

บทคัดย่อ

รหัสโครงการ: TRG5880081

ชื่อโครงการ: ใบโอชิปสาหร่ายขนาดเล็กสำหรับการตรวจโลหะหนัก

ชื่อนักวิจัย และสถาบัน ผศ. ดร. ชยากร ภูมาศ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

อีเมล: chayakorn.pumas@gmail.com

ระยะเวลาโครงการ: 2 ปี

บทคัดย่อ:

การปนเปื้อนและตกค้างของโลหะหนัก ในแหล่งน้ำเป็นปัญหาที่สำคัญของประเทศแต่การตรวจสอบวิเคราะห์ทางเคมีทำได้ยาก ใช้เวลา และมีค่าใช้จ่ายสูง ดังนั้นจึงควรหาแนวทางติดตามตรวจสอบการปนเปื้อนหรือความเป็นพิษของโลหะหนักในแหล่งน้ำที่สามารถประหยัดเวลาและงบประมาณได้ ทั้งนี้แนวทางที่น่าสนใจ คือการใช้ดัชนีชีวภาพตรวจสอบและติดตามผล เช่น ดัชนีชีวภาพสาหร่ายขนาดเล็ก ร่วมกับการทดสอบบนไมโครฟลูอิดิกชิปแบบหลุมไฟฟ้าสถิตซึ่งเป็นอุปกรณ์ที่สามารถติดตามสิ่งมีชีวิตเซลล์เดียวได้อย่างต่อเนื่องและแม่นยำ

ไมโครฟลูอิดิกชิปแบบหลุมไฟฟ้าสถิต เป็นการประยุกต์ใช้เทคนิคห้องปฏิบัติการบนชิปชนิดหนึ่ง มีลักษณะเป็นชิปที่มีหลุมขนาดเล็กบนกระจกสไลด์ ตัวหลุมสามารถจับสิ่งมีชีวิต ซึ่งจะถูกยึดติดกับกันหลุมด้วยแรงไฟฟ้าสถิต มีความน่าสนใจในการนำมาเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็ก เนื่องจากสามารถติดตามการเจริญเติบโตและการเพิ่มจำนวนของสาหร่ายที่ละเซลล์หรือทีละโคโลนีได้อย่างจำเพาะ ควบคุมสภาวะการเลี้ยงได้ง่าย อีกทั้งยังทำให้สามารถศึกษาด้านสรีรวิทยาและติดตามลักษณะการดำรงชีวิตและการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของสาหร่ายได้อย่างง่ายดาย

งานวิจัยนี้ทำการเปรียบเทียบวัสดุที่ใช้ผลิตไมโครฟลูอิดิกชิป ระหว่างไมโครฟลูอิดิกชิป PDMS ไมโครฟลูอิดิกชิปตาข่ายพลาสติก และไมโครฟลูอิดิกชิปดินน้ำมัน และสายพันธุ์สาหร่ายขนาดเล็ก 3 สายพันธุ์ คือ *Volvox* sp. AARL G028, *Pediastrum duplex* AARL G060 และ *Scenedesmus* sp. AARL G022 พบว่า สาหร่ายที่เหมาะสมที่จะนำมาศึกษา คือ *Pediastrum duplex* AARL G060 โดยเหมาะสมกับการเพาะเลี้ยงในไมโครฟลูอิดิกชิปดินน้ำมัน ซึ่งมีการเจริญได้อย่างปกติไม่แตกต่างจากการเพาะเลี้ยงในขวดรูปชมพู่

และจากการศึกษาผลโลหะหนักที่มีต่อการเปลี่ยนแปลงรูปร่างและจำนวนของสาหร่าย และการหาความเข้มข้นที่สุดของโลหะหนักที่สาหร่ายมีการตอบสนองภายใต้สภาวะการเพาะเลี้ยงในไมโครฟลูอิดิกชิป โดยโลหะหนักที่ใช้ในการศึกษา คือ โลหะหนักตะกั่วที่ความเข้มข้น 0.08 g/L และ ลิเทียม 5 g/L จากการตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงโดยใช้โปรแกรม morphoJ ด้วยสถิติ principal component analysis (PCA) และ canonical variate analysis (CVA) พบการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของสาหร่ายในโลหะหนักตะกั่วที่ความเข้มข้น 0.08 g/L และโลหะหนักลิเทียม ที่ความเข้มข้น 5 g/L

และที่ความเข้มข้นของโลหะหนักตะกั่ว 1 mg/L เป็นความเข้มข้นที่น้อยที่สุดที่มีผลต่อการเจริญของสาหร่ายในการเพาะเลี้ยงในไมโครฟลูอิดิกชิป

อย่างไรก็ตามเนื่องจาก *Pediastrum duplex* AARL G060 ไม่ใช่สาหร่ายสายพันธุ์มาตรฐานที่ใช้ในการตรวจสอบความเป็นพิษ จึงได้ทำการเปรียบเทียบประสิทธิภาพการทดสอบสารพิษโลหะหนักของสาหร่ายขนาดเล็ก *Desmodesmus subspicatus* 86.81 SAG สายพันธุ์มาตรฐานที่ใช้ในการทดสอบสารพิษกับ *Desmodesmus maximus* AARL G071 สาหร่ายขนาดเล็กที่พบได้ง่ายในแหล่งน้ำจืดของประเทศไทย โดยตามเปรียบเทียบประสิทธิภาพการตอบสนองต่อความเป็นพิษมาตรฐาน OECD 201 ในขบวนการผสมกับการทดสอบสารพิษโลหะหนักบนไมโครฟลูอิดิกชิป ด้วยการเพาะเลี้ยงสาหร่าย และ ทั้งในขบวนการผสมและบนชิป ในระยะ exponential phase ร่วมกับสารหนูและแคดเมียมที่ความเข้มข้นต่างๆ โดยจะเก็บผล มวลชีวภาพ ปริมาตรชีวภาพ อัตราการเจริญ และการเปลี่ยนแปลงของสัญญาณวิทยาสาหร่ายเป็นเวลาทั้งสิ้น 96 ชั่วโมง จากการทดสอบสารพิษพบว่า ค่า 72 h-EC₅₀ และค่า 96 h-EC₅₀ ของ *D. subspicatus* ในขบวนการผสมที่เลี้ยงร่วมกับ Cd เท่ากับ 14.86 mg/L และ 9.54 mg/L ตามลำดับ ในขบวนการผสมที่เลี้ยงร่วมกับ As เท่ากับ 26.50 mg/L และ 59.28 mg/L ตามลำดับ

คำหลัก : สาหร่ายขนาดเล็ก ไมโครฟลูอิดิกชิป ห้องปฏิบัติการบนชิป โลหะหนัก การตอบสนอง การวิเคราะห์ภาพถ่าย การทดสอบความเป็นพิษ สายพันธุ์มาตรฐาน

Abstract

Project Code : TRG5880081

Project Title : Microalgae Biochip for Heavy Metal Detection

Investigator : Asst. Prof. Dr. Chayakorn Pumas

E-mail Address : chayakorn.pumas@gmail.com

Project Period : 2 years

Abstract:

Contamination and bioaccumulation of heavy metals in ecosystem have been serial problems in Thailand. Chemical detection has some disadvantages such as inconvenient, taking time, and high cost. Thus, alternative ways for detection contaminants in water system are needed. For seeking a new toxicity detecting method using microalgae as bioindicators combined with electrostatic clay microfluidic chip are interesting.

Microwell electrostatic microfluidic chip is an application of one of the lab-on-a-chip techniques. This microchip composes with microwells on a glass slide. The wells can trap microorganisms at the well bottom by electrostatic force. This chip is interesting for culture microalgae because it is easy to control condition. Moreover, it can particularly monitor the growth of each individual microalgae cell or colony which are simple to follow growth, behavior and cell transformation.

This research compared the material used for microfluidic chip including, microfluidic chip PDMS, plastic net microfluidic chip and clay microfluidic chip and compared three microalgal strains including, *Volvox* sp. AARL G028, *Pediastrum duplex* AARL G060 and *Scenedesmus* sp. AARL G022. It was found that the suitable strain was *Pediastrum duplex* AARL G060 which can normally grow in the clay microfluidic chip, as same as in the Erlenmeyer's flask.

The effect of heavy metal on the morphological alteration and growth of microalgae and limit of detection for heavy metal that the microalga could respond in microfluidic chip were studied at Pb concentration 0.08 g/L and Li concentration 5 g/L. Microalgal morphological alteration was detected by morphoJ and the different was analyzed by the statistic principal component analysis (PCA) and canonical variate analysis (CVA). The result found that the morphological alteration was observed at Pb concentration 0.08 g/L and Li concentration 5 g/L and at 1 mg/L was a limit of detection of Pb that affect on growth of the microalga in microfluidic chip.

However, *Pediastrum duplex* AARL G060 is not a recommend strain for toxic detection. Thus the potential for heavy metal toxic evaluation between *Desmodesmus subspicatus* 86.81 SAG, the standard microalgal strain for toxicity test, and *Desmodesmus maximus* AARL G071, the native fresh green microalga in Thailand, was compared following OECD 201 in both Erlenmeyer's flask and on a microfluidic chip. Cells in exponential growth phase were exposed to different concentrations of each heavy metals for 96 hours. Biomass, biovolume, growth rate, and morphological changing were also determined. The result of toxicity test in flasks showed the EC₅₀ value of *D. subspicatus* at 72 h-EC₅₀ and 96 h-EC₅₀ of Cd were 14.86 and 9.54 mg/L, respectively. Culturing with As, the 72 h-EC₅₀ and 96 h-EC₅₀ value were 26.50 and 59.28 mg/L, respectively.

Keywords : Microalgae; Microfluidic chip; lab-on-a-chip; heavy metals; respond; image analysis; toxicity test, standard strain