ่งในช่วงแรกๆ ที่มีการพัฒนาวิธีการต่างๆ นั้นยังไม่มีวิธีการที่เป็นมาตรฐาน รู้เพียงข้อมูลที่ทดสอบในสารเคมีและสัตว์ทดลองที่เหมาะสมที่จะนำมาใช้ในการทดลอง และนำมาสร้างวิธีการที่จะนำไปใช้จริง EPA ต้องทำงานในหลายลักษณะ สิ่งที่สำคัญที่สุดคือการทดสอบจะต้องมี sensitivity สูงและสามารถทำการทดลองซ้ำได้ผลเหมือนเดิม EPA ได้ใช้ผลของการวิจัยในช่วงแรกๆ เพื่อหาสัตว์ทดลองที่เป็นมาตรฐาน และมีการวิจัยเพิ่มเติมเพื่อพยายามหาวิธีทดสอบในสิ่งมีชีวิตหลายชนิด ในที่สุดก็ค้นพบวิธีการทดสอบหลายวิธีและมีการสาธิตการนำไปใช้

การทดสอบ WET มีการเผยแพร่เพื่อเป็นแนวทางในต้นปี 1980 และภายหลังได้มีการปรับปรุงวิธีการทดสอบ การทดสอบ WET ได้มีการกำหนดเป็นข้อบังคับในการปฏิบัติใน 40CFR Part 136 และนี่คือขั้นตอนสำคัญที่ได้สร้างเป็นมาตรฐานในการทดสอบ

พื้นฐานของการทดสอบ WET

การทดสอบ WET จะคล้ายๆ กับในชุดการทดลองของการทดสอบแบบเฉียบพลัน

- ทำการทดสอบใน 48 ชั่วโมง Static test โดยไม่มี renewal of dilution
- ใช้สัตว์ทดลอง 20-30 ชนิด ในช่วงที่เป็นตัวอ่อน
- ทำการทดสอบ 3-4 ซ้ำ ในแต่ละความเข้มข้นที่นำมาเจือจาง
- มีการกำหนดขนาดของภาชนะที่ใช้ในการทดสอบและปริมาณสารที่จะทดลองในแต่ละสิ่งมีชีวิตที่ใช้ทดสอบ

- กำหนดวิธีมาตรฐานของการทำการเจือจางทั้งในน้ำจืดและน้ำทะเลสังเคราะห์
- กำหนดมาตรฐานของอุณหภูมิ ความเป็นกรดด่าง และตัวแปรอื่นๆในการทดสอบ
- กำหนดมาตรฐานสำหรับควบคุมและการยอมรับผลการทดสอบต่างๆ (Acceptability)
- กำหนดมาตรฐานของ statistical assessment ของข้อมูล และการคำนวณค่า LC50
- กำหนดมาตรฐานของการให้อาหารและการเลี้ยงสิ่งมีชีวิตที่ใช้ในการทดสอบ

สำหรับในการทดสอบแบบเรื้อรังนั้นจะมีการกำหนดมาตรฐานต่างๆในลักษณะที่คล้ายคลึงกัน แต่จะแตกต่างกันดังนี้

- ใช้ระยะเวลาในการทดสอบ 7 วัน และมีการเปลี่ยนแปลงสารละลายที่ใช้ในการทดสอบทุกวัน
- จะมีการวัดผลของ การตายเพียงบางส่วน (sub-lethal) โดยดูที่การเปลี่ยนแปลงของการเจริญพันธุ์และการสืบพันธุ์
- จุดยุติของการทดสอบจะวัดที่ No observed effect concentration (NOEC) หรือ ความเข้มข้นที่สามารถยับยั้งได้ (inhibition concentration) ซึ่งจะเท่ากับ 25% ที่ทำให้การเจริญหรือการสืบพันธุ์ลดลง

EPA กำหนดให้การทดสอบต้องทำอย่างน้อยในสัตว์ทดลอง 2 ชนิด โดยจะใช้ชนิดที่อ่อนไหวที่สุดเป็นตัวกำหนด โดยทั่วไปในแหล่งน้ำจืดจะใช้ *Fathead minow* และ *Ceriodaphnia* สำหรับน้ำที่ปล่อยสู่แหล่งน้ำทั้งน้ำกร่อยและน้ำทะเลจะมีการใช้สัตว์ทดลองหลายชนิดซึ่งในสหรัฐเองก็มีความแตกต่างกันในฝั่งตะวันตกและตะวันออก

ปัจจัยที่มีผลต่อการทดสอบน้ำทิ้งรวม

1. สิ่งมีชีวิตที่ใช้ในการทดสอบ

ควรเลือกสิ่งมีชีวิตที่ไวต่อสารพิษ เช่นลูกปลา หรือลูกกุ้งวัยอ่อน ที่มีผลต่อห่วงโซ่อาหารและสามารถพบทั่วไปในแหล่งน้ำ เพื่อใช้เป็นตัวแทนของสิ่งมีชีวิตในแหล่งน้ำได้ ซึ่งการทดสอบจะแตกต่างกันไปในสิ่งมีชีวิตแต่ละชนิด

นอกจากนี้สายพันธุ์ของสิ่งมีชีวิตที่แตกต่างกันก็จะทำให้เกิดผลในการทดสอบแตกต่างกัน อาจเนื่องมาจากกลไกในการกำจัดหรือทนต่อสารพิษแตกต่างกัน สิ่งมีชีวิตที่เราจะเลือกมาใช้ในการทดลองควรจะไวต่อสารพิษและทำการเพาะเลี้ยงได้ง่าย เลี้ยงในห้องปฏิบัติการได้ง่ายและเป็นสิ่งมีชีวิตท้องถิ่นของสิ่งแวดล้อมบริเวณนั้นๆที่เราต้องการทดสอบ

อายุของสัตว์ทดลองที่แตกต่างกันก็อาจจะให้ผลการทดสอบที่แตกต่างกันได้ ซึ่งอายุของสัตว์ทดลองจะสัมพันธ์กับความไวในการทดลอง เช่น ลูกปลาหรือลูกกุ้งวัยอ่อนจะเหมาะในการใช้ทดสอบน้ำทิ้งรวมมากกว่า สัตว์ทดลองในวัยเจริญพันธุ์

แหล่งที่มาของสัตว์ทดลอง อาจะนำมาจากการเพาะเลี้ยงเองหรือแหล่งเพาะเลี้ยงก็ได้ หรืออาจจะได้มาจากการแยกมาเองจากแหล่งน้ำแล้วนำมาเพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ ส่วนมากมักจะนำมาจากแหล่งเพาะเลี้ยงเพราะสามารถทราบอายุของสัตว์ทดลอง การนำมาจากแหล่งน้ำต่างๆซึ่งมีชีวิตเหล่านั้นอาจจะอยู่ในสภาวะเครียดจากการขาดอาหาร หรือสภาวะสิ่งแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม เช่น ความเป็นกรดด่าง อุณหภูมิ ของแหล่งน้ำไม่เหมาะสมกับการเจริญ หรือในการละลายของออกซิเจนน้อย เป็นต้น

สภาวะของสัตว์ทดลอง สภาวะการได้อาหารที่เหมาะสมมีความสำคัญต่อการตอบสนองทางพิษวิทยา ตลอดจนฤดูกาลที่แตกต่างกันก็มีผลต่อระบบทางชีวเคมีและกายภาพของสัตว์ทดลอง (Ballantyne และคณะ 1995) ปัจจัยทางชีวภาพ เช่น การถ่ายเทของสารเคมี การสะสมสารเคมีในร่างกาย และความทนทานของสัตว์ทดลอง ตลอดจนปัจจัยทางเคมี เช่น non specific chemical action, selective chemical action และผลของการไฮดรอนไนซ์ และการละลายของไขมันต่อการส่งถ่ายสารเคมี ตลอดจนกลไกของ biotransformation จะมีผลต่อความเป็นพิษ และความเป็นพิษจะขึ้นอยู่กับความสัมพันธ์ระหว่างการสัมผัสสารและพันธุกรรมของสัตว์ทดลอง (Loomis 1968)

2. ปัจจัยทางสิ่งแวดล้อมที่มีผลต่อการทดสอบความเป็นพิษ

อุณหภูมิจะมีผลต่อความเป็นพิษ โดยทั่วไปถ้าอุณหภูมิในน้ำเพิ่มมากขึ้นความเป็นพิษก็จะมากขึ้น (Ciaccio 1971) อุณหภูมิของน้ำที่เพิ่มขึ้นจะมีผลต่อการทดสอบความเป็นพิษทั้งระยะสั้นและยาว เช่น ในกรณีของสังกะสีและคอปเปอร์จะมีความเป็นพิษต่อสัตว์ทดลองเพิ่มขึ้นเมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้น (Robert 2000)

ค่าการละลายของออกซิเจน สารหลายชนิดจะมีความเป็นพิษเพิ่มมากขึ้นเมื่อมีออกซิเจนละลายในน้ำลดลง ในน้ำเสียที่มีการละลายออกซิเจนน้อยความเป็นพิษก็จะเพิ่มขึ้น เนื่องจากไม่ใช่เป็นเพราะสารพิษเอง แต่การมีออกซิเจนละลายน้อยทำให้สัตว์ทดลองมีกระบวนการในการหายใจเพิ่มขึ้น

ค่าความเป็นกรดด่าง จะมีผลมากในน้ำเสียจากอุตสาหกรรม สัตว์ทดลองสายพันธุ์ที่ทนในน้ำอ่อนจะสามารถทนอยู่ในค่าพีเอชมากกว่า 10 อย่างน้อยเป็นเวลา 1 วัน ค่าความเป็นกรดด่างจะยิ่งมีผลมากกับความเป็นพิษของสารบางชนิด เช่น เกลือ แอมโมเนีย

การละลายของแร่ธาตุ จะมีผลต่อความเป็นพิษในกรณีที่มีเกลือของโลหะหนัก ความเป็นพิษของโลหะหนักจะมากขึ้นในกรณีน้ำน้ำทะเลมาเจือจางหรือน้ำกระด้าง เช่น ความเป็นพิษของ

คอปเปอร์และสังกะสีจะมีมากขึ้นเมื่อมีแคลเซียมออกไซด์ (Ciaccio 1971) ค่าความกระด้างของน้ำ เช่น ความกระด้างที่ 300 พีพีเอ็มจะทำให้การเจริญลดลง ในกุ้งน้ำจืด ความกระด้างของน้ำที่ 300 พีพีเอ็มนั้นมีค่าสูงเกินไปในการนำมาทดลอง (Robert 2000)

ส่วนปัจจัยอื่นๆที่มีผล เช่น การเก็บตัวอย่างและการนำไปวิเคราะห์ ควรจะเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส การให้อาหารสัตว์ทดลอง จะต้องให้ในการทดสอบความเป็นพิษระยะยาวและต้องควบคุมคุณภาพของอาหารให้มีคุณภาพดี ระยะเวลาในการทดลอง จะขึ้นกับวัตถุประสงค์ในการทดสอบและสายพันธุ์ของสัตว์ทดลอง

การยอมรับของการทดสอบ WET

ในกฎหมายของอเมริกาจะใช้การทดสอบ WET ในใบอนุญาต ดังที่กล่าวไว้ว่า “ reasonable potential to cause or contribute to a violation of water quality standards” มีความจำเป็นมากที่จะบังคับใช้การทดสอบ WET เป็นเครื่องมือในการกำหนด NPDES permits ซึ่งมีข้อตกลงพื้นฐานเกี่ยวกับ WET ว่าเป็นเครื่องมือที่ดีในการกลั่นกรองการตรวจสอบ คัดแยกและป้องกันสิ่งแวดล้อม ผู้ที่ให้การอนุญาตเองก็ไม่อยากให้มี WET limit เพราะว่ามีความเห็นว่าการบังคับได้ยากเนื่องจากการทดลองมักจะไม่ประสบความสำเร็จ ความกลัวนี้มาจากการที่เรากลัวสิ่งที่ไม่ทราบสาเหตุ หลายครั้งที่ทางโรงงานต้องการจะทดสอบแต่ไม่ประสบความสำเร็จและไม่ทราบสาเหตุของปัญหา และกลัวว่า EPA จะหาสาเหตุพบก่อนพวกเขา

ขั้นตอนในการใช้ WET ในประเทศไทย

3 ขั้นตอนสำคัญเพื่อให้ได้มาซึ่งการใช้ WET ให้เต็มรูปแบบ

1. พัฒนาหรือยอมรับวิธีมาตรฐานในการทดลองของ EPA
2. พัฒนาข้อกำหนดทางสิ่งแวดล้อมหรือการนำไปใช้ในด้านอื่นๆ
3. พัฒนาความสามารถในการทำวิจัยให้แก่สาธารณชนหรือแม้กระทั่งในหน่วยงานเอกชน

ถ้ารัฐบาลกำหนดให้ใช้สัตว์ทดลองที่มีในประเทศของเราเอง (native species) ก็มีความจำเป็นที่จะต้องทำการวิจัยเกี่ยวกับสัตว์ทดลองชนิดใหม่ๆที่เป็นสัตว์ที่มีในประเทศของเราเองอีกมาก ซึ่งกรมควบคุมมลพิษและหน่วยงานวิชาการต่างๆจะต้องพัฒนาวิธีการทดสอบพื้นฐานเพื่อหาสัตว์ทดลองมาตรฐานนั้นที่เหมาะสมกับ WET และสัตว์ชนิดนั้นจะต้องอ่อนไหว (หรือใช้คำว่าไวแทนดี = กับคำว่า sensitive species) กับมลพิษและสามารถทำการทดลองที่ให้ผลการทดลองที่ทำซ้ำเหมือนกันได้

มันน่าจะเป็นการง่ายกว่าถ้ารัฐบาลจะเลือกวิธีการทดสอบกับ non-native species ซึ่งสามารถให้ผลเป็น representative species กับสิ่งแวดล้อม ข้อดีของการใช้ non-native species คือทางกรมควบคุมมลพิษสามารถนำผลการวิจัยที่ทำได้จาก EPA ของอเมริกาหรือแม้กระทั่งผลการวิจัยจากประเทศอื่นๆที่ทำได้แล้วมาใช้ได้เลย ซึ่งจะสามารถเริ่มใช้ได้โดยไม่ต้องเสียเวลาหาข้อมูลหรือทำวิจัยใหม่เอง และสามารถจะติดต่อกับผู้เชี่ยวชาญที่มีประสบการณ์ได้อีกด้วย

เมื่อมีการพัฒนาวิธีมาตรฐานขึ้นมาใช้ ก็จะต้องมีการทดสอบว่าวิธีนั้นๆได้มาตรฐานจริงหรือไม่ โดยจะต้องทำตามข้อกำหนดของ NPDES และข้อกำหนดของ WET limit โดยจะมีสองส่วนใน NPDES คือจะใช้อำนาจทางกฎหมายตาม set administrative procedures ในการออกข้อกำหนดทางสิ่งแวดล้อม ซึ่งจะเป็นการทำงานในส่วนของ Paper work part of permit

และในส่วนนี้เป็นงานทางเทคนิคที่จะประยุกต์มาตรฐานและการคำนวณเพื่อทำข้อกำหนด ซึ่งในการทำโปรแกรมข้อกำหนดนั้นเป็นเรื่องที่ซับซ้อนและยาก

เมื่อ WET เป็นที่ต้องการในการอนุญาต ก็มีความต้องการมากขึ้นในการทดสอบ ทั้งในห้องปฏิบัติการของรัฐและเอกชน จะต้องเพิ่มความสามารถในการให้บริการเพื่อตอบสนองความต้องการ โดยเฉพาะหน่วยงานของรัฐเองจะต้องสร้างห้องปฏิบัติการเพื่อวัตถุประสงค์ในการดำเนินการตรวจสอบและการศึกษา

กลุ่มผู้วิจัยในประเทศไทยที่ทำวิจัยด้านสาหร่ายพิษ

1. กลุ่มวิจัยของ รศ.ดร. ยุวดี พิธีพรพิศาล ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
2. กลุ่มวิจัยของ รศ. ดร. วิเชียร ยงมานิตชัย ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
3. กลุ่มวิจัยของ ดร. อาภารัตน์ มหาจันทร์ สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย

แนวทางการวิจัยในอนาคต

ควรมีการทำวิจัยศึกษาเรื่อง WET testing เพื่อหาสิ่งมีชีวิตท้องถิ่นที่เหมาะสมเพื่อใช้ในการทำการทดลองของประเทศไทยเอง ควรมีการเริ่มประเมินความเป็นไปได้ในการเริ่มใช้ WET testing protocol ในการกำกับดูแลการปล่อยน้ำทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรม เพื่อความปลอดภัยของสิ่งมีชีวิตในระบบนิเวศ

การวิจัยเรื่องสาหร่ายพิษ และการพัฒนา kit test เพื่อตรวจสอบน้ำว่ามี microcystine หรือไม่อย่างง่ายเพื่อใช้ในการกำกับดูแลความปลอดภัยในการใช้แหล่งน้ำ

เอกสารอ้างอิง

- อาภารัตน์ มหาพันธ์ (2539) สารพิษจากสาหร่ายในแหล่งน้ำ วารสารการวิจัยและพัฒนา
วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี ปีที่ 11 ฉบับที่ 1 มกราคม-เมษายน หน้า 39-53
- Ballantyne B., Marrs T. and Tuner P. (1995) General and applied Toxicology, Abridged
Edition : The Macmillan Press.
- Chan P.K., O' Hara G.P. and Hayes A.W. (1991) Principle and methods for acute and
subchronic toxicity. New York: Raven press.
- Ferre M. and Barcelo D. (2003) Toxicity testing of wastewater and sewage sludge by
biosensors, bioassays and chemical analysis. Trends in Analyst Chem., 22(5); 299-
310.
- Heneberry J., Lukezic A.M., Mongiar C., Nowierski M. and Ziai A. What is WET testing
[Online]- Available from: www.jenworks.on.ca/tox/t_what_is_wet.html [Accessed 2006
Dec 12]
- Hoffman D.J., Rather B.A., Burton Jr. G.A., Cairns Jr. J. (1995) Handbook of ecotoxicology.
USA: Lewis, CRC Press.
- Jin H., Yang X., Yin D., Yu H. (1999) A case study on identifying the toxicant in effluent
discharged from a chemical plant. Marine Pollut Bull., 39 (1-12); 122-125.
- Klemm D.J., Morison G.E., Norberg-king T.J., Peltier W.H., Heber M.A., Editors.(1994)
Short-term methods for estimating the chronic toxicity of effluents and receiving
water to marine and estuarine organisms. 2nd Ed. EPA/600/4-91/003. Cincinnati (OH):
United States Environmental Protection Agency, Environmental Monitoring Systems
Laboratory.
- Lewis P.A., Klemm D.J., Lazorchak J.M., Norberg-king T.J., Peltier W.H. and Heber M.A.,
Editors, (1994) Short-term methods for estimating the chronic toxicity of effluents and
receiving water to freshwater organisms. 3rd Ed. EPA/600/4-91/002. Cincinnati (OH):
United States Environmental Protection Agency, Environmental Monitoring Systems
Laboratory.
- Loomis T.A. (1968) Essentials of Toxicology; Lea&Febiger. Ciaccio, L.L., Editor. Water and
water pollution handbook. Volume 1. New York: Marcel Dekker; 1971.
- Smith J.P., Tyler A.O. and Sabeur Z.A. (1998) Ecotoxicological assessment of
procedured waters in Indonesia. Environ Toxicol Water Qual., 13; 323-336.

Robert E. and Alley P.E. (2000) Water quality control Handbook: McGraw-Hill.

Tonkes M., Graaf P.J.F. and Graansma J. (1991) Assessment of complex industrial effluents in the Netherlands using a whole effluent toxicity (or WET) approach. Water Science Tech., 39(10-11); 55-61.

Tchobanoglous G. and Burton F.L. (1991) Wastewater engineering treatment, disposal and reuse. 3rd Singapore: McGraw-Hill.

Weber C.I., Editor. (1993) Methods for measuring the acute toxicity of effluents and receiving waters to freshwater and marine organism. 4th Ed. EPA/600/4-90/027F. Cincinnati (OH): United States Environmental Protection Agency, Environmental Monitoring Systems Laboratory.

สารพิษจากสาหร่ายในแหล่งน้ำ

ปัญหาเรื่องการบลูมของสาหร่ายพิษพบได้ทั่วไปในแหล่งน้ำ ในประเทศไทยยังไม่มีมาตรการที่คอยตรวจสอบสาหร่ายพิษในแหล่งน้ำจึงยังไม่มีระบบเตือนภัยให้ระวังห้ามการใช้แหล่งน้ำนั้นที่ตีพอเหมือนในต่างประเทศ ทำให้เกิดปัญหากับประชาชนผู้ใช้แหล่งน้ำในการอุปโภคบริโภค Mahakant และคณะ (1998a) ได้รายงานการสำรวจสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินที่เป็นพิษในประเทศไทย โดยทำการสำรวจการบลูมของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินระหว่างเดือนกุมภาพันธ์ 2539-เมษายน 2540 ในแหล่งน้ำ 5 แห่ง ได้แก่ เขื่อนแม่กวง จังหวัดเชียงใหม่ เขื่อนลำตะคอง จังหวัดนครราชสีมา อ่างเก็บน้ำบางพระ จังหวัดชลบุรี เขื่อนแก่งกระจาน จังหวัดเพชรบุรี และสระน้ำหน้าเรือนจำกลางคลองเปรม กรุงเทพมหานคร พบสาหร่ายที่ผลิตสารพิษคือ *Microcystis aeruginosa* ในแหล่งน้ำทุกแห่ง และในรายงานของ Yongmanitchai และคณะ (1999) ที่ทำการสำรวจสาหร่ายในแหล่งน้ำ 25 แห่งทั่วประเทศ พบ *Microcystis aeruginosa* และ *Microcystis* ชนิดอื่นๆ เช่น *Microcystis ichthyoblabe* และ *Microcystis wesenbergii* ด้วย

Peerapornpisal และคณะ (1999) ศึกษาคุณภาพน้ำและแพลงตอนพืชในเขื่อนแม่กวงอุดมธารา จังหวัดเชียงใหม่ พบว่ามีการเปลี่ยนแปลงของปริมาณแพลงตอนในแหล่งน้ำตลอดเวลาและ *Microcystis aeruginosa* เป็นแพลงตอนที่พบเด่นที่สุดในทุกฤดูกาล และปัจจัยสำคัญที่ผลต่อการบลูมของ *Microcystis* ในอ่างเก็บน้ำสัมพันธ์กับระดับน้ำซึ่งขึ้นกับปริมาณการใช้น้ำของประชาชนที่อยู่ระดับล่างของเขื่อน เมื่อมีการลดลงของระดับน้ำและมีปริมาณธาตุอาหารเพิ่มขึ้นก็จะเกิดการบลูมขึ้น สารพิษจากสาหร่ายคือสารทุติยภูมิที่เกิดขึ้นในกระบวนการสร้างและสลายของเซลล์ (secondary metabolite) เป็นสารที่ไม่เกี่ยวข้องหรือจำเป็นสำหรับการเจริญเติบโตของสาหร่ายเอง

นอกจากนี้การที่สิ่งมีชีวิตในน้ำจำพวกหอยอาจได้รับสารพิษเข้าไปในตัวแล้วทำให้เกิดพิษต่อผู้บริโภค หอยนั้นได้อีกด้วย

เพลงก์ตอนพืชรวมถึงไซยาโนแบคทีเรียมีบทบาทสำคัญต่อการศึกษาทางด้านนิเวศวิทยาและมีความสัมพันธ์ต่อสภาวะแวดล้อมของแหล่งน้ำ เพลงก์ตอนพืชบางชนิดสามารถสร้างสารพิษไมโครซิสติน ซึ่งเป็นสารพิษประเภทวงแหวนเพปไทด์ (cyclic peptide) ที่มีพิษต่อดับ และส่งผลกระทบต่อสุขภาพของมนุษย์และสัตว์ จากการศึกษาของรัฐภูมิ พรหมณะ (2550) ศึกษา สหสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรบางประการของการเติบโตของไซยาโนแบคทีเรีย ปริมาณไมโครซิสติน คุณภาพน้ำ และดินตะกอน ในแหล่งน้ำบางแห่งของประเทศไทย โดยศึกษาอิทธิพลของปัจจัยสิ่งแวดล้อม ได้แก่ น้ำและดินตะกอนที่มีต่อความผันแปรของชนิดและปริมาณของเพลงก์ตอนพืช รวมทั้งปริมาณไมโครซิสตินในแหล่งน้ำบางแห่งในภาคเหนือและภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย ระหว่างฤดูฝนเดือนสิงหาคม 2546 ถึงฤดูร้อนเดือนพฤษภาคม 2547 เก็บตัวอย่างเพลงก์ตอนพืชและวินิจฉัยชนิด นับจำนวนและวัดปริมาณชีวภาพ เก็บตัวอย่างน้ำและดินตะกอนมาวิเคราะห์คุณภาพน้ำทางกายภาพ เคมีและชีวภาพบางประการเพื่อประเมินสภาวะความมากน้อยของสารอาหาร โดยใช้เกณฑ์การประเมินของ Wetzel (1983) Lorraine และ Vollenweider (1981) และ AARL-CMU Scores วิเคราะห์ชนิดและปริมาณของไมโครซิสตินในเพลงก์ตอนพืชที่ลอยเป็นแพและในน้ำตัวอย่างโดยใช้วิธี HPLC ส่วนในดินตะกอนใช้วิธี ELISA และใช้โปรแกรมทางสถิติประเมินหาความคล้ายคลึงกันของปัจจัยทางสิ่งแวดล้อม ชนิดและปริมาณของเพลงก์พืช และสหสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยทางสิ่งแวดล้อม ไมโครซิสตินและเพลงก์พืช พบว่าการเปลี่ยนแปลงของฤดูกาลไม่ทำให้คุณภาพน้ำและดินตะกอนเปลี่ยนแปลง แต่ทำให้ความหลากหลายของเพลงก์ตอนพืชเปลี่ยนแปลงไปอย่างชัดเจนในบางแหล่งน้ำ พบเพลงก์ตอนพืช *Microcystis aeruginosa* Kütz ที่สร้างสารพิษได้ปรากฏเป็นชนิดเด่นในแหล่งน้ำ ซึ่งความสัมพันธ์เชิงบวกกับสภาวะที่มีสารอาหารสูงถึงสูงมาก โดยเฉพาะแอมโมเนียม-ไนโตรเจน ความเป็นด่าง ค่า BODs และคลอโรฟิลล์ เอ ในทางตรงกันข้ามในแหล่งน้ำที่มีสารอาหารไม่มาก หรือสภาวะที่มีสารอาหารปานกลาง ค่อนข้างต่ำเพลงก์ตอนพืชพวกเดสมิดส์ ใน Division Chlorophyta ปรากฏเป็นกลุ่มเด่น ซึ่งแสดงสหสัมพันธ์เชิงบวกกับความลึกที่ส่องแสง ความลึกของแหล่งน้ำและปริมาตรน้ำ การศึกษาครั้งนี้พบไมโครซิสติน-RR และไมโครซิสติน-LR เป็นสารพิษชนิดเด่นจากเพลงก์ตอนพืชที่ลอยเป็นแพที่มีไซยาโนแบคทีเรียเป็นชนิดเด่น ปริมาณของไมโครซิสตินในเพลงก์ตอนพืชที่ลอยเป็นแพในน้ำและดินตะกอน แสดงระดับความเป็นพิษของแหล่งน้ำแตกต่างกัน โดยเฉพาะบ่อปลา ซึ่งมีสภาวะที่มีสารอาหารสูงมากและแสดงความเป็นพิษมากที่สุดซึ่งสามารถตกค้างและสะสมได้ในแหล่งน้ำ อย่างไรก็ตามไม่พบสหสัมพันธ์เชิงบวกระหว่างโครซิสตินในน้ำ ในดินตะกอน ในเพลงก์พืชที่ลอยเป็นแพและปริมาณของ *Microcystis* ความเข้มข้นของสารอาหารในน้ำและในดินตะกอนจะส่งอิทธิพลต่อการ

เปลี่ยนแปลงชนิดและปริมาณของแพลงก์ตอนพืช รวมทั้งทำให้เกิดความผันแปรของไมโครซิสตินในน้ำได้ พบว่าความเข้มข้นของไมโครซิสติน-LR ในน้ำมีผลเชิงลบต่อการดูดซับไมโครซิสตินของดินตะกอน ส่วนความเข้มข้นของดินตะกอนมีผลเชิงบวกต่อการดูดซับไมโครซิสตินของดินตะกอน ดินตะกอนจากทุกแห่งแสดงการดูดซับของไมโครซิสติน-LR ที่สูงมาก โดยแสดงสหสัมพันธ์เชิงบวกระหว่างไมโครซิสตินรวมในดินตะกอน กับความเป็นกรด-ด่างของดินตะกอน ซึ่งในงานวิจัยนี้พบว่า มีศักยภาพสูงในการกำจัดไมโครซิสตินในน้ำโดยดินเหนียวมีประสิทธิภาพสูงสุด การพัฒนาวิธีการใช้ดินเหนียวในท้องถิ่นเพื่อกำจัดไมโครซิสตินในน้ำจึงมีความสำคัญและเป็นไปได้ ซึ่งจะทำให้ประหยัดและสะดวกเมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการที่ต้องใช้เทคโนโลยีขั้นสูง

เอกสารอ้างอิง

- รัฐภูมิ พรหมณะ (2550) สหสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรบางประการของการเติบโตของไซยาโนแบคทีเรีย ปริมาณไมโครซิสติน คุณภาพน้ำและดินตะกอนในแหล่งน้ำบางแห่งของประเทศไทย วิทยาสาตรดุษฎีบัณฑิต สาขาชีววิทยา มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
- อาภารัตน์ มหาพันธ์ วารสารการวิจัยและพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี ปีที่ 11 ฉบับที่ 1 มกราคม-เมษายน 2539 หน้า 39-53.
- Mahakhant A., Klungsunya P., Arunpaiojana V., Sano T., Watanabae M.M., Kaya K. and Atthasampunna P. (1998a) Toxicity of cyanobacteria blooms in Thailand. Final report, Thailand Institute of Scientific and Technological Research (TISTR) project No. 39-02; 48 p.
- Peerapornpisal Y., Sonthichai W., Somdee T., Mulsin P. and Rott E. (1999) Water quality and phytoplankton in the Mae Kuang Udoomtara Reservoir Chaing Mai Thailand. J. Sci. Fac. CMU 26(1), 25-43.
- Yongmanitchai V., Chonudomkul D., Intachote P. and Noparatnaraporn N. (1999) Diversity of toxic cyanobacteria in water reservoirs of Thailand. Proceedings of International Conference on Asian Network on Microbial Research, Chiang Mai Plaza Hotel, Chaing Mai, Thailand, 29 Nov-1 Dec. 1999, TISTR, 689-696.

วิทยานิพนธ์ที่เกี่ยวข้อง

- วงศ์ทิพา โจรนประภพ (2546) การผลิตโพลีโคลนัลแอนติบอดีของสารพิษไมโครซิสตินจากสาหร่าย *microcystis aeruginosa* (Production of polyclonal antibody from microcystin of *microcystis aeruginosa*) วิทยานิพนธ์ วท.ม. จุลชีววิทยา มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เอกสารงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

นพรัตน์ ภาณุวณิชชากร.การแพร่กระจายของสาหร่ายพิษสีเขียวแกมน้ำเงิน *Microcystis* spp. และคุณภาพน้ำในอ่างเก็บน้ำลำตะคอง จังหวัดนครราชสีมาในปี 2543-2544 สาขาวิชาชีววิทยา วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

รัฐภูมิ พรหมณะ การกระจายของสาหร่ายพิษและคุณภาพน้ำในกว๊านพะเยา จังหวัดพะเยา ในปี 2542-2543 สาขาวิชาชีววิทยา วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

Asira Munkhong, Aparat Mahakhant, Patana Thavipoke, Vullapa Arunpairojana, (2001)
Decomposition of Cells and Dissolved Toxins of Toxic Blue-Green Alga, *Microcystis aeruginosa*. Symposium on Aquatic Resources and Environment: Integrated Management and Utilization, 6 – 8 December 2001. Lotus Pang Saunkaew Hotel, Chingmai

Asira Munkhong, Aparat Mahakhant, Patana Thavipoke and Valapa Arunpairojana (2005)
Lysis of *Microcystis* Cells and Degradation of Microcystins by Soil Bacteria. In:- Fumie Kasai, Kunimitsu Koya and Makato M. Watanabe (editors), *Algal Culture Collections and the Environment*. Tokai University Press, Japan, pp 109- 120.

Piyawat Pholsanong, Achariya Sailasuta, Patana Thavipoke, Aparat Mahakhant (2002)
Pathological Studies on the Commercial-Valued Fish of Thailand after Exposed to Crude Cyanotoxin Extract. Journal of the Thai Veterinary Medical Association under the Royal Patronage. Abstract of the 28th Annual Conference of the Thai Veterinary Medical Association under the Royal Patronage Vol. 53, Special Issue Oct.

บทที่ 9 การนำสาหร่ายมาใช้เป็น ตัวบ่งชี้คุณภาพน้ำ

การสำรวจสาหร่ายในประเทศไทยเริ่มแรกทำโดยโดย Johannes Schmidt ในปี พ.ศ. 2443-2459 ได้ตีพิมพ์ผลงานเรื่อง Flora of Koh Chang ซึ่งเป็นผลงานที่ทำการตัวอย่างที่เก็บรวบรวมระหว่างปี พ.ศ. 2442-2443 มีรายงานการค้นพบสาหร่ายทั้งสิ้น 98 สกุล 418 ชนิด 119 พันธุ์ (variety) และ 9 แบบ (form) ในกลุ่มของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน สาหร่ายสีเขียว สาหร่ายสีแดง และโครโมไฟต์ (ไดอะตอม) และระหว่างปีพ.ศ. 2517-2518 ได้มีการพิมพ์รายชื่อสาหร่ายทะเลของ ไทยไว้ในเอกสารชื่อ “A checklist on the benthic marine algae of Thailand” (Velasquez and Lewmanomont 1975) และพบว่าไดอะตอมมีจำนวนมากถึง 46 สกุล 385 สปีชี (Lewmanomont 1995) ซึ่ง ในปี ค.ศ. 1902 Ostrup พบ ไดอะตอม ถึง 81 ชนิดที่เกาะช้าง และ ในปี 1936 Patrick พบ ไดอะตอม 185 สปีชีในประเทศไทยและมาเลเซีย ภายใต้โครงการร่วม “The Joint Thai-Japanese Biological Expedition to Southeast Asia” พ.ศ. 2504-2505 Hirano ได้รายงานการพบไดอะตอม 143 สปีชีและพบในประเทศไทย 114 สปีชี ซึ่งส่วนมากจะพบที่เชียงใหม่ และภาคกลางและภาคใต้ของไทย (Hirano 1967) และตั้งแต่ปี พ.ศ. 2514 จนถึงปัจจุบันในประเทศไทยก็ยังมี การสำรวจและทำการศึกษาเกี่ยวกับไดอะตอมโดยทำการสำรวจจากทั่วประเทศโดยเฉพาะทาง ภาคเหนือและตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย ตั้งแต่ปีพ.ศ. 2520 เป็นต้นมาการศึกษาความหลากหลายทางชีวภาพของสาหร่ายในประเทศไทยเริ่มดำเนินการโดยนักวิทยาศาสตร์ชาวไทยใน รูปแบบของโครงการต่างๆ รวมทั้งการศึกษาเพื่อประเมินผลกระทบด้านสิ่งแวดล้อม และได้รวบรวม งานวิจัยด้านความหลากหลายทางชีวภาพของสาหร่าย ตลอดจนได้ประเมินเปรียบเทียบกับพื้นที่ และนิเวศวิทยาแหล่งน้ำที่สำคัญ ทั้งสภาพน้ำไหล และน้ำนิ่งตามภาคต่างๆของประเทศไทยตั้งแต่ปี พ.ศ. 2510 ถึง พ.ศ. 2543 ไว้ในรายงานฉบับนี้ และมีรายงานการสำรวจสาหร่ายน้ำจืดเขต กรุงเทพมหานครและปริมณฑล (นครปฐม นนทบุรี ปทุมธานี สมุทรปราการ และสมุทรสาคร) 6 จังหวัด 23 เขต/อำเภอ โดย อาภารัตน์และคณะ (2000) ทำการสำรวจพบสาหร่ายทั้งสิ้น 4 ดิวิชัน (division) 16 ลำดับ (order) 38 วงศ์ (family) 91 สกุล (genus) 230 ชนิด (species) ได้แก่ ดิวิชัน Chlorophyta สำรวจพบ 8 ลำดับ 18 วงศ์ 40 สกุล ดิวิชัน Chrysophyta 3 ลำดับ 10 วงศ์ 17 สกุล ดิวิชัน Cyanophyta 4 ลำดับ 9 วงศ์ 32 สกุล และ ดิวิชัน Euglenophyta 1 ลำดับ 1 วงศ์ 2 สกุล และสาหร่ายที่มีการแพร่กระจายสูงกว่าร้อยละ 20 มี 4 สกุล คือ *Chlorella*, *Phormidium*, *Scenedesmus* และ *Oscillatoria* (> 25 แห่งจาก 300 แห่ง)

จากบทความปริทัศน์งานวิจัยด้านความหลากหลายทางชีวภาพในประเทศไทย (Review of Biodiversity Research in Thailand 2000) ได้สรุปเรื่องความหลากหลายกับการแพร่กระจายของสาหร่ายว่ามีการแพร่กระจายแตกต่างกันไปในแต่ละพื้นที่ทั่วโลก แม้จะเป็นที่ยอมรับกันว่าใน

พื้นที่เขตร้อน (tropical zone) ของโลกมีความหลากหลายทางชีวภาพของสิ่งมีชีวิตทั้งบนบกและในทะเลสูงสุดแต่ในกรณีของสาหร่ายทะเล (seaweeds) กลับพบว่ามี ความหลากหลายทางชีวภาพสูงในเขตอบอุ่น (temperate zone) ได้แก่ แอตแลนติก-ยุโรป เมดิเตอร์เรเนียน ญี่ปุ่น และตอนใต้ของทวีปออสเตรเลีย ส่วนที่พบกระจายในเขตร้อน ได้แก่ ฟิลิปปินส์ แคริบเบียน และชายฝั่งแปซิฟิกของประเทศเม็กซิโก (Norton และคณะ 1996) ในกรณีของสาหร่ายน้ำจืด มีการศึกษาพบว่าในเขตอบอุ่นมีความหลากหลายของสายพันธุ์มากกว่าในเขตร้อน อย่างไรก็ตามร้อยละ 80 ของชนิดสาหร่ายที่พบในเขตอบอุ่นเป็นชนิดเดียวกับที่พบในเขตเอเชียตะวันออกเฉียงใต้และเขตร้อนของทวีปอเมริกา (Lewis 1978) ทั้งนี้เนื่องมาจากคุณภาพน้ำเป็นปัจจัยที่สำคัญต่อความหลากหลายของชนิดของสาหร่ายที่พบ อย่างไรก็ตามในหลายพื้นที่ เช่น แอนตาร์กติค เอเชีย ออสเตรเลีย ยังขาดแคลนข้อมูลการศึกษาสาหร่ายเป็นอย่างมาก

งานวิจัยในต่างประเทศมีการทำมาก งานวิจัยมีการทำในประเทศออสเตรเลียและประเทศในยุโรป ซึ่งในสิ่งแวดล้อมที่เป็นระบบน้ำที่มีการไหลจะใช้ ไดอะตอม และสาหร่ายขนาดใหญ่ระบบน้ำนิ่งจะใช้แพลงตอนพืช แต่ในประเทศไทยมีคนวิจัยน้อย

โดยทั่วไปสามารถแบ่งแหล่งน้ำตามระดับของสารอาหาร ออกเป็น 3 ระดับคือ แหล่งน้ำที่มีสารอาหารน้อย (oligotrophic) ซึ่งน้ำจะมีคุณภาพดี แหล่งน้ำที่มีสารอาหารปานกลาง (mesotrophic) ซึ่งน้ำจะมีคุณภาพปานกลาง และแหล่งน้ำที่มีสารอาหารมาก (eutrophic) น้ำมีคุณภาพไม่ดี แหล่งน้ำแต่ละระดับจะมีแพลงก์ตอนพืชแตกต่างกัน (ยวดี 2549)

การวิเคราะห์คุณภาพน้ำโดยใช้แพลงก์ตอนพืชและโคลิฟอร์มแบคทีเรียเป็นดัชนีบ่งชี้ในอ่างเก็บน้ำห้วยแม่เย็น จังหวัดเชียงใหม่ พบว่าแหล่งน้ำ มี ระดับสารอาหารน้อยจนถึงสารอาหารปานกลาง และจัดตามมาตรฐานคุณภาพน้ำในแหล่งน้ำผิวดินอยู่ในประเภท 2 ถือว่าเป็นแหล่งน้ำสะอาด พบแพลงก์ตอนพืชสีเขียวที่พบมากที่สุดคือ *Peridinium cinctum* (Muller) Ehrenberg รองลงมาคือ *Botryococcus braunii* Kütz และ *Aulacoseira alpigena* (Grun.) Krammer แพลงก์ตอนพืชที่สามารถใช้เป็นตัวชี้บ่งชี้แหล่งน้ำที่มีสารอาหารน้อยคือ *Peridinium cinctum* (Muller) Ehrenberg และแพลงก์ตอนพืชที่ใช้เป็นตัวชี้บ่งชี้แหล่งน้ำที่มีสารอาหารปานกลางคือ *Botryococcus braunii* Kütz และ *Aulacoseira alpigena* (Grun.) Krammer (ยุพาพรรณ 2542)

การศึกษาคุณภาพน้ำ การกระจายของแพลงก์ตอนพืชในอ่างเก็บน้ำเขื่อนแม่กวงอุดมธารา เชียงใหม่ ซึ่งคุณภาพน้ำในอ่างเก็บน้ำจัดเป็นน้ำประเภท 2 ตามมาตรฐานคุณภาพน้ำในแหล่งน้ำจืดผิวดิน สามารถนำมาอุปโภคและบริโภคได้ และมีระดับของสารอาหารปานกลางพบแพลงตอนพืช 83 ชนิด ส่วนใหญ่จะเป็นแพลงก์ตอนพืชในกลุ่ม Chlorophyceae รองลงมาคือ กลุ่ม Euglenophyceae, Diatomophyceae และ Cyanophyceae ซึ่งเป็นแพลงก์ตอนที่พบทั่วไป และมี

ชนิดที่เด่น 2 ชนิดคือ *Cylindrospermopsis raciborskii* (wołosz.) Seenayya & Subba และ *Microcystis aeruginosa* Kutz ที่สร้างสารพิษได้ (ปริญา 2540)

การศึกษาการวิเคราะห์คุณภาพน้ำโดยใช้แพลงก์ตอนพืชและความสัมพันธ์ระหว่างแพลงก์ตอนพืชและสารอาหารบางชนิดในอ่างเก็บน้ำ ห้วยตึงเฒ่า เชียงใหม่ พบว่าการจัดคุณภาพน้ำตามระดับสารอาหารอยู่ในกลุ่ม Oligotrophic ถึง Mesotrophic และจัดคุณภาพน้ำตามการใช้ประโยชน์ของกรมอนามัย พบว่าอยู่ในชั้น 2-3 ซึ่งจัดอยู่ในกลุ่มน้ำที่มีคุณภาพค่อนข้างดี สามารถนำมาดื่มได้ โดยต้องผ่านกระบวนการบำบัดน้ำที่เหมาะสม พบแพลงก์พืช 6 ดิวิชัน 40 สกุล แพลงก์ตอนพืชที่พบมากที่สุดคือ *Staurostrum* spp. รองลงมาคือ *Aulacoseira granulata*, *Staurodesmus* spp. *Pleurotaenium* sp. และ *Peridinium* spp. (ปรัชญา 2539)

การศึกษาความหลากหลายของแพลงก์ตอนพืชและคุณภาพน้ำในคูเมืองเชียงใหม่ ปี 2538 จากการประเมินคุณภาพน้ำโดยใช้ species diversity index สรุปได้ว่าแหล่งน้ำในคูเมืองเชียงใหม่บางช่วงมีสภาพเป็น oligotrophic และบางช่วงเป็น mesotrophic ขึ้นกับฤดูกาลและการระบายน้ำเข้าคูเมืองเชียงใหม่ พบแพลงก์ตอนพืช 11 สกุล โดย *Chlorococcum* มีความหลากหลายของสปีชีส์ต่ำ แต่ละสปีชีส์พบในปริมาณมากและพบทั่วไปตลอดทั้งแหล่งน้ำตลอดช่วงที่ทำการสำรวจ ส่วนสกุลอื่นๆ คือ *Chroococcus*, *Oocystis*, *Scenedesmus*, *Chlorella*, *Navicula*, *Cyclotella*, *Pinnularia* และ *Gomphonema* พบในบางจุดสำรวจและบางฤดูกาลเท่านั้น (ธเนศ 2539)

การศึกษาความหลากหลายของแพลงก์ตอนพืชและเบนทิกอัลจีในลำน้ำแม่สา อูทยานแห่งชาติดอยสุเทพ-ปุยพบเบนทิกอัลจีที่บ่งบอกคุณภาพน้ำที่มีสภาพ eutrophication ซึ่งมีสารอินทรีย์และความขุ่นสูง ได้แก่ *Gomphonema parvulum* (Kützing) Grunow และ *Nitzschia palea* (Kützing) W. Smith และ สปีชีส์ที่บ่งบอกว่าน้ำไม่มีมลพิษและมีปริมาณของไนโตรเจนต่ำ ได้แก่ *Achnanthes minutissima* Kützing (ตรัย 2541)

ในประเทศไทยยังไม่มีหรือนำสาหร่ายมาใช้เป็นตัวชี้วัดสภาพมลพิษทางน้ำ ที่ชัดเจน ในส่วนของงานวิจัยภายในประเทศที่มีของ รศ.ดร. ยุวดี พิระพรพิศาล ที่ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ กำลังพยายามทำการประเมินคุณภาพน้ำโดยใช้แพลงก์ตอนพืช

การใช้สาหร่ายเป็นตัวชี้วัดสภาพมลพิษทางน้ำ เราใช้เกณฑ์อ้างอิงจากผลงานวิจัยจากต่างประเทศเป็นหลักตลอดมา ห้องปฏิบัติการวิจัยสาหร่ายประยุกต์ (Applied Algal Research Laboratory) ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ทำการวิจัยโดยใช้สาหร่ายเป็นดัชนีทางชีวภาพเพื่อชี้วัดคุณภาพน้ำทั้งน้ำนิ่ง โดยการใช้แพลงก์ตอนพืช และน้ำไหลโดยใช้สาหร่ายยัดเกาะ คือสาหร่ายขนาดใหญ่และไดอะตอมพื้นท้องน้ำ (ยุวดี พิระพรพิศาล 2549) จากผลงานวิจัยเป็นเวลานานที่วิจัยของ ดร. ยุวดี พิระพรพิศาล ทำการศึกษาการใช้สาหร่ายเป็นตัวชี้วัดสภาพมลพิษทางน้ำ โดยมีการให้คะแนนแพลงก์ตอนพืชชนิดเด่นจัดตามระดับสารอาหาร

ซึ่งสามารถอ่านรายละเอียดวิธีการนับและแสดงคะแนนได้ในหนังสือ สำหรับวิทยา (ยุวดี 2549) ซึ่งจะเป็นประโยชน์อย่างมากในการชี้วัดคุณภาพน้ำโดยไม่ต้องทำการวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพและทางเคมีควบคู่ไปด้วย ทำให้สามารถแปลผลการวิเคราะห์คุณภาพน้ำได้รวดเร็ว แม่นยำ และประหยัดค่าใช้จ่ายและเวลาในการวิเคราะห์คุณภาพน้ำ

งานวิจัยที่ทำในประเทศ

1. ทีมวิจัยของ รศ. ดร.ยุวดี พิรพรพิศาล ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

ทำการวิจัยโดยใช้แฟลงก์ตอนพืชเป็นดัชนีบ่งชี้คุณภาพน้ำในระบบน้ำนิ่ง และเรียกวิธีการประเมินคุณภาพน้ำดังกล่าวว่า AARL-CMU Score (ชื่อย่อของห้องปฏิบัติการวิจัยสาหร่ายประยุกต์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่)

ทำการศึกษาการใช้สาหร่ายเป็นตัวชี้วัดสภาพมลพิษทางน้ำ โดยมีการให้คะแนนแฟลงก์ตอนพืชชนิดเด่นจัดตามระดับสารอาหาร

2. ทีมวิจัยของผศ. ดร. พัฒน ทวีโภค คณะสิ่งแวดล้อมและทรัพยากรศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล

ศึกษาเรื่องการใช้สาหร่ายเป็นดัชนีโดย เก็บข้อมูลจากทะเลสาบสงขลาใช้ในการวิเคราะห์ชื่อโครงการ การติดตามตรวจสอบคุณภาพน้ำและสิ่งแวดล้อมทางน้ำในพื้นที่ลุ่มน้ำทะเลสาบสงขลาของกรมควบคุมมลพิษ ปี 2548 เอกสารเลขที่ คพ.02-163

ข้อเสนอแนะในการทำวิจัย

งานวิจัยด้านความหลากหลายทางชีวภาพของสาหร่ายในประเทศ ส่วนใหญ่ศึกษาในระบบนิเวศทางน้ำมากกว่าระบบนิเวศบนบก และงานวิจัยส่วนใหญ่ขาดการดำเนินงานควบคู่ไปกับการอนุรักษ์สายพันธุ์สาหร่ายนอกถิ่นกำเนิด

สร้างองค์ความรู้และอนุรักษ์ความหลากหลายทางชีวภาพของสาหร่าย เช่น ในกลุ่มสาหร่ายที่น่าสนใจในดินเค็ม น้ำพุร้อน พืช เป็นต้น เนื่องจากมีสารพันธุกรรม และเอนไซม์ที่น่าสนใจสำหรับนำมาใช้ประโยชน์ในอนาคต

การอนุรักษ์สายพันธุ์สาหร่ายที่สำคัญและมีประโยชน์ด้านต่างๆนอกท้องถิ่น

การวิจัยเพื่อสำรวจและเก็บตัวอย่างสาหร่ายจากแหล่งน้ำเสียต่างๆ ทั้งน้ำเสียชุมชน และน้ำเสียจากโรงงานอุตสาหกรรมต่างๆ เพื่อใช้ผลเปรียบเทียบกับแหล่งน้ำสะอาด เพื่อนำไปสู่การหาสกุลชนิดที่เป็นดัชนีบ่งชี้คุณภาพน้ำของประเทศ และเพื่อให้ทราบแนวโน้มการเปลี่ยนแปลงด้านความ

หลากหลายทางชีวภาพของสาหร่ายเมื่อคุณภาพน้ำเปลี่ยนไปในลักษณะต่างๆกัน (อาภารัตน์ มหา
พันธ์ และคณะ 2000)

เอกสารอ้างอิง

ยุวดี พีรพรพิศาล (2549) สาหร่ายวิทยา(phycology) จัดพิมพ์และจำหน่ายโดย ห้องปฏิบัติการ
สาหร่ายประยุกต์ ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ISBN 974-
656-852-3

Hirano M. (1967) Freshwater algae collected by the Join Thai-Japanese biological
expedition to Southeast Asia 1961-1962, Nature and life in Southeast Asia; 71p.

Lewmanomont K. Wongrat L. and Suprnwanid C. (1995) Algae in Thailand. Office of
Environmental Policy and Planning, Bangkok, Thailand.

Lewis M.N (1978) A compositional, phytogeographical and elementary structural analysis
of the phytoplankton in a tropical lake. In Tilzer, M.M. and Serruya C. (eds) Large
lakes ecological structure and function, pp68-. Spring Verlage, Berlin.

Norton T.A. Melkonian M. and Andersen A. (1996) Algal biodiversity. Phycologia.,
35(4);308-326.

Ostrup E. (1902) Freshwater diatoms. In Schmidt, J. (ed) Flora of koh Chang. Contributions
of the knowledge of vegetations in the Gulf of Siam. Part VII, reprinted from Botanik
Tidsskrift; pp 28-41.

Schmidt J. (1990-1916) Flora of Koh Chang. Contributions to the knowledge of the
vegetation in the gulf of Siam. Bianco Luno, Copenhagen; 444p.

รายชื่อวิทยานิพนธ์ที่เกี่ยวข้อง

กาญจนา เกิดมีมูลความสัมพันธระหว่างปริมาณและการแพร่กระจายของ (2537) สาหร่ายกับ
คุณภาพน้ำบางประการตามชั้นคุณภาพน้ำลุ่มน้ำเมย จังหวัดตาก (The relationship
between abundance and distribution of algae to some water qualities in various
watershed classes of the Moei River Basin at Changwat Tak) วิทยานิพนธ์ วท.ม.
สาขาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

กรรณิการ์ พุทธธรร (2529) ปริมาณและการแพร่กระจายของสาหร่ายที่สัมพันธ์กับคุณภาพน้ำบาง
ประการบริเวณลุ่มน้ำปิง-วัง (Abundance and distribution of algae as related to some

- water qualities of Ping-Wang River Basin) มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. สาขาพฤกษศาสตร์ วิทยานิพนธ์ วท.ม. สาขาพฤกษศาสตร์
- กศยา สุวรรณวิศ (2529) การแพร่กระจายของสาหร่าย และความสัมพันธ์กับคุณภาพน้ำบางประการของลำน้ำแม่กลาง และแม่กวัง จังหวัดเชียงใหม่ (Abundance and distribution of algae in relation to some water qualities of the Mae Klang and Mae Kaung Rivers, Chiang Mai) วิทยานิพนธ์ วท.ม. สาขาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
- จิรพร เพกเกาะ (2545) การกระจายของสาหร่ายพืชและคุณภาพน้ำในอ่างเก็บน้ำเขื่อนแม่งวงอุดมธารา จังหวัดเชียงใหม่ ในปี 2542-2543 วิทยานิพนธ์ วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาชีววิทยา บัณฑิตวิทยาลัยมหาวิทยาลัยเชียงใหม่
- ไฉมยง ไชยอุบล (2541) ความสัมพันธ์ระหว่างคุณภาพน้ำกับการกระจายของแพลงก์ตอนพืชและแพลงก์ตอนสัตว์ในอ่างเก็บน้ำอ่างแก้ว มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ วิทยานิพนธ์ วท.ม. สาขาชีววิทยา มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
- ชาญณรงค์ แก้วเล็ก (2532) การใช้สาหร่ายเป็นดัชนีชี้คุณภาพน้ำในลุ่มน้ำชี (The use of algae as water qualities indicator of Chi River Basin) วิทยานิพนธ์ วท.ม. สาขาพฤกษศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
- ชลินดา อริยเดช (2539) สหสัมพันธ์ของสารอาหารบางชนิดและการกระจายของแพลงก์ตอนพืชในอ่างเก็บน้ำเขื่อนแม่งวง เชียงใหม่ วิทยานิพนธ์ วท.ม. สาขาการสอนชีววิทยา มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
- ศรัย เป็กทอง (2541) ความหลากหลายของแพลงก์ตอนพืช และเบนทิกอัลจีในลำน้ำแม่สา อุทยานแห่งชาติดอยสุเทพ-ปุยระดับความสูง 330 ถึง 550 เมตร วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์ มหาบัณฑิต สาขาชีววิทยา บัณฑิตวิทยาลัยมหาวิทยาลัยเชียงใหม่
- ศรัย เป็กทอง (2541) ความหลากหลายทางชีวภาพของเบนทิกไดอะตอมและการประยุกต์เพื่อติดตามตรวจสอบคุณภาพน้ำในลำน้ำแม่สาอุทยานแห่งชาติดอยสุเทพ-ปุย เชียงใหม่ วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์ดุสิตบัณฑิต สาขาชีววิทยา มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
- ธเนศ วงศ์ยะรา (2539) ความหลากหลายของแพลงก์ตอนพืชและคุณภาพน้ำในคูเมืองเชียงใหม่ปี 2538 วิทยานิพนธ์ วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาชีววิทยา บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
- ทัตพร คุณประดิษฐ์ (2543) ความหลากหลายทางชีวภาพของแพลงก์ตอนพืชและสาหร่ายขนาดใหญ่ในลำน้ำแม่สา อุทยานแห่งชาติดอยสุเทพ-ปุย จังหวัดเชียงใหม่ วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์ มหาบัณฑิต สาขาชีววิทยา

- นคร บุญประคอง (2532) บทบาทของสาหร่ายที่มีต่อคุณภาพน้ำของกลุ่มน้ำที่สำคัญบริเวณภาคใต้ตอนบนของประเทศไทย (Algological roles to water qualities of main water sheds in Upper Southern Thailand) วิทยานิพนธ์ วท.ม. สาขาพฤกษศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
- ปริญษา ชะอุ่มผล (2539) ความสัมพันธ์ระหว่างแพลงตอนพืชและสารอาหารบางชนิดในอ่างเก็บน้ำห้วยตึงเฒ่า เชียงใหม่ วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาการสอนชีววิทยา บัณฑิตวิทยาลัยมหาวิทยาลัยเชียงใหม่
- ปริญญา มูลสิน (2540) ปริมาตรชีวภาพของแพลงตอนพืชและคุณภาพน้ำในอ่างเก็บน้ำเขื่อนแม่กวง เชียงใหม่ วิทยานิพนธ์ วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาชีววิทยา บัณฑิตวิทยาลัยมหาวิทยาลัยเชียงใหม่
- ประเสริฐ ไวยะกา (2541) ความหลากหลายของแพลงก์ตอนพืชและแบคทีเรียในลำน้ำแม่สา อุทยานแห่งชาติดอยสุเทพ-ปุยระดับความสูง 600 ถึง 1,075 เมตร วิทยานิพนธ์ วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาชีววิทยา บัณฑิตวิทยาลัยมหาวิทยาลัยเชียงใหม่
- พจนีย์ ศรีสุวรรณ (2536) ความสัมพันธ์ของสารอาหารต่อการกระจายของแพลงตอนพืชและผลผลิตเบื้องต้นในอ่างเก็บน้ำบริเวณศูนย์ศึกษาการพัฒนาห้วยฮ่องไคร้อันเนื่องมาจากพระราชดำริวิทยานิพนธ์ วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาชีววิทยา บัณฑิตวิทยาลัยมหาวิทยาลัยเชียงใหม่
- พิษณุ วรรณธง (2545) การสำรวจชนิด นิเวศวิทยาของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินในกลุ่มน้ำภาคเหนือบางแห่งและการเพาะเลี้ยง วิทยานิพนธ์ วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาชีววิทยา บัณฑิตวิทยาลัยมหาวิทยาลัยเชียงใหม่
- มานิดา ไชรัมย์ (2541) การวิเคราะห์คุณภาพน้ำทางชีวภาพโดยใช้แพลงก์ตอนพืชและโคลิฟอร์มแบคทีเรียในอ่างเก็บน้ำอ่างแก้ว มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ วิทยานิพนธ์ วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาชีววิทยา บัณฑิตวิทยาลัยมหาวิทยาลัยเชียงใหม่
- รัฐภูมิ พรหมณะ (2543) ความหลากหลายของสาหร่ายพิษในแหล่งน้ำบริเวณพื้นที่ชุ่มน้ำในแอ่งที่ราบเชียงใหม่-ลำพูน วิทยานิพนธ์ วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาชีววิทยา บัณฑิตวิทยาลัยมหาวิทยาลัยเชียงใหม่
- รัฐภูมิ พรหมณะ (2545) การกระจายของสาหร่ายพิษและคุณภาพน้ำในกว๊านพะเยา จังหวัดพะเยา ในปี 2542-2543 วิทยานิพนธ์ วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาชีววิทยา บัณฑิตวิทยาลัยมหาวิทยาลัยเชียงใหม่

- วรภรณ์ ปานอยู่ (2545) การแยกและการหาลักษณะเฉพาะของการทนอุณหภูมิสูงของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินจากน้ำพุร้อนบางแห่งบริเวณภาคเหนือตอนบนของประเทศไทย วิทยานิพนธ์ วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาชีววิทยา บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
- วรรณช ลิ้มแก้ว (2526) การศึกษาคุณภาพน้ำบางพระโดยการวิเคราะห์ศักยภาพในการเจริญเติบโตของสาหร่าย วิทยานิพนธ์ วท.ม. สาขาวิทยาศาสตร์สภาวะแวดล้อม จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
- สมชาย ธนันทวัฒน์ (2544) การประเมินคุณภาพน้ำในอ่างเก็บน้ำห้วยซับประดู๋โดยใช้สาหร่ายวิเคราะห์และเคมีวิเคราะห์ วิทยานิพนธ์มหาบัณฑิต วิทยาศาสตร์ สาขาพฤกษศาสตร์ สุวิมล ไสภณพินิจ (2522) การศึกษาปริมาณของสารพิษบางชนิดจากสาหร่ายทะเลในบริเวณที่เกิดมลภาวะจังหวัดชลบุรี วิทยานิพนธ์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒบางแสน
- อุดมลักษณ์ สมพงษ์ (2544) ความหลากหลายทางชีวภาพของสาหร่ายในน้ำพุร้อนบางแห่งในเขตภาคเหนือตอนบนของประเทศไทย วิทยานิพนธ์ วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาชีววิทยา บัณฑิตวิทยาลัยมหาวิทยาลัยเชียงใหม่

งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

- Trai Pekthong and Yuwadee Peerapornpisal (2001) Fifty one new record species of freshwater diatom in Thailand. Chaing Mai J. Sci., 28(2); 97-112.
- Yuwadee Peerapornpisal, Wanchat Sonthichai, Theerasak Somdee, Parinya Mulsin and Eugen Rott. (1999) Water quality and phytoplankton in the Mae Kuang Udomtara reservoir Chaing mai Thailand. J. Sci. Fac. CMU., 26(1); 25-43.
- Yuwadee Peerapornpisal, Trai Pekthong, Prasert Waiyaka and Sakorn Promkutkaew. (2000) Diversity of phytoplankton and benthic algae in Mae Sa stream, Doi Suthep-pui National Park, Chaing Mai. Nat. Hist. Bull. Siam Soc., 48; 193-211.

เอกสารอื่นๆ

นำเสนอผลงาน

- ไชยา บุญชิต (2544) การตรวจสอบทางสิ่งแวดล้อมโดยใช้เทคโนโลยีชีวภาพ Lab.today 1,1(ปฐมฤกษ์ ส.ค. 2544),50-55

ชนันท์ ทัดแก้ว (2539) การคัดเลือกสายพันธุ์สาหร่ายมาตรฐานเพื่อการทดสอบความทนทานของ
 สีสารเคลือบผิวและวัสดุที่เกี่ยวข้อง วารสารวิจัยสภาวะแวดล้อม ปีที่ 18 ฉบับที่ 1 มค.-มิย. 39
 หน้า32-50

บทความปริทัศน์งานวิจัยด้านความหลากหลายทางชีวภาพ (Review of Biodiversity research in
 Thailand) จัดพิมพ์ โดย โครงการพัฒนาองค์ความรู้และศึกษานโยบายการจัดการทรัพยากร
 ชีวภาพในประเทศไทย (โครงการ BRT) บทที่ 3 สาหร่ายน้ำจืดกับการใช้ประโยชน์ อภาภรณ์
 และคณะ กองบรรณาธิการ วิสุทธิ์ ไบไม้ และคณะ 2543 ISBN 974-7581-02-7

Patana Thavipoke (2004) Regreening Process of the Green Algae *Chlorella zofingiensis*
 Dönz Akinete cells as a Tool for Assessing Toxicity of Sediment- Associated
 Contaminants. The 2nd Asian International Conference on Ecotoxicology and
 Environmental. Safety, SECOTOX (2004) Abstracts. September 26 – 29, 2004, BP
 Samila Beach Hotel, Songkhla, Thailand.