



อิทธิพลของกรตฮิวมิคต่อความเป็นพิษต่อแคดเมียมที่มีต่อแพลงก์ตอนพืช



โดย
นางสาวนภาพร ปุราตะโก

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม แผน ก แบบ ก 2 ระดับปริญญามหาบัณฑิต

ภาควิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

ปีการศึกษา 2561

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

อิทธิพลของกรรตศิวมิกต่อความเป็นพิษต่อแคดเมียมที่มีต่อแพลงก์ตอนพืช



โดย
นางสาวนภาพร ปุระตะโก

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม แผน ก แบบ ก 2 ระดับปริญญามหาบัณฑิต

ภาควิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

ปีการศึกษา 2561

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

INFLUENCE OF HUMIC ACID ON THE TOXIC EFFECTS OF CADMIUM TO
PHYTOPLANKTON



By
MISS Napaporn PURATAKO

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for Master of Science (ENVIRONMENTAL SCIENCE)
Department of ENVIRONMENTAL SCIENCE
Graduate School, Silpakorn University
Academic Year 2018
Copyright of Graduate School, Silpakorn University

หัวข้อ	อิทธิพลของกรตฮิวมิกต่อความเป็นพิษต่อแคดเมียมที่มีต่อแพลงก์ ตอนพืช
โดย	นภาพร ปุราตะโก
สาขาวิชา	วิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม แผนก ก แบบ ก 2 ระดับปริญญา มหาบัณฑิต
อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก	รองศาสตราจารย์ ดร. นัทธีรา สรรมณี

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร ได้รับพิจารณาอนุมัติให้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา
ตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

..... คณะบดีบัณฑิตวิทยาลัย
(รองศาสตราจารย์ ดร.จุไรรัตน์ นันทานิช)

พิจารณาเห็นชอบโดย

..... ประธานกรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. กมลชนก พานิชการ)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก
(รองศาสตราจารย์ ดร. นัทธีรา สรรมณี)

..... ผู้ทรงคุณวุฒิภายนอก
(รองศาสตราจารย์ ดร. ธรรมเรศ เชื้อสาวถี)

57311306 : Major (ENVIRONMENTAL SCIENCE)

Keyword : CADMIUM, TOXIC EFFECTS OF GROWTH TO PHYTOPLANKTON, HUMIC ACID

MISS NAPAPORN PURATAKO : INFLUENCE OF HUMIC ACID ON THE TOXIC EFFECTS OF CADMIUM TO PHYTOPLANKTON THESIS ADVISOR : NATDHERA SANMANEE

The objective of this research was to study the effect of humic acid (HA) on the cadmium toxicity of phytoplankton (*Chlorella* sp.). The HA extracted from cow manure compost was tested with Cd on the ratio of 1: 1 for the 5 treatments, 10^{-10} , 10^{-9} , 10^{-8} , 10^{-7} and 10^{-6} M, respectively. Under no light and aeration, phytoplankton showed some increasing number of cells and dry weight with low concentration HA, 10^{-10} and 10^{-9} M after 12 hours in the same way as control while others showed only decreasing number of cells corresponding to the increasing concentrations for all treatments. The probit analysis of LC_{25} was in the order of Cd $10^{-4.60}$ M > Cd-HA $10^{-3.80}$ M > HA $10^{-3.68}$ M. These corresponded with the chlorophyll a that gradually decreased when the concentrations of all treatments increased. In summary, Cd shows some toxicity towards multiplying cells and photosynthesis even at lower concentration than surface standard of water, 2.1×10^{-8} - 2.1×10^{-7} M. HA in the aquatic systems plays an important role in reducing Cd toxicity even though HA itself shows some slightly toxicity to the phytoplankton. Further research should be done to find out how HA interact with Cd and affect the pathway to phytoplankton. Yet this research provides important information for water quality and management which would be beneficially to study impact of aquatic ecosystem in which its toxic effect would pass through food chain having an effect to human eventually

กิตติกรรมประกาศ

ในการทำงานวิจัยครั้งนี้ ผู้วิจัยขอขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ ดร.นันทิรา สรรพณี อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ที่ได้ให้ความเมตตา กรุณา ตลอดจนให้ความช่วยเหลือต่างๆ ทั้งในส่วนของ การทดลองและให้ข้อเสนอแนะเกี่ยวกับการเขียนรูปเล่มวิทยานิพนธ์เพื่อแก้ไขงานวิจัยนี้ให้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี นอกจากนี้การเขียนรูปเล่มวิทยานิพนธ์ยังได้รับคำแนะนำและชี้แนวทางการแก้ไขข้อบกพร่องจาก ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.กมลชนก พานิชการ และรองศาสตราจารย์ ดร.ธรรมเรศ เชื้อสาวถี ซึ่งทางผู้วิจัยขอขอบพระคุณมา ณ ที่นี้ด้วย

ขอขอบพระคุณคณาจารย์ และเจ้าหน้าที่ภาควิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อมทุกท่าน ที่ให้ความอนุเคราะห์ที่ใช้ห้องปฏิบัติการ ตลอดจนให้คำปรึกษาและคำแนะนำต่างๆ แก้ไขปัญหาและช่วยดูแลเอาใจใส่คอยให้กำลังใจในการทำงานวิจัยในครั้งนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอขอบพระคุณ คุณพ่อทองคุณ คุณแม่ค่านาง คำมี และนายพงษ์ทวี ปุรัตตะโก ที่ได้ให้การสนับสนุนทางด้านทุนทรัพย์ และคอยเป็นกำลังใจตลอดการศึกษาและการทำงานวิจัยครั้งนี้ และขอบคุณ พี่ น้อง และเพื่อนๆที่คอยช่วยเหลือ และคอยให้กำลังใจทำให้งานวิจัยฉบับนี้สำเร็จลงได้ด้วยดี

นภาพร ปุรัตตะโก



สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญ.....	ช
สารบัญตาราง.....	ฌ
สารบัญภาพ.....	ญ
บทที่ 1.....	1
บทนำ.....	1
1.1 ความเป็นมาของปัญหา.....	1
1.2 วัตถุประสงค์ของการศึกษา.....	2
1.3 สมมติฐานของการศึกษา.....	2
1.4 ขอบเขตการศึกษา.....	2
1.5 ขั้นตอนการศึกษา.....	3
1.6 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	3
บทที่ 2.....	4
งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	4
2.1 สารอิวมิก.....	4
2.2 แคตเมียม.....	8
2.3 แพลงก์ตอนพืชคลอเรลลา.....	10
2.4 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	13
บทที่ 3.....	18

วิธีการทดลอง.....	18
3.1 สารเคมีที่ใช้ในวิจัย.....	18
3.2 เครื่องมือที่ใช้ในงานวิจัย.....	18
3.3 วิธีการทดลอง.....	18
บทที่ 4	25
ผลการทดลองและวิจารณ์.....	25
4.1 อิทธิพลของแคดเมียม แคดเมียม-กรดฮิวมิก และกรดฮิวมิก ต่อจำนวนเซลล์ของแพลงก์ตอน พืชและน้ำหนักราก.....	25
4.2 อิทธิพลของแคดเมียม แคดเมียม-กรดฮิวมิก และกรดฮิวมิก ต่อปริมาณคลอโรฟิลล์เอ	30
บทที่ 5	35
สรุปผลการทดลอง.....	35
ภาคผนวก.....	37
รายการอ้างอิง.....	52
ประวัติผู้เขียน.....	57



สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 1 พิษเฉียบพลันในรูป LC ₅₀ ของคลอรีไฟริฟอส และแคดเมียมต่อไร้น้ำแดง <i>M. micrura</i> และหนอนแดง <i>C. striatipennis</i> ตายที่ระยะเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง	14
ตารางที่ 2 รายชื่อสารเคมีและบริษัทผู้จัดจำหน่าย	18
ตารางที่ 3 รายชื่อเครื่องมือและบริษัทผู้จำหน่าย	18
ตารางที่ 4 Transformation of percentages to probits	23
ตารางที่ 5 อัตราการลดลงของแพลงก์ตอนพืช (<i>Chlorella</i> sp.) ที่ทดสอบด้วยสารละลายแคดเมียม (Cd) แคดเมียม-กรดฮิวมิก (Cd-HA) และกรดฮิวมิก (HA) ที่ความเข้มข้น 10^{-10} , 10^{-9} , 10^{-8} , 10^{-7} และ 10^{-6} โมล ตามลำดับ เปรียบเทียบกับชุดควบคุม	26
ตารางที่ 6 จำนวนเซลล์ของแพลงก์ตอนพืช (<i>Chlorella</i> sp.) ที่ทดสอบด้วยสารละลายแคดเมียม ที่ความเข้มข้น 10^{-10} , 10^{-9} , 10^{-8} , 10^{-7} และ 10^{-6} โมล ตามลำดับ เปรียบเทียบกับชุดควบคุม	39
ตารางที่ 7 จำนวนเซลล์ของแพลงก์ตอนพืช (<i>Chlorella</i> sp.) ที่ทดสอบด้วยสารละลายแคดเมียม-กรดฮิวมิก ที่ความเข้มข้น 10^{-10} , 10^{-9} , 10^{-8} , 10^{-7} และ 10^{-6} โมล ตามลำดับ เปรียบเทียบกับชุดควบคุม	40
ตารางที่ 8 จำนวนเซลล์ของแพลงก์ตอนพืช (<i>Chlorella</i> sp.) ที่ทดสอบด้วยสารละลายกรดฮิวมิก ที่ความเข้มข้น 10^{-10} , 10^{-9} , 10^{-8} , 10^{-7} และ 10^{-6} โมล ตามลำดับ เปรียบเทียบกับชุดควบคุม	41
ตารางที่ 9 ปริมาณน้ำหนักแห้งของแพลงก์ตอนพืช (<i>Chlorella</i> sp.) ที่ทดสอบด้วยสารละลายแคดเมียม (Cd) แคดเมียม-กรดฮิวมิก (Cd-HA) และกรดฮิวมิก (HA) ที่ความเข้มข้น 10^{-10} , 10^{-9} , 10^{-8} , 10^{-7} และ 10^{-6} โมล ตามลำดับ	42
ตารางที่ 10 ปริมาณคลอโรฟิลล์เอ ที่ทดสอบด้วยสารละลายแคดเมียม (Cd) แคดเมียม-กรดฮิวมิก (Cd-HA) และกรดฮิวมิก (HA) ที่ความเข้มข้น 10^{-10} , 10^{-9} , 10^{-8} , 10^{-7} และ 10^{-6} โมล ตามลำดับ เปรียบเทียบกับชุดควบคุม	42
ตารางที่ 11 ปริมาณคลอโรฟิลล์เอ ที่ทดสอบด้วยสารละลายแคดเมียม (Cd) แคดเมียม-กรดฮิวมิก (Cd-HA) และกรดฮิวมิก (HA) ที่ความเข้มข้น 10^{-10} , 10^{-9} , 10^{-8} , 10^{-7} และ 10^{-6} โมล ตามลำดับ	43

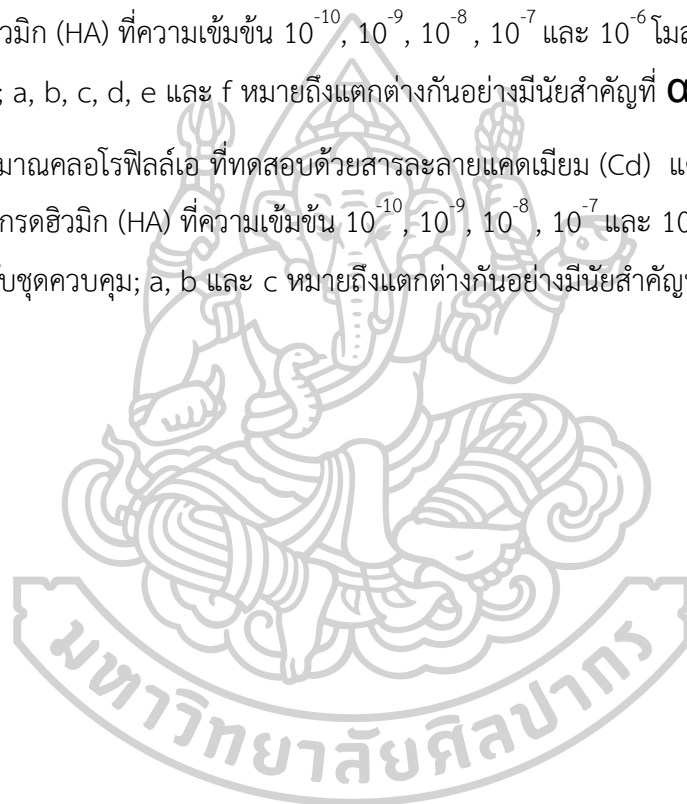
ตารางที่ 25 อัตราการลดลงของแฟลงก์ตอนพืช (<i>Chlorella</i> sp.) ที่ทดสอบด้วยสารละลายแคดเมียม ที่ความเข้มข้น 10^{-10} , 10^{-9} , 10^{-8} , 10^{-7} และ 10^{-6} โมล และชุดควบคุม.....	50
ตารางที่ 26 อัตราการลดลงของแฟลงก์ตอนพืช (<i>Chlorella</i> sp.) ที่ทดสอบด้วยสารละลายแคดเมียม- กรดฮิวมิก ที่ความเข้มข้น 10^{-10} , 10^{-9} , 10^{-8} , 10^{-7} และ 10^{-6} โมล และชุดควบคุม.....	50
ตารางที่ 27 อัตราการลดลงของแฟลงก์ตอนพืช (<i>Chlorella</i> sp.) ที่ทดสอบด้วยสารละลายกรดฮิวมิก ที่ความเข้มข้น 10^{-10} , 10^{-9} , 10^{-8} , 10^{-7} และ 10^{-6} โมล และชุดควบคุม.....	51



สารบัญภาพ

	หน้า
ภาพที่ 1 ขั้นตอนในการศึกษา	3
ภาพที่ 2 การจำแนกสีของสารฮิวมิกแต่ละชนิด	4
ภาพที่ 3 การจำแนกสารฮิวมิก	5
ภาพที่ 4 โครงสร้างของกรดฮิวมิก ตามแนวความคิดของ Stevenson	6
ภาพที่ 5 โครงสร้างของกรดฟัลวิกตามแนวคิดของ Stevenson.....	6
ภาพที่ 6 โครงสร้างการจับกันของทองแดงกับหมู่ฟังก์ชันของสารฮิวมิก.....	7
ภาพที่ 7 ลักษณะเซลล์ของ <i>Chlorella</i> sp.....	11
ภาพที่ 8 การดูดกลืนสเปกตรัมของแสงขาวของคลอโรฟิลล์ a และคลอโรฟิลล์ b ซึ่งสามารถดูดกลืนแสงได้ดีในช่วงคลื่นแสงสีน้ำเงิน และสีแดง	12
ภาพที่ 9 ผลของแคดเมียมต่ออัตราการเติบโตสัมพัทธ์ของน้ำหนักของสาหร่ายเดนซา	13
ภาพที่ 10 การตอบสนองต่อความเป็นพิษที่เพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของแคดเมียม	14
ภาพที่ 11 ความเป็นพิษของแคดเมียมความเข้มข้น 200 ไมโครกรัม/ลิตรต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของสาหร่าย <i>P. subcapitata</i> ในสภาวะที่มีความเข้มข้นของ	15
ภาพที่ 12 การเจริญเติบโตของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน <i>A. circinalis</i> ภายใต้สภาวะควบคุมที่มีปริมาณเหล็ก (Fe) และกรดฮิวมิก (HA) ที่แตกต่างกัน.....	16
ภาพที่ 13 ปริมาณรงควัตถุ 3 ชนิด ในข้าวไรซ์เบอร์รี่ (ไมโครกรัมต่อกรัม) ก) ปริมาณคลอโรฟิลล์ ข) ปริมาณแคโรทีนอยด์ ค) ปริมาณแอนโทไซยานิน.....	17
ภาพที่ 14 ความเข้มข้นของแคดเมียม กรดฮิวมิก และแคดเมียม-กรดฮิวมิก ที่ใช้ในการทดลอง.....	21
ภาพที่ 15 ขั้นตอนการทดสอบตัวอย่าง.....	24
ภาพที่ 16 จำนวนเซลล์ของแพลงก์ตอนพืช (<i>Chlorella</i> sp.) ที่ทดสอบด้วย ก) แคดเมียม (Cd) ข) แคดเมียม-กรดฮิวมิก (Cd-HA) และ ค) กรดฮิวมิก (HA) ที่ความเข้มข้น 10^{-10} , 10^{-9} , 10^{-8} , 10^{-7} และ 10^{-6} โมล ตามลำดับ เปรียบเทียบกับชุดควบคุม.....	27

- ภาพที่ 17 ความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่างร้อยละการตายแบบ Probit กับลอการิทึมของความเข้มข้นของสารทดสอบแคดเมียม (Cd) แคดเมียม-กรดฮิวมิก (Cd-HA) และกรดฮิวมิก (HA)..... 29
- ภาพที่ 18 ปริมาณน้ำหนักแห้งของแพลงก์ตอนพืช (*Chlorella* sp.) ที่ทดสอบด้วยสารละลายแคดเมียม (Cd) แคดเมียม-กรดฮิวมิก (Cd-HA) และกรดฮิวมิก (HA) ที่ความเข้มข้น 10^{-10} , 10^{-9} , 10^{-8} , 10^{-7} และ 10^{-6} โมล ตามลำดับ เปรียบเทียบกับชุดควบคุม; a, b และ c หมายถึงแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ $\alpha = 0.05$ 30
- ภาพที่ 19 ปริมาณคลอโรฟิลล์เอ ที่ทดสอบด้วย ก) แคดเมียม (Cd) ข) แคดเมียม-กรดฮิวมิก (Cd-HA) และ ค) กรดฮิวมิก (HA) ที่ความเข้มข้น 10^{-10} , 10^{-9} , 10^{-8} , 10^{-7} และ 10^{-6} โมล ตามลำดับเปรียบเทียบกับชุดควบคุม; a, b, c, d, e และ f หมายถึงแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ $\alpha = 0.05$ 32
- ภาพที่ 20 ปริมาณคลอโรฟิลล์เอ ที่ทดสอบด้วยสารละลายแคดเมียม (Cd) แคดเมียม-กรดฮิวมิก (Cd-HA) และกรดฮิวมิก (HA) ที่ความเข้มข้น 10^{-10} , 10^{-9} , 10^{-8} , 10^{-7} และ 10^{-6} โมล ตามลำดับเปรียบเทียบกับชุดควบคุม; a, b และ c หมายถึงแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ $\alpha = 0.05$ 33



บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาของปัญหา

ในปัจจุบันปัญหาการปนเปื้อนของโลหะหนักในระบบนิเวศทางน้ำเป็นปัญหาที่สำคัญของประเทศไทย เกิดจากการพัฒนาด้านเศรษฐกิจ เทคโนโลยี โรงงานอุตสาหกรรม เกษตรกรรม และกิจกรรมในครัวเรือน ซึ่งส่งผลให้คุณภาพน้ำเสื่อมโทรมลงรวมถึงเป็นอันตรายต่อสัตว์น้ำ โดยเฉพาะแพลงก์ตอนพืชที่เป็นสิ่งมีชีวิตที่ เป็นผู้ผลิตปฐมภูมิในแหล่งน้ำต่าง ๆ สำหรับประเทศไทย ปัญหาการปนเปื้อนของแคดเมียมพบที่อำเภอแม่สอด จังหวัดตาก ที่เกิดจากการถลุงสังกะสีที่มีแคดเมียมเป็นผลพลอยได้ทำให้เกิดการปนเปื้อนลงสู่แหล่งน้ำเป็นปัญหาต่อสิ่งมีชีวิตที่อยู่ทางน้ำเป็นอย่างมาก (สมชาย วิบุญพันธ์, 2558) ซึ่งการศึกษาความเป็นพิษของแคดเมียมต่อแพลงก์ตอนพืชของไทยยังไม่มีผู้ใดได้ศึกษามาก่อน ทำให้การค้นคว้าผลกระทบของแคดเมียมต่อแพลงก์ตอนพืชในแหล่งน้ำของไทยจึงเป็นสิ่งที่น่าสนใจต่อการศึกษาเป็นอย่างยิ่ง

นอกจากแคดเมียมในรูปไอออนที่ละลายน้ำซึ่งสามารถเข้าสู่สิ่งมีชีวิตได้ดีที่สุดแล้ว แคดเมียมยังสามารถถูกดูดซับสารแขวนลอย อนินทรีย์และอินทรีย์ (Collins, 1999) และยังสามารถเกิดสารประกอบเชิงซ้อนกับลิแกนด์อนินทรีย์และอินทรีย์ได้อีกด้วย (Campbell, 1987; Grassi, 2010) ซึ่งรูปแบบต่าง ๆ ของแคดเมียมที่ปรากฏนี้ล้วนทำให้ความเป็นพิษของแคดเมียมเปลี่ยนแปลงไป โดยพบว่าลิแกนด์อินทรีย์ในธรรมชาติที่เกิดจากการย่อยสลายซากพืชซากสัตว์ ได้แก่ สารฮิวมิก (humic substances) เป็นลิแกนด์ที่พบมากทำให้น้ำมีสีน้ำตาล-ดำ และมีบทบาทสำคัญในการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนกับแคดเมียม (Chien, 2006)

สารฮิวมิกในธรรมชาติแบ่งตามคุณสมบัติในการละลายในกรดและด่างได้เป็น 3 ชนิด ได้แก่ กรดฮิวมิก (humic acid) กรดฟัลวิก (fulvic acid) และฮิวมิน (humic) โดยสารประกอบเชิงซ้อนอินทรีย์แคดเมียม-กรดฟัลวิก (Cd-FA) จะอยู่ในรูปที่ละลายน้ำและมีบทบาทในการพาแคดเมียมในรูปสารประกอบเชิงซ้อนที่ละลายน้ำให้ไปได้ไกลจากแหล่งกำเนิด ขณะที่สารประกอบเชิงซ้อนอินทรีย์แคดเมียม-กรดฮิวมิก (Cd-HA) จะมีโครงสร้างที่มีลักษณะที่ใหญ่กว่าและเคลื่อนที่ได้ช้ากว่าส่งผลต่อสัตว์และพืชน้ำบริเวณนั้นได้มากกว่า นอกจากนี้กรดฮิวมิกที่พบในธรรมชาติมักมีปริมาณมากกว่ากรดฟัลวิกหลายเท่า (Domeizel, 2004; Sellami, 2008) ทำให้กรดฮิวมิกมีบทบาทสำคัญในการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนกับไอออนโลหะในธรรมชาติ อย่างไรก็ตามพบว่าโครงสร้างของกรดฮิวมิกมีผลต่อความสามารถในการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนและเสถียรภาพของสารประกอบเชิงซ้อนที่เกิดขึ้น โดยกรดฮิวมิกที่มีความเสถียรมาก ได้แก่ โครงสร้างแอมโรแมติและพันธะไม่อิ่มตัวต่าง ๆ จะมีแนวโน้มที่ย่อยสลายยากสารประกอบเชิงซ้อนโลหะที่เกิดขึ้นอยู่ในสิ่งแวดล้อมได้นาน (Fuentes, 2006; Grinhut, 2007) ขณะที่สารประกอบเชิงซ้อนที่เกิดจากโครงสร้างที่มีความเสถียรน้อย เช่น โครงสร้าง

แอลิแพติก จะมีแนวโน้มที่ถูกย่อยสลายและปลดปล่อยไอออนโลหะกลับสู่สิ่งแวดล้อมได้ง่าย (Fuentes, 2006) และเป็นพิษต่อสิ่งมีชีวิตได้ ดังนั้นการศึกษาอิทธิพลของโครงสร้างของกรดฮิวมิกที่มีต่อเสถียรภาพของสารประกอบเชิงซ้อนโลหะจึงมีความสำคัญ เนื่องจากกรดฮิวมิกจากดินและปุ๋ยอาจถูกชะล้างและพัดพาจากการทำการเกษตรลงสู่แหล่งน้ำ เช่นเดียวกับการปนเปื้อนของแคดเมียมที่ปลดปล่อยจากโรงงานอุตสาหกรรม ดังเช่นปัญหาการปนเปื้อนแคดเมียมที่ต.แม่ตาว อ.แม่สอด จ.ตาก เป็นต้น ดังนั้นในการศึกษานี้จึงได้นำกรดฮิวมิกที่สกัดจากปุ๋ยหมักมูลวัววันที่ 35 มาศึกษาการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนของแคดเมียมเปรียบเทียบกับรูปแคดเมียมไอออนที่ละลายในลักษณะความเป็นพิษต่อแพลงก์ตอนพืชที่พบได้ทั่วไปในแหล่งน้ำ โดยเลือกแพลงก์ตอนพืชของไทย ได้แก่ คลอเรลลา (*Chlorella* sp.) ที่มีความสำคัญในระบบนิเวศ จากลักษณะของแพลงก์ตอนที่มีโครงสร้างไม่ซับซ้อน จึงตอบสนองต่อความเป็นพิษได้อย่างรวดเร็ว (ศิริเพ็ญ ตรีชัยยาพร, 2520) เหมาะแก่การนำไปใช้เป็นตัวชี้ทางชีวภาพในแหล่งน้ำ โดยผลการศึกษาที่ได้จะนำไปสู่ความรู้ความเข้าใจของผลกระทบของแคดเมียมต่อสิ่งมีชีวิตปฐมภูมิซึ่งเป็นผู้ผลิตเบื้องต้นของระบบนิเวศ อันจะเป็นฐานข้อมูลที่ดีในการศึกษาผลกระทบต่อระบบนิเวศทางน้ำ และนำไปสู่การจัดการทรัพยากรน้ำของประเทศไทยต่อไป

1.2 วัตถุประสงค์ของการศึกษา

1.2.1 เพื่อศึกษาความเป็นพิษของแคดเมียมที่ความเข้มข้นต่างๆ ต่อการเจริญเติบโตของแพลงก์ตอนพืช

1.2.2 เพื่อศึกษาอิทธิพลของกรดฮิวมิกที่สกัดจากปุ๋ยหมักที่มีต่อแคดเมียมต่อการเจริญเติบโตของแพลงก์ตอนพืช

1.3 สมมติฐานของการศึกษา

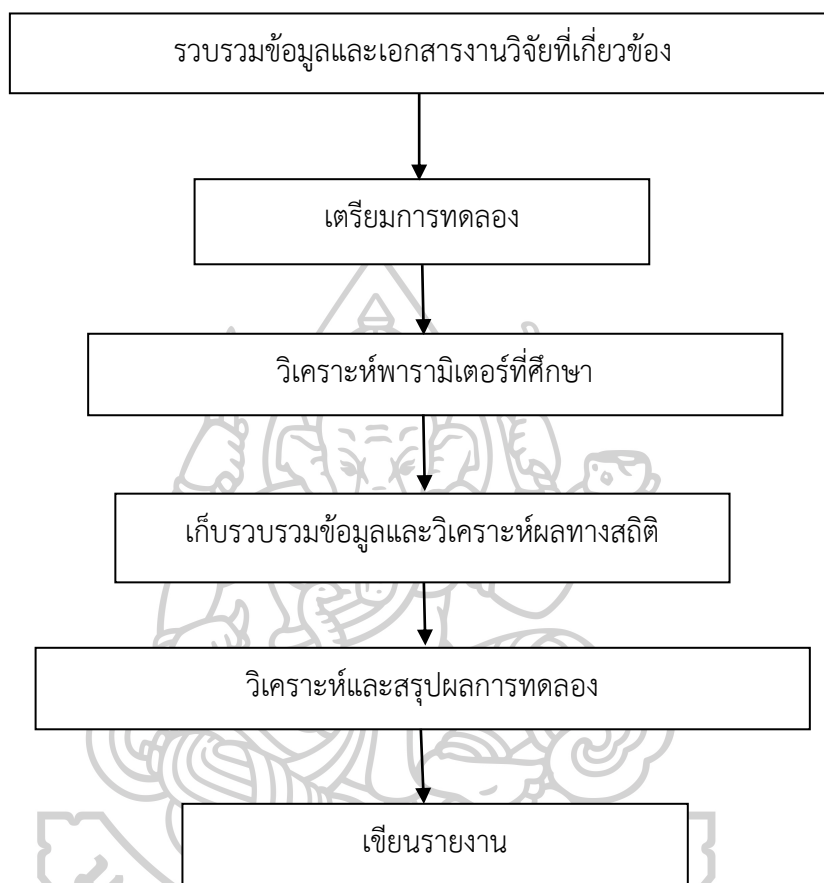
กรดฮิวมิกมีอิทธิพลต่อความเป็นพิษของแคดเมียมที่มีต่อแพลงก์ตอนพืชที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ แตกต่างกันไป

1.4 ขอบเขตการศึกษา

ศึกษาความเป็นพิษของแคดเมียมต่อการเจริญเติบโตของแพลงก์ตอนพืช เปรียบเทียบกับสถานะที่มีและไม่มีกรดฮิวมิกที่สกัดจากปุ๋ยหมักมูลวัวในวันที่ 35 ในอัตราส่วนกรดฮิวมิกต่อแคดเมียม 1:1 โดยในการทดลองนี้จะใช้แคดเมียมและกรดฮิวมิกที่ความเข้มข้น 10^{-6} , 10^{-7} , 10^{-8} , 10^{-9} และ 10^{-10} โมล เปรียบเทียบกับชุดควบคุม โดยความเข้มข้นที่เลือกศึกษานี้อยู่ในช่วงค่ามาตรฐานน้ำผิวดิน (0.005-0.05 มิลลิกรัม/ลิตร หรือ 2.1×10^{-8} - 2.1×10^{-7} โมล)

1.5 ขั้นตอนการศึกษา

การศึกษานี้มีลำดับขั้นตอนศึกษาดังแสดงในภาพที่ 1



ภาพที่ 1 ขั้นตอนในการศึกษา

1.6 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.6.1 ทราบถึงระดับความเป็นพิษของแคดเมียมที่ความเข้มข้นต่างๆ ที่ส่งผลต่อแพลงก์ตอนพืช

1.6.2 ทราบอิทธิพลของกรดฮิวมิกที่มีต่อแคดเมียมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ และผลที่มีต่อแพลงก์ตอนพืชในเชิงเปรียบเทียบกับปราศจากกรดฮิวมิก

1.6.3 สามารถใช้แพลงก์ตอนพืชเป็นอีกทางเลือกหนึ่งในการเป็นดัชนีทางชีวภาพ (Bioindicator) สำหรับการตรวจสอบคุณภาพในแหล่งน้ำต่าง ๆ แม้ในระดับความเข้มข้นทดสอบที่ต่ำกว่าระดับมาตรฐานน้ำผิวดิน

บทที่ 2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 สารฮิวมิก

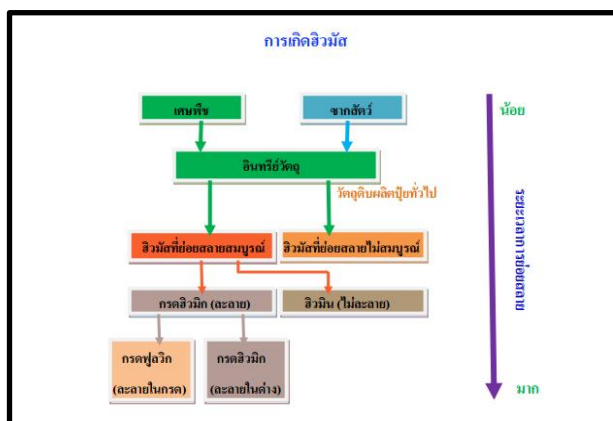
สารฮิวมิกเกิดจากการย่อยสลายเศษซากของสิ่งมีชีวิต ซากพืช ซากสัตว์ โดยอาศัยกิจกรรมของจุลินทรีย์ กระบวนการแปรสภาพจะเกิดขึ้นได้อย่างรวดเร็วจากนั้นการย่อยสลายก็จะช้าลงเรื่อยๆ เนื่องจากสารอินทรีย์เหล่านั้นแปรสภาพไปเป็นสารฮิวมิก ซึ่งสารฮิวมิกมีโครงสร้างที่ซับซ้อนสลายตัวยากแต่ก็ยังคงค่อยๆ สลายตัวต่อไปจนในที่สุดก็กลายเป็นคาร์บอนไดออกไซด์กับน้ำ ซึ่งสารฮิวมิกเป็นองค์ประกอบสำคัญของอินทรีย์วัตถุประมาณ 60-80% (มณฑนีย์ เศรษฐภักดี, 2545) สามารถพบในดินในน้ำและแหล่งน้ำธรรมชาติ ตะกอนในคลอง หนอง บึง ทะเลสาบ และมหาสมุทร แหล่งพรุ (Peat bog) ถ่านหิน (วิทยา มะเสนา, 2531) และในปุ๋ยหมักลักษณะโดยทั่วไปของสารฮิวมิกมีลักษณะไม่แน่นอน (amorphous) มีคุณสมบัติเป็นกรดอ่อน และคอลลอยด์ มีสีคล้ำน้ำตาลถึงดำ มีน้ำหนักโมเลกุลสูง (Robert, 1995) ดังภาพที่ 2 คือ มีสีน้ำตาลเข้มถึงดำ



ภาพที่ 2 การจำแนกสีของสารฮิวมิกแต่ละชนิด

ที่มา : Stevenson (1994)

มีโครงสร้างหลักประกอบด้วยสารประกอบ แอโรแมติก เป็นสารประกอบไฮโดรคาร์บอนที่มีโครงสร้างเป็นวงแหวนเป็นสารประกอบ ไมอิมตัวฟีนอลิกเป็นสารที่มีโครงสร้างอย่างง่าย เช่น กรดฟีนอลิก (phenolic acids) ไปจนถึงกลุ่มที่มีโครงสร้างเป็นโพลีเมอร์ เช่น ลิกนิน (lignin) สารฮิวมิกสามารถจำแนกประเภทจากคุณสมบัติการละลายในกรดและด่างที่แตกต่างกันได้ 3 ประเภท คือ กรดฮิวมิก กรดฟุลวิก และฮิวมิน (Stevenson, 1994) ดังภาพที่ 3



ภาพที่ 3 การจำแนกสารฮิวมิค

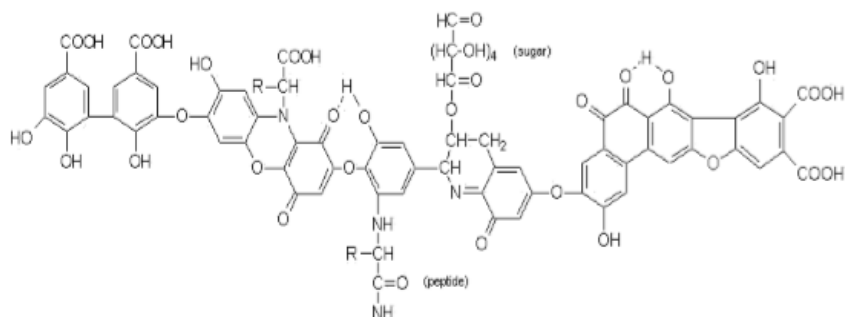
ที่มา : บริษัท ออร์กาเนลไลฟ์ อินโนเวชั่น (2557)

2.1.1 โครงสร้างของสารฮิวมิค

โครงสร้างของกรดฮิวมิค กรดฟูวอิก และสารฮิวมิน มีลักษณะที่เฉพาะตัวซึ่งมีผลทำให้มีคุณสมบัติการละลายการละลาย และคุณสมบัติบางประการแตกต่างกันไปด้วย แต่จะมีธาตุองค์ประกอบหลักที่เหมือนกันคือ คาร์บอน (carbon, C) และออกซิเจน (oxygen, O) ส่วนธาตุไฮโดรเจน (hydrogen, H) และไนโตรเจน (nitrogen, N) จะมีคุณลักษณะแตกต่างกันออกไป (มณฑนีย์ เศรษฐภักดี, 2545) ดังต่อไปนี้

2.1.1.1 กรดฮิวมิค (Humic acid)

กรดฮิวมิคจะละลายได้ดีในสารละลายต่าง แต่ตกตะกอนในสารละลายกรดและละลายน้ำได้เล็กน้อย สูตรโมเลกุลโดยเฉลี่ยของกรดฮิวมิคคือ $C_{10}H_{12}O_5N$ ซึ่งสามารถพบกรดฮิวมิคได้ในดิน ในน้ำ และในปุ๋ย มีสีน้ำตาลเข้มถึงดำ สีของกรดฮิวมิค จะเป็นตัวบ่งชี้ให้เห็นถึงคุณลักษณะบางประการของกรดฮิวมิคได้ กรดฮิวมิคนั้นจะไม่มีกลิ่นและในธรรมชาติจะมีลักษณะเป็นคอลลอยด์หรือของแข็งที่มีสภาพเป็นกรด มีน้ำหนักโมเลกุล ค่อนข้างเสถียร จึงทำให้เกิดความคงทนในดินได้ดี เกิดปฏิกิริยาต่างๆได้ กรดฮิวมิคนั้นจะมีโครงสร้างเป็นแอมโรแมติก หมู่ฟังก์ชันส่วนใหญ่จะเป็นหมู่ฟีนอลิก (Ar-OH) จะยึดจับและแลกเปลี่ยนธาตุอาหารพืชและโลหะอื่นๆได้ ดังภาพที่ 4 โครงสร้างของกรดฮิวมิค (Stevenson, 1994)

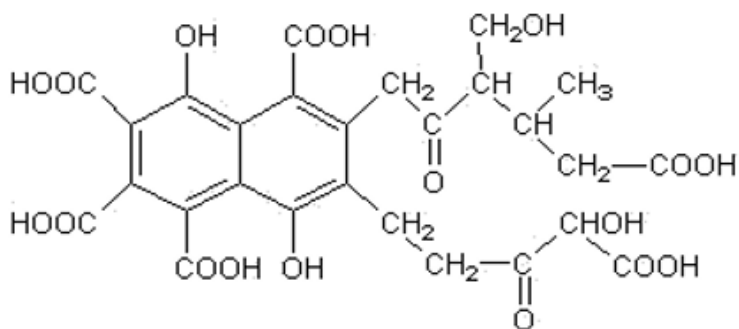


ภาพที่ 4 โครงสร้างของกรดฮิวมิก ตามแนวความคิดของ Stevenson

ที่มา : Stevenson (1994)

2.1.1.2 กรดฟัลวิก (Fulvic)

กรดฟัลวิก สูตรโมเลกุลโดยเฉลี่ยคือ $C_{12}H_{12}O_9N$ มีน้ำหนักโมเลกุลและปริมาณคาร์บอนอยู่น้อย แต่มีปริมาณออกซิเจนมาก ค่าความเป็นกรดและการละลายสูง เป็นสารประกอบที่มีขั้วสามารถยึดจับกับโลหะได้ดี มีความเสถียรน้อยกว่ากรดฮิวมิก เนื่องจากละลายในน้ำได้ดีจึงไม่เกิดความคงทนในดิน แต่สามารถเกิดปฏิกิริยาต่าง ๆ ได้ดีกว่ากรดฮิวมิก เพราะในโครงสร้างส่วนใหญ่เป็นสายอะโรมาติกหมู่ฟังก์ชันส่วนใหญ่จะเป็นหมู่ COOH สามารถยึดจับและแลกเปลี่ยนธาตุอาหารพืชและโลหะอื่น ๆ ได้เป็นอย่างดี (ยงยุทธ โอสภสสกา, ศุภมาส พนิชศักดิ์พัฒนา, อรรถดิษฐ์ วงศ์มณีโรจน์, & ชัยสิทธิ์ ทองจู, 2541) ดังภาพที่ 5 โครงสร้างของกรดฟัลวิก



ภาพที่ 5 โครงสร้างของกรดฟัลวิกตามแนวคิดของ Stevenson

ที่มา : Stevenson (1994)

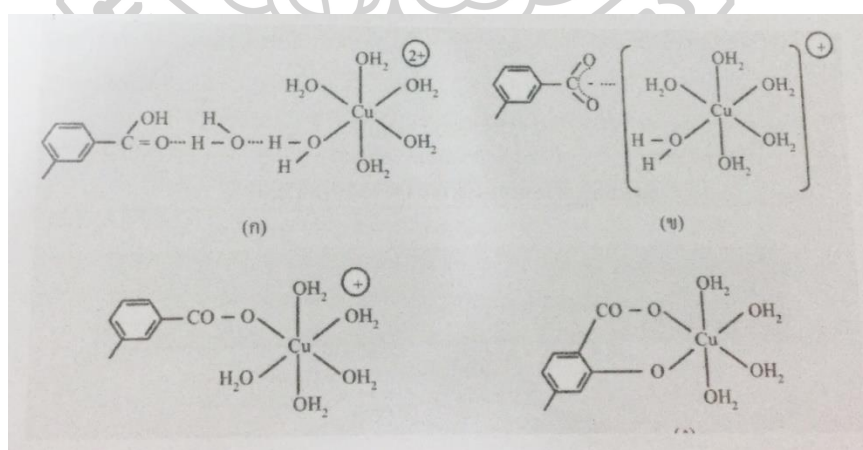
2.1.1.3 ฮิวมิน (Humin)

ฮิวมินมีโครงสร้างขนาดใหญ่ มีน้ำหนักโมเลกุลสูง ไม่สามารถละลายทั้งในน้ำกรด และด่าง มีสีน้ำตาลเข้มไปจนถึงสีดำ มีหมู่ฟังก์ชันน้อยทำให้ฮิวมินมีอิทธิพลในการดูดซับจุลธาตุอาหารและโลหะได้น้อยกว่ากรดฟัลวิกและกรดฮิวมิก สำหรับฮิวมินมีสีดำ มีความคงทนมาก ย่อยสลายยาก มีหมู่ฟังก์ชันน้อยมากจึงไม่ละลายและทำปฏิกิริยากับไอออนโลหะ ดังนั้นจึงไม่นิยมกล่าวถึง (Stevenson, 1994)

2.1.2 คุณสมบัติของสารฮิวมิกต่อการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนกับโลหะ

สารฮิวมิกมีคุณสมบัติในการเกิดพันธะกับไอออนโลหะได้ในสิ่งแวดล้อมทางดินและน้ำ จึงทำหน้าที่ทั้งลดพิษของโลหะ เช่น แคดเมียมซึ่งเป็นโลหะที่เป็นพิษ จะเป็นพิษต่อแพลงก์ตอนพืชเมื่ออยู่ในรูปของไอออน เมื่อไอออนของโลหะที่เป็นพิษทำปฏิกิริยากับกรดฮิวมิกเป็นสารประกอบอินทรีย์เชิงซ้อนแล้ว จึงไม่เป็นพิษกับแพลงก์ตอนพืชเป็นตัวควบคุมสมดุลการละลายของธาตุโลหะประจวบ โดยการปล่อยไอออนของธาตุโลหะให้กับน้ำ เมื่อไอออนของโลหะนั้นถูกนำไปใช้โดยแพลงก์ตอนพืช ภายใต้ภาวะที่เหมาะสมจะไม่ปล่อยไอออนให้ถึงระดับที่เป็นพิษกับแพลงก์ตอนพืช (ไทยถาวร เลิศวิทยาประสิทธิ์, 2530)

สารฮิวมิกมีความสำคัญต่อการแลกเปลี่ยนไอออนของโลหะในสิ่งแวดล้อมได้ดี (Stevenson, 1994) เพราะสามารถเกิดพันธะกับโลหะได้ โดยหมู่ฟังก์ชันที่อยู่ในโมเลกุลสารอินทรีย์จะทำปฏิกิริยากับโลหะ ดังเช่นภาพที่ 6 จะแสดงพบว่าทองแดงมีการจับกับหมู่ฟังก์ชันของสารประกอบฮิวมิกแบ่งตามพันธะและแรงยึดเหนี่ยวที่เกิดขึ้นได้ถึง 4 กลุ่ม



ภาพที่ 6 โครงสร้างการจับกันของทองแดงกับหมู่ฟังก์ชันของสารฮิวมิก

ที่มา : นัทธีรา (2555)

2.2. แคดเมียม

2.2.1 คุณสมบัติทางกายภาพและเคมี

แคดเมียมเป็นธาตุโลหะหนักที่มีสีเงินแกมขาว มีคุณสมบัติเบา อ่อน ดัดโค้งได้ง่าย และทนต่อการกัดกร่อน มีความหนาแน่น 8.65 ค่า Mohs Hardness 2.0 ค่า Refractive Index 1.13 จุด หลอมเหลว (m.p) 302.9 องศาเซลเซียส จุดเดือด (b.p.) 767 องศาเซลเซียส มีความดันไอ (Vapor Pressure) 1.4 มิลลิเมตร ที่ 400 องศาเซลเซียส และ 16 มิลลิเมตร ที่ 500 องศาเซลเซียส ดังนั้นเมื่อมีการใช้ความร้อนสูง เช่น การอบแร่ การบัดกรี การหลอมเหล็ก และการเผาของเสีย จะทำให้มีไอของแคดเมียมออกมาได้ในระหว่างกระบวนการที่มีการให้ความร้อน และไอของแคดเมียมในอากาศจะถูกออกซิไดซ์อย่างรวดเร็วไปเป็นแคดเมียมออกไซด์ นอกจากนี้แคดเมียมยังเป็นธาตุที่ไม่ละลายน้ำ แต่ละลายได้ดีในกรดไนตริกและกรดไฮโดรคลอริก เจือจางซึ่งจะทำให้เป็นอันตรายต่อคนแบบเฉียบพลันเมื่อกินเข้าไป โดยทั่วไปจะไม่ค่อยพบแคดเมียมในรูปของแคดเมียมบริสุทธิ์ แต่มักพบในรูปของสารประกอบของเกลือ เช่น แคดเมียมซัลเฟต (CdSO_4) แคดเมียมไนเตรต ($\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$) แคดเมียมคลอไรด์ (CdCl_2) ซึ่งเป็นสารประกอบที่ไม่มีสีและละลายได้ดีในน้ำ และแคดเมียมยังสามารถรวมตัวกับสารอื่น ๆ เป็นสารประกอบเชิงซ้อนที่ละลายน้ำได้ โดยเฉพาะเมื่อรวมกับไซยาไนด์ (Cyanides) และเอมีน (Amines) (สิทธิชัย ดันธนะสถิตย์, 2525)

2.2.2 ประโยชน์ของแคดเมียม

แคดเมียมเกิดขึ้นในธรรมชาติร่วมกับสังกะสีเป็นส่วนมาก เพราะธาตุทั้งสองมีสมบัติทางฟิสิกส์และเคมีที่คล้ายคลึงกัน และมีการนำแคดเมียมมาใช้ประโยชน์ทั้งทางด้าน เกษตรกรรมและอุตสาหกรรม ดังนี้ (สมชาย วิบูลย์พันธ์, 2558)

ด้านเกษตรกรรม ใช้แคดเมียมเป็นองค์ประกอบของสารปราบวัชพืช (Herbicide) สารปราบเชื้อรา (Fungicide) และใช้เป็นส่วนผสมในการผลิตปุ๋ยฟอสเฟต เป็นต้น

ด้านอุตสาหกรรม ใช้แคดเมียมเป็นส่วนประกอบของสีในอุตสาหกรรมทำสีทาบ้าน สีชุบโลหะเพื่อป้องกันการกัดกร่อน สีย้อมในเซรามิก เส้นใยแก้ว หมึกพิมพ์ ได้แก่ แคดเมียมซัลไฟด์และแคดเมียมซัลไฟด์ ใช้เป็นสารที่ทำให้สีเป็นเนื้อเดียวกัน แคดเมียมสเดียมเรดใช้ในการทำพลาสติกโพลีไวนิลคลอไรด์ใช้ผสมกับโลหะอื่นเป็นโลหะผสมอัลลอยด์ เพื่อเพิ่มความเหนียวและความทนทานต่อการกัดกร่อน เช่น อัลลอยด์ของทองแดงที่มีแคดเมียม 1% (Cadmium Bronze) และใช้เป็นส่วนประกอบในวิทยุ โทรศัพท์ ในอุตสาหกรรมทำแบตเตอรี่ เป็นต้น จึงเป็นสาเหตุให้แคดเมียมมีการปนเปื้อนสู่สิ่งแวดล้อมและเป็นอันตรายต่อสิ่งมีชีวิตและมนุษย์ได้

2.2.3 การปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อม

แคดเมียมเป็นธาตุที่มีอยู่น้อยในธรรมชาติ ส่วนมากมักเกิดปนอยู่กับแร่สังกะสี ทองแดง และดีบุก ดังนั้นจึงสามารถพบแคดเมียมได้ในโรงงานอย่างแร่สังกะสี ถลุงดีบุก เป็นต้น ในทางอุตสาหกรรมแคดเมียมถูกนำมาใช้ในการทำยาง พลาสติก ผสมน้ำมันเครื่อง ใช้ทำสารกำจัดศัตรูพืช เหล่านี้จะทำให้แคดเมียมมีการปนเปื้อนในดินได้ ส่วนแคดเมียมในอากาศมาจากควันที่ปล่อยออกมาจากโรงงานดังกล่าว การปนเปื้อนของแคดเมียมในน้ำส่วนใหญ่มาจากโรงงานอุตสาหกรรมต่าง ๆ เช่น โรงงานอย่างแร่สังกะสี โรงงานชุบโลหะ โรงงานแบตเตอรี่ ที่มีการปล่อยน้ำเสียลงสู่แหล่งน้ำจากการทำเหมืองแร่ สังกะสี ดีบุก ซึ่งมีแคดเมียมปนเปื้อนอยู่ก็จะเกิดการชะล้างลงสู่แหล่งน้ำได้ (สิทธิชัย ตันธนะสฤกษ์, 2525)

กิจกรรมต่าง ๆ ของมนุษย์ทำให้เกิดการแพร่กระจายของแคดเมียมในสิ่งแวดล้อม และห่วงโซ่อาหารของสิ่งมีชีวิต โดยพบว่าเมื่อมีการแพร่กระจายของแคดเมียมลงสู่แหล่งน้ำ จะเกิดการสะสมอยู่ในตะกอนดิน หรือในรูปไอออนภาคแขวนลอยในน้ำ สิ่งมีชีวิตในน้ำจะได้รับแคดเมียมเข้าสู่ร่างกายและสะสมในส่วนต่าง ๆ ของร่างกาย รวมทั้งเกิดการถ่ายทอดไปยังผู้บริโภคที่สูงขึ้นในห่วงโซ่อาหาร มนุษย์ได้รับแคดเมียมเข้าสู่ร่างกายจากอาหารที่บริโภคเป็นหลัก โดยอาจปะปนมากับผักผลไม้ หรือเนื้อสัตว์ที่นำมาปรุงเป็นอาหาร หรือได้รับผ่านทางหายใจเอาอากาศที่มีแคดเมียมปนเปื้อนอยู่ โดยเฉพาะในแหล่งอุตสาหกรรมที่ใช้แคดเมียมเป็นวัตถุดิบ (ประมาณ พรหมสุทธิรัตน์ & ประไพสิริ สิริกาญจน์, 2531)

2.2.4 ความเป็นพิษของแคดเมียม

เมื่อแคดเมียมเข้าสู่ร่างกายจะถูกดูดซึมในระบบทางเดินอาหารแล้วลำเลียงไปตามกระแสเลือด และสะสมตามอวัยวะต่าง ๆ ในร่างกาย โดยสร้างสารประกอบเชิงซ้อนกับโมเลกุลของโปรตีน ส่วนใหญ่แคดเมียมจะถูกสะสมอยู่ที่ตับและไต และมีค่าครึ่งชีวิต 10 – 30 ปี

การหายใจเอาแคดเมียมในปริมาณที่เกินกว่ามาตรฐานจะทำให้เกิดพิษอย่างเฉียบพลัน เกิดอาการไอหายใจมีเสียงติดขัด ปวดศีรษะ มีไข้ เยื่อปอดถูกทำลาย ปอดอักเสบ และปอดบวมน้ำภายใน 12 – 24 ชั่วโมง การสะสมแคดเมียมในร่างกายยังเป็นสาเหตุหนึ่งทำให้เกิดโรคมะเร็งหลายชนิดโดยเฉพาะอย่างยิ่ง มะเร็งปอด รวมทั้ง การสัมผัสกับแคดเมียมยังมีส่วนเกี่ยวข้องกับการเกิดมะเร็งต่อมลูกหมากและไต การสัมผัสกับแคดเมียมโดยตรง ทำให้เกิดการระคายเคืองต่อผิวหนัง และดวงตา ส่วนการกลืนกินแคดเมียมจะทำให้เกิดพิษแบบเฉียบพลัน เกิดอาการเวียนศีรษะ คลื่นไส้ อาเจียน ปวดท้องรุนแรง มีอาการถ่ายเหลว และอาจมีภาวะเลือดปนออกมา เนื่องจากเกิดการระคายเคือง และอักเสบของอวัยวะภายในระบบทางเดินอาหาร หากมีอาการรุนแรง อาจเกิดอาการช็อกเนื่องจากขาดน้ำ และไตวายเฉียบพลันเสียชีวิตได้ง่าย เมื่อมีการสะสมแคดเมียมใน

ร่างกายที่ละเอียดอ่อนที่สุดในระยะเวลายาวนาน จะทำให้เกิดการสะสมแคลเซียมในกระดูก เกิดเป็นโรคอิตาลีไต (Itai-Itai) ทำให้กระดูกเปราะ หักง่าย มีอาการเจ็บปวดกระดูกทั่วทั้งร่างกาย และเกิดโรคไตเสื่อม (สมชาย วิบูลย์พันธ์, 2558)

2.3 แพลงก์ตอนพืชคลอเรลลา

บทบาทของแพลงก์ตอนชนิดนี้มีส่วนสำคัญในการเป็นแหล่งอาหารของสัตว์น้ำชนิดอื่นๆ ในแหล่งน้ำ โดยที่แพลงก์ตอนพืชมีบทบาทหลักในการเป็นผู้ผลิตเบื้องต้น (Primary producer) ของห่วงโซ่อาหารและเป็นอาหารของแพลงก์ตอนสัตว์ จากนั้นแพลงก์ตอนสัตว์ก็จะถูกกินด้วยสัตว์น้ำวัยอ่อน ตามด้วยสัตว์น้ำอื่น ๆ ต่อกันไปเรื่อย ๆ จนถึงมนุษย์ เมื่อเป็นเช่นนี้สิ่งมีชีวิตทุก ๆ ชนิดในห่วงโซ่อาหารจึงมีความสัมพันธ์กันอย่างแยกไม่ได้อันหมายความว่ามนุษย์เองก็มีอิทธิพลอย่างมากในการเข้าไปเปลี่ยนแปลงความสมดุลของห่วงโซ่อาหารในรูปแบบต่าง ๆ ที่เห็นกันอย่างชัดเจนก็คือการทิ้งของเสียลงแหล่งน้ำ ทั้งจากชุมชนหรือจากแหล่งอุตสาหกรรม ซึ่งเป็นต้นเหตุที่ทำให้คุณสมบัติของน้ำมีการเปลี่ยนแปลงจนทำให้องค์ประกอบของชนิดและปริมาณแพลงก์ตอนมีการเปลี่ยนแปลงไปจากเดิม ซึ่งจะส่งผลกระทบต่อสิ่งมีชีวิตอื่น ๆ ในห่วงโซ่อาหาร (ศิริเพ็ญ ตรีไชยาพร, 2520)

2.3.1 ชีววิทยาแพลงก์ตอนพืชคลอเรลลา

ในปีค.ศ. 1890 เอ็ม คับพลิว ไบเจอร์นิก นักจุลชีววิทยาชาวรัสเซีย ได้ค้นพบ *Chlorella* sp. เป็นคนแรกและได้ตั้งชื่อว่า *Chlorella* มาจากภาษากรีกว่า คลอโรส (Chloros) แปลว่า สีเขียว กับภาษาละตินว่า เอลลา (Ella) แปลว่า เล็ก ชนิดของ *Chlorella* ที่พบครั้งแรกคือ *Chlorella vulgaris* และเชื่อกันว่า *Chlorella* sp. อาจเป็นลูกโซ่ห่วงโซ่อาหารอย่างแรกที่เกิดขึ้นในโลกในสภาพของพืชเซลล์เดียวที่มีนิวเคลียสและมีผนังเซลล์ที่สมบูรณ์ (ลัดดา วงศ์รัตน์, 2544) คลอเรลลาจัดอยู่ในลำดับอนุกรมวิธาน ดังนี้

Kingdom: Flora

Division: Chlorophyta

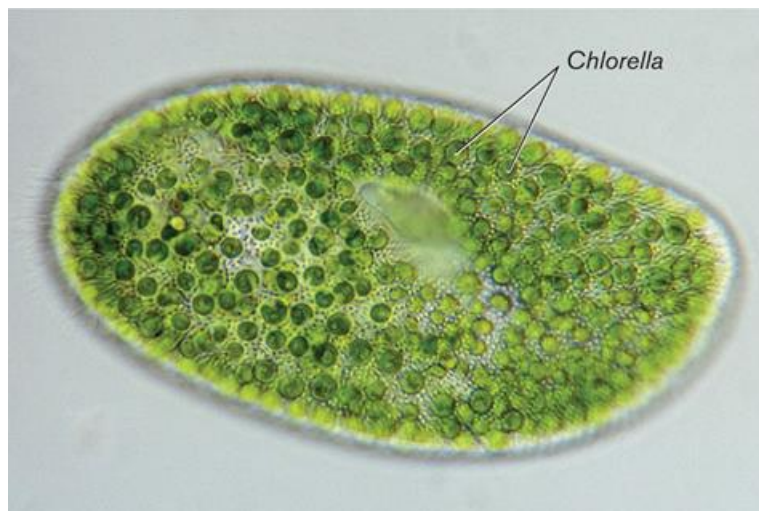
Class: Trebouxiophyceae

Order: Chlorellales

Family: Chlorellaceae

Genus: *Chlorella*

Species *Chlorella* sp.



ภาพที่ 7 ลักษณะเซลล์ของ *Chlorella* sp.

ที่มา : ลัดดา (2544)

2.3.2 ลักษณะทั่วไป

Chlorella sp. เป็นสาหร่ายสีเขียวจัดอยู่ในดิวิชัน Chlorophyta ชั้น Chlorophyceae อันดับ Chlorellales วงศ์ Chlorellaceae สกุล *Chlorella* ซึ่งมีลักษณะสำคัญคือ เป็นสาหร่ายเซลล์เดี่ยว มีขนาดเล็ก ประมาณ 1-10 ไมครอน อาจอยู่เป็นเซลล์เดี่ยว ๆ หรือรวมกันเป็นกลุ่มก้อน ลักษณะของเซลล์มีรูปร่างหลายแบบ เช่น ทรงกลม รูปไข่ และรูปรี ดังตามภาพที่ 7

มีคลอโรพลาสต์รูปร่างคล้ายถ้วยหรือระฆัง หรือเป็นแบบแถบข้าง (parietal) อาจมีหรือไม่มีเม็ดแป้ง ไม่มีริยางค์และคอนแทรกไทค์แควคิวโอล (contractile vacuole) ผนังเซลล์หนาและแข็ง มี 3 ชั้น ผนังเซลล์ชั้นกลางหนาที่สุดประกอบด้วยเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลส ผนังเซลล์ชั้นนอกเป็นสารประกอบโพลีเมอร์ (ลัดดา วงศ์รัตน์, 2544) ซึ่งจะทำหน้าที่จับกับโลหะหนักหรือสารพิษในร่างกายได้อย่างรวดเร็ว และชั้นในสุดเป็นชั้นของเยื่อหุ้มเซลล์

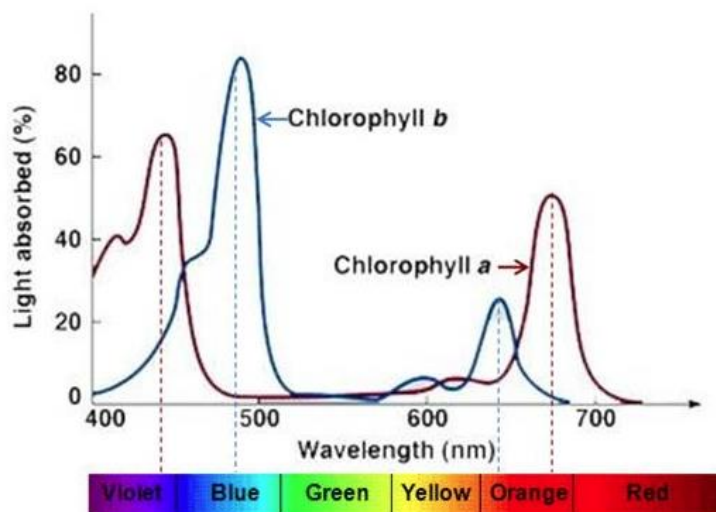
การสืบพันธุ์เป็นแบบไม่อาศัยเพศ โดยการสร้าง autospore ภายในเซลล์ที่เจริญเต็มวัย เซลล์ของ *Chlorella* sp. เติบโตได้ในแหล่งที่มีความเข้มข้นของสารอาหารในช่วงกว้างในธรรมชาติจึงพบ *Chlorella* sp. ทั้งในสภาพน้ำจืด น้ำเค็มและน้ำเสีย (ศรัญญา รักเสรี, 2541)

บทบาทของสารชีวมิติต่อแพลงก์ตอนพืช ทำหน้าที่ช่วยกระตุ้นการเจริญเติบโตของแพลงก์ตอนพืช เช่น ในธรรมชาติพบว่าสารชีวมิติ เป็นส่วนประกอบที่มีบทบาทในการจับธาตุโลหะอีกทั้งช่วยเพิ่มปริมาณธาตุโลหะบางชนิดที่พืชต้องการและลดความเป็นพิษของทองแดง ทำให้อัตราการเจริญเติบโตเพิ่มขึ้น เช่น ขณะที่มีการเพิ่มจำนวนอย่างมากและรวดเร็วของ *Gymnodinium breve* บริเวณชายฝั่ง Florida พบว่ากรดชีวมิติสูงมาก (เบญจวรรณ ไชยวงศ์, 2532) และความเข้มข้นของสารชีวมิติที่เพิ่มมากขึ้น ยังมีบทบาทสำคัญในการเลือกสารอาหารในการดำรงชีวิตของแพลงก์ตอนพืช

นอกจากสารฮิวมิคจะกระตุ้นการเจริญเติบโตของแพลงก์ตอนพืชแล้วยังมีผลร่วมกับธาตุอาหารหลัก เช่น ไนโตรเจนและฟอสฟอรัส (Gedziowska, 1990)

2.3.3 คลอโรฟิลล์

คลอโรฟิลล์เป็นรงควัตถุที่มีสีเขียวที่มีหน้าที่ในการสังเคราะห์แสงของพืช สำหรับเป็นรงควัตถุหลักในคลอโรพลาสต์ (Tong, 1996) เมื่อพิจารณาในแง่โครงสร้างคลอโรฟิลล์พบว่า มีโครงสร้างที่เรียกว่า porphyrin ring ที่มีอะตอมกลางเป็นแมกนีเซียม และประกอบด้วย ไฮโดรคาร์บอนสายยาวที่เรียกว่า phyton side chain มีลักษณะเป็นสารจำพวกโปรตีนที่ไม่ละลายน้ำแต่ละลายในสารอินทรีย์ เช่น เมทานอล อะซีโตน และปิโตรเลียมอีเธอร์ เป็นต้น (ขวัญชนก, 2556) โดยคลอโรฟิลล์จะทำหน้าที่ดูดกลืนแสงในช่วงสีม่วง น้ำเงิน และแดง และจะสะท้อนแสงสีเขียวที่ดูดกลืนน้อยที่สุดออกมา ในส่วนของสาหร่ายคลอเรลลาประกอบไปด้วย คลอโรฟิลล์เอ ซึ่งเป็นรงควัตถุที่ดูดกลืนแสงในช่วงแสงสีม่วง (400-450 นาโนเมตร) และสีแดง (650-700 นาโนเมตร) และเป็นรงควัตถุที่สามารถรับแสงได้โดยตรง ทำให้สามารถเปลี่ยนพลังงานแสงเป็นพลังงานเคมีได้โดยตรงในกระบวนการสังเคราะห์แสง ส่วนคลอโรฟิลล์บี ทำหน้าที่ในการดูดกลืนแสงในช่วงแสงสีน้ำเงิน (425-500 นาโนเมตร) และสีแดง (625-675 นาโนเมตร) และจะส่งต่อไปให้คลอโรฟิลล์เอ ใช้ในกระบวนการสังเคราะห์แสง ช่วงของการดูดกลืนแสงแสดงดังภาพที่ 8



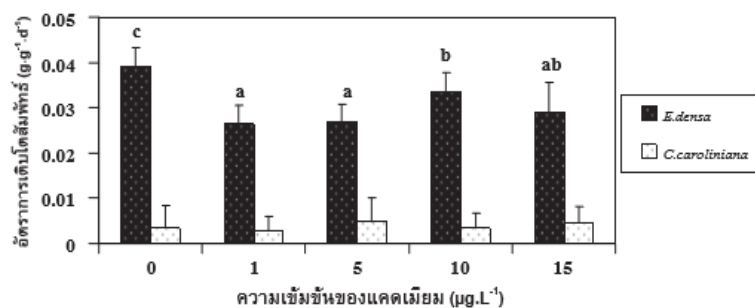
ภาพที่ 8 การดูดกลืนสเปกตรัมของแสงขาวของคลอโรฟิลล์ a และคลอโรฟิลล์ b

ซึ่งสามารถดูดกลืนแสงได้ดีในช่วงคลื่นแสงสีน้ำเงิน และสีแดง

ที่มา : สถาบันส่งเสริมการสอนวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี (2556)

2.4 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

(สุกัญญา แซ่มประเสริฐ, สุทธธรร ไชยเรืองศรี, & อรุโณทัย จำปีทอง, 2554) ได้ศึกษาผลของแคดเมียมจากน้ำเสียสังเคราะห์ต่อการเติบโตของสาหร่ายเดนซ่าและบัวสาหร่ายพบว่า ผลของแคดเมียมต่อการเติบโตและปริมาณการสะสมแคดเมียมของสาหร่ายเดนซ่า (*Egeria densa* Planch.) และบัวสาหร่าย (*Cabomba caroliniana* A. Gray) ในน้ำเสียสังเคราะห์ที่มีแคดเมียมความเข้มข้น 0, 1, 5, 10 และ 15 ไมโครกรัมต่อลิตร พบว่า แคดเมียมมีผลยับยั้งอัตราการเติบโตสัมพัทธ์ (Relative Growth Rate: RGR) ของสาหร่ายเดนซ่า โดยชุดควบคุมมีอัตราการเติบโตสูงกว่าชุดที่ได้รับแคดเมียมอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) โดยมีค่า 0.040, 0.027, 0.027, 0.033 และ 0.029 กรัมต่อกรัม น้ำหนักแห้งต่อวัน ตามลำดับ ขณะที่บัวสาหร่ายค่อนข้างมีความไวต่อสารพิษน้อยกว่าสาหร่ายเดนซ่าเนื่องจากบัวสาหร่ายเป็นพืชชั้นสูงกว่า จึงไม่มีความแตกต่างต่ออัตราการเจริญเติบโตอย่างมีนัยสำคัญ (ดังภาพที่ 9)



ภาพที่ 9 ผลของแคดเมียมต่ออัตราการเติบโตสัมพัทธ์ของน้ำหนักของสาหร่ายเดนซ่าและบัวสาหร่าย (mean \pm S.E.)

อักษร a, b, c บ่งชี้ถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างชุดการทดลอง

ที่มา : สุกัญญา และคณะ (2554)

(อัจฉราพร สมภาร, 2555) ได้ทำการศึกษานิเวศพิษวิทยาของแคดเมียมต่อแพลงก์ตอนสัตว์และสัตว์หน้าดินตะกอนท้องน้ำของประเทศไทย ได้แก่ ไรน้ำแดง (*Moina micrura* Kurz) และหนอนแดง (*Chironomus striatipennis* Kieffer) ซึ่งเป็นสิ่งมีชีวิตที่มีความสำคัญในระบบนิเวศทางน้ำ จากผลการศึกษาความเป็นพิษเฉียบพลันของสารแคดเมียมที่ทำให้สิ่งมีชีวิตตายร้อยละ 50 (LC_{50}) เมื่อทดสอบเป็นระยะเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง ต่อไรน้ำแดงมีค่าเท่ากับ 0.056 และ 0.014 มิลลิกรัม/ลิตร ตามลำดับ และต่อหนอนแดงมีค่าเท่ากับ 453.15 และ 201.30 มิลลิกรัม/ลิตร

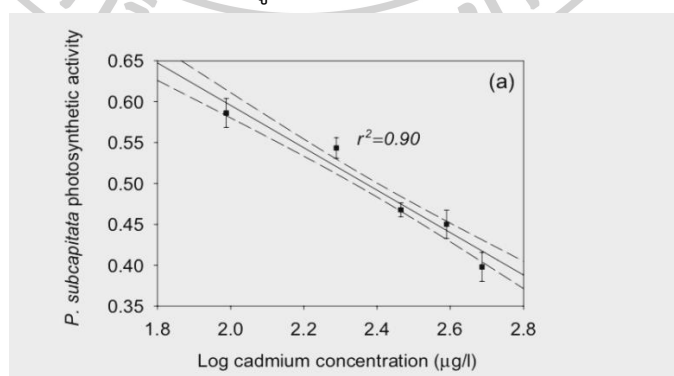
ตารางที่ 1 พิษเฉียบพลันในรูป LC₅₀ ของคลอโรไพริฟอส และแคดเมียมต่อไรน้ำแดง *M. micrura* และหนอนแดง *C. striatipennis* ตายที่ระยะเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง

สารเคมี	สิ่งมีชีวิต	24h-LC ₅₀	48h-LC ₅₀
(mg/L)	<i>M. micrura</i>	0.056	0.014
	<i>C. striatipennis</i>	453.15	201.30

*LC₅₀ : Median Lethal Concentration คือ ความเข้มข้นของสารที่ทำให้
ไรน้ำแดงและหนอนแดงตายในระยะเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง

ที่มา : อัจฉราพร (2555)

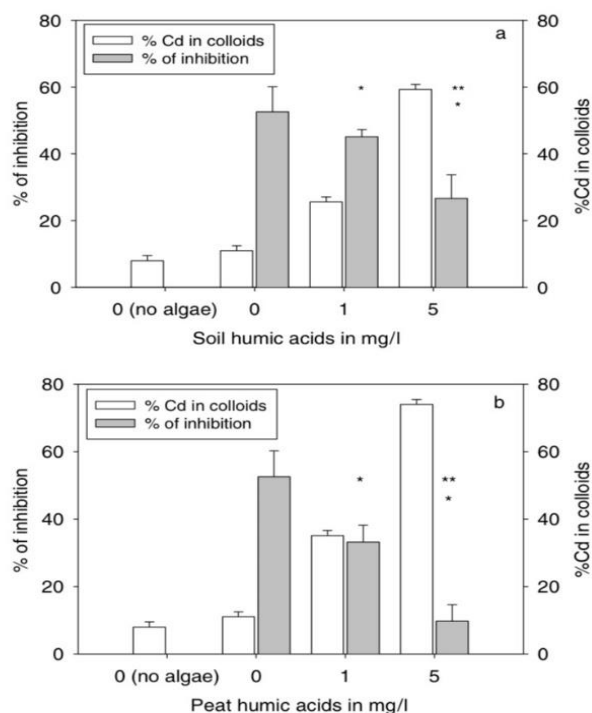
(Koukal, 2003) ได้ศึกษาอิทธิพลของสารชีวมีกต่อความเป็นพิษของแคดเมียมที่มีต่อสาหร่ายสีเขียว *Pseudokirchneriella subcapitata* ซึ่งอยู่ในดิวิชันเดียวกับแพลงก์ตอนพืชคลอเรลลา จากผลการศึกษาพบว่า ความเป็นพิษของแคดเมียมเพิ่มมากขึ้นการสังเคราะห์แสงของสาหร่ายจะลดลง ดังภาพที่ 10 โดยกรดฮิวมีกที่มีความเข้มข้นเพิ่มขึ้นจะช่วยลดพิษของแคดเมียมได้เพิ่มขึ้น และกรดฮิวมีกที่สกัดจากดินและพีท ปริมาณ 5 มิลลิกรัม/ลิตร สามารถลดพิษแคดเมียมได้ 5 และ 2 เท่า ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมดังภาพที่ 11 โดยกระบวนการลดความเป็นพิษของแคดเมียมอาจเนื่องมาจากเกิดแคดเมียมในรูปสารประกอบเชิงซ้อนกับกรดฮิวมีกที่สังเคราะห์ได้จากปริมาณคอลลอยด์ที่เพิ่มมากขึ้นเมื่อความเข้มข้นของกรดฮิวมีกเพิ่มมากขึ้น (ภาพที่ 11) ซึ่งมีโครงสร้างของสารประกอบเชิงซ้อนขนาดใหญ่ขึ้นยากที่จะผ่านเข้าไปในโครงสร้างสาหร่ายได้โดยตรง ต้องเกิดการแลกเปลี่ยนไอออนของโลหะออกจากโครงสร้างกรดฮิวมีกก่อนสาหร่ายจึงจะนำโลหะเข้าสู่เซลล์ได้ ทำให้สาหร่ายนำแคดเมียมไปใช้ได้ยากขึ้น นอกจากนี้บนผิวของสาหร่ายสามารถดูดซับกรดฮิวมีกได้ป้องกันไอออนอิสระของแคดเมียมผ่านเข้าสู่เซลล์ได้โดยตรงอีกด้วย



ภาพที่ 10 การตอบสนองต่อความเป็นพิษที่เพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของแคดเมียมของสาหร่าย *P. subcapitata* ($r^2=0.90$)

--- เส้นระดับความเชื่อมั่นที่ 95%

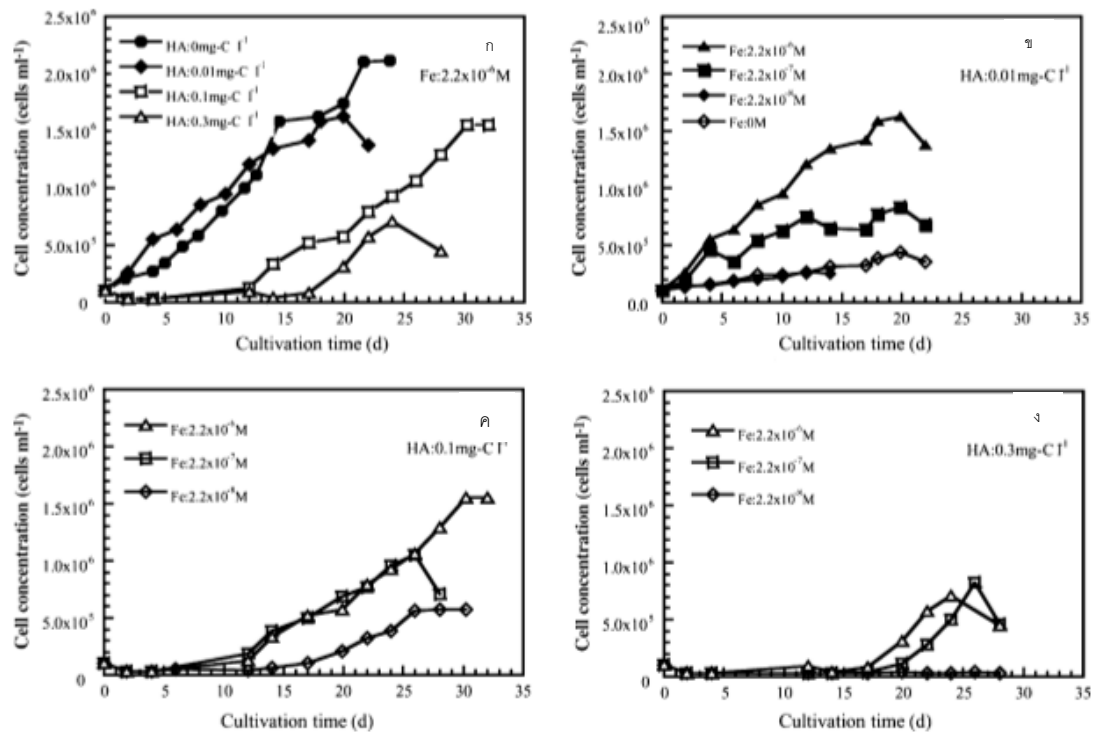
ที่มา : Koukal et al. (2003)



ภาพที่ 11 ความเป็นพิษของแคตเมียมความเข้มข้น 200 ไมโครกรัม/ลิตรต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของสาหร่าย *P. subcapitata* ในสถานะที่มีความเข้มข้นของกรดฮิวมิก 0, 1 และ 5 มิลลิกรัม/ลิตรที่สกัดจาก ก) ดิน และ ข) พีท
*แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับ 0 มิลลิกรัม/ลิตร (Turkey's Test, $p < 0.05$)
**แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับ 1 มิลลิกรัม/ลิตร (Turkey's Test, $p < 0.05$)

ที่มา : Koukal *et al.* (2003)

(Sun, 2005) ได้ศึกษาอิทธิพลของเหล็กและกรดฮิวมิกต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน cyanobacterium *Anabaena circinalis* จากการศึกษาพบว่ากรดฮิวมิกที่ระดับความเข้มข้นต่ำ 0.01 มิลลิกรัมคาร์บอน/ลิตร เพิ่มการเจริญเติบโตของสาหร่ายได้ดีกว่าชุดควบคุม (ภาพที่ 12 ก และ ข) แต่หากมีปริมาณมากเกินไปกรดฮิวมิกจะไปตรึงเหล็กทำให้สาหร่ายนำเหล็กไปใช้ได้น้อยลงการเจริญเติบโตลดลง (ภาพที่ 12 ค และ ง) ดังนั้นการเพิ่มความเข้มข้นเหล็กจาก 2.2×10^{-6} – 2.2×10^{-8} โมล จึงช่วยชดเชยทำให้สาหร่ายเจริญเติบโตได้ดีขึ้นทุกชุดทดสอบของกรดฮิวมิก จากการศึกษาสรุปได้ว่ากรดฮิวมิกอิทธิพลอย่างชัดเจนต่ออัตราการเจริญเติบโตของสาหร่าย โดยเฉพาะเมื่อมีเหล็กที่ระดับความเข้มข้นต่ำ



ภาพที่ 12 การเจริญเติบโตของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน *A. circinalis* ภายใต้สภาวะควบคุมที่มีปริมาณเหล็ก (Fe) และกรดฮิวมิก (HA) ที่แตกต่างกัน

ก) เปรียบเทียบกรดฮิวมิกที่ระดับความเข้มข้น 0, 0.01, 0.1 และ 0.3 มิลลิกรัมคาร์บอน/ลิตร ในสภาวะที่มีเหล็ก 2.2×10^{-6} โมล

ข) เปรียบเทียบเหล็กที่ระดับความเข้มข้น 0 , 2.2×10^{-8} , 2.2×10^{-7} และ 2.2×10^{-6} โมล ในสภาวะที่มีกรดฮิวมิก 0.01 มิลลิกรัมคาร์บอน/ลิตร

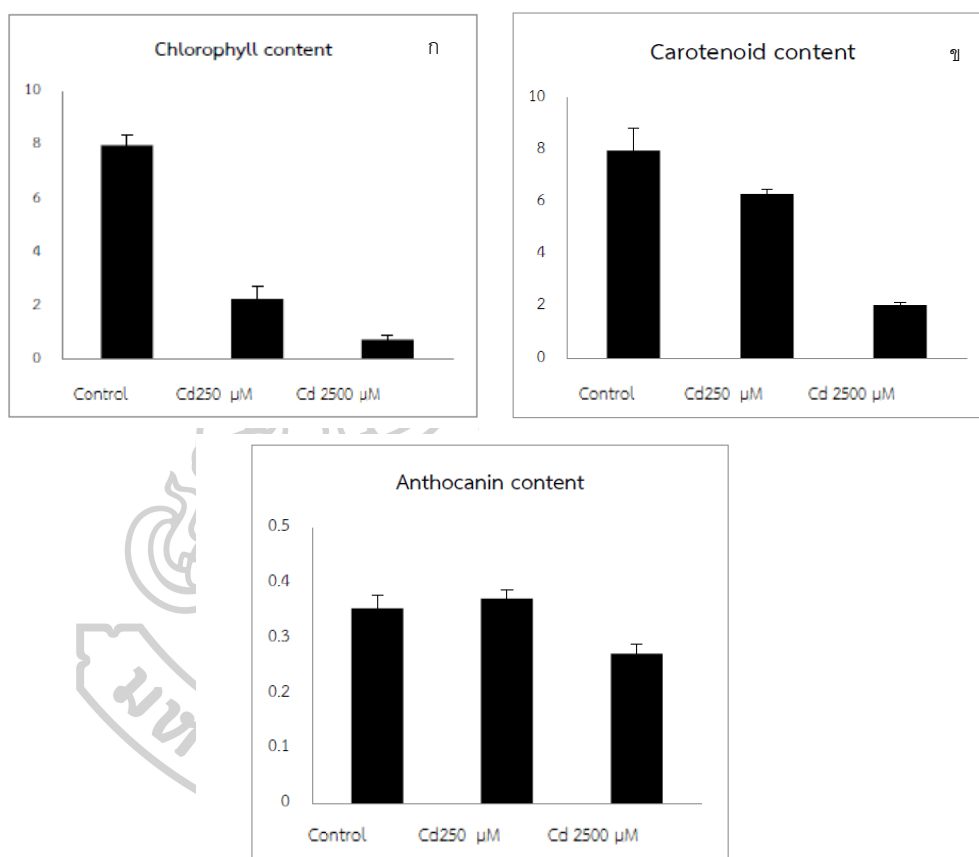
ค) เปรียบเทียบเหล็กที่ระดับความเข้มข้น 2.2×10^{-8} , 2.2×10^{-7} และ 2.2×10^{-6} โมล ในสภาวะที่มีกรดฮิวมิก 0.1 มิลลิกรัมคาร์บอน/ลิตร

ง) เปรียบเทียบเหล็กที่ระดับความเข้มข้น 2.2×10^{-8} , 2.2×10^{-7} และ 2.2×10^{-6} โมล ในสภาวะที่มีกรดฮิวมิก 0.3 มิลลิกรัมคาร์บอน/ลิตร

ที่มา : Sun *et al.* (2005)

(Panathira, 2017) ได้ศึกษาผลกระทบของโลหะแคดเมียมต่ออัตราการเจริญเติบโต ปริมาณรงควัตถุ และความเป็นพิษต่อเซลล์ราก ในข้าวไรซ์เบอร์รี่ (*Oryza sativa* L.) ที่ปลูกด้วยระบบไฮโดรโปนิกส์เป็นเวลา 16 วัน จากการศึกษาพบว่า เมื่อเปรียบเทียบข้าวกลุ่มที่ปลูกในแคดเมียม 250 และ 2500 ไมโครโมลาร์ กับกลุ่มควบคุม พบว่าอัตราการเจริญเติบโตของรากลดลง 39.73 % และ 58.90 % อัตราการเจริญเติบโตของลำต้นลดลง 51.56% และ 66.41% และทำให้

ปริมาณปริมาณคลอโรฟิลล์รวมลดลง 71.8 % และ 90.6 % แคโรทีนอยด์ลดลง 21.13% และ 74.38% ดังภาพที่ 13 ส่วนปริมาณแอนโทไซยานินไม่แตกต่างทางสถิติ นอกจากนี้แคดเมียม ยังทำให้เซลล์รากเสียหายคิดเป็น 131.58% และ 215.79% ตามลำดับ โดยแปรผันตรงกับความเข้มข้นของแคดเมียมที่เพิ่มขึ้น ทั้งนี้เนื่องจากแคดเมียมทำให้กระบวนการสังเคราะห์แสง ทำงานได้ช้าลงและการทำงานของเอนไซม์ในกระบวนการเจริญเติบโตถูกรบกวน ซึ่งผลจากการศึกษาครั้งนี้สามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการสังเกตการปนเปื้อนของแคดเมียมในพื้นที่ทางการเกษตรเบื้องต้นได้



ภาพที่ 13 ปริมาณรงควัตถุ 3 ชนิด ในข้าวไรซ์เบอร์รี่ (ไม่โครกรัมต่อกรัม) ก) ปริมาณคลอโรฟิลล์

ข) ปริมาณแคโรทีนอยด์ ค) ปริมาณแอนโทไซยานิน

ที่มา : Panathira *et al.* (2017)

บทที่ 3 วิธีการทดลอง

3.1 สารเคมีที่ใช้ในวิจัย

สารเคมีที่ใช้ในการศึกษาอิทธิพลของกรดฮิวมิกต่อความเป็นพิษของแคดเมียมที่มีต่อแพลงก์ตอนพืชเป็นชนิด Analytical grade มี CAS No. และบริษัทผู้จัดจำหน่าย แสดงดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 รายชื่อสารเคมีและบริษัทผู้จัดจำหน่าย

ลำดับ	รายการ	CAS Number	บริษัท
1	Humic acid (HA)	-	-
2	Cadmium chloride	7790-78-5	Sigma
3	Acetone	67-64-1	Merck
4	Magnesium carbonate	39409-82-0	Himedia

3.2 เครื่องมือที่ใช้ในงานวิจัย

เครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย แสดงในตารางที่ 3

ตารางที่ 3 รายชื่อเครื่องมือและบริษัทผู้จำหน่าย

ลำดับ	รายการ	บริษัท
1	เครื่องชั่ง	OHAUS
2	เซนตริฟิวจ์	-
3	ตู้อบ (Hot air oven)	MEMMERT
4	ตู้เย็นควบคุมอุณหภูมิ	REVCO
5	กล้องจุลทรรศน์	ไทยจุลทรรศน์
6	ตู้ดูดความชื้น (Desicators)	NORTHMAN
7	เครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์	HITACHI

3.3 วิธีการทดลอง

วิธีการทดลองประกอบด้วย การเตรียมแพลงก์ตอนพืช การทำปุ๋ยหมัก การสกัดกรดฮิวมิก การเตรียมสารละลายแคดเมียม แคดเมียมกรดฮิวมิก และกรดฮิวมิก และการทดสอบการเจริญเติบโตของแพลงก์ตอนพืชที่ถูกเลี้ยงด้วยสารละลายด้วยการนับจำนวนเซลล์ วัดปริมาณน้ำแห้ง และคลอโรฟิลล์เอ ดังรายละเอียดต่อไปนี้

3.3.1 การเตรียมแปลงกักต่อนพืชคลอเรลลา

โดยนำสาหร่ายคลอเรลลามาเพาะเลี้ยงในโหลแก้วขนาด 10 ลิตรที่เตรียมไว้ด้วยสูตรอาหารปรับปรุงคือ ไดแอมโมเนียมฟอสเฟต (18-46-0) 0.15 กรัมต่อลิตร ยูเรีย (46-0-0) 0.3 กรัมต่อลิตร รำละเอียด 0.5 กรัมต่อลิตร และปูนขาว 0.09 กรัมต่อลิตร จากนั้นละลายปุ๋ยและอาหารลงในโหลแก้วที่เตรียมไว้ คนให้เข้ากันจากนั้นทำการเติมหัวเชื้อสาหร่ายคลอเรลลาลงในโหลแก้ว ซึ่งระหว่างการเพาะเลี้ยงมีการให้แสงและใส่หัวทรายเพื่อให้มีสารหมุนเวียน และช่วยให้คลอเรลลารับแสงได้อย่างทั่วถึง เลี้ยงไว้ประมาณ 4-7 วัน น้ำจะมีสีเขียวเข้มสามารถนำมาใช้ในการทดลองได้

3.3.2 การทำปุ๋ยหมัก และการสกัดกรดฮิวมิก

1) การทำปุ๋ยหมัก

ปุ๋ยหมักที่ใช้นี้ได้จากโครงการวิจัยของรองศาสตราจารย์ ดร. นัทธีรา สรรมณี และคณะ (2558) ที่ดำเนินการหมักโดยนำมูลวัวมาคลุกเคล้ากับองค์ประกอบอื่นๆ ดังนี้ มูลวัว ชี้แดด หนาเกลือ กระจุกวัวป่น รำละเอียด มูลค่างคั่ว ธาตุอาหารรอง และโดโลไมท์ ในอัตราส่วนร้อยละ 77.55, 5.47, 1.50, 0.90, 0.60, 0.60 และ 0.30 ตามลำดับ นำมาคลุกเคล้าในเครื่องผสม จากนั้นรดด้วยน้ำหมักที่หมักเป็นเวลาอย่างน้อย 1 เดือน ที่เตรียมจากปลาน้ำจืด กากน้ำตาล สับปะรด สารเร่ง พด.2 และรำละเอียดที่ผสมไว้ด้วยอัตราส่วนร้อยละ 8.98, 2.99, 0.30, 0.01 และ 1.50 ตามลำดับ ให้มีความชื้นอยู่ที่ประมาณร้อยละ 60 จากนั้นนำปุ๋ยหมักที่ได้ไปบรรจุใส่กระสอบปุ๋ยที่มีรูให้อากาศถ่ายเทได้ ในปริมาณกระสอบละ 12-15 กิโลกรัม ใช้เชือกฟางรัดปากกระสอบไม่ต้องแน่นมาก แล้วนำมาหมักต่อที่เรือนเพาะชำ อาคารวิทยาศาสตร์ 4 คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร เก็บตัวอย่างปุ๋ยหมักเมื่อปุ๋ยหมักมีอุณหภูมิเย็นลงเท่าอุณหภูมิภายนอก (วันที่ 35) โดยเก็บตัวอย่างที่ใจกลางกระสอบปุ๋ยทั้งหมด 10 กระสอบ นำมาผสมกันเป็น 1 ตัวอย่าง ได้ปริมาณตัวอย่างประมาณ 2 กิโลกรัม นำไปร่อนผ่านตะแกรงขนาดรู 2 มิลลิเมตร จากนั้นนำปุ๋ยหมักที่ร่อนแล้วไปสกัดกรดฮิวมิก

2) การสกัดกรดฮิวมิก

การสกัดกรดฮิวมิกทำตามวิธี Isolation of IHSS Soil Fulvic and Humic Acid (Sparks, 1996) โดยการนำปุ๋ยหมัก 5.0 กรัม ใส่ลงไปในขวดรูปชมพู่ขนาด 125 มิลลิลิตร ปรับค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ≤ 2 ด้วยกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น (conc. HCl) ปรับปริมาตรด้วยกรดไฮโดรคลอริก (HCl) เข้มข้น 0.1 โมล เป็น 100 มิลลิลิตร นำไปเขย่าแนวระนาบความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 1 ชั่วโมง นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว รอบ 2,500 รอบต่อนาที เป็นเวลานาน 5 นาที นำตะกอนมาปรับค่าความเป็นกรด-ด่าง ≥ 7 ด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH)

เข้มข้น 1.0 โมล ปรับปริมาตรด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 0.1 โมล เป็น 100 มิลลิลิตร นำไปเขย่าแนวระนาบเป็นเวลานาน 4 ชั่วโมง จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยง เป็นเวลานาน 10 นาที นำสารละลายส่วนใสด้านบนมาทำให้ตกตะกอน โดยเติมกรดไฮโดรคลอริก (HCl) เข้มข้น 6 โมล นำไปปั่นเหวี่ยงเป็นเวลานาน 5 นาที จากนั้นนำตะกอนมาล้างด้วยกรดไฮโดรคลอริก เข้มข้น 0.1 โมล กรดไฮโดรคลอริก และกรดไฮโดรฟลูออริก เข้มข้น 0.3 โมล ปริมาตร 10 มิลลิลิตร เขย่าสารละลายนาน 24 ชั่วโมง นำสารละลายมาปั่นเหวี่ยง จากนั้นบันทึกค่า น้ำหนักเปียกของกรด ฮิวมิก แล้วนำไปทำให้แห้ง (freeze dry) แล้วบันทึกค่าน้ำหนักแห้ง

3.3.3 การเตรียมสารละลาย แคตเมียม กรดฮิวมิก และแคตเมียม-กรดฮิวมิก

1) การเตรียมสารละลายแคตเมียม

ซึ่งสารประกอบแคตเมียมในรูปคลอไรด์ 0.0023 กรัม ในน้ำกลั่นปราศจาก ไอออนปริมาตร 100 มิลลิลิตรจะได้ sock ที่มีความเข้มข้น 10^{-4} โมล นำมาเตรียมความเข้มข้นของ แคตเมียมที่ 10^{-6} โมล เตรียมโดยปิเปตจาก stock มา 5 มิลลิลิตร และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นที่ ปราศจากไอออนให้เป็น 500 มิลลิลิตร ความเข้มข้นที่ 10^{-7} โมล ปิเปตจาก 10^{-6} โมล มา 50 มิลลิลิตรและปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้เป็น 500 มิลลิลิตร และที่ความเข้มข้น 10^{-8} โมล ปิเปตจาก 10^{-7} โมล มา 50 มิลลิลิตร และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้เป็น 500 มิลลิลิตร และความเข้มข้นที่ 10^{-9} โมล ปิเปตจาก 10^{-8} โมล มา 50 มิลลิลิตร และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นปราศจากไอออนให้เป็น 500 มิลลิลิตร ที่มีความเข้มข้น 10^{-9} โมล ปิเปตจาก 10^{-10} โมล มา 50 มิลลิลิตร และปรับปริมาตร ด้วยน้ำกลั่นปราศจากไอออนให้เป็น 500 มิลลิลิตร ในการเตรียมสารละลายแคตเมียมในแต่ละครั้ง ควรเตรียมให้พอดีกับที่ใช้ในการทดลองเพื่อป้องกันสารประกอบเปลี่ยนรูปเป็นรูปอื่นแล้วจึงนำ แคตเมียมที่เตรียมได้ไปทดสอบกับสาหร่ายคลอเรลลาทันที

2) การเตรียมสารละลายกรดฮิวมิก

การเตรียมสารละลายกรดฮิวมิก โดยเตรียมจากละลายกรดฮิวมิก 0.1 กรัม ในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร จะได้ความเข้มข้น 10^{-3} โมล โดยปิเปตมา 0.5 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วย น้ำกลั่นปราศจากไอออนให้เป็น 500 มิลลิลิตร จะได้ความเข้มข้น 10^{-6} โมล ความเข้มข้น 10^{-7} โมล เตรียมจาก 10^{-6} โมล ปิเปต มา 50 มิลลิลิตร และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นปราศจากไอออนให้เป็น 500 มิลลิลิตร และที่ความเข้มข้น 10^{-8} โมล เตรียมจาก 10^{-7} โมล ปิเปตมา 50 มิลลิลิตรและปรับ ปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้เป็น 500 มิลลิลิตร และความเข้มข้นที่ 10^{-9} โมล ปิเปตจาก 10^{-8} โมล มา 50 มิลลิลิตร และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นปราศจากไอออนให้เป็น 500 มิลลิลิตร ที่มีความเข้มข้น 10^{-9} โมล ปิเปตจาก 10^{-10} โมล มา 50 มิลลิลิตร และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นปราศจากไอออนให้ เป็น 500 มิลลิลิตร ในการเตรียมสารละลายกรดฮิวมิกในแต่ละครั้งให้พอดีกับที่ใช้ในการทดลองเพื่อ

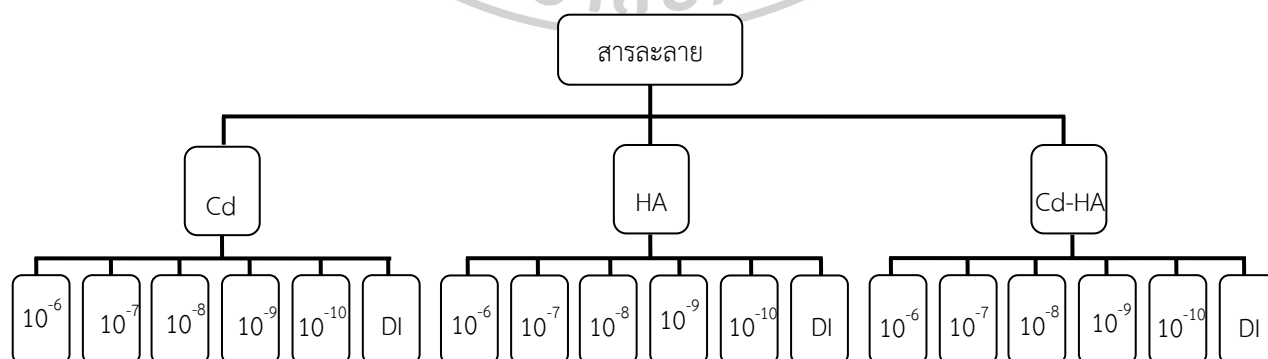
ป้องกันสารประกอบเปลี่ยนรูปเป็นรูปอื่นแล้วจึงนำกรดฮิวมิก ที่เตรียมได้ไปทดสอบกับสาหร่ายคลอเรลลาทันที

3) การเตรียมสารละลายแคดเมียมกรดฮิวมิก

ในการทดลองนี้ใช้สารละลายแคดเมียมกรดฮิวมิกโดยเตรียมจาก stock ของ ความเข้มข้นสารละลายกรดฮิวมิก 10^{-3} โมล stock สารละลายแคดเมียม 10^{-5} โมล การเตรียมสารละลายแคดเมียม 10^{-6} โมล ปีเปิดจาก stock 10^{-5} โมล มา 50 มิลลิลิตร กับสารละลายกรดฮิวมิก 10^{-6} โมล ปีเปิดจาก stock สารละลายกรดฮิวมิก 10^{-3} โมล มา 0.5 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้เป็น 500 มิลลิลิตร การเตรียมสารละลายแคดเมียม 10^{-7} โมล ปีเปิดจาก stock สารละลายแคดเมียม 10^{-5} โมล มา 5 มิลลิลิตร กับสารละลายกรดฮิวมิก 10^{-6} โมล ปีเปิดจาก stock สารละลายกรดฮิวมิก 10^{-3} โมล มา 0.5 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้เป็น 500 มิลลิลิตร การเตรียมแคดเมียม 10^{-8} โมล ปีเปิดจาก stock สารละลายแคดเมียม 10^{-5} โมล มา 0.5 มิลลิลิตร กับสารละลายกรดฮิวมิก 10^{-6} โมล ปีเปิดจาก stock สารละลายกรดฮิวมิก 10^{-3} โมล มา 0.5 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น 500 มิลลิลิตร ในการเตรียมสารละลายในแต่ละครั้งควรเตรียมให้พอดีกับที่จะใช้ในการทดลองแต่ละครั้งเพื่อป้องกันสารประกอบเปลี่ยนเป็นรูปอื่นแล้วจึงนำสารละลายที่เตรียมได้ไปทดสอบกับสาหร่ายคลอเรลลาทันที

3.3.4 ทดสอบสารละลายแคดเมียม, กรดฮิวมิก และแคดเมียม-กรดฮิวมิก กับแพลงก์ตอนพืชคลอเรลลา

หลังจากเพาะสาหร่ายคลอเรลลาที่มีน้ำเขียวแล้ว นำมาทดสอบกับสารละลายแคดเมียม, Cd-HA และ HA ที่มีความเข้มข้น 10^{-10} , 10^{-9} , 10^{-8} , 10^{-7} และ 10^{-6} โมล แบ่งการทดสอบออกเป็น 3 ชุด ๆ ละ 3 ซ้ำ ทดสอบเป็นเวลา 48 ชั่วโมง โดยตลอดระยะเวลาทดสอบไม่เติมอากาศและไม่ให้แสง ดังแผนผังการทดลองในภาพที่ 14



ภาพที่ 14 ความเข้มข้นของแคดเมียม กรดฮิวมิก และแคดเมียม-กรดฮิวมิก ที่ใช้ในการทดลอง

3.3.5 ตรวจวิเคราะห์นับจำนวนเซลล์

วิธีตรวจนับเซลล์ (เซลล์ต่อลูกบาศก์เมตร) *Chlorella* sp. ทุก ๆ 12 ชั่วโมง คือชั่วโมงที่ 0, 12, 24, 36 และ 48 เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

คำนวณจำนวนเซลล์ต่อปริมาตรน้ำ ดังนี้

ปริมาตรของ haemocytometer counting chamber = กว้าง x ยาว x ลึก

$$\begin{aligned} (\text{ภายในตารางสี่เหลี่ยม 1 ตาราง}) &= 1 \text{ มม.} \times 1 \text{ มม.} \times 0.1 \text{ มม.} \\ &= 1/10^4 \text{ มล.} \end{aligned}$$

3.3.6 ตรวจวิเคราะห์น้ำหนักแห้งของเซลล์

นำตัวอย่างที่ทดสอบในสารละลาย กรองผ่านแผ่นกรอง ขนาดรู 0.45 ไมครอน โดยต่อชุดกรองเข้ากับเครื่อง suction เพื่อแยกเอาส่วนใสออก หลังจากนั้นนำแผ่นกระดาษกรองที่มีเซลล์สำหรับติดอยู่ไปอบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ทิ้งให้เย็นในเดซิเคเตอร์ เพื่อให้น้ำหนักคงที่ปราศจากความชื้น ก่อนนำไปชั่งน้ำหนักแห้งสุดท้ายและนำค่าที่ได้ไปคำนวณตามสูตรดังนี้

$$\text{Dry cell concentration (g/l)} = \frac{\text{Weight of filter paper and cell (g)} - \text{Weight of filter paper (g)}}{\text{sample volume (ml)}} \times 1000$$

3.3.7 ตรวจวิเคราะห์คลอโรฟิลล์ เอ

กรองตัวอย่างสำหรับผ่านแผ่นกระดาษกรอง นำแผ่นกรองวางในหลอดทดลอง จากนั้นเติม สารละลายอะซิโตน ความเข้มข้น 90% 5 มิลลิลิตร บดจนแผ่นกรองละเอียดแล้วเติม สารละลายอะซิโตน 5 มิลลิลิตร เขย่าหลอดทดลองให้เข้ากันนาน 5 นาที จากนั้นเก็บตัวอย่างในตู้เย็น อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง แล้วนำไปปั่นเหวี่ยง นาน 20 นาที เพื่อแยกส่วนใสดู ส่วนใสในหลอดทดลองที่สะอาด นำไปวัดค่าดูดกลืนแสงโดยสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ ที่ 664, 647, 630 และ 750 นาโนเมตร โดยใช้อะซิโตนบริสุทธิ์เป็น blank และนำค่าที่ได้ไปคำนวณตามสูตรดังนี้

นำค่าดูดกลืนแสง ที่ 664, 647 และ 630 นาโนเมตร ลบด้วยค่าดูดกลืนแสงที่ 750 nm
คลอโรฟิลล์เอ (มิลลิกรัม/ลิตร) = $11.85E664 - 1.54E647 - 0.08E630$

$$\text{Chlorophyll a (mg/m}^3\text{)} = \frac{\text{Ca} \times v}{V} \times 1000$$

v = ปริมาตรอะซิโตนที่ใช้ในการสกัด (มิลลิลิตร)

V = ปริมาตรน้ำตัวอย่างที่กรอง (มิลลิลิตร)

3.3.8 การวิเคราะห์ค่าความเป็นพิษ

การวิเคราะห์ค่าความเป็นพิษด้วยการหาปริมาณที่สิ่งมีชีวิตตายร้อยละ 25 (Lethal Concentration; LC₂₅) โดยนำสารละลายแคดเมียม แคดเมียม-กรดฮิวมิก กรดฮิวมิก และชุดควบคุมทดสอบกับสาหร่ายคลอเรลลา แล้วนับจำนวนสาหร่ายคลอเรลลาที่ตายนำมาคำนวณหาร้อยละเปรียบเทียบกับค่า Probit ในตารางที่ 4 แต่หากชุดควบคุมมีการตายมากกว่าร้อยละ 10 ของสาหร่ายคลอเรลทั้งหมด ต้องนำมาแก้ค่าโดยเข้าสู่สูตรต่อไปนี้

$$\text{Corrected mortality (p)} = \frac{\% \text{ Responded} - \% \text{ Responded in Control}}{100 - \% \text{ Responded in Control}} \times 100$$

Responded (%) = ร้อยละการตายของสาหร่ายคลอเรลลา

Responded in Control (%) = ร้อยละการตายของสาหร่ายคลอเรลลาของชุดควบคุม

Corrected mortality (p) = อัตราการตายของสาหร่ายคลอเรลลา

จากนั้นนำค่าที่ได้มาคำนวณหาค่า Probit ในตารางที่ 4

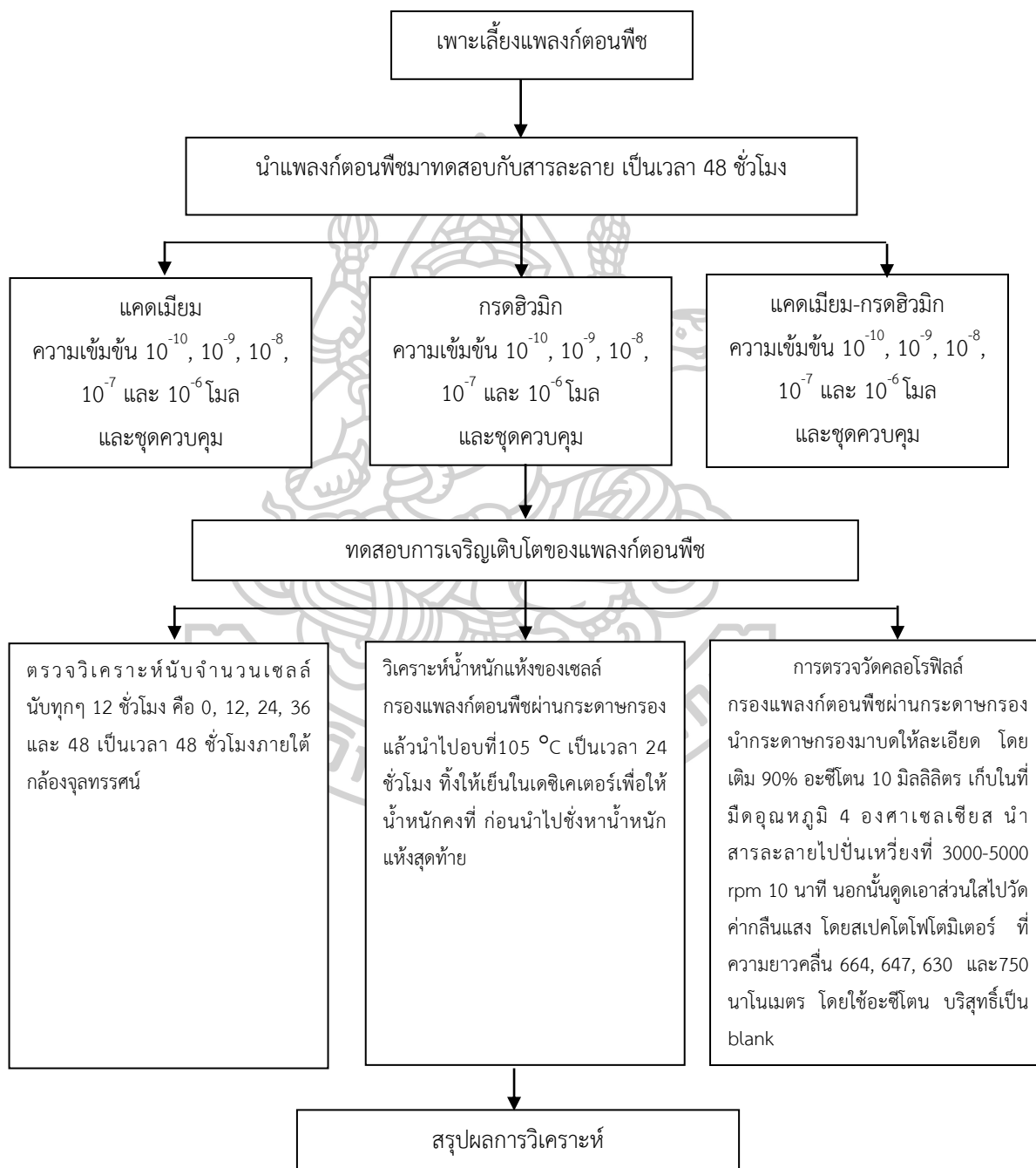
ตารางที่ 4 Transformation of percentages to probits

%	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
0	--	2.67	2.95	3.12	3.25	3.36	3.45	3.52	3.59	3.66
10	3.72	3.77	3.82	3.87	3.92	3.96	4.01	4.05	4.08	4.12
20	4.16	4.19	4.23	4.26	4.29	4.33	4.36	4.39	4.42	4.45
30	4.48	4.50	4.53	4.56	4.59	4.61	4.64	4.67	4.69	4.72
40	4.75	4.77	4.80	4.82	4.85	4.87	4.90	4.92	4.95	4.97
50	5.00	5.03	5.05	5.08	5.10	5.13	5.15	5.18	5.20	5.23
60	5.25	5.28	5.31	5.33	5.36	5.39	5.41	5.44	5.47	5.50
70	5.52	5.55	5.58	5.61	5.64	5.67	5.71	5.74	5.77	5.81
80	5.84	5.88	5.92	5.95	5.99	6.04	6.08	6.13	6.18	6.23
90	6.28	6.34	6.41	6.48	6.55	6.64	6.75	6.88	7.05	7.33
--	0.0	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5	0.6	0.7	0.8	0.9
99	7.33	7.37	7.41	7.46	7.51	7.65	7.65	7.75	7.88	8.09

ที่มา: (Finney, 1952)

3.3.9 วิธีการเปรียบเทียบทางสถิติ

ในการเปรียบเทียบค่าทางสถิติโดยใช้วิธี One way Anova โดยวิธี Duncan เพื่อเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยจากผลการทดสอบความเข้มข้นของสารละลายแคดเมียม แคดเมียม-กรดฮิวมิก และกรดฮิวมิก โดยใช้โปรแกรมทดสอบทางสถิติ SPSS for window version 23.0



ภาพที่ 15 ขั้นตอนการทดสอบตัวอย่าง

บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์

งานวิจัยนี้ศึกษาอิทธิพลของกรดฮิวมิกต่อความเป็นพิษของแคดเมียมที่มีต่อแพลงก์ตอนพืช (*Chlorella* sp.) โดยแบ่งความเข้มข้นของแคดเมียม (Cd) แคดเมียม-กรดฮิวมิก (Cd-HA) และกรดฮิวมิก (HA) ออกเป็น 5 ระดับ ได้แก่ 10^{-10} , 10^{-9} , 10^{-8} , 10^{-7} และ 10^{-6} โมล ตามลำดับ ทดสอบเป็นเวลา 48 ชั่วโมงเปรียบเทียบกับชุดควบคุม ในสภาวะที่ปราศจากแสงและไม่เติมอากาศ นับจำนวนเซลล์ทุก 12 ชั่วโมง และเมื่อสิ้นสุดการทดสอบนับจำนวนเซลล์ หาปริมาณน้ำหนักแห้งและปริมาณคลอโรฟิลล์เอเพื่อศึกษาเชิงเปรียบเทียบ มีรายละเอียดดังต่อไปนี้

4.1 อิทธิพลของแคดเมียม แคดเมียม-กรดฮิวมิก และกรดฮิวมิก ต่อจำนวนเซลล์ของแพลงก์ตอนพืชและน้ำหนักแห้ง

การเปรียบเทียบจำนวนเซลล์ของแพลงก์ตอนพืชที่ทดสอบด้วยสารละลายแคดเมียม แคดเมียม-กรดฮิวมิก และกรดฮิวมิก ที่ความเข้มข้น 10^{-10} , 10^{-9} , 10^{-8} , 10^{-7} และ 10^{-6} โมล ตามลำดับ เปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่ได้เติมสารทดสอบ พบว่าใน 12 ชั่วโมงแรกมีการเพิ่มจำนวนเซลล์ในชุดควบคุม จากนั้นจำนวนเซลล์จะค่อยๆ ลดลงไปในสิ้นสุดการทดสอบ โดยมีอัตราการลดลง 7.34×10^4 เซลล์ต่อชั่วโมง ดังตารางที่ 5

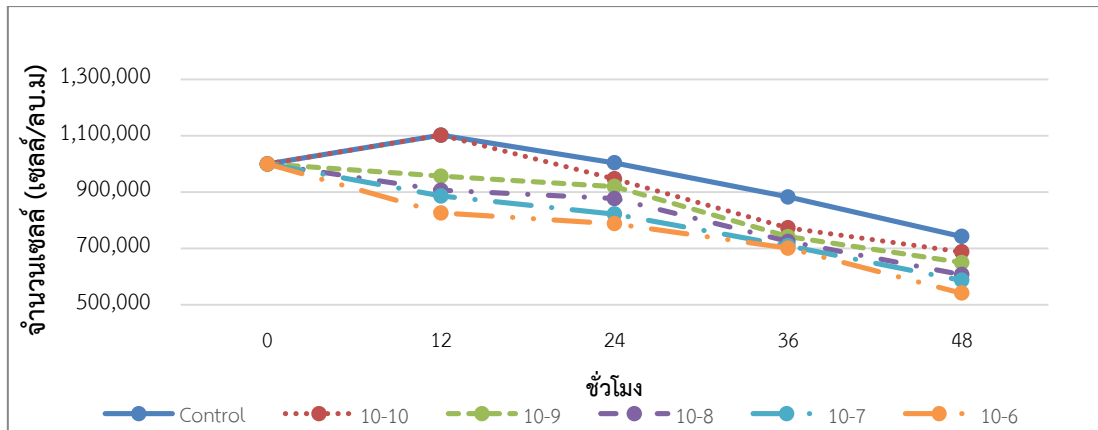
สำหรับสารละลายแคดเมียมเมื่อมีความเข้มข้นแคดเมียมเพิ่มขึ้นอัตราการลดลงของจำนวนเซลล์จะเพิ่มขึ้นตามลำดับ ดังภาพที่ 16 ก) ที่ความเข้มข้น 10^{-10} , 10^{-9} , 10^{-8} , 10^{-7} และ 10^{-6} โมล โดยมีอัตราการลดลง 9.52×10^4 , 9.15×10^4 , 9.66×10^4 , 10.02×10^4 และ 10.42×10^4 ตามลำดับ ดังตารางที่ 5 และมีเพียงความเข้มข้น 10^{-10} โมล มีทิศทางที่เพิ่มขึ้นใน 12 ชั่วโมงแรก เหมือนกับชุดควบคุม ซึ่งแสดงให้เห็นว่าแคดเมียมมีผลไปยังยั้งการเจริญของเซลล์แพลงก์ตอนพืช ทำให้ปริมาณเซลล์ลดลง เนื่องจากแพลงก์ตอนพืชเป็นสิ่งมีชีวิตที่สามารถดูดซับโลหะได้โดยตรง ((Ravera, 1986); Jennifer, 1995) นอกจากนี้แพลงก์ตอนพืชมีพื้นที่ผิวต่อปริมาตรที่จะสัมผัสกับโลหะหนักมากกว่าสิ่งมีชีวิตชนิดอื่นมีผลทำให้การสะสมของแคดเมียมค่อนข้างสูง (สุชาติ เจริญบุญกุล, 2540) ที่แม้ในระดับมาตรฐานน้ำผิวดินที่แคดเมียมความเข้มข้น 0.05 มิลลิกรัมต่อลิตร หรือ 4.45×10^{-7} โมล สามารถสะสมได้ 5.12×10^{-6} โมลต่อกรัม มากกว่าแพลงก์ตอนสัตว์ และ ปลาตุ๊กถึง 4.1 ถึง 57.6 (Raungsombon, 2007) ซึ่งสามารถถ่ายทอดผ่านห่วงโซ่อาหาร ในลักษณะเพิ่มความเข้มข้นขึ้นหรือที่เรียกว่า Bioaccumulation และเป็นพิษต่อผู้บริโภคลำดับถัดไปได้

ตารางที่ 5 อัตราการลดลงของแพลงก์ตอนพืช (*Chlorella* sp.) ที่ทดสอบด้วยสารละลายแคดเมียม (Cd) แคดเมียม-กรดฮิวมิก (Cd-HA) และกรดฮิวมิก (HA) ที่ความเข้มข้น 10^{-10} , 10^{-9} , 10^{-8} , 10^{-7} และ 10^{-6} โมล ตามลำดับ เปรียบเทียบกับชุดควบคุม

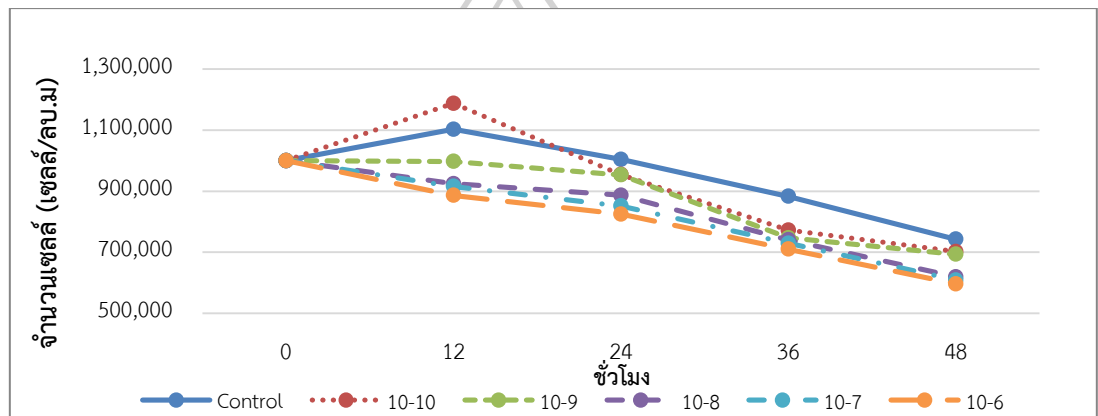
ความเข้มข้น สารละลายทดสอบ (โมล)	อัตราการลดลงของแพลงก์ตอนพืช (ชั่วโมง ⁻¹)		
	แคดเมียม (Cd)	แคดเมียม-กรดฮิวมิก (Cd-HA)	กรดฮิวมิก (HA)
ชุดควบคุม	7.34x10 ⁴		
10 ⁻¹⁰	9.52 x10 ⁴	10.10 x10 ⁴	9.30 x10 ⁴
10 ⁻⁹	9.15 x10 ⁴	8.63 x10 ⁴	9.04 x10 ⁴
10 ⁻⁸	9.66 x10 ⁴	9.45 x10 ⁴	8.67 x10 ⁴
10 ⁻⁷	10.02 x10 ⁴	9.68 x10 ⁴	9.32 x10 ⁴
10 ⁻⁶	10.42 x10 ⁴	9.83 x10 ⁴	9.53 x10 ⁴

(UKMPA Centre, 2001) แสดงให้เห็นถึงความสำคัญของการศึกษาการตอบสนองของผู้ผลิตปฐมภูมิที่สามารถบ่งชี้ความเป็นพิษของแคดเมียมในระบบนิเวศได้

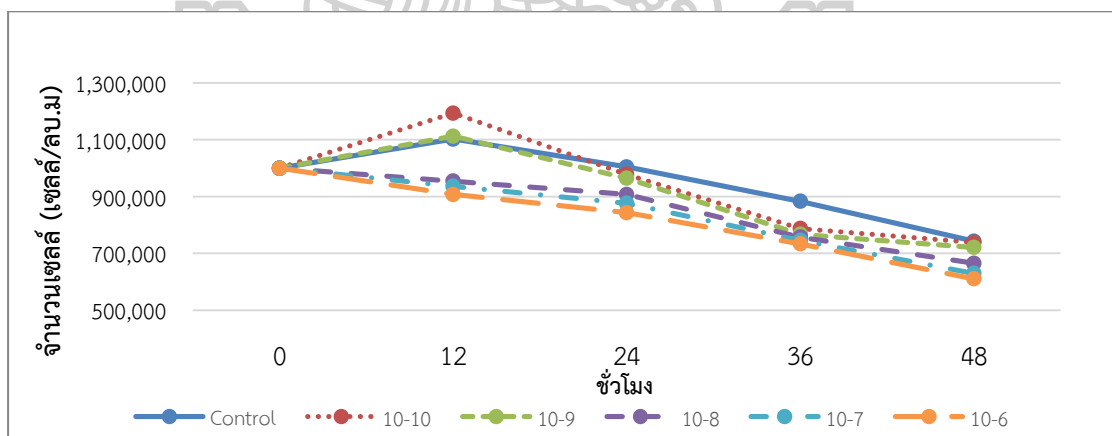
สำหรับกรดฮิวมิกสามารถเป็นอาหารของแพลงก์ตอนได้ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ (ไทยถาวร เลิศวิทยาประสิทธิ์, 2530); (Tranvik, 1998) นอกจากนี้กรดฮิวมิกสามารถควบคุมการแลกเปลี่ยนไอออนโลหะเพื่อไม่ให้มีปริมาณมากเกินไปโดยเกิดปฏิกิริยาในรูปสารประกอบเชิงซ้อน โดยการตอบสนองนั้นจะแตกต่างกันไปขึ้นกับชนิดของโลหะ กรดฮิวมิก และชนิดของแพลงก์ตอน (ไทยถาวร เลิศวิทยาประสิทธิ์, 2530) ดังนั้นในการศึกษานี้จึงได้ศึกษาอิทธิพลของกรดฮิวมิกที่สกัดจากปุ๋ยหมักของไทยกับแคดเมียม เพื่อช่วยในการอธิบายความเป็นพิษของแคดเมียมในสภาวะที่มี/ไม่มีกรดฮิวมิกที่เกิดขึ้นในประเทศไทยได้ พบว่าเมื่อเติมกรดฮิวมิกที่ความเข้มข้น 10^{-10} , 10^{-9} , 10^{-8} , 10^{-7} และ 10^{-6} โมล ดังภาพที่ 16 ข) ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ 10^{-10} และ 10^{-9} โมล หลังจาก 24 ชั่วโมงแรก จะมีจำนวนเซลล์ไม่แตกต่างกันมากนักแต่หากเลี้ยงไว้ถึง 48 ชั่วโมง จำนวนเซลล์จะลดลงมากกว่าชุดควบคุม โดยการเพิ่มความเข้มข้นของกรดฮิวมิกจะทำให้อัตราการลดลงของจำนวนเซลล์เพิ่มขึ้นเช่นกัน ดังภาพ 16 ค) แต่ในอัตราที่น้อยกว่าชุดทดสอบด้วยสารละลายแคดเมียม และสารละลายแคดเมียมกับกรดฮิวมิก โดยที่ความเข้มข้น 10^{-10} , 10^{-9} , 10^{-8} , 10^{-7} และ 10^{-6} โมล มีอัตราการลดลง 9.30×10^4 , 9.04×10^4 , 8.67×10^4 , 9.32×10^4 และ 9.52×10^4 ตามลำดับดังตารางที่ 5 และความเข้มข้น 10^{-10} และ 10^{-9} โมล มีทิศทางที่เพิ่มขึ้นใน 12 ชั่วโมงแรกเหมือนกับชุดควบคุม แสดงให้เห็นว่าถึงแม้กรด



ก) แคดเมียม (Cd)



ข) แคดเมียม-กรดฮิวมิก (Cd-HA)



ค) กรดฮิวมิก (HA)

ภาพที่ 16 จำนวนเซลล์ของแพลงก์ตอนพืช (*Chlorella* sp.) ที่ทดสอบด้วย ก) แคดเมียม (Cd) ข) แคดเมียม-กรดฮิวมิก (Cd-HA) และ ค) กรดฮิวมิก (HA) ที่ความเข้มข้น 10^{-10} , 10^{-9} , 10^{-8} , 10^{-7} และ 10^{-6} โมล ตามลำดับ เปรียบเทียบกับชุดควบคุม

อีวมิทจะมีความเป็นพิษบ้างต่อแพลงก์ตอนพืชแต่ในระดับที่ต่ำกว่าแคดเมียม ดังงานวิจัยของ (Koukal, 2003) ได้ศึกษาอิทธิพลของสารอีวมิทต่อความเป็นพิษของแคดเมียมที่มีต่อสาหร่ายสีเขียว *Pseudokirchneriella subcapitata* ซึ่งอยู่ในดิวิชันเดียวกับแพลงก์ตอนพืชคลอเรลลาพบว่า กรดอีวมิทที่มีความเข้มข้นเพิ่มขึ้นจะช่วยลดพิษของแคดเมียมได้เพิ่มขึ้น และกรดอีวมิทที่สกัดจากดิน และพีท ปริมาณ 5 มิลลิกรัม/ลิตร สามารถลดพิษแคดเมียมได้ 5 และ 2 เท่า ตามลำดับ โดยกระบวนการลดความเป็นพิษของแคดเมียมอาจเนื่องมาจากเกิดแคดเมียมในรูปสารประกอบเชิงซ้อนกับกรดอีวมิทที่สกัดได้จากปริมาณคอลลอยด์ที่เพิ่มมากขึ้นเมื่อความเข้มข้นของกรดอีวมิทเพิ่มมากขึ้น ซึ่งมีโครงสร้างของสารประกอบเชิงซ้อนขนาดใหญ่ขึ้นยากที่จะผ่านเข้าไปในโครงสร้างสาหร่ายได้โดยตรง ต้องเกิดการแลกเปลี่ยนไอออนของโลหะออกจากโครงสร้างกรดอีวมิทก่อนสาหร่ายจึงจะนำโลหะเข้าสู่เซลล์ได้ทำให้สาหร่ายนำแคดเมียมไปใช้ได้ยากขึ้น นอกจากนี้บนผิวของสาหร่ายสามารถดูดซับกรดอีวมิทได้ป้องกันไอออนอิสระของแคดเมียมผ่านเข้าสู่เซลล์ได้โดยตรงอีกด้วย

ซึ่งจากการคำนวณหาค่าความเป็นพิษ Lethal Concentration (LC₂₅) ด้วยวิธีวิเคราะห์ของ (Finney, 1952) ที่เรียกว่า Probit Analysis พบว่า สมการเส้นตรงของอัตราการตายแบบ Probit ของแพลงก์ตอนพืชที่ทดสอบด้วยสารละลายแคดเมียม แคดเมียม-กรดอีวมิท และกรดอีวมิท (ภาพที่ 17) เป็นดังนี้

แคดเมียม

$$y = 0.208x + 3.372 \quad R^2 = 0.9702 \quad \text{----- (17.1)}$$

ที่ $y = 4.33$ ค่า LC₂₅ มีค่าเท่ากับ $10^{-4.60}$ โมล

แคดเมียม-กรดอีวมิท

$$y = 0.122x + 3.866 \quad R^2 = 0.8793 \quad \text{----- (17.2)}$$

ที่ $y = 4.33$ ค่า LC₂₅ มีค่าเท่ากับ $10^{-3.80}$ โมล

กรดอีวมิท

$$y = 0.14x + 3.814 \quad R^2 = 0.9716 \quad \text{----- (17.3)}$$

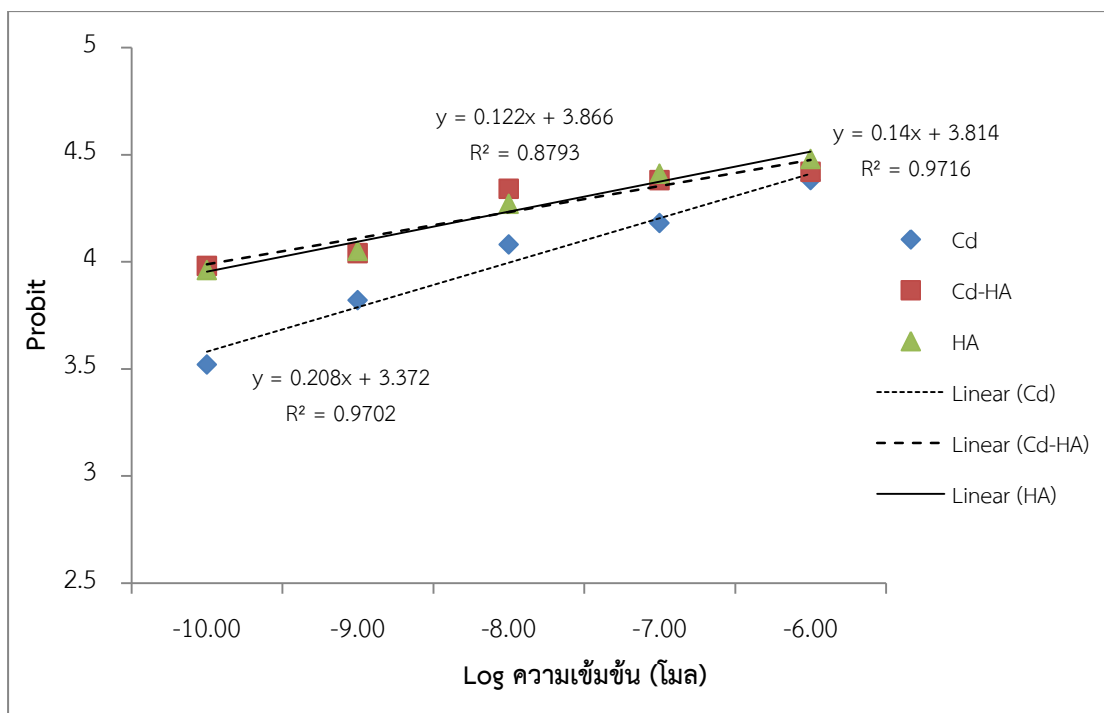
ที่ $y = 4.33$ ค่า LC₂₅ มีค่าเท่ากับ $10^{-3.68}$ โมล

พบว่า จากค่า LC₂₅ เรียงลำดับความเป็นพิษได้ดังนี้

แคดเมียม > แคดเมียม-กรดอีวมิท > กรดอีวมิท

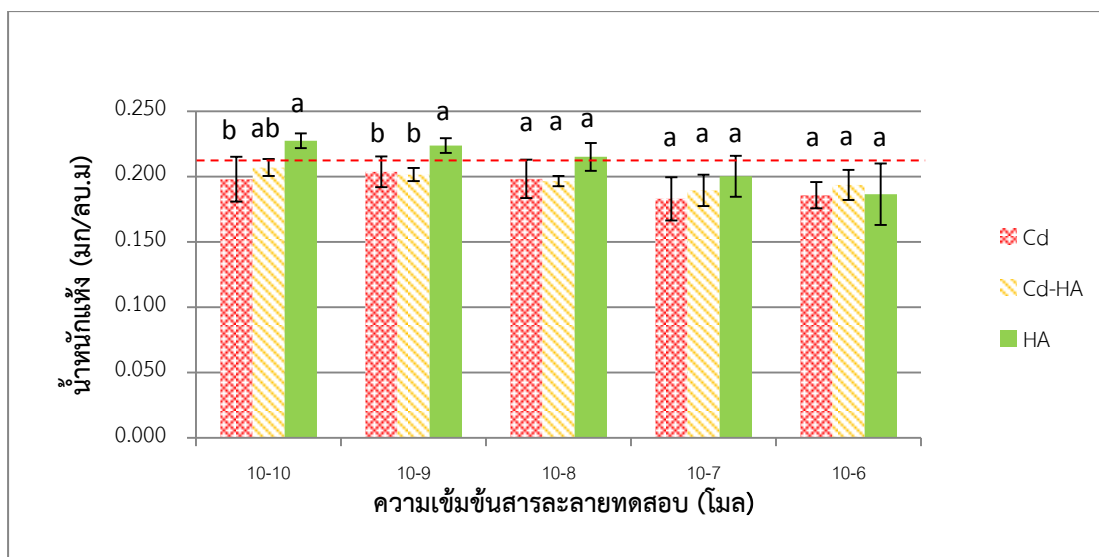
$$10^{-4.60} \text{ โมล} > 10^{-3.80} \text{ โมล} > 10^{-3.68} \text{ โมล}$$

ซึ่งแสดงให้เห็นถึงการเติมกรดอีวมิททำให้ระดับความเป็นพิษของแคดเมียมลดลงดังกล่าว



ภาพที่ 17 ความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่างร้อยละการตายแบบ Probit กับลอการิทึมของความเข้มข้นของสารทดสอบแคดเมียม (Cd) แคดเมียม-กรดฮิวมิก (Cd-HA) และกรดฮิวมิก (HA)

นอกจากนี้การตรวจสอบปริมาณน้ำหนักรวมพบว่าการเพิ่มปริมาณแคดเมียม และแคดเมียม-กรดฮิวมิก ทำให้น้ำหนักแห้งของแพลงก์ตอนพืชลดลง ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ (สุกัญญา แซ่มประเสริฐ, 2554) ได้ศึกษาผลของแคดเมียมจากน้ำเสียสังเคราะห์ต่อการเติบโตของสาหร่ายเดนซ่าและบัวสาหร่าย พบว่า ผลของแคดเมียมต่อการเติบโตและปริมาณการสะสมแคดเมียมของสาหร่ายเดนซ่า (*Egeria densa* Planch.) และบัวสาหร่าย (*Cabomba caroliniana* A. Gray) ในน้ำเสียสังเคราะห์ที่มีแคดเมียมความเข้มข้น 0, 1, 5, 10 และ 15 ไมโครกรัมต่อลิตร พบว่า แคดเมียมมีผลยับยั้งอัตราการเติบโตสัมพัทธ์ (Relative Growth Rate: RGR) ของสาหร่ายเดนซ่า โดยชุดควบคุมมีอัตราการเติบโตสูงกว่าชุดที่ได้รับแคดเมียมอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) โดยมีค่า 0.040, 0.027, 0.027, 0.033 และ 0.029 กรัมต่อกรัม น้ำหนักแห้งต่อวัน ตามลำดับ ขณะที่บัวสาหร่ายค่อนข้างมีความไวต่อสารพิษน้อยกว่าสาหร่ายเดนซ่าเนื่องจากบัวสาหร่ายเป็นพืชชั้นสูงกว่า ดังภาพที่ 18 ขณะที่กรดฮิวมิกที่ระดับความเข้มข้นต่ำ 10^{-10} และ 10^{-9} โมล เพิ่มปริมาณน้ำหนักรวมของแพลงก์ตอนพืชแต่เมื่อกรดฮิวมิกมีความเข้มข้นสูงขึ้นน้ำหนักแห้งของแพลงก์ตอนพืชก็ลดลงเช่นเดียวกัน แสดงให้เห็นว่ากรดฮิวมิกแม้มีความเป็นพิษบ้างแต่ในระดับที่น้อยกว่าแคดเมียม สอดคล้องกับการศึกษาของ (Koukal, 2003) ที่พบว่ากรดฮิวมิกช่วยลดความเป็นพิษของแคดเมียมที่มีต่อแพลงก์ตอนพืช



ภาพที่ 18 ปริมาณน้ำหนักแห้งของแพลงก์ตอนพืช (*Chlorella* sp.) ที่ทดสอบด้วยสารละลายแคดเมียม (Cd) แคดเมียม-กรดฮิวมิก (Cd-HA) และกรดฮิวมิก (HA) ที่ความเข้มข้น 10^{-10} , 10^{-9} , 10^{-8} , 10^{-7} และ 10^{-6} โมล ตามลำดับ เปรียบเทียบกับชุดควบคุม; a, b และ c หมายถึงแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ $\alpha = 0.05$

P.subcapitata นอกจากนี้เมื่อเปรียบเทียบการทดสอบด้วยแคดเมียมและแคดเมียม-กรดฮิวมิกทุกชุดทดสอบไม่มีความแตกต่างกันด้านน้ำหนักแห้งที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 บ่งบอกถึงการเติมกรดฮิวมิกไม่ได้มีอิทธิพลต่อน้ำหนักแห้งดังกล่าว

4.2 อิทธิพลของแคดเมียม แคดเมียม-กรดฮิวมิก และกรดฮิวมิก ต่อปริมาณคลอโรฟิลล์เอ

คลอโรฟิลล์เอ ทำหน้าที่สังเคราะห์แสงโดยดูดกลืนคลื่นแสงได้ดีในช่วงสีน้ำเงินที่สเปคตรัม 420-450 นาโนเมตร และสีแดงที่สเปคตรัม 630-660 นาโนเมตร โดยคลอโรฟิลล์เอ ดูดกลืนแสงสีน้ำเงินได้ดีกว่าสีแดง ทำให้มองแพลงก์ตอนพืชมีสีเขียว (สถาบันนวัตกรรมและการเรียนรู้, 2561) ปริมาณคลอโรฟิลล์เอ นิยมใช้ประเมินความอุดมสมบูรณ์ของแพลงก์ตอนพืชและเป็นอีกดัชนีในการวัดการตอบสนองต่อความเป็นพิษ (อุทิศ เชื้อบัณฑิต, 2556) และงานวิจัยของ (Sun, 2005) ได้ศึกษาอิทธิพลของเหล็กและกรดฮิวมิกต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน cyanobacterium *Anabaena circinalis* พบว่ากรดฮิวมิกที่ระดับความเข้มข้นต่ำ 0.01 มิลลิกรัมคาร์บอน/ลิตร เพิ่มการเจริญเติบโตของสาหร่ายได้ดีกว่าชุดควบคุม แต่หากมีปริมาณมากเกินไปกรดฮิวมิกจะไปตรึงเหล็กทำให้สาหร่ายนำเหล็กไปใช้ได้น้อยลงการเจริญเติบโตลดลง ดังนั้นกรดฮิวมิกจึงมีลักษณะเป็นสารคีเลตธรรมชาติที่สามารถนำมาใช้ทดสอบในการลดพิษของแคดเมียมที่ยังไม่เคยมีผู้ใดศึกษามาก่อน ซึ่งทั้งแคดเมียมและกรดฮิวมิกนี้สามารถพบได้ทั่วไปในแหล่งน้ำธรรมชาติ แม้ในระดับที่ต่ำกว่าค่ามาตรฐานน้ำผิวดิน การศึกษาอิทธิพลของกรดฮิวมิกและแคดเมียมที่มีต่อสาหร่ายคลอเรลลาจะช่วยให้การศึกษาความเป็นพิษของแคดเมียมในแหล่งน้ำเป็นไปได้อย่างชัดเจนมากยิ่งขึ้น

จากการทดลองนี้พบว่าเมื่อเปรียบเทียบความเข้มข้นสารละลายทดสอบแคดเมียม แคดเมียม-กรดฮิวมิก และกรดฮิวมิก ที่ความเข้มข้น 10^{-10} , 10^{-9} , 10^{-8} , 10^{-7} และ 10^{-6} โมล ตามลำดับ เปรียบเทียบกับชุดควบคุม ปริมาณของคลอโรฟิลล์เอ แตกต่างกันที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 โดยเมื่อความเข้มข้นของสารละลายทดสอบเพิ่มขึ้นปริมาณคลอโรฟิลล์เอจะลดลง ดังภาพที่ 19 เรียงลำดับจากมากไปหาน้อยได้ดังนี้

แคดเมียม

$$10^{-6} \text{ โมล} > 10^{-7} \text{ โมล}, 10^{-8} \text{ โมล} > 10^{-9} \text{ โมล}, 10^{-10} \text{ โมล} > \text{ชุดควบคุม}$$

แคดเมียม-กรดฮิวมิก

$$10^{-6} \text{ โมล} > 10^{-7} \text{ โมล} > 10^{-8} \text{ โมล} > 10^{-9} \text{ โมล} > 10^{-10} \text{ โมล} > \text{ชุดควบคุม}$$

กรดฮิวมิก

$$10^{-6} \text{ โมล} > 10^{-7} \text{ โมล} > 10^{-8} \text{ โมล} > 10^{-9} \text{ โมล} > 10^{-10} \text{ โมล} > \text{ชุดควบคุม}$$

ซึ่งจากการศึกษาศักยภาพของกรดฮิวมิกในการลดความเป็นพิษของแคดเมียมต่อปริมาณคลอโรฟิลล์เอที่มีต่อแพลงก์ตอนพืชที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 ที่ความเข้มข้น 10^{-10} , 10^{-9} , 10^{-7} และ 10^{-6} โมล ดังภาพที่ 20 สอดคล้องกับงานวิจัยของ (โสภิต ปัญญาชน, 2545) ที่ทำการทดสอบความเป็นพิษของแคดเมียมและสังกะสีที่มีผลต่อการเติบโต คลอโรฟิลล์ และการสะสมโดยใช้พีชน้ำ พบว่าอัตราการเติบโต ผลผลิต มวลชีวภาพ และปริมาณคลอโรฟิลล์ของพีชลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) เมื่อความเข้มข้นของโลหะหนัก และระยะเวลาในการทดสอบเพิ่มขึ้น โดยกรดฮิวมิกมีแนวโน้มแสดงความเป็นพิษต่อปริมาณคลอโรฟิลล์เอน้อยกว่าแคดเมียม-กรดฮิวมิก และแคดเมียม มีลำดับความเป็นพิษที่ความเข้มข้นต่างๆ จากมากไปหาน้อยดังต่อไปนี้

ความเข้มข้น 10^{-10} โมล

$$\text{แคดเมียม} > \text{แคดเมียม-กรดฮิวมิก} > \text{กรดฮิวมิก}$$

ความเข้มข้น 10^{-9} โมล

$$\text{แคดเมียม} > \text{แคดเมียม-กรดฮิวมิก}, \text{กรดฮิวมิก}$$

ความเข้มข้น 10^{-8} โมล

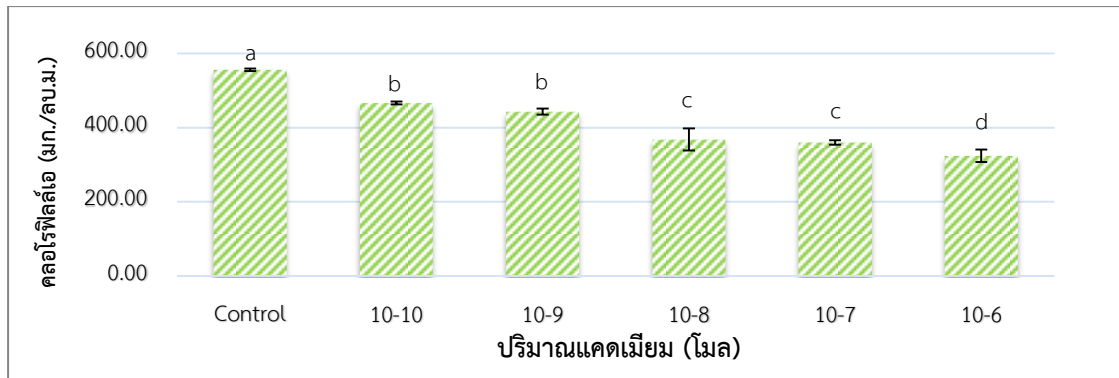
$$\text{แคดเมียม}, \text{แคดเมียม-กรดฮิวมิก} > \text{กรดฮิวมิก}$$

ความเข้มข้น 10^{-7} โมล

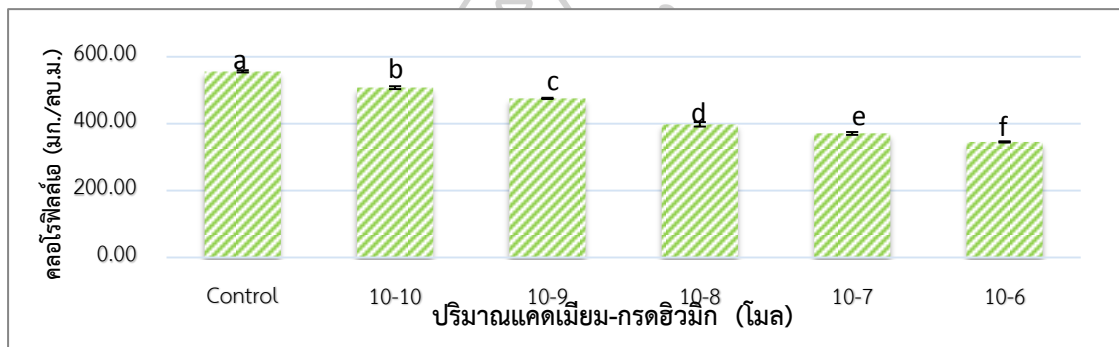
$$\text{แคดเมียม} > \text{แคดเมียม-กรดฮิวมิก} > \text{กรดฮิวมิก}$$

ความเข้มข้น 10^{-6} โมล

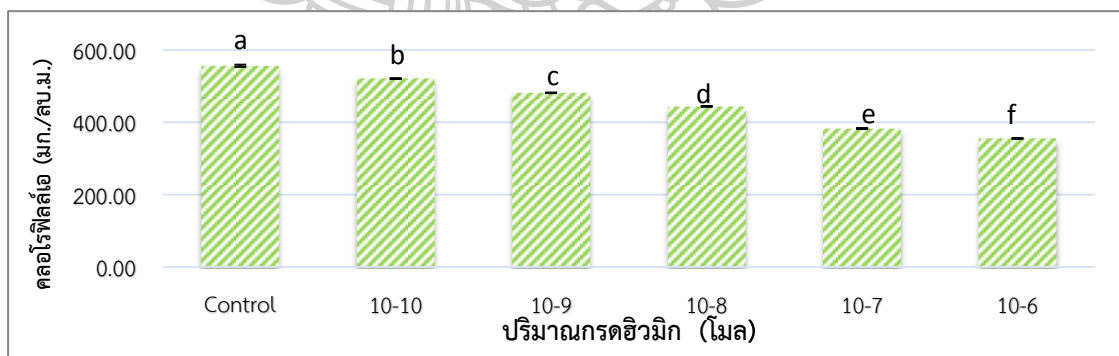
$$\text{แคดเมียม} > \text{แคดเมียม-กรดฮิวมิก}, \text{กรดฮิวมิก}$$



ก) แคดเมียม (Cd)

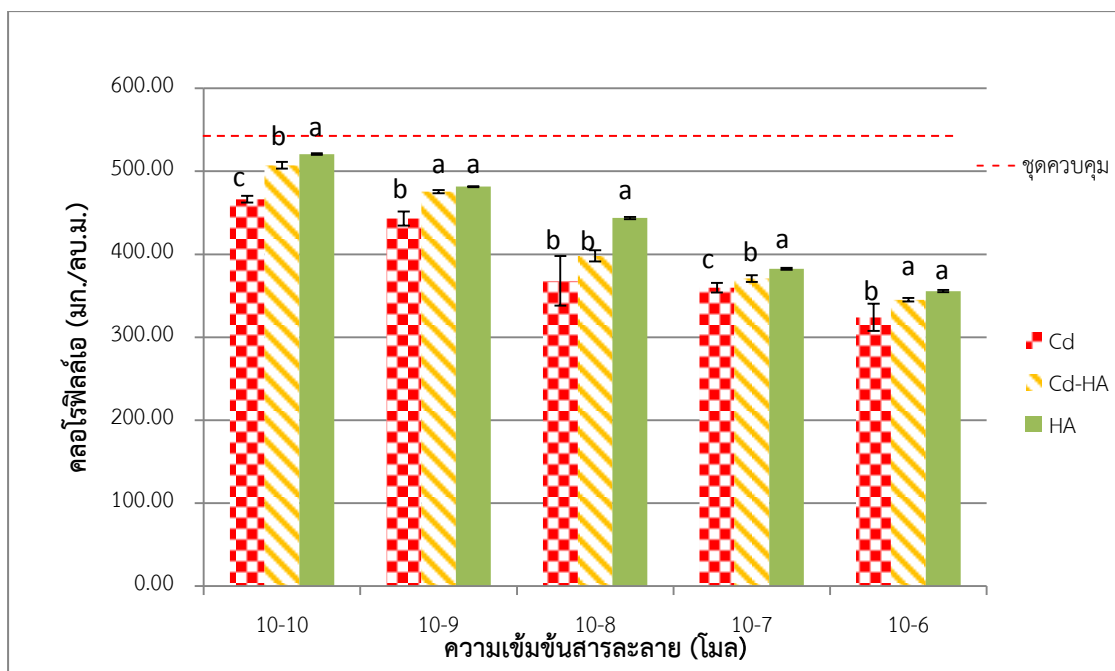


ข) แคดเมียม-กรดฮิวริก (Cd-HA)



ค) กรดฮิวริก (HA)

ภาพที่ 19 ปริมาณคลอโรฟิลล์เอ ที่ทดสอบด้วย ก) แคดเมียม (Cd) ข) แคดเมียม-กรดฮิวริก (Cd-HA) และ ค) กรดฮิวริก (HA) ที่ความเข้มข้น 10^{-10} , 10^{-9} , 10^{-8} , 10^{-7} และ 10^{-6} โมล ตามลำดับเปรียบเทียบกับชุดควบคุม; a, b, c, d, e และ f หมายถึงแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ $\alpha = 0.05$



ภาพที่ 20 ปริมาณคลอโรฟิลล์เอ ที่ทดสอบด้วยสารละลายแคดเมียม (Cd) แคดเมียม-กรดฮิวมิก (Cd-HA) และกรดฮิวมิก (HA) ที่ความเข้มข้น 10^{-10} , 10^{-9} , 10^{-8} , 10^{-7} และ 10^{-6} โมล ตามลำดับ เปรียบเทียบกับชุดควบคุม; a, b และ c หมายถึงแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ $\alpha = 0.05$

ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากกรดฮิวมิกมีผลต่อความสัมพันธ์การสังเคราะห์ด้วยแสง โดยกรดฮิวมิกจะดูดซับธาตุที่มีออบอนบวกได้ตัวอย่างเช่น แมกนีเซียม ซึ่งเป็นธาตุองค์ประกอบของคลอโรฟิลล์จึงส่งผลในเชิงบวกต่อประสิทธิภาพในการสังเคราะห์ด้วยแสงคลอโรฟิลล์ สอดคล้องกับรายงานของ (Randhawa, 1965) พบว่ากรดฮิวมิกมีคุณสมบัติเป็นลิแกนด์ซึ่งสามารถจับกับธาตุโลหะหนักและปลดปล่อยให้รากพืชที่ละน้อย นอกจากนี้ยัง พบว่ากรดฮิวมิกมีผลทำให้พืชสามารถดูดซับธาตุอาหารได้สูงขึ้นโดยการซึมผ่านทางเซลล์เมมเบรนของรากพืช (Valdrighi, 1996) แต่ผลของกรดฮิวมิกต่อการดูดซับออบอนของธาตุอาหารจะเกิดขึ้นได้มากหรือน้อยนั้นขึ้นอยู่กับความสัมพันธ์ระดับความเข้มข้นของกรดฮิวมิก

จากการศึกษาอิทธิพลของกรดฮิวมิกต่อความเป็นพิษของแคดเมียมที่มีต่อแพลงก์ตอนพืช (*Chlorella* sp.) โดยแบ่งความเข้มข้นของแคดเมียม แคดเมียม-กรดฮิวมิก และกรดฮิวมิก ออกเป็น 5 ระดับ ได้แก่ 10^{-10} , 10^{-9} , 10^{-8} , 10^{-7} และ 10^{-6} โมล ตามลำดับ เปรียบเทียบกับชุดควบคุม พบว่าการเติมกรดฮิวมิกช่วยลดความเป็นพิษของแคดเมียมอย่างชัดเจน และแม้กรดฮิวมิกจะมีความเป็นพิษอยู่บ้างแต่อยู่ในระดับที่ต่ำกว่าแคดเมียม โดยการเพิ่มความเข้มข้นของสารทดสอบแคดเมียม แคดเมียม-กรดฮิวมิก และกรดฮิวมิก ทำให้ความเป็นพิษที่มีต่อแพลงก์ตอนพืชเพิ่มมากขึ้น ทั้งในด้าน

จำนวนเซลล์ น้ำหนักแห้ง และปริมาณคลอโรฟิลล์เอที่ลดลง ซึ่งกระบวนการลดความเป็นพิษของกรด
อิมิกที่พบมากมายในธรรมชาตินี้เป็นสิ่งที่น่าสนใจที่ควรทำการศึกษาในอนาคตต่อไป



บทที่ 5

สรุปผลการทดลอง

การศึกษาอิทธิพลของกรดฮิวมิกต่อความเป็นพิษของแคดเมียมที่มีต่อแพลงก์ตอนพืช (*Chlorella* sp.) ในเชิงเปรียบเทียบระหว่างสภาวะที่มีแคดเมียม (Cd) สภาวะที่เติมกรดฮิวมิกร่วมกับแคดเมียม เรียกว่าแคดเมียม-กรดฮิวมิก (Cd-HA) และสภาวะที่มีเพียงกรดฮิวมิก (HA) โดยแบ่งความเข้มข้นสารละลายที่ทดสอบทั้ง 3 ชุดออกเป็น 5 ระดับ ได้แก่ 10^{-10} , 10^{-9} , 10^{-8} , 10^{-7} และ 10^{-6} โมล ตามลำดับ ทำการทดสอบโดยนำไปเลี้ยงแพลงก์ตอนพืชเป็นเวลา 48 ชั่วโมง ในที่ที่ปราศจากแสงและไม่เติมอากาศ เปรียบเทียบกับชุดควบคุม โดยความเข้มข้นที่เลือกนี้อยู่ในช่วงมาตรฐานน้ำผิวดินประเภทที่ 2-4 ที่ต้องมีแคดเมียมไม่เกิน 0.005 มิลลิกรัม/ลิตร หรือ 2.1×10^{-8} โมล สำหรับน้ำที่มีความกระด้างไม่เกินกว่า 100 มิลลิกรัม/ลิตร หรือ 0.05 มิลลิกรัม/ลิตร หรือ 2.1×10^{-7} โมล สำหรับน้ำที่มีความกระด้างเกินกว่า 100 มิลลิกรัม/ลิตร

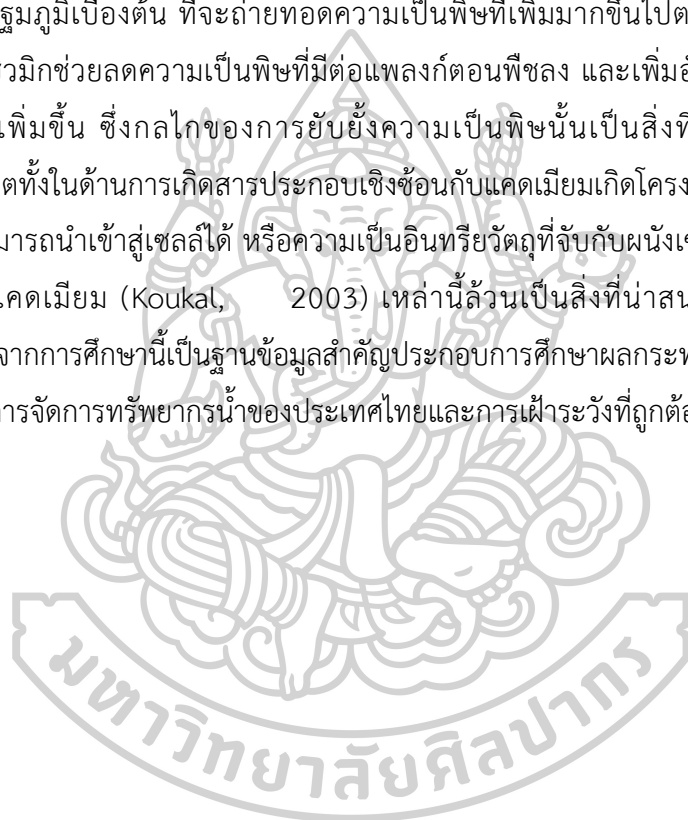
จากการศึกษาเชิงเปรียบเทียบ พบว่าใน 12 ชั่วโมงแรก มีการเจริญเติบโตด้านจำนวนเซลล์ในชุดควบคุมและที่ความเข้มข้นต่ำ 10^{-10} โมลทุกชุดทดสอบ โดยกรดฮิวมิกเพียงอย่างเดียวที่เพิ่มการเจริญเติบโตเช่นกันถึงระดับความเข้มข้น 10^{-9} โมล ขณะที่ความเข้มข้นที่สูงกว่านี้จะลดอัตราการเจริญเติบโตด้านจำนวนเซลล์ตั้งแต่เริ่มการทดลองทุกชุดทดสอบ สำหรับสารละลายแคดเมียมที่ความเข้มข้น 10^{-10} , 10^{-9} , 10^{-8} , 10^{-7} และ 10^{-6} โมล มีอัตราการลดลง 9.52×10^4 , 9.15×10^4 , 9.66×10^4 , 10.02×10^4 และ 10.42×10^4 ตามลำดับ และเมื่อเติมกรดฮิวมิกร่วมกับสารละลายแคดเมียมจะช่วยลดความเป็นพิษของแคดเมียมลง มีอัตราการลดลง 10.10×10^4 , 8.63×10^4 , 9.45×10^4 , 9.63×10^4 และ 9.83×10^4 ตามลำดับ สอดคล้องกับการคำนวณหาค่าความเป็นพิษ Median Lethal Concentration (LC₂₅) ของแพลงก์ตอนพืชที่ทดสอบด้วยสารละลายแคดเมียม แคดเมียม-กรดฮิวมิก และกรดฮิวมิก เรียงลำดับความเป็นพิษด้วยค่า LC₂₅ ได้ดังนี้

$$\text{แคดเมียม } 10^{-4.60} \text{ โมล} > \text{แคดเมียม-กรดฮิวมิก } 10^{-3.80} \text{ โมล} > \text{กรดฮิวมิก } 10^{-3.68} \text{ โมล}$$

สำหรับการศึกษาอิทธิพลต่อปริมาณน้ำหนักรูปร่าง พบว่า การเพิ่มปริมาณแคดเมียมและแคดเมียม-กรดฮิวมิก ทำให้น้ำหนักรูปร่างของแพลงก์ตอนพืชลดลง ขณะที่กรดฮิวมิกที่ระดับความเข้มข้นต่ำ 10^{-10} และ 10^{-9} โมล เพิ่มปริมาณน้ำหนักรูปร่างของแพลงก์ตอนพืช แต่เมื่อกรดฮิวมิกมีความเข้มข้นสูงขึ้นน้ำหนักรูปร่างของแพลงก์ตอนพืชก็ลดลงเช่นเดียวกัน แสดงให้เห็นว่ากรดฮิวมิกแม้มีความเป็นพิษบ้างแต่ในระดับที่น้อยกว่าแคดเมียมขณะที่ความเข้มข้นต่ำๆกลับช่วยเพิ่มการเจริญเติบโตทั้งด้านจำนวนเซลล์และน้ำหนักรูปร่างด้านปริมาณคลอโรฟิลล์เอซึ่งเป็นดัชนีการประเมินความอุดมสมบูรณ์ของแพลงก์ตอนพืช

พบว่า การเติมกรดฮิวมิกลดความเป็นพิษของแคดเมียมที่มีต่อปริมาณคลอโรฟิลล์เอที่มีต่อ แพลงก์ตอนพืชที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 ที่ความเข้มข้น 10^{-10} , 10^{-9} , 10^{-7} และ 10^{-6} โมล โดยกรดฮิวมิค มีแนวโน้มแสดงความเป็นพิษต่อปริมาณคลอโรฟิลล์เอน้อยกว่าแคดเมียม-กรดฮิวมิค และแคดเมียม และเมื่อความเข้มข้นของสารละลายทดสอบเพิ่มขึ้นปริมาณคลอโรฟิลล์เอจะลดลง

ดังนั้น สรุปได้ว่าแคดเมียมแสดงความเป็นพิษต่อแพลงก์ตอนพืชแม้ในระดับความเข้มข้น ที่ต่ำกว่าระดับมาตรฐานน้ำผิวดิน คือ มีผลต่อจำนวนเซลล์ และน้ำหนักแห้งตั้งแต่ความเข้มข้น 10^{-9} โมลขึ้นไป และมีผลต่อคลอโรฟิลล์เอตั้งแต่ความเข้มข้น 10^{-10} โมลขึ้นไป ซึ่งเป็นอันตราย ต่อสิ่งมีชีวิตปฐมภูมิเบื้องต้น ที่จะถ่ายทอดความเป็นพิษที่เพิ่มมากขึ้นไปตามลำดับห่วงโซ่อาหาร การเติมกรดฮิวมิคช่วยลดความเป็นพิษที่มีต่อแพลงก์ตอนพืชลง และเพิ่มอัตราการรอดชีวิต และ น้ำหนักแห้งเพิ่มขึ้น ซึ่งกลไกของการยับยั้งความเป็นพิษนั้นเป็นสิ่งที่น่าสนใจที่ควรศึกษา ต่อไปในอนาคตทั้งในด้านการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนกับแคดเมียมเกิดโครงสร้างใหญ่ขึ้นจนแพลงก์ ตอนพืชไม่สามารถนำเข้าสู่เซลล์ได้ หรือความเป็นอินทรีย์วัตถุที่จับกับผนังเซลล์ที่ช่วยปกป้องความ เป็นพิษจากแคดเมียม (Koukal, 2003) เหล่านี้ล้วนเป็นสิ่งที่น่าสนใจที่จะได้ศึกษาต่อไป ซึ่งความรู้ที่ได้จากการศึกษานี้เป็นฐานข้อมูลสำคัญประกอบการศึกษาผลกระทบต่อระบบนิเวศทางน้ำ อันจะนำไปสู่การจัดการทรัพยากรน้ำของประเทศไทยและการเฝ้าระวังที่ถูกต้องเหมาะสมต่อไป





ภาคผนวก



ภาคผนวก ก
ตารางแสดงผลการทดลอง

ตารางที่ 6 จำนวนเซลล์ของแพลงก์ตอนพืช (*Chlorella* sp.) ที่ทดสอบด้วยสารละลายแคดเมียม ที่ความเข้มข้น 10^{-10} , 10^{-9} , 10^{-8} , 10^{-7} และ 10^{-6} ไมล ตามลำดับ เปรียบเทียบกับชุดควบคุม

ความเข้มข้น (ไมล)	แคดเมียม (Cd)											
	ชั่วโมงที่ 0		ชั่วโมงที่ 12		ชั่วโมงที่ 24		ชั่วโมงที่ 36		ชั่วโมงที่ 48			
	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD		
Control	1,000,000	0	1,102,667	11,015	1,004,333	3,055	883,333	15,275	742,667	8,737		
10^{-10}	1,000,000	0	1,102,333	1,528	947,333	577	773,333	1,528	688,333	1,528		
10^{-9}	1,000,000	0	957,333	577	920,333	1,528	742,000	2,000	650,333	2,082		
10^{-8}	1,000,000	0	907,000	1,000	877,667	2,082	725,333	577	607,667	2,082		
10^{-7}	1,000,000	0	886,333	1,528	822,333	1,528	709,667	1,528	587,333	1,528		
10^{-6}	1,000,000	0	826,333	2,082	788,333	1,528	701,333	1,155	541,667	2,082		

ตารางที่ 7 จำนวนเซลล์ของแพลงก์ตอนพืช (*Chlorella* sp.) ที่ทดสอบด้วยสารละลายแคดเมียม-การดิวมิค ที่ความเข้มข้น 10^{-10} , 10^{-9} , 10^{-8} , 10^{-7} และ 10^{-6} โมล ตามลำดับ เปรียบเทียบกับชุดควบคุม

ความเข้มข้น (โมล)	แคดเมียม-การดิวมิค (Cd-HA)											
	ชั่วโมงที่ 0		ชั่วโมงที่ 12		ชั่วโมงที่ 24		ชั่วโมงที่ 36		ชั่วโมงที่ 48			
	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD		
Control	1,000,000	0	1,102,667	11,015	1,004,333	3,055	883,333	15,275	742,667	8,737		
10^{-10}	1,000,000	0	1,187,333	2,082	954,333	2,082	772,333	6,429	702,333	6,807		
10^{-9}	1,000,000	0	997,333	577	953,333	1,528	747,333	1,528	693,333	6,110		
10^{-8}	1,000,000	0	924,333	2,082	886,667	2,082	740,667	2,082	619,333	2,517		
10^{-7}	1,000,000	0	915,667	2,082	851,667	2,082	729,333	1,528	609,000	2,646		
10^{-6}	1,000,000	0	886,333	2,082	824,667	2,517	710,333	2,082	596,333	1,528		

ตารางที่ 8 จำนวนเซลล์ของแบคทีเรีย *Chlorella sp.* ที่ทดสอบด้วยสารละลายกายกรธิวมิก ที่ความเข้มข้น 10^{-10} , 10^{-9} , 10^{-8} , 10^{-7} และ 10^{-6} โมล ตามลำดับ เปรียบเทียบกับชุดควบคุม

ความเข้มข้น (โมล)	กรธิวมิก (HA)											
	ชั่วโมงที่ 0		ชั่วโมงที่ 12		ชั่วโมงที่ 24		ชั่วโมงที่ 36		ชั่วโมงที่ 48			
	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD		
Control	1,000,000	0	1,102,667	11,015	1,004,333	3,055	883,333	15,275	742,667	8,737		
10^{-10}	1,000,000	0	1,193,667	1,528	977,667	1,528	787,333	2,082	738,333	1,528		
10^{-9}	1,000,000	0	1,112,667	1,528	964,333	1,528	767,000	1,000	720,667	1,528		
10^{-8}	1,000,000	0	954,333	2,082	907,667	2,517	756,667	1,528	665,333	12,741		
10^{-7}	1,000,000	0	936,333	2,082	876,333	2,082	745,667	2,082	629,333	2,082		
10^{-6}	1,000,000	0	907,333	2,517	843,333	2,082	733,333	1,528	610,667	2,082		

ตารางที่ 9 ปริมาณน้ำหนักรากแห้งของแพลงก์ตอนพืช (*Chlorella* sp.) ที่ทดสอบด้วยสารละลาย แคดเมียม (Cd) แคดเมียม-กรดฮิวมิก (Cd-HA) และกรดฮิวมิก (HA) ที่ความเข้มข้น 10^{-10} , 10^{-9} , 10^{-8} , 10^{-7} และ 10^{-6} โมล ตามลำดับ

ความเข้มข้น (โมล)	แคดเมียม (Cd)	แคดเมียม-กรดฮิวมิก (Cd-HA)	กรดฮิวมิก (HA)
	Mean±SE	Mean±SE	Mean±SE
10^{-10}	197.93±17.13 ^a	206.87±6.55 ^{ab}	227.27±5.56 ^a
10^{-9}	203.60±11.76 ^b	201.47±4.96 ^b	223.67±5.71 ^a
10^{-8}	198.20±14.58 ^a	196.40±3.94 ^a	215.00±10.74 ^a
10^{-7}	182.93±16.53 ^a	189.33±10.20 ^a	200.13±15.75 ^a
10^{-6}	185.73±10.01 ^a	193.60±11.53 ^a	186.47±23.54 ^a

หมายเหตุ อักษร a,b ที่แตกต่างกัน หมายถึง แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ $P < 0.05$, SE= Standard error

ตารางที่ 10 ปริมาณคลอโรฟิลล์เอ ที่ทดสอบด้วยสารละลายแคดเมียม (Cd) แคดเมียม-กรดฮิวมิก (Cd-HA) และกรดฮิวมิก (HA) ที่ความเข้มข้น 10^{-10} , 10^{-9} , 10^{-8} , 10^{-7} และ 10^{-6} โมล ตามลำดับ เปรียบเทียบกับชุดควบคุม

ความเข้มข้น (โมล)	แคดเมียม (Cd)	แคดเมียม-กรดฮิวมิก (Cd-HA)	กรดฮิวมิก (HA)
	Mean±SE	Mean±SE	Mean±SE
Control	555.84±3.25 ^a	555.84±3.26 ^a	555.84±3.27 ^a
10^{-10}	466.41±3.90 ^b	507.32±3.89 ^b	520.79±1.04 ^b
10^{-9}	443.21±8.45 ^b	475.46±1.89 ^c	481.48±0.71 ^c
10^{-8}	367.96±29.94 ^c	398.09±6.81 ^d	443.73±1.40 ^d
10^{-7}	359.76±5.85 ^c	370.77±4.19 ^e	382.53±1.20 ^e
10^{-6}	324.02±16.55 ^d	345.15±2.19 ^f	355.66±1.37 ^f

หมายเหตุ อักษร a,b,c,d,e,f ที่แตกต่างกัน หมายถึง แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ $P < 0.05$, SE= Standard error

ตารางที่ 11 ปริมาณคลอโรฟิลล์เอ ที่ทดสอบด้วยสารละลายแคดเมียม (Cd) แคดเมียม-กรดฮิวมิก (Cd-HA) และกรดฮิวมิก (HA) ที่ความเข้มข้น 10^{-10} , 10^{-9} , 10^{-8} , 10^{-7} และ 10^{-6} โมล ตามลำดับ

ความเข้มข้น (โมล)	แคดเมียม (Cd)	แคดเมียม-กรดฮิวมิก (Cd-HA)	กรดฮิวมิก (HA)
	Mean±SE	Mean±SE	Mean±SE
10^{-10}	466.41±3.90 ^c	507.32±3.89 ^b	520.79±1.04 ^a
10^{-9}	443.21±8.45 ^b	475.46±1.89 ^a	481.48±0.71 ^a
10^{-8}	367.96±29.94 ^b	398.09±6.81 ^b	443.73±1.40 ^a
10^{-7}	359.76±5.85 ^c	370.77±4.19 ^b	382.53±1.20 ^a
10^{-6}	324.02±16.55 ^b	345.15±2.19 ^a	355.66±1.37 ^a

หมายเหตุ อักษร a,b,c ที่แตกต่างกัน หมายถึง แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ $P < 0.05$, SE = Standard error

ตารางที่ 12 การเปรียบเทียบปริมาณคลอโรฟิลล์เอ ในสารละลายทดสอบแคดเมียม ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ

Duncan^a

conc	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
exp6	3	324.0233			
exp7	3		359.7567		
exp8	3		367.9600		
exp9	3			443.2067	
exp10	3			466.4033	
control	3				555.8433
Sig.		1.000	.508	.078	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ตารางที่ 13 การเปรียบเทียบปริมาณคลอโรฟิลล์เอ ในสารละลายทดสอบแคดเมียม-กรดฮิวมิก ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ

Duncan^a

conc	N	Subset for alpha = 0.05					
		1	2	3	4	5	6
exp6	3	345.1500					
exp7	3		370.7733				
exp8	3			398.0900			
exp9	3				475.4600		
exp10	3					507.3167	
control	3						555.8433
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ตารางที่ 14 การเปรียบเทียบปริมาณคลอโรฟิลล์เอ ในสารละลายทดสอบกรดฮิวมิก ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ

Duncan^a

conc	N	Subset for alpha = 0.05					
		1	2	3	4	5	6
exp6	3	355.6600					
exp7	3		382.5333				
exp8	3			443.7300			
exp9	3				481.4800		
exp10	3					520.7900	
control	3						555.8433
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ตารางที่ 15 การวิเคราะห์ผลทางสถิติของปริมาณคลอโรฟิลล์เอ ในสารละลายทดสอบแคดเมียม แคดเมียม-กรดฮิวมิก และกรดฮิวมิก ที่ระดับความเข้มข้น 10^{-10} โมล

Duncan^a

conc	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
Cd	3	466.4033		
Cd-HA	3		507.3167	
HA	3			520.7900
Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ตารางที่ 16 การวิเคราะห์ผลทางสถิติของปริมาณคลอโรฟิลล์เอ ในสารละลายทดสอบแคดเมียม แคดเมียม-กรดฮิวมิก และกรดฮิวมิก ที่ระดับความเข้มข้น 10^{-9} โมล

Duncan^a

conc	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
Cd	3	443.2067	
Cd-HA	3		475.4600
HA	3		481.4800
Sig.		1.000	.192

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ตารางที่ 17 การวิเคราะห์ผลทางสถิติของปริมาณคลอโรฟิลล์เอ ในสารละลายทดสอบแคดเมียม แคดเมียม-กรดฮิวมิก และกรดฮิวมิก ที่ระดับความเข้มข้น 10^{-8} โมล

Duncan^a

conc	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
Cd	3	367.9600	
Cd-HA	3	398.0900	
HA	3		443.7300
Sig.		.083	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ตารางที่ 18 การวิเคราะห์ผลทางสถิติของปริมาณคลอโรฟิลล์เอ ในสารละลายทดสอบแคดเมียม แคดเมียม-กรดฮิวมิก และกรดฮิวมิก ที่ระดับความเข้มข้น 10^{-7} โมล

Duncan^a

conc	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
Cd	3	359.7567		
Cd-HA	3		370.7733	
HA	3			382.5333
Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ตารางที่ 19 การวิเคราะห์ผลทางสถิติของปริมาณคลอโรฟิลล์เอ ในสารละลายทดสอบแคดเมียม แคดเมียม-กรดฮิวมิก และกรดฮิวมิก ที่ระดับความเข้มข้น 10^{-6} โมล

Duncan^a

conc	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
Cd	3	324.0233	
Cd-HA	3		345.1500
HA	3		355.6600
Sig.		1.000	.232

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ตารางที่ 20 การวิเคราะห์ผลทางสถิติของปริมาณน้ำหนักรากแห้ง ในสารละลายทดสอบแคดเมียม แคดเมียม-กรดฮิวมิก และกรดฮิวมิก ที่ระดับความเข้มข้น 10^{-10} โมล

Duncan^a

Biomass	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
Cd	3	.1979	
Cd-HA	3	.2069	.2069
HA	3		.2273
Sig.		.361	.065

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ตารางที่ 21 การวิเคราะห์ผลทางสถิติของปริมาณน้ำหนักรากแห้ง ในสารละลายทดสอบแคดเมียม แคดเมียม-กรดฮิวมิก และกรดฮิวมิก ที่ระดับความเข้มข้น 10^{-9} โมล

Duncan^a

Biomass	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
Cd-HA	3	.2015	
Cd	3	.2036	
HA	3		.2237
Sig.		.757	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ตารางที่ 22 การวิเคราะห์ผลทางสถิติของปริมาณน้ำหนักรากแห้ง ในสารละลายทดสอบแคดเมียม แคดเมียม-กรดฮิวมิก และกรดฮิวมิก ที่ระดับความเข้มข้น 10^{-8} โมล

Duncan^a

Biomass	N	Subset for alpha = 0.05
		1
Cd-HA	3	.1964
Cd	3	.1982
HA	3	.2150
Sig.		.086

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ตารางที่ 23 การวิเคราะห์ผลทางสถิติของปริมาณน้ำหนักรากแห้ง ในสารละลายทดสอบแคดเมียม แคดเมียม-กรดฮิวมิก และกรดฮิวมิก ที่ระดับความเข้มข้น 10^{-7} โมล

Duncan^a

Biomass	N	Subset for alpha = 0.05
		1
Cd	3	.1829
Cd-HA	3	.1893
HA	3	.2001
Sig.		.208

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ตารางที่ 24 การวิเคราะห์ผลทางสถิติของปริมาณน้ำหนักรากแห้ง ในสารละลายทดสอบแคดเมียม แคดเมียม-กรดฮิวมิก และกรดฮิวมิก ที่ระดับความเข้มข้น 10^{-6} โมล

Duncan^a

Biomass	N	Subset for alpha = 0.05
		1
Cd	3	.1857
HA	3	.1865
Cd-HA	3	.1936
Sig.		.585

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ตารางที่ 25 อัตราการลดลงของแพลงก์ตอนพืช (*Chlorella* sp.) ที่ทดสอบด้วยสารละลายแคดเมียม ที่ความเข้มข้น 10^{-10} , 10^{-9} , 10^{-8} , 10^{-7} และ 10^{-6} โมล และชุดควบคุม

ความเข้มข้น สารละลายทดสอบ (โมล)	อัตราการลดลงของแพลงก์ตอนพืช (ชั่วโมง ⁻¹)
	แคดเมียม (Cd)
ชุดควบคุม	$y = -73400x + 1E+06 \quad R^2 = 0.7077$
10^{-10}	$y = -95233x + 1E+06 \quad R^2 = 0.7956$
10^{-9}	$y = -91467x + 1E+06 \quad R^2 = 0.9253$
10^{-8}	$y = -96633x + 1E+06 \quad R^2 = 0.9599$
10^{-7}	$y = -100200x + 1E+06 \quad R^2 = 0.9908$
10^{-6}	$y = -104167x + 1E+06 \quad R^2 = 0.9581$

ตารางที่ 26 อัตราการลดลงของแพลงก์ตอนพืช (*Chlorella* sp.) ที่ทดสอบด้วยสารละลาย แคดเมียม-กรดฮิวมิก ที่ความเข้มข้น 10^{-10} , 10^{-9} , 10^{-8} , 10^{-7} และ 10^{-6} โมล และชุดควบคุม

ความเข้มข้น สารละลายทดสอบ (โมล)	อัตราการลดลงของแพลงก์ตอนพืช (ชั่วโมง ⁻¹)
	แคดเมียม-กรดฮิวมิก (Cd-HA)
ชุดควบคุม	$y = -73400x + 1E+06 \quad R^2 = 0.7077$
10^{-10}	$y = -101033x + 1E+06 \quad R^2 = 0.6889$
10^{-9}	$y = -86333x + 1E+06 \quad R^2 = 0.8669$
10^{-8}	$y = -94500x + 1E+06 \quad R^2 = 0.9573$
10^{-7}	$y = -96833x + 1E+06 \quad R^2 = 0.9840$
10^{-6}	$y = -98333x + 1E+06 \quad R^2 = 0.9915$

ตารางที่ 27 อัตราการลดลงของแพลงก์ตอนพืช (*Chlorella* sp.) ที่ทดสอบด้วยสารละลายกรดฮิวมิก ที่ความเข้มข้น 10^{-10} , 10^{-9} , 10^{-8} , 10^{-7} และ 10^{-6} โมล และชุดควบคุม

ความเข้มข้น สารละลายทดสอบ (โมล)	อัตราการลดลงของแพลงก์ตอนพืช (ชั่วโมง ⁻¹)
	กรดฮิวมิก (HA)
ชุดควบคุม	$y = -73400x + 1E+06$ $R^2 = 0.7077$
10^{-10}	$y = -92967x + 1E+06$ $R^2 = 0.6482$
10^{-9}	$y = -90433x + 1E+06$ $R^2 = 0.7546$
10^{-8}	$y = -86700x + 1E+06$ $R^2 = 0.9480$
10^{-7}	$y = -93200x + 1E+06$ $R^2 = 0.9711$
10^{-6}	$y = -95267x + 1E+06$ $R^2 = 0.9876$





รายการอ้างอิง



- Campbell, J. H. a. R. D. E. (1987). Inorganic and organic ligand binding of lead and cadmium and resultant implications for bioavailability. *Science of The Total Environment*. 62, 219-227.
- Chien, C. S. W., M.C. Wang and C.C. Huang. (2006). Reactions of compost-derived humic substances with lead, copper, cadmium, and zinc. *Chemosphere*(64), 1355-1361.
- Collins, C. R., K.V. Ragnarsdottir and D.M. Sherman. (1999). Effect of inorganic and organic ligands on the mechanism of cadmium sorption to goethite. *Reactions at the solid*. 63(19), 2989-3002.
- Domeizel, M. A. K. a. P. P. (2004). UV spectroscopy: a tool for monitoring humification and for proposing an index of the maturity of compost. *Bioresourc Technology*. 94, 177-184.
- Finney, D. J., Ed. (1952). *Probit Analysis*: Cambridge, England, Cambridge University Press.
- Fuentes, m., G. Gustavo and J.M.G. Mina. (2006). The usefulness of UV-visible and fluorescence spectroscopies to study the chemical nature of humic substances from soils and composts. *Organic Geochemistry*. 37, 1949-1959.
- Gedzirowska, D. a. P. M. (1990). Humic compounds and growth response of phytoplankton dominated by dinoflagellates: observation in coastal waters of the southern Baltic. *Toxic Marine Phytoplankton*. 155-160.
- Grassi, M. a. M. R. (2010). Humic acids of different origin as modifiers of cadmium-ion chemistry: A spectroscopic approach to structural properties and reactivity. *Inorganica Chimica Acta*. 363, 495-503.
- Grinhut, T., H. Yitzhak and Y. Chen. (2007). Degradation and transformation of humic substances by saprotrophic fungi: processes and mechanisms. *Fungal Biology Reviews*. 21, 179-189.
- Koukal, B., Gueguen C., Pardos M. and J. Dominik. (2003). Influence of humic substances on the toxic effects of cadmium and zinc to the green alga *Pseudokirchneriella subcapitata*. *Chemosphere*. 58(8), 953-961.

- Panathira, T., P. Thanit and N. Amonrujee. (2017). Effect of Cadmium to growth rates, cytotoxicity and pigment contents in Riceberry (*Oryza sativa* L.). *Veridian E-Journal, Science and Technology Silpakorn University*. 4(3), 2408-1248.
- Randhawa, N. S. a. F. E., Broadbent. (1965). Soil organic matter-metal complexes : 6 Stability constants of zinc-humic acid complexes at different pH values. *Soil Science*. 99(6), 362-366.
- Raungsomboon, S. a. W., L. (2007). Bioaccumulation of Cadmium in an Experimental Aquatic Ecosystem Involving Phytoplankton, Zooplankton, Catfish and Sediment. *Kasetsart Journal - Natural Science*. 41, 180-185.
- Ravera, O. (1986). *Cadmium in the Environment*. Basel ; Boston ; Stuttgart. ed. Vol. 50): Experientia Supplementum.
- Robert, E. P. (1995). Organic matter, humus, humate, humic acids, fluvic acids, and humic, their importance in soil fertility and plant health. *Human Technology*. USA.
- Sellami, F., S. Hachicha., M. Chtourou., K. Medhioub and E. Ammar. (2008). Maturity assessment of composted olive mill wastes using UV spectra and humification parameters. *Bioresourc Technology*. 99, 6900-6907.
- Sparks, D. L., A.L. Page, P.A. Helmke, R.H. Loeppert, P.N. Soltanpour, M.A. Tabatabai, C.T. Johnson, and M.E. Sumner. (1996). *Methods of Soil Analysis Part 3: Chemical Methods*: Soil Science Society of America and American Society of Agronomy.
- Stevenson, F. J. (1994). *Humic Chemistry: Genesis. Composition*, 2 nd ed. John Wiley&Sons, New Yory.
- Sun, B., Tanji Y. and Unno H. . (2005). Influences of iron and humic acid on the growth of the cyanobacterium *Anabaena circinalis*. *Biochemical Engineering Journal*. 199-201.
- Tong, S. J. A. a. C. H. (1996). Degradation kinetics of green color and chlorophylls in peas by colorimetric and HPLC. *Food Sci*. 61, 924-927.
- Tranvik, L. J. a. H., D.O. (1998). *Aquatic Humic Substances*. New York ed. Ecology and Biogeochemistry.

- Valdrighi, M. M., A. Pera Agnolucci, M. Frassinetti, S. Lunardi and D. Vallini. (1996). Effects of compost- derived humic acids on vegetable biomass production and microbial growth within a plant (*Cichorium intybus*)-soil system: a comparative study. *Agriculture, Ecosystems and Environmen*. 58, 134-144.
- ไทย์ถาวร เลิศวิทยาประสิทธิ์. (2530). ผลของความเค็มและกรดฮิวมิกต่อการเจริญของไดโนแฟลกเจลเลต : *Protogonyaulax tamarensis (Lebous) Taylor* และ *P.cohortricula (Balech) Taylor*. ปรินญาณินพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- เบญจวรรณ ไชยวงศ์. (2532). ผลของโลหะปริมาณน้อยบางชนิดและอิตีที่เอต่อการเจริญของไดโนแฟลกเจลเลต *Prorocentrum micans Ehrenberg*. ปรินญาณินพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- ประมาณ พรหมสุทธิรัตน์, & ประไพสิริ สิริกาญจน์. (2531). ผลของโลหะหนักที่มีต่อปลาน้ำจืดบางชนิด. กรุงเทพฯ: คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- มณฑิณี เศรษฐภักดี. (2545). ปฐพีวิทยาเบื้องต้น. คณะวิศวกรรมและเทคโนโลยีการเกษตร: มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี.
- ยงยุทธ โอสดสภา, ศุภมาศ พนิชศักดิ์พัฒนา, อรรถดิษฐ์ วงศ์มณีโรจน์, & ชัยสิทธิ์ ทองจุ. (2541). ปฐพีวิทยาเบื้องต้น. พิมพ์ครั้งที่ 1: สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์: กรุงเทพฯ.
- ลัดดา วงศ์รัตน์. (2544). แพลงก์ตอนพืช (พิมพ์ครั้งที่2 ed.): กรุงเทพฯ: จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- วิทยา มะเสนา. (2531). ฮิวมิก้าหรือกรดฮิวมิก. วารสารเกษตร มหาวิทยาลัยขอนแก่น, 16(1), 7-8.
- ศรัญญา รักเสรี. (2541). ผลของความเค็ม สารอาหาร ความเป็นกรด-เบส และอุณหภูมิต่อการเติบโตของสาหร่ายสีเขียว. ปรินญาณินพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- ศิริเพ็ญ ตรีไชยาพร. (2520). การตอบสนองของแพลงก์ตอนพืชทะเลบางชนิดต่อการเพิ่มระดับอุณหภูมิ. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- สมชาย วิบูลย์พันธ์. (2558). ศึกษาปริมาณโลหะหนักในสัตว์น้ำและแหล่งประมงบริเวณชายฝั่งจังหวัดสงขลา 2554. เอกสารวิชาการการฉบับที่ 4, กองวิจัยและพัฒนาประมงทะเลกรมประมง, 2558.
- สิทธิชัย ต้นธนะสฤกษ์ดี. (2525). การวิเคราะห์ปรอท แคดเมียม และตะกั่วในน้ำและดินตะกอนของลำธารจากบริเวณการใช้ประโยชน์ที่ดินประเภทต่างๆบนที่สูง จังหวัดเชียงใหม่. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- สุกัญญา แซ่มประเสริฐ, สุทธธรร ไชยเรืองศรี, & อรุโณทัย จำปีทอง. (2554). ผลของแคดเมียมจากน้ำเสียสังเคราะห์ต่อการเติบโตของสาหร่ายเดนซ่าและบัวสาหร่าย. วารสารพฤกษศาสตร์ไทย, 3(1), 45-52.

- สุชาดา เขียรจรรยากุล. (2540). ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของโลหะปริมาณน้อยในหอยหลอด กับเพศและขนาดของหอยหลอด. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท สาขาวิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย,
- โสภิต ปัญญาชั้น. (2545). พืชของแคดเมียมและสังกะสีที่มีต่อการเติบโต ปริมาณคลอโรฟิลล์และการสะสมของ ต้นแว่นแก้ว. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยมหิดล,
- อัจฉราพร สมภาร. (2555). นิเวศพืชวิทยาของคลอโรไฟริฟอสและแคดเมียมต่อแพลงก์ตอนสัตว์ และสัตว์หน้าดินตะกอนท้องน้ำของประเทศไทย. การประชุมเสนอผลงานวิจัยระดับบัณฑิตศึกษา ครั้งที่ 13 GRC 2012, มหาวิทยาลัยขอนแก่น.
- อุทิศ เชื้อบัณฑิต. (2556). ผลของเบนซีนต่อการเติบโตของสาหร่ายสไปรูลินา (*Spirulina platensis*). เอกสารวิชาการ 2556. มหาวิทยาลัยขอนแก่น.



ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-สกุล	นภาพร ปุราตะโก
วัน เดือน ปี เกิด	15 กรกฎาคม 2531
สถานที่เกิด	โรงพยาบาลหนองกี่ จ.บุรีรัมย์
วุฒิการศึกษา	ปริญญาตรี
ที่อยู่ปัจจุบัน	222/123 หมู่ 16 หมู่บ้านพลีโน-ศรีนครินทร์ ตำบลบางแก้ว อำเภอเมือง จังหวัดสมุทรปราการ
ผลงานตีพิมพ์	งานประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์วิจัย ครั้งที่ 11 วันที่ 23-24 พฤษภาคม 2562 มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

