รายงานผลการดำเนินงาน
ปีงบประมาณ 2560

โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ
สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี
สนองพระราชดำริโดย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เรื่อง

การประยุกต์ใช้โพรติสต์กลุ่มแฟลกเจลเลตน้ำจืด *Chilomonas paramecium* ที่คัดแยกจากจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในการประเมินความเป็นพิษของผงซักฟอกสูตรทั่วไป ผงซักฟอกสูตรซิลเวอร์นาโน และซิลเวอร์ไนเตรท

ผู้รับผิดชอบโครงการ
อาจารย์ ดร. ชิดชัย จันทร์ตั้งสี
นางสาวณัฐหทัย ยามาลี
ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รายงานวิจัย

ทุนอุดหนุนการวิจัยจากงบประมาณแผ่นดินปี 2560

โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี สนองพระราชดำริโดยจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เรื่อง

การประยุกต์ใช้โพรติสต์กลุ่มแฟลกเจลเลตน้ำจืด *Chilomonas paramecium* ที่คัดแยกจากจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในการประเมินความเป็นพิษของผงซักฟอกสูตรทั่วไป ผงซักฟอกสูตรซิลเวอร์นาโน และซิลเวอร์ไนเตรท

Application of a freshwater protistan flagellate *Chilomonas paramecium* isolated from Chulalongkorn University in assessing toxicity of common laundry detergent, silver nano–containing detergent and $AgNO_3$

ผู้ดำเนินโครงการวิจัย

อาจารย์ ดร.ชิดชัย จันทร์ตั้งสี

นางสาวณัฐหทัย ยามาลี

ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เงินงบประมาณแผ่นดิน ประจำปีงบประมาณ 2560 คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี ตลอดจนเจ้าหน้าที่ที่เกี่ยวข้องทุกท่านที่ให้การสนับสนุนและอำนวยความสะดวกในการทำงานวิจัย และขอขอบคุณภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ให้การสนับสนุนและอำนวยความสะดวกในทุก ๆ ด้าน

บทคัดย่อ

ผงซักฟอกเป็นสารเคมีที่พบใช้ในทุกครัวเรือน โดยในปัจจุบันมีการใส่อนุภาคนาโนของโลหะเงินลงในผงซักฟอก เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการกำจัดแบคทีเรียของผลิตภัณฑ์ อย่างไรก็ตามน้ำทิ้งจากบ้านเรือนอาจพบการปนเปื้อนของสารเหล่านี้ลงสู่แหล่งน้ำ ซึ่งอาจส่งผลต่อสิ่งมีชีวิตอื่นได้ การศึกษาผลกระทบของสารดังกล่าวต่อจุลชีพในน้ำจึงถือเป็นสิ่งที่มีความสำคัญยิ่ง งานวิจัยครั้งนี้เลือกใช้แฟลกเจลเลตน้ำจืดกลุ่มคริพโตไฟท์ชนิด *Chilomonas paramecium* ในการประเมินความเป็นพิษของผงซักฟอกสูตรทั่วไป ผงซักฟอกสูตรซิลเวอร์นาโน และสารประกอบซิลเวอร์ไนเตรท โดยพิจารณาสัณฐานวิทยาของเซลล์ที่เปลี่ยนไป และค่าความเข้มข้นของสารที่ทำให้เซลล์ตายไปจำนวนครึ่งหนึ่ง (LC_{50}) โดยทำการทดสอบความเป็นพิษของสารแต่ละชนิดต่อเซลล์ที่ผสมลงในอาหารเพาะเลี้ยงที่ความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วนับจำนวนเซลล์เปรียบเทียบกับการทดลองกลุ่มควบคุม จากการศึกษาพบว่าผงซักฟอกสูตรทั่วไปและผงซักฟอกสูตรซิลเวอร์นาโนมีผลทำให้เซลล์เสียรูปร่าง เกิดการพุพองตามผิวเซลล์ จนนำไปสู่การแตกสลายของเซลล์ในที่สุด ในขณะที่เซลล์จะเปลี่ยนรูปร่างเป็นทรงกลมทันทีเมื่อสัมผัสกับสารประกอบซิลเวอร์ไนเตรท โดยความเข้มข้นของสารที่ทำให้เซลล์ตายไปจำนวนครึ่งหนึ่งของผงซักฟอกสูตรทั่วไป ผงซักฟอกสูตรซิลเวอร์นาโน และสารประกอบซิลเวอร์ไนเตรท มีค่าเท่ากับ 23.62±0.5, 22.98±0.5 และ 0.026±0.002 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่าสารประกอบซิลเวอร์ไนเตรทมีความเป็นพิษต่อเซลล์มากที่สุด รองลงมาคือ ผงซักฟอกสูตรซิลเวอร์นาโน และผงซักฟอกสูตรทั่วไป ตามลำดับ

คำสำคัญ: คริพโตไฟท์ ความเข้มข้นที่ทำให้ตายครึ่งหนึ่ง ผงซักฟอก มลพิษ โลหะเงิน

Abstract

Detergents are common chemicals found utilizing in every household and, in present, are modified by adding silver nanoparticles to enhance their antibacterial efficiency. However, discharge of domestic sewage contaminated with these chemicals into environments is likely generating harmful effects on organisms living in such polluted ecosystems. Investigation into effects of these compounds on aquatic microbial eukaryotes is thus very important. This study utilized a freshwater flagellate cryptophyte *Chilomonas paramecium* as a tested microbe to determine the cytoxicity of three chemicals — common laundry detergent, silver nano-containing detergent, and silver nitrate ($AgNO_3$). Morphological changes and the median lethal concentrations (LC_{50}) after 24 hr incubation were examined for each compound at different concentrations mixed with the culture medium. Cell counts were performed and compared to the controls after 24 hr inoculation. The results indicated that flagellates exposed to the common laundry detergent and silver nano-containing detergent exhibited morphological alterations, displaying cytoplasmic blebbing on cell surface and subsequent cellular disintegration, while cells in $AgNO_3$ became immediately spherical after the chemical exposure. The LC_{50} values of common laundry detergent, silver nano-containing detergent, and $AgNO_3$ are 23.62±0.5, 22.98±0.5, and 0.026±0.002 mg/l, respectively. The $AgNO_3$ is therefore the most toxic chemical to the tested flagellate, followed by silver nano-containing and common laundry detergents, respectively.

Keywords: cryptophyte, LC_{50}, detergent, pollution, silver

สารบัญเรื่อง

หน้า

กิตติกรรมประกาศ ..... ก
บทคัดย่อภาษาไทย ..... ข
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ..... ค
สารบัญเรื่อง ..... ง
สารบัญตาราง ..... จ
สารบัญภาพ ..... ฉ
บทที่ 1 บทนำ 1
ความสำคัญและที่มาของปัญหาที่ทำการวิจัย 1
งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 1
วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย 3
ขอบเขตของโครงการวิจัย 3
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ 3
บทที่ 2 วิธีดำเนินการวิจัย 4
การปฏิบัติงานในภาคสนาม 4
การปฏิบัติงานในห้องปฏิบัติการ 4
สิ่งมีชีวิตที่ใช้ศึกษา 4
สารที่ใช้ในการศึกษา 5
การทดสอบความเป็นพิษของสารต่อเซลล์ 5
การศึกษาสัณฐานวิทยาของเซลล์ 6
การวิเคราะห์ข้อมูล 7
สถานที่ทำการวิจัยและเก็บข้อมูล 7
บทที่ 3 ผลการศึกษา 8
การสกัดคัดแยกและสัณฐานวิทยาของเซลล์ *Chilomonas paramecium* 8
การทดสอบความเป็นพิษของสารต่อเซลล์ *Chilomonas paramecium* 9
การทดสอบความเป็นพิษของผงซักฟอกสูตรทั่วไปต่อเซลล์ *C. paramecium* 9
การทดสอบความเป็นพิษของผงซักฟอกสูตรซิลเวอร์นาโนต่อเซลล์ *C. paramecium* 10
การทดสอบความเป็นพิษของสารประกอบซิลเวอร์ไนเตรทต่อเซลล์ *C. paramecium* 11
การศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาของเซลล์เมื่อได้รับสารทดสอบ 12
บทที่ 4 อภิปรายและสรุปผลการศึกษา 14
เอกสารอ้างอิง 17
ภาคผนวก 19
ประวัติคณะผู้วิจัย 28

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 1 เปอร์เซ็นต์การตายของ *Chilomonas paramecium* เมื่อทำการทดสอบความเป็นพิษของผงซักฟอกสูตรทั่วไปต่อเซลล์ที่ 7 ความเข้มข้น ๆ ละ 4 ซ้ำ และทำการทดสอบ 3 ชุด การทดลองที่เป็นอิสระต่อกัน 9

ตารางที่ 2 เปอร์เซ็นต์การตายของ *Chilomonas paramecium* เมื่อทำการทดสอบความเป็นพิษของผงซักฟอกสูตรซิลเวอร์นาโนต่อเซลล์ที่ 6 ความเข้มข้น ๆ ละ 4 ซ้ำ และทำการทดสอบ 3 ชุด การทดลองที่เป็นอิสระต่อกัน 11

ตารางที่ 3 เปอร์เซ็นต์การตายของ *Chilomonas paramecium* เมื่อทำการทดสอบความเป็นพิษของสารละลายซิลเวอร์ไนเตรทต่อเซลล์ที่ 6 ความเข้มข้น ๆ ละ 4 ซ้ำ และทำการทดสอบ 3 ชุด การทดลองที่เป็นอิสระต่อกัน 12

สารบัญภาพ

หน้า

ภาพที่ 1 สระน้ำบริเวณหน้าตึกภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่พบ *C. paramecium* และทำการคัดแยกจนได้สายพันธุ์บริสุทธิ์สำหรับใช้ในการศึกษาครั้งนี้ 4

ภาพที่ 2 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (SEM) แสดงแฟลกเจลเลตน้ำจืด *C. paramecium* ที่สามารถคัดแยกได้และใช้ในการศึกษาครั้งนี้ ภาพบนแสดงภาพถ่ายทางด้านท้องเซลล์ (ventral) และตำแหน่งของร่องปากของเซลล์ (หัวลูกศร) รวมถึงแฟลกเจลลัมที่ใช้ในการเคลื่อนที่ของเซลล์ (ลูกศร) ภาพล่างแสดงภาพถ่ายทางด้านหลังเซลล์ (dorsal) กับแฟลกเจลลัม 2 เส้นที่มีความยาวไม่เท่ากัน (ลูกศร) ทางด้านหน้าของเซลล์ พื้นผิวของตัวเซลล์ไม่เรียบ แต่ไม่พบโครงสร้างอื่นยื่นออกมา (แถบเทียบขนาด 5 ไมโครเมตร) 8

ภาพที่ 3 กราฟแสดงการคำนวณค่าความเข้มข้นของผงซักฟอกสูตรทั่วไปที่ทำให้ *C. paramecium* ตายไปจำนวนครึ่งหนึ่ง (LC_{50}) ด้วยวิธี Probit analysis 10

ภาพที่ 4 กราฟแสดงการคำนวณค่าความเข้มข้นของผงซักฟอกสูตรซิลเวอร์นาโนที่ทำให้ *C. paramecium* ตายไปจำนวนครึ่งหนึ่ง (LC_{50}) ด้วยวิธี Probit analysis 11

ภาพที่ 5 กราฟแสดงการคำนวณค่าความเข้มข้นของสารละลายซิลเวอร์ไนเตรทที่ทำให้ *C. paramecium* ตายไปจำนวนครึ่งหนึ่ง (LC_{50}) ด้วยวิธี Probit analysis 12

ภาพที่ 6 เซลล์ *C. paramecium* เมื่อได้รับผงซักฟอกสูตรทั่วไป (A) และผงซักฟอกสูตรซิลเวอร์นาโน (B) แสดงการเกิดการพุพองที่บริเวณผิวเซลล์ (ลูกศร) เมื่อเปรียบเทียบกับเซลล์ในชุดควบคุมที่ไม่ได้รับสารใด ๆ (C) 13

ภาพที่ 7 เซลล์ *C. paramecium* ที่เปลี่ยนรูปร่างเป็นทรงกลม เมื่อได้รับสารละลายซิลเวอร์ไนเตรท (A) เปรียบเทียบกับเซลล์รูปทรงกระสวยในสภาวะปกติที่ถูกเพาะเลี้ยงในน้ำต้มฟางที่ไม่ได้ใส่สารทดสอบ (B) 13

บทที่ 1
บทนำ

ความสำคัญและที่มาของปัญหาที่ทำการวิจัย

น้ำ ถือเป็นปัจจัยจำกัดที่นับวันจะทวีคุณค่าและมีปริมาณลดลง ส่วนหนึ่งมีสาเหตุมาจากปัญหาการปนเปื้อนของระบบนิเวศแหล่งน้ำที่พบมากขึ้นในปัจจุบัน ส่งผลให้แหล่งน้ำจืดบริสุทธิ์ปราศจากมลพิษเริ่มหายากขึ้นทุกที การปนเปื้อนเหล่านี้บ่อยครั้งมีสาเหตุมาจากความมักง่ายของมนุษย์ ที่ปล่อยของเสียจากการดำเนินกิจกรรมต่าง ๆ ในชีวิตประจำวันลงสู่แหล่งน้ำลำธาร ในบรรดาของเสียเหล่านี้ส่วนใหญ่มาจากแหล่งชุมชนบ้านเรือนซึ่งมักพบสารซักล้างปนเปื้อนอยู่ กิจกรรมที่ขาดความเอาใจใส่ต่อสิ่งแวดล้อมเหล่านี้ อาจนำไปสู่การขาดแคลนน้ำเพื่อการอุปโภคและบริโภคในอนาคตอันใกล้ อีกทั้งยังนำไปสู่ความเสื่อมโทรมของระบบนิเวศทางน้ำ ตลอดจนส่งผลกระทบต่อสิ่งมีชีวิตที่อาศัยอยู่ในระบบนิเวศดังกล่าวได้

แฟลกเจลเลตน้ำจืด *Chilomonas paramecium* เป็นสาหร่ายกลุ่มคริพโตไฟท์ (cryptophyte) ที่ไม่สามารถสังเคราะห์ด้วยแสงได้ หากแต่สาหร่ายชนิดนี้สามารถพบได้ทั่วไปในแหล่งน้ำจืด จากรายงานการศึกษาถึงผลของโลหะหนักบางชนิดต่อสาหร่ายกลุ่มนี้ พบว่า *C. paramecium* มีความไวในการตอบสนองต่อการปนเปื้อนของสารดังกล่าว ด้วยคุณสมบัติเช่นนี้เองเราจึงสามารถใช้แฟลกเจลเลตน้ำจืด *C. paramecium* ในการศึกษาถึงผลกระทบจากการปนเปื้อนของมลพิษลงสู่แหล่งน้ำ เพื่อสะท้อนให้เห็นถึงความเสียหายในเบื้องต้นที่อาจเกิดขึ้นทั้งต่อสาหร่ายในกลุ่มเดียวกันหรือสาหร่ายกลุ่มใกล้เคียง ตลอดจนจุลชีพกลุ่มอื่น ๆ ที่อาศัยอยู่ในระบบนิเวศแบบเดียวกันได้ อย่างไรก็ตามการศึกษาถึงความเป็นพิษของสารซักล้างประเภทผงซักฟอกและผงซักฟอกที่มีอนุภาคนาโนของโลหะเงินเป็นส่วนผสม ตลอดจนสารประกอบโลหะเงินต่อสาหร่ายกลุ่มนี้ยังไม่มีผู้ทำการศึกษา งานวิจัยชิ้นนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินความเป็นพิษของสารประเภทผงซักฟอกสูตรทั่วไป, ผงซักฟอกที่มีส่วนผสมอนุภาคนาโนของโลหะเงิน และสารประกอบซิลเวอร์ไนเตรทต่อแฟลกเจลเลตน้ำจืด *C. paramecium* ภายใต้สภาวะห้องปฏิบัติการ ผลจากการศึกษาครั้งนี้จะเป็นแนวทางนำไปสู่การเฝ้าระวังถึงผลกระทบจากการปล่อยของเสียจากกิจกรรมของมนุษย์ที่ปนเปื้อนสารเหล่านี้ลงสู่แหล่งน้ำต่อจุลชีพและสิ่งมีชีวิตอื่น อีกทั้งยังเป็นข้อมูลในการใช้สิ่งมีชีวิตชนิดนี้ ในการตรวจสอบการปรากฏของสารกลุ่มนี้ที่อาจพบการปนเปื้อนเกิดขึ้นในแหล่งน้ำได้ในอนาคตต่อไป

งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

น้ำ เป็นปัจจัยที่มีความสำคัญยิ่งในการดำรงชีวิตของสรรพชีวิตรวมไปถึงมนุษย์ โดยใช้เพื่อการอุปโภคและบริโภค ตลอดจนใช้เพื่อการประกอบอาชีพทั้งในทางอุตสาหกรรมและเกษตรกรรม (Wetzel, 2001) อย่างไรก็ตามกิจกรรมต่าง ๆ ของมนุษย์ได้ก่อให้เกิดปัญหามลพิษทางน้ำเพิ่มมากขึ้น ส่วนหนึ่งมีสาเหตุมาจากการปล่อยของเสียน้ำทิ้งจากการทำกิจวัตรหรือใช้ชีวิตประจำวันของมนุษย์ ของเสียเหล่านี้ล้วนก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงนำไปสู่ความเสื่อมโทรมของแหล่งน้ำและคุณภาพน้ำ เช่น การลดลงของปริมาณออกซิเจนที่ละลายอยู่ในน้ำ (dissolved oxygen: DO) การเพิ่มสูงขึ้นของปริมาณออกซิเจนที่แบคทีเรียใช้ในการย่อยสลายสารอินทรีย์ในน้ำ (biochemical oxygen demand: BOD) และจำนวนแบคทีเรียทั้งหมดที่เพิ่มสูงขึ้น (total bacterial count: TBC) เป็นต้น (กรมควบคุมมลพิษ, 2547)

น้ำทิ้งจากบ้านเรือนถือเป็นหนึ่งในบรรดาของเสียและสิ่งปฏิกูลที่ปล่อยโดยมนุษย์ น้ำเสียเหล่านี้สามารถพบได้ในทุกครัวเรือนและมักพบมีสารซักล้างปนเปื้อน ซึ่งก่อให้เกิดความเสื่อมโทรมเน่าเสียต่อแม่น้ำลำคลอง รวมไปถึงระบบนิเวศแหล่งน้ำอื่น ๆ สารซักล้างที่พบใช้ตามบ้านเรือนส่วนใหญ่มักเป็นสาร

ประเภทสารทำความสะอาด ตัวอย่างเช่น ผงซักฟอก ซึ่งเป็นสารที่มีคุณสมบัติในการชำระล้างสิ่งสกปรกออกจากเสื้อผ้าเครื่องนุ่งห่ม ในผงซักฟอกมักมีส่วนประกอบหลักจำพวกสารลดแรงตึงผิว สารลดความกระด้างของน้ำ สารรักษาระดับความเป็นด่าง สารกันคราบคืน และสารเพิ่มความสดใส เป็นต้น (สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม, 2549) ในสารเหล่านี้ อาทิ สารลดความกระด้างของน้ำมักมีฟอสเฟตเป็นส่วนประกอบ เช่น โซเดียมไทรโพลิฟอสเฟต (sodium tripolyphosphate: STPP) ซึ่งหากปนเปื้อนลงสู่แหล่งน้ำจะก่อให้เกิดภาวะ eutrophication คือ สภาวะที่สิ่งแวดล้อมมีสารอาหารในระบบสูง กระตุ้นให้พืชน้ำและสาหร่ายเจริญเติบโตอย่างรวดเร็ว เกิดปรากฏการณ์ algal bloom ทำให้น้ำเปลี่ยนสีและมีกลิ่นเหม็น ตลอดจนเกิดการแก่งแย่งแสง พื้นที่ และอากาศเกิดขึ้น ส่งผลกระทบต่อสิ่งมีชีวิตอื่นที่อาศัยอยู่ในน้ำ (Chislock et al., 2013; Scott, 2002) จากการศึกษาของ Azizullah และคณะ (2011a) ถึงความเป็นพิษของผงซักฟอกต่อสาหร่าย *Euglena gracilis* พบว่าผงซักฟอกสามารถส่งผลกระทบต่อการเคลื่อนที่ การสังเคราะห์ด้วยแสง และทำให้รูปร่างของยูกลีนาเปลี่ยนแปลงไปได้

ในปัจจุบันมีผงซักฟอกที่ผสมอนุภาคนาโนของโลหะเงินหรือสูตรซิลเวอร์นาโน (silver nano) ผลิตออกมาในท้องตลาด การผสมอนุภาคเหล่านี้จะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการต้านแบคทีเรียของผลิตภัณฑ์ (กรุงเทพธุรกิจ, 2552) อย่างไรก็ตามการนำอนุภาคเหล่านี้มาใช้อาจส่งผลกระทบต่อสิ่งมีชีวิตอื่น เนื่องจากอนุภาคซิลเวอร์นาโนสามารถชักนำให้เกิดภาวะ oxidative stress ในไมโตคอนเดรียและทำให้ดีเอ็นเอเกิดความเสียหายในหนอนตัวกลม *Caenorhabditis elegans* (Ahn et al., 2014) นอกจากนี้ในการศึกษาของ Massarsky และคณะ (2013) ถึงความเป็นพิษของอนุภาคซิลเวอร์นาโนต่อ zebrafish (*Danio rerio*) พบว่าอนุภาคนี้มีผลเพิ่มอัตราการตายและความผิดปกติในการเกิดรูปร่างของตัวอ่อน รวมทั้งยังลดอัตราการเต้นของหัวใจ และทำให้ปลาชนิดนี้ฟักออกเป็นตัวช้า การศึกษาในจุลชีพกลุ่มซิลิเอต 3 สกุล ได้แก่ *Colpoda* sp., *Paramecium* sp. และ *Telotrochidium* sp. พบว่า อนุภาคซิลเวอร์นาโนส่งผลลดอัตราการเจริญเติบโต เพิ่มเวลาที่ใช้ในแต่ละชั่วรุ่น และทำให้เซลล์ของซิลิเอตเสียรูปร่างได้ (สกุลทิพย์ นูมหันต์, 2555)

นักวิทยาศาสตร์ได้นำสิ่งมีชีวิตหลายกลุ่มหลายประเภทมาใช้เพื่อการประเมินความเป็นพิษของสารต่าง ๆ การทดสอบความเป็นพิษของสารเคมีหรือสารปนเปื้อนต่อสิ่งมีชีวิตที่อาศัยอยู่ในน้ำ มักทำในสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง ปลา สาหร่าย ตลอดจนจุลชีพกลุ่มต่าง ๆ (Azizullah et al., 2011b; Lee et al., 2004; Madoni and Romeo, 2006; Rainbow and Luoma, 2011; Venkateswara Rao et al., 2006) โดยจุลชีพกลุ่มยูแคริโอตจัดเป็นหนึ่งในสิ่งมีชีวิตที่มีความเหมาะสมต่อการทดสอบความเป็นพิษของสารในห้องปฏิบัติการ เนื่องจากมีขนาดเล็กและมีวงชีวิตสั้น ทำให้สามารถติดตามผลได้ในระยะเวลาอันรวดเร็ว ตลอดจนมีต้นทุนต่ำ (Twagilimana et al., 1998) จุลชีพจำพวกแฟลกเจลเลตกลุ่มหนึ่งที่ยังมีผู้ศึกษาไม่มากนัก หากแต่เป็นจุลชีพที่พบได้ทั่วไปในแหล่งน้ำ คือ *Chilomonas paramecium* ซึ่งเป็นสิ่งมีชีวิตเซลล์เดียวอยู่ในกลุ่มสาหร่ายคริพโตไฟท์ชนิดที่ไม่สามารถสังเคราะห์ด้วยแสงได้ *C. paramecium* มีการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศโดยการแบ่งเซลล์ ตัวเซลล์มีแฟลกเจลลัม 2 เส้นและมี ejectosome ที่บริเวณร่องปากเซลล์ ซึ่งเป็นโครงสร้างที่ใช้ในการป้องกันตัว โดย *C. paramecium* สามารถพบได้ในแหล่งน้ำจืดที่มีสารอินทรีย์สูง (Farmer, 1980)

Chilomonas paramecium มีการจัดลำดับทางอนุกรมวิธาน ดังนี้

Phylum Cryptophyta

Class Cryptophyceae

Order Cryptomonadales

Family Campylomonadaceae

Genus *Chilomonas*

Species *Chilomonas paramecium*

Abraham-Peskir (1998) ศึกษาความเป็นพิษของทองแดงต่อการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของเซลล์ *C. paramecium* พบว่า *C. paramecium* มีความไวต่อโลหะหนัก โดยเซลล์จะเปลี่ยนรูปร่างเป็นทรงกลมเมื่อโดนสารละลายคอปเปอร์ซัลเฟต จากสถานการณ์ในปัจจุบันที่มีการนำโลหะบางชนิดมาใช้เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพผลิตภัณฑ์ เช่น อนุภาคนาโนของโลหะเงินในผงซักฟอกที่มีคุณสมบัติในการต้านเชื้อแบคทีเรีย ซึ่งแสดงให้เห็นคุณสมบัติในเชิงบวกของอนุภาคนี้ อย่างไรก็ดีผลกระทบในแง่อื่นของอนุภาคนาโนของโลหะเงินต่อจุลชีพ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในสาหร่ายกลุ่มคริพโตไฟท์ยังไม่พบมีผู้ทำการศึกษา และด้วยความไวของสาหร่ายชนิดนี้ต่อการตอบสนองของสารปนเปื้อนดังที่ได้กล่าวมาแล้วข้างต้น งานวิจัยครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินความเป็นพิษของผงซักฟอกสูตรทั่วไป, ผงซักฟอกสูตรซิลเวอร์นาโน โดยพิจารณาผลกระทบโดยรวม ไม่แยกพิจารณาเฉพาะบางส่วนประกอบของผงซักฟอก และประเมินความเป็นพิษของซิลเวอร์ที่อยู่ในรูปของสารประกอบซิลเวอร์ไนเตรท ($AgNO_3$) ว่าจะส่งผลกระทบเช่นเดียวกันหรือแตกต่างกันกับผงซักฟอกสูตรซิลเวอร์นาโนหรือไม่ โดยใช้แฟลกเจลเลตน้ำจืด *C. paramecium* เป็นสิ่งมีชีวิตทดสอบ และพิจารณาค่าความเข้มข้นของสารที่ทำให้เซลล์ตายไปจำนวนครึ่งหนึ่ง (lethal concentration 50: LC_{50}) ร่วมกับการศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาของเซลล์ (cell morphology) ที่เปลี่ยนไปเมื่อได้รับสารดังกล่าว การศึกษาครั้งนี้จะเป็นข้อมูลทางชีววิทยาถึงผลกระทบของอนุภาคนาโนของโลหะเงินต่อจุลชีพโดยเฉพาะอย่างยิ่งในสาหร่ายกลุ่มคริพโตไฟท์ อันจะเป็นแนวทางนำไปสู่การใช้อนุภาคนี้ในความเข้มข้นและปริมาณที่เหมาะสม ไม่ส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมและสิ่งมีชีวิตอื่นตลอดจนเกิดประสิทธิภาพสูงสุดต่อไป

วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

เพื่อประเมินความเป็นพิษของสารประเภทผงซักฟอก ผงซักฟอกที่มีส่วนผสมของอนุภาคนาโนของโลหะเงิน และสารประกอบซิลเวอร์ไนเตรทต่อแฟลกเจลเลตน้ำจืด *Chilomonas paramecium* ภายใต้สภาวะห้องปฏิบัติการ

ขอบเขตของโครงการวิจัย

ทำการคัดแยกเซลล์แฟลกเจลเลตน้ำจืด *C. paramecium* จากพื้นที่จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย และใช้แฟลกเจลเลตที่คัดแยกได้ในการประเมินความเป็นพิษต่อเซลล์ของสารประเภทผงซักฟอก ผงซักฟอกที่มีส่วนผสมของอนุภาคนาโนของโลหะเงิน และสารประกอบซิลเวอร์ไนเตรทที่ผสมในอาหารเพาะเลี้ยงภายใต้สภาวะห้องปฏิบัติการ

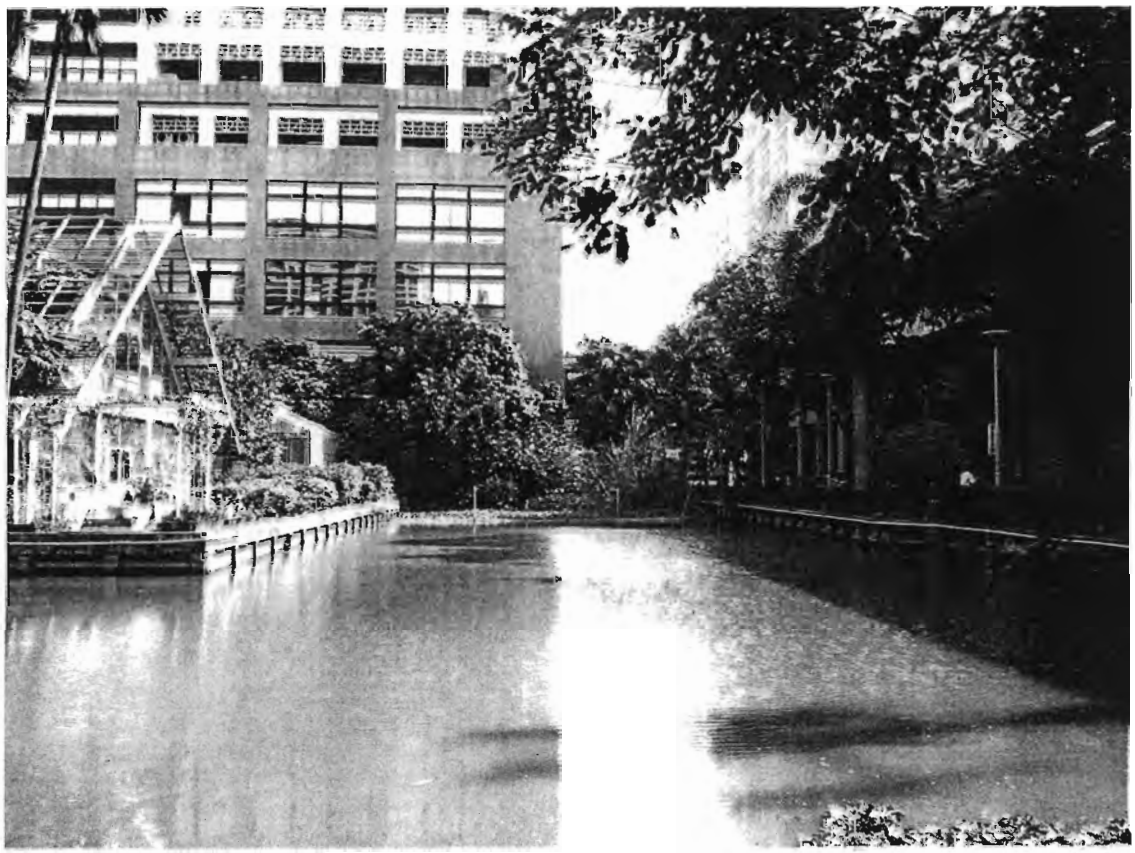
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ทราบความเป็นพิษของสารประเภทผงซักฟอก ผงซักฟอกที่มีส่วนผสมของอนุภาคนาโนของโลหะเงิน และสารประกอบซิลเวอร์ไนเตรทต่อแฟลกเจลเลตน้ำจืด *C. paramecium* ซึ่งสามารถนำไปใช้ในการประเมินความเป็นพิษของสารทั้งสามในธรรมชาติได้

บทที่ 2
วิธีดำเนินการวิจัย

การปฏิบัติงานในภาคสนาม

ทำการเก็บตัวอย่างสิ่งมีชีวิตจากสระน้ำ บริเวณหน้าตึกภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย (ภาพที่ 1) โดยการกรองเก็บน้ำผ่านถุงลากแพลงก์ตอนขนาดตา 20 ไมโครเมตร จากนั้นนำตัวอย่างกลับมาศึกษาต่อยังห้องปฏิบัติการ



ภาพที่ 1 สระน้ำบริเวณหน้าตึกภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่พบ *C. paramecium* และทำการคัดแยกจนได้สายพันธุ์บริสุทธิ์สำหรับใช้ในการศึกษาครั้งนี้

การปฏิบัติงานในห้องปฏิบัติการ

<u>สิ่งมีชีวิตที่ใช้ศึกษา</u>

ในการศึกษาครั้งนี้ใช้แฟลกเจลเลตน้ำจืด *Chilomonas paramecium* เป็นสิ่งมีชีวิตทดสอบ โดยทำการแยกเซลล์แฟลกเจลเลตน้ำจืด *C. paramecium* ที่เก็บได้จากสระน้ำให้บริสุทธิ์ ตามขั้นตอนต่อไปนี้

(1) เตรียมน้ำต้มฟางซึ่งใช้เป็นอาหารเพาะเลี้ยง โดยการต้มฟาง 10 กรัม ในน้ำกลั่น 2 ลิตร ให้เดือดเป็นเวลาประมาณ 5 นาที สังเกตสีน้ำต้มฟางจะเปลี่ยนเป็นสีเหลืองเข้ม ทิ้งให้เย็นแล้วกรองด้วยกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 4 จากนั้นปรับปริมาตรสุดท้ายให้เป็น 2 ลิตร ด้วยน้ำกลั่น แล้วแบ่งน้ำต้มฟางออกเป็น 2 ส่วน

ส่วนที่ 1 เติมไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟตไดไฮเดรต ($Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O$) 0.5 กรัม/ลิตร

ส่วนที่ 2 ไม่เติมไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟตไดไฮเดรต

(2) แบ่งอาหารเลี้ยงใส่หลอดทดลองประมาณ 60% ของหลอด จากนั้นนำไปอบฆ่าเชื้อ (autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที

(3) นำน้ำต้มฟางที่มี $Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O$ ใส่ในจานเพาะเลี้ยงพลาสติกชนิด 24 หลุม จากนั้นหยดน้ำตัวอย่างที่เก็บมาจากสระน้ำ 2–3 หยด แล้วเติมยีสต์ที่ผ่านการอบฆ่าเชื้อแล้ว ตั้งจานเพาะเลี้ยงทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องประมาณ 3–4 วัน จะพบแฟลกเจลเลตและจุลชีพอื่น ๆ เพิ่มขึ้นเป็นจำนวนมาก

(4) ดึงปลายพาสเจอร์ปิเปตต์ที่ผ่านการอบฆ่าเชื้อแล้วให้แหลม โดยใช้ความร้อนจากตะเกียงแอลกอฮอล์

(5) ใช้ปิเปตต์ปลายแหลมดูดเซลล์ *C. paramecium* ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอมา 1 เซลล์ จากนั้นล้างเซลล์ด้วยน้ำต้มฟางที่ผ่านการอบฆ่าเชื้อแล้ว 2 ครั้ง

(6) นำเซลล์ *C. paramecium* ที่ล้างแล้วใส่ลงในจานเพาะเลี้ยงพลาสติกชนิด 96 หลุม จากนั้นเติมน้ำต้มฟางที่มี $Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O$ และยีสต์ที่ผ่านการอบฆ่าเชื้อแล้วลงในหลุม ตั้งจานเพาะเลี้ยงทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง

(7) ติดตามสังเกตการเพิ่มจำนวนของเซลล์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอทุกวัน

(8) เมื่อมีเซลล์เพิ่มจำนวนมากพอ ทำการย้ายเซลล์ไปเลี้ยงในหลอดทดลองที่ใส่น้ำต้มฟางที่มี $Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O$ หลังจากนั้นเติมยีสต์ที่ผ่านการอบฆ่าเชื้อแล้ว ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง

(9) เมื่อเซลล์เจริญเติบโตได้ดี ให้ทำการย้ายมาเลี้ยงในน้ำต้มฟางที่ไม่เติม $Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O$ โดยทำการเปลี่ยนถ่ายเซลล์ไปยังอาหารเลี้ยงเชื้อใหม่ (subculture) ทุก ๆ 7 วัน

<u>สารที่ใช้ในการศึกษา</u>

การศึกษาครั้งนี้ทำการประเมินความเป็นพิษของสารประเภทผงซักฟอกและสารที่มีโลหะเงินเป็นองค์ประกอบ 3 ชนิด ได้แก่

(1) ผงซักฟอกสูตรทั่วไป ยี่ห้อเปา

(2) ผงซักฟอกสูตรซิลเวอร์นาโน ยี่ห้อเปา และ

(3) สารละลายซิลเวอร์ไนเตรท ($AgNO_3$)

<u>การทดสอบความเป็นพิษของสารต่อเซลล์</u>

ทำการศึกษาความเป็นพิษของสารทั้ง 3 ข้างต้นต่อเซลล์ ตามขั้นตอนดังต่อไปนี้

(1) ดูดเซลล์ *C. paramecium* โดยใช้ปิเปตต์ที่ผ่านการอบฆ่าเชื้อแล้วมาประมาณ 1 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดทดลองที่มีน้ำต้มฟาง เติมยีสต์ที่ผ่านการอบฆ่าเชื้อแล้ว เพื่อเพาะเลี้ยงให้ได้แฟลกเจลเลตจำนวนประมาณ 1,000 เซลล์ต่อมิลลิลิตร

(2) การเตรียมสารละลายของสารที่ใช้ในการทดสอบ

1) เตรียมสารละลายผงซักฟอก (สูตรทั่วไปกับสูตรที่มีซิลเวอร์นาโน) ในน้ำต้มฟางที่ผ่านการอบฆ่าเชื้อแล้ว ให้มีความเข้มข้นต่าง ๆ ในช่วงกว้าง (range–finding test) เพื่อหาช่วงที่เหมาะสมในการทดสอบเบื้องต้น จากนั้นนำสารละลายผงซักฟอกช่วงความเข้มข้นที่ได้มาเจือจางให้ได้ความเข้มข้นต่าง ๆ อีก 6–7 ความเข้มข้น ซึ่งความเข้มข้นดังกล่าวต้องอยู่ในช่วงที่ได้จาก range–finding test เพื่อทดสอบความเป็นพิษของสารในช่วงแคบ (definitive test) โดยเตรียมสารละลายผงซักฟอกทั้งสองสูตรให้มีความเข้มข้นเป็น 2 เท่าของความเข้มข้นสุดท้ายที่ต้องการ

2) เตรียมสารละลายของสารประกอบซิลเวอร์ไนเตรท ($AgNO_3$) ในน้ำต้มฟางที่ผ่านการอบฆ่าเชื้อแล้วให้มีความเข้มข้นเริ่มต้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร นำไปเจือจางให้มีความเข้มข้นต่าง ๆ ในช่วงกว้าง เพื่อหาช่วงที่เหมาะสมในการทดสอบเบื้องต้น จากนั้นนำสารละลายซิลเวอร์ไนเตรทช่วงความเข้มข้นที่ได้มาเจือจางให้ได้ความเข้มข้นต่าง ๆ 6 ความเข้มข้น เพื่อทดสอบความเป็นพิษของสารในช่วงแคบ โดยเตรียมสารละลายซิลเวอร์ไนเตรทให้มีความเข้มข้นเป็น 2 เท่าของความเข้มข้นสุดท้ายที่ต้องการ

(3) ใช้ปิเปตต์อัตโนมัติดูดเซลล์ *C. paramecium* ที่เลี้ยงไว้ในหลอดทดลองมา 20 ไมโครลิตร แล้วทำการนับจำนวนเซลล์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ ทำการสุ่มนับจำนวน 3 ครั้ง แล้วหาค่าเฉลี่ยเพื่อคำนวณปริมาณเซลล์ต่ออาหารเพาะเลี้ยง 1 มิลลิลิตร

(4) ใช้ปิเปตต์อัตโนมัติดูดเซลล์ *C. paramecium* จากหลอดทดลองที่นับจำนวนแล้ว ใส่ลงในจานเพาะเลี้ยงพลาสติกชนิด 24 หลุม ๆ ละ 500 ไมโครลิตร

(5) ใช้ปิเปตต์อัตโนมัติดูดสารที่จะใช้ทดสอบที่เตรียมไว้จากข้อ (2) ที่มีความเข้มข้นเป็น 2 เท่าของความเข้มข้นสุดท้ายที่ต้องการทั้ง 6 หรือ 7 ความเข้มข้น ใส่ลงในจานเพาะเลี้ยงพลาสติกชนิด 24 หลุม ที่มีเซลล์อยู่หลุมละ 500 ไมโครลิตร ทำซ้ำความเข้มข้นละ 4 หลุม โดยชุดควบคุมให้เติมน้ำต้มฟางซึ่งปราศจากสารที่ใช้ทดสอบหลุมละ 500 ไมโครลิตร จำนวน 4 หลุมแทน ตั้งจานเพาะเลี้ยงทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24 ชั่วโมง

(6) นับจำนวนเซลล์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ หลังจากผ่านไป 24 ชั่วโมง โดยใช้ปิเปตต์อัตโนมัติดูดเซลล์ *C. paramecium* มาหลุมละ 20 ไมโครลิตร ทำการสุ่มนับจำนวน 3 ครั้งต่อหลุม แล้วหาค่าเฉลี่ย

(7) ทำการนับเช่นเดียวกันในชุดการทดลองซ้ำทั้ง 4 ชุด (หลุม)

(8) หาค่าเฉลี่ยจำนวนเซลล์ที่นับได้ และคำนวณปริมาณเซลล์ต่ออาหารเพาะเลี้ยง 1 มิลลิลิตร เพื่อคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การอยู่รอดของเซลล์ *C. paramecium* ในแต่ละความเข้มข้นของสารที่ใช้ทดสอบ (ผงซักฟอกสูตรทั่วไป, ผงซักฟอกสูตรซิลเวอร์นาโน และสารละลายซิลเวอร์ไนเตรท) เทียบกับชุดควบคุม โดยคำนวณจากสูตร

$$\text{เปอร์เซ็นต์การอยู่รอด} = \frac{\text{จำนวนเซลล์ที่อยู่รอดในชุดทดลองแต่ละความเข้มข้น}}{\text{จำนวนเซลล์ที่อยู่รอดของชุดควบคุม}} \times 100$$

(9) ทำการทดลองซ้ำในข้อ (2)–(8) ทั้งหมด 3 ชุดการทดลองที่เป็นอิสระต่อกัน สำหรับสารแต่ละสารที่ใช้ทำการทดสอบในการศึกษาครั้งนี้ ได้แก่ ผงซักฟอกสูตรทั่วไป, ผงซักฟอกสูตรซิลเวอร์นาโน และสารละลายซิลเวอร์ไนเตรท โดยเว้นช่วงการทดลองในแต่ละชุดเป็นเวลา 1 สัปดาห์

<u>การศึกษาสัณฐานวิทยาของเซลล์</u>

ทำการศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาของเซลล์ *C. paramecium* ที่ใช้ในการทดลองครั้งนี้ ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (scanning electron microscope) และกล้องจุลทรรศน์เลนส์ประกอบแบบใช้แสง (compound microscope)

(1) การศึกษาเซลล์ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด โดยทำการศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาของเซลล์ในสภาวะปกติ (ก่อนการทดลอง) ซึ่งมีขั้นตอนดังต่อไปนี้

1) ใช้ปิเปตต์อัตโนมัติดูดเซลล์ *C. paramecium* ที่เลี้ยงไว้ในหลอดทดลองมาประมาณ 1 มิลลิลิตร ใส่ลงในจานเพาะเลี้ยงพลาสติกชนิด 24 หลุม

2) รักษาสภาพเซลล์ด้วยสารละลายกลูตารัลดีไฮด์ 8% โดยเจือจางสารละลายกลูตารัลดีไฮด์ในอาหารเพาะเลี้ยงที่มีเซลล์อยู่ให้มีความเข้มข้นสุดท้ายเท่ากับ 2% จะได้เซลล์ที่มีรูปร่างปกติเหมือนกับขณะที่ยังมีชีวิตอยู่ รักษาสภาพเซลล์ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 ชั่วโมง

3) กรองตัวอย่างเซลล์ด้วยกระดาษกรอง Millipore polycarbonate membrane filter ขนาดรู 5 ไมโครเมตร

4) กำจัดสารละลายกลูตารัลดีไฮด์ออก โดยการล้างเซลล์ที่รักษาสภาพแล้วด้วยน้ำกลั่น 2 ครั้ง แต่ละครั้งแช่เซลล์ทิ้งไว้เป็นเวลาอย่างน้อย 15 นาที

5) กำจัดน้ำที่อยู่ภายในเซลล์ โดยใช้เอทานอลที่ความเข้มข้น 10%, 20%, 30%, 50%, 70%, 85%, 95% และ 100% ตามลำดับ โดยในแต่ละความเข้มข้นทำ 1 ครั้ง สำหรับที่ความเข้มข้น 100% ทำซ้ำ 3 ครั้ง แต่ละครั้งแช่เซลล์ทิ้งไว้เป็นเวลาอย่างน้อย 15 นาที

6) ทำให้เซลล์แห้งด้วยการแทนที่ด้วยคาร์บอนไดออกไซด์เหลว ด้วยเครื่อง critical point dryer

7) นำแผ่น membrane filter ที่มีตัวอย่างเซลล์ติดลงบนแท่นสำหรับวางตัวอย่าง (stub)

8) นำตัวอย่างที่ได้ไปฉาบทองให้มีความหนาประมาณ 20 นาโนเมตร

9) ศึกษาตัวอย่างด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด และทำการบันทึกภาพ

(2) การศึกษาเซลล์ด้วยกล้องจุลทรรศน์เลนส์ประกอบแบบใช้แสง เพื่อดูลักษณะสัณฐานวิทยาของเซลล์ในชุดควบคุม (น้ำต้มฟางที่ปราศจากสารที่ใช้ทดสอบ) โดยมีขั้นตอนการเตรียมตัวอย่าง ดังนี้

1) ใช้พาสเจอร์ปิเปตต์ดูดเซลล์ *C. paramecium* ที่เลี้ยงไว้ในหลอดทดลองมาหยดลงบนสไลด์ประมาณ 2 หยด จากนั้นปิดด้วยกระจกปิดสไลด์

2) ทำการศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาของเซลล์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์เลนส์ประกอบแบบใช้แสง วัดขนาดของเซลล์ พร้อมบันทึกภาพ

สำหรับการศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาของเซลล์ในชุดทดลอง (น้ำต้มฟางที่มีผงซักฟอกสูตรทั่วไป หรือผงซักฟอกสูตรซิลเวอร์นาโน หรือสารละลายซิลเวอร์ไนเตรท) เพื่อสังเกตการเปลี่ยนแปลงและการตอบสนองของเซลล์ โดยเตรียมสไลด์ตัวอย่าง ดังนี้

1) ใช้พาสเจอร์ปิเปตต์ดูดเซลล์ *C. paramecium* หลังจากผ่านการทดสอบด้วยสารละลายผงซักฟอกสูตรทั่วไป, ผงซักฟอกสูตรซิลเวอร์นาโนและสารละลายซิลเวอร์ไนเตรท ที่อยู่ในจานเพาะเลี้ยงพลาสติกชนิด 24 หลุม มาหยดลงบนสไลด์ประมาณ 2 หยด จากนั้นปิดด้วยกระจกปิดสไลด์

2) ทำการศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาของเซลล์ที่ได้รับสารทดสอบภายใต้กล้องจุลทรรศน์เลนส์ประกอบแบบใช้แสง พร้อมบันทึกภาพ

<u>การวิเคราะห์ข้อมูล</u>

วิเคราะห์หาค่าความเข้มข้นของสารที่ทำให้ *C. paramecium* ตายไปจำนวนครึ่งหนึ่ง (LC_{50}) ด้วยวิธี Probit analysis โดยใช้โปรแกรม StatPlus 2009

สถานที่ทำการวิจัยและเก็บข้อมูล

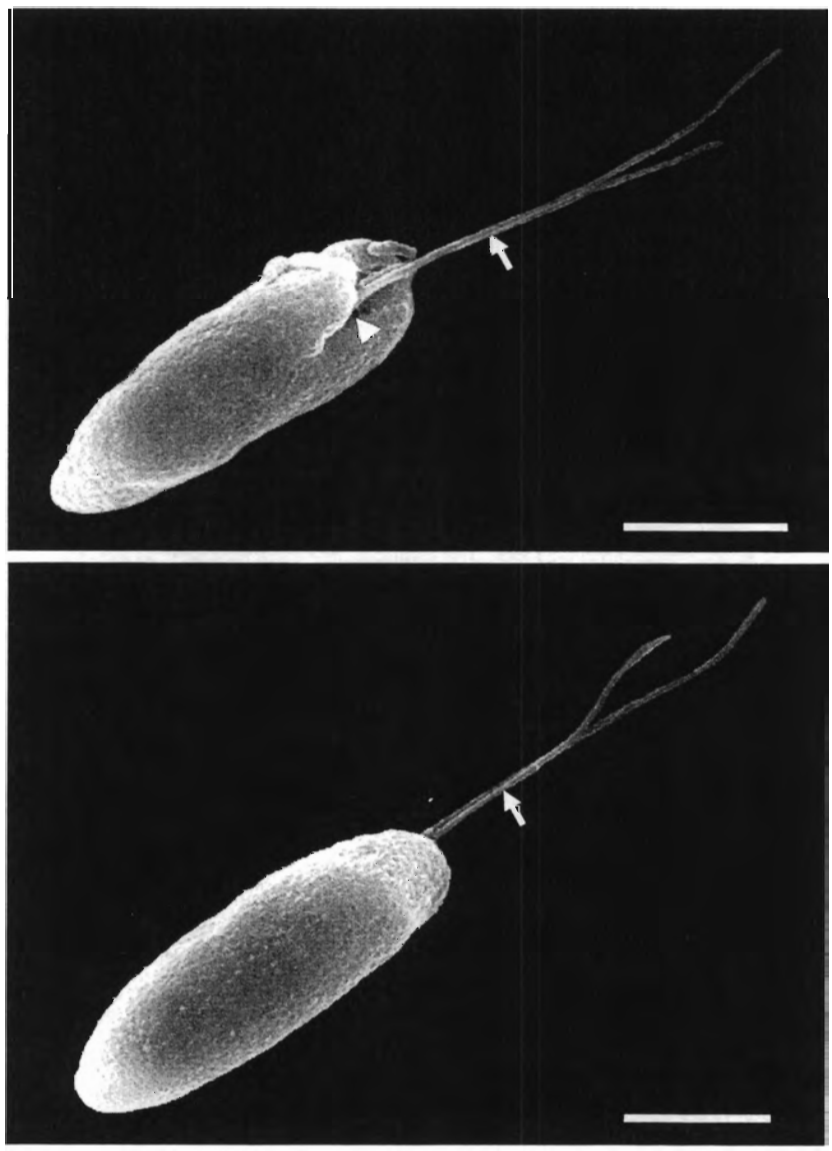
ภาคสนาม: ทำการเก็บตัวอย่างน้ำในพื้นที่บริเวณคณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ห้องปฏิบัติการ: ทำการทดสอบความเป็นพิษของสารประเภทผงซักฟอก ผงซักฟอกที่มีส่วนผสมของอนุภาคนาโนของโลหะเงิน และสารประกอบซิลเวอร์ไนเตรท และระบุชนิดของสาหร่ายที่ห้องปฏิบัติการ Protistology Laboratory ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 3
ผลการศึกษา

การสกัดคัดแยกและสัณฐานวิทยาของเซลล์ *Chilomonas paramecium*

จากการเก็บตัวอย่างน้ำบริเวณสระน้ำหน้าตึกภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เพื่อนำมาสกัดคัดแยก *C. paramecium* และใช้ในการทดสอบความเป็นพิษของผงซักฟอกสูตรทั่วไป ผงซักฟอกสูตรซิลเวอร์นาโน และซิลเวอร์ไนเตรทต่อเซลล์ สามารถคัดแยกและเพาะเลี้ยง *C. paramecium* จนได้สายพันธุ์บริสุทธิ์จำนวน 1 สายพันธุ์ (ภาพที่ 2)



ภาพที่ 2 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (SEM) แสดงแฟลกเจลเลตน้ำจืด *C. paramecium* ที่สามารถคัดแยกได้และใช้ในการศึกษาครั้งนี้ ภาพบนแสดงภาพถ่ายทางด้านท้องเซลล์ (ventral) และตำแหน่งของร่องปากของเซลล์ (หัวลูกศร) รวมถึงแฟลกเจลลัมที่ใช้ในการเคลื่อนที่ของเซลล์ (ลูกศร) ภาพล่างแสดงภาพถ่ายทางด้านหลังเซลล์ (dorsal) กับแฟลกเจลลัม 2 เส้นที่มีความยาวไม่เท่ากัน (ลูกศร) ทางด้านหน้าของเซลล์ พื้นผิวของตัวเซลล์ไม่เรียบ แต่ไม่พบโครงสร้างอื่นยื่นออกมา (แถบเทียบขนาด 5 ไมโครเมตร)

การศึกษาสัณฐานวิทยาของ *C. paramecium* สายพันธุ์บริสุทธิ์ที่เพาะเลี้ยง ภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดพบว่า เซลล์ของ *C. paramecium* ที่คัดแยกได้มีรูปร่างเรียวยาวคล้ายกระสวย ด้านท้าย (posterior end) ของเซลล์มีลักษณะมน ส่วนด้านหน้า (anterior end) ของเซลล์มีลักษณะป้านกว่าด้านท้ายเซลล์เล็กน้อย เซลล์มีขนาดลำตัวกว้างประมาณ 4 ไมโครเมตร ยาวประมาณ 13 ไมโครเมตร ส่วนด้านหน้าของเซลล์มีแฟลกเจลลัม (flagellum) จำนวน 2 เส้น ยื่นออกมาจากบริเวณเกือบปลายด้านหน้าของเซลล์ (subapical) เหนือบริเวณร่องปาก (gullet) แฟลกเจลลัมทั้ง 2 เส้น มีความยาวไม่เท่ากัน ความยาวของแฟลกเจลลัมที่พบมีตั้งแต่ที่ยาวใกล้เคียงกับความยาวของตัวเซลล์และที่ยาวกว่าความยาวของตัวเซลล์ (ภาพที่ 2)

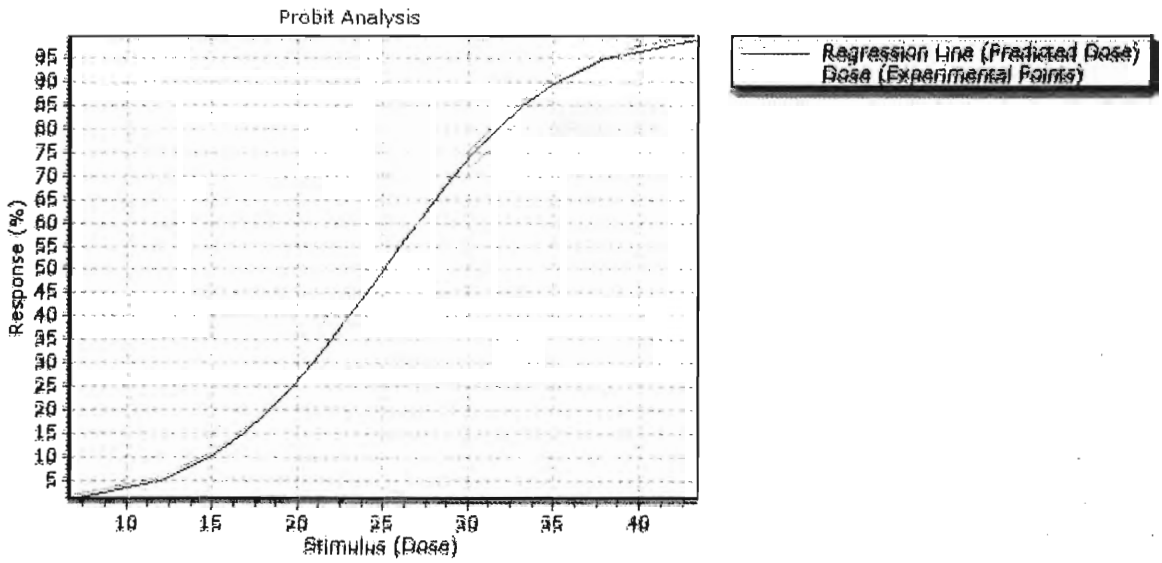
การทดสอบความเป็นพิษของสารต่อเซลล์ *Chilomonas paramecium*

การทดสอบความเป็นพิษของผงซักฟอกสูตรทั่วไปต่อเซลล์ *C. paramecium*

เมื่อทำการทดสอบความเป็นพิษของผงซักฟอกสูตรทั่วไปต่อเซลล์ *C. paramecium* โดยใช้สารละลายผงซักฟอกสูตรทั่วไปในน้ำต้มฟาง 7 ความเข้มข้น ตั้งแต่ 10–40 มิลลิกรัมต่อลิตร ความเข้มข้นละ 4 ซ้ำ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และทำการทดสอบภายใต้เงื่อนไขเดียวกันทั้งหมด 3 ชุดการทดลองที่เป็นอิสระต่อกัน เพื่อนำมาวิเคราะห์หาค่าความเข้มข้นของผงซักฟอกสูตรทั่วไปที่ทำให้ *C. paramecium* ตายไปจำนวนครึ่งหนึ่ง (LC_{50}) ด้วยวิธี Probit analysis ได้ผลการทดลองดังแสดงในตารางที่ 1 และค่า LC_{50} ของผงซักฟอกสูตรทั่วไปต่อเซลล์ *C. paramecium* เท่ากับ 23.62±0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร (ภาพที่ 3) โดยความเข้มข้นของผงซักฟอกสูตรทั่วไปที่ 25 และ 40 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่งผลให้เกิดการตายของ *C. paramecium* มากกว่า 50% และเกือบ 100% ตามลำดับ โดยความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้นของผงซักฟอกสูตรทั่วไปจะส่งผลให้เกิดการตายของ *C. paramecium* เพิ่มมากขึ้น และความเข้มข้นของผงซักฟอกสูตรทั่วไปที่ 10 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่งผลกระตุ้นการเพิ่มจำนวนเซลล์ โดยให้เปอร์เซ็นต์การตายของ *C. paramecium* มีค่าติดลบ คือ -9.35%

ตารางที่ 1 เปอร์เซ็นต์การตายของ *Chilomonas paramecium* เมื่อทำการทดสอบความเป็นพิษของผงซักฟอกสูตรทั่วไปต่อเซลล์ที่ 7 ความเข้มข้น ๆ ละ 4 ซ้ำ และทำการทดสอบ 3 ชุดการทดลองที่เป็นอิสระต่อกัน

ความเข้มข้นของผงซักฟอกสูตรทั่วไป (mg/l)	เปอร์เซ็นต์การตายของ *Chilomonas paramecium* (%)			
	การทดลองครั้งที่ 1	การทดลองครั้งที่ 2	การทดลองครั้งที่ 3	ค่าเฉลี่ย
10	-10.86	-3.97	-13.23	-9.35
15	15.20	27.14	1.04	14.46
20	38.84	39.44	16.34	31.54
25	74.16	51.87	34.80	53.61
30	88.59	65.24	57.16	70.33
35	96.66	98.86	68.31	87.94
40	99.28	99.06	97.10	98.48



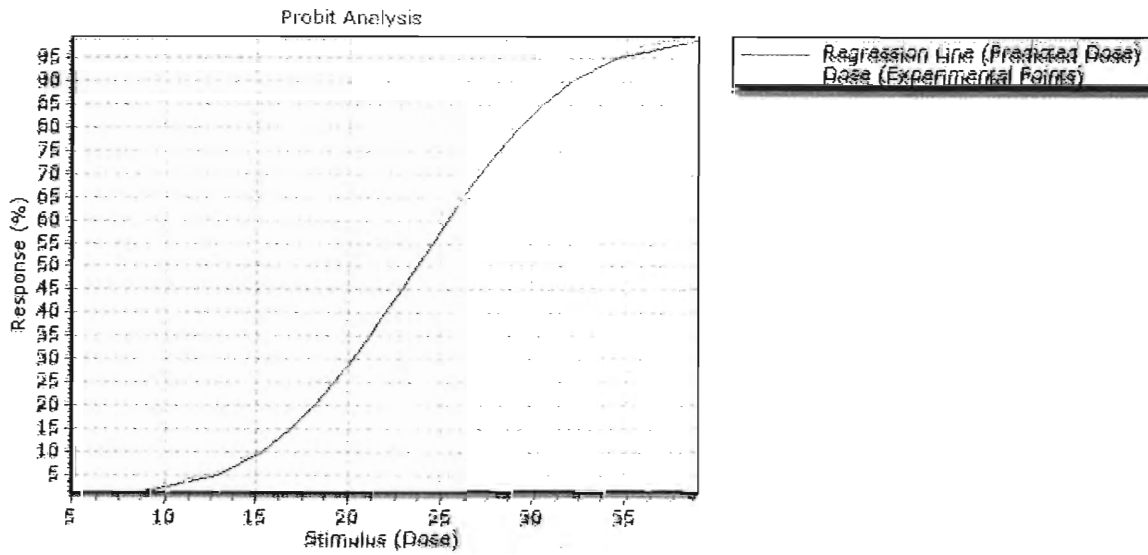
ภาพที่ 3 กราฟแสดงการคำนวณค่าความเข้มข้นของผงซักฟอกสูตรทั่วไปที่ทำให้ *C. paramecium* ตายไปจำนวนครึ่งหนึ่ง (LC_{50}) ด้วยวิธี Probit analysis

การทดสอบความเป็นพิษของผงซักฟอกสูตรซิลเวอร์นาโนต่อเซลล์ *C. paramecium*

เมื่อทำการทดสอบความเป็นพิษของผงซักฟอกสูตรซิลเวอร์นาโนต่อเซลล์ *C. paramecium* โดยใช้สารละลายผงซักฟอกสูตรซิลเวอร์นาโนในน้ำต้มฟาง 6 ความเข้มข้น ตั้งแต่ 5–30 มิลลิกรัมต่อลิตร ความเข้มข้นละ 4 ซ้ำ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และทำการทดสอบภายใต้เงื่อนไขเดียวกันทั้งหมด 3 ชุดการทดลองที่เป็นอิสระต่อกัน เพื่อนำมาวิเคราะห์หาค่าความเข้มข้นของผงซักฟอกสูตรซิลเวอร์นาโนที่ทำให้ *C. paramecium* ตายไปจำนวนครึ่งหนึ่ง (LC_{50}) ด้วยวิธี Probit analysis ได้ผลการทดลองดังแสดงในตารางที่ 2 และค่า LC_{50} ของผงซักฟอกสูตรซิลเวอร์นาโนต่อเซลล์ *C. paramecium* เท่ากับ 22.98±0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร (ภาพที่ 4) โดยความเข้มข้นของผงซักฟอกสูตรซิลเวอร์นาโนที่ 25 และ 30 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่งผลให้เกิดการตายของ *C. paramecium* มากกว่า 50% คือ 60.58% และ 80.70% ตามลำดับ โดยความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้นของผงซักฟอกสูตรซิลเวอร์นาโนจะส่งผลให้เกิดการตายของ *C. paramecium* เพิ่มมากขึ้น และความเข้มข้นของผงซักฟอกสูตรซิลเวอร์นาโนที่ 5 และ 10 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่งผลกระตุ้นการเพิ่มจำนวนเซลล์ โดยให้เปอร์เซ็นต์การตายของ *C. paramecium* มีค่าติดลบ คือ -17.91% และ -3.47% ตามลำดับ

ตารางที่ 2 เปอร์เซ็นต์การตายของ *Chilomonas paramecium* เมื่อทำการทดสอบความเป็นพิษของผงซักฟอกสูตรซิลเวอร์นาโนต่อเซลล์ที่ 6 ความเข้มข้น ๆ ละ 4 ซ้ำ และทำการทดสอบ 3 ชุดการทดลองที่เป็นอิสระต่อกัน

ความเข้มข้นของผงซักฟอกสูตรซิลเวอร์นาโน (mg/l)	เปอร์เซ็นต์การตายของ *Chilomonas paramecium* (%)			
	การทดลองครั้งที่ 1	การทดลองครั้งที่ 2	การทดลองครั้งที่ 3	ค่าเฉลี่ย
5	-9.30	-16.64	-27.80	-17.91
10	-4.06	-4.50	-1.83	-3.47
15	10.54	4.98	25.65	13.72
20	19.87	29.85	41.22	30.31
25	64.44	52.37	64.92	60.58
30	97.90	63.72	80.50	80.70



ภาพที่ 4 กราฟแสดงการคำนวณค่าความเข้มข้นของผงซักฟอกสูตรซิลเวอร์นาโนที่ทำให้ *C. paramecium* ตายไปจำนวนครึ่งหนึ่ง (LC_{50}) ด้วยวิธี Probit analysis

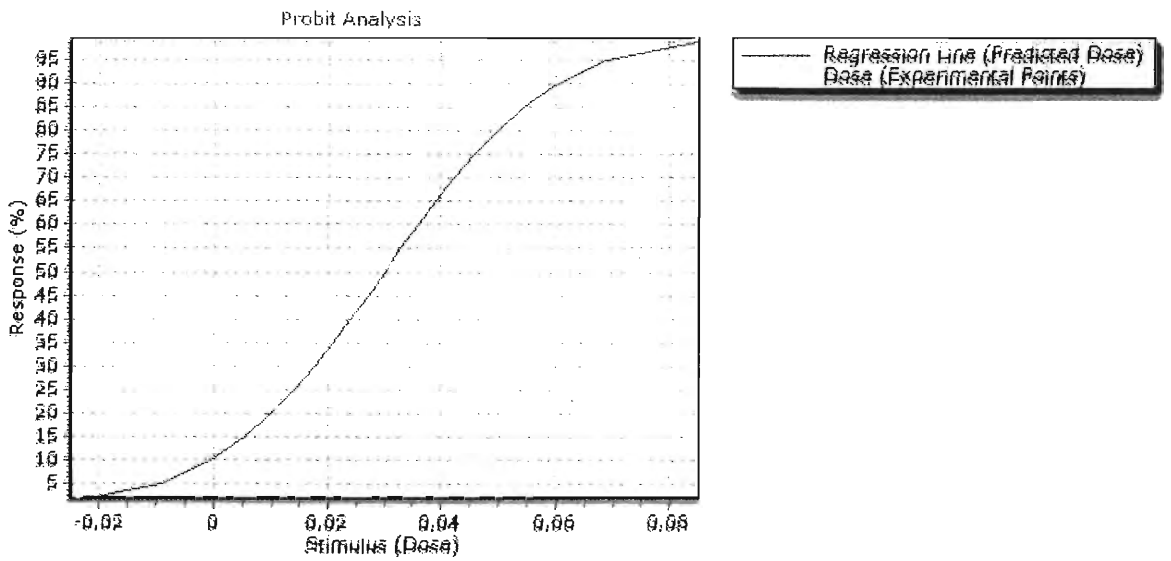
การทดสอบความเป็นพิษของสารประกอบซิลเวอร์ไนเตรทต่อเซลล์ *C. paramecium*

เมื่อทำการทดสอบความเป็นพิษของสารประกอบซิลเวอร์ไนเตรทต่อเซลล์ *C. paramecium* โดยใช้สารละลายซิลเวอร์ไนเตรทในน้ำต้มฟาง 6 ความเข้มข้น ตั้งแต่ 0.005–0.045 มิลลิกรัมต่อลิตร ความเข้มข้นละ 4 ซ้ำ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และทำการทดสอบภายใต้เงื่อนไขเดียวกันทั้งหมด 3 ชุดการทดลองที่เป็นอิสระต่อกัน เพื่อนำมาวิเคราะห์หาค่าความเข้มข้นของสารละลายซิลเวอร์ไนเตรทที่ทำให้ *C. paramecium* ตายไปจำนวนครึ่งหนึ่ง (LC_{50}) ด้วยวิธี Probit analysis ได้ผลการทดลองดังแสดงในตารางที่ 3 และค่า LC_{50} ของสารละลายซิลเวอร์ไนเตรทต่อเซลล์ *C. paramecium* เท่ากับ 0.026±0.002 มิลลิกรัมต่อลิตร (ภาพที่ 5) โดยความเข้มข้นของสารละลายซิลเวอร์ไนเตรทที่ 0.035 และ 0.045 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่งผลให้เกิดการตายของ *C. paramecium* มากกว่า 50% คือ 55.99% และ 73.03%

ตามลำดับ โดยความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้นของสารละลายซิลเวอร์ไนเตรทจะส่งผลให้เกิดการตายของ *C. paramecium* เพิ่มมากขึ้น

ตารางที่ 3 เปอร์เซ็นต์การตายของ *Chilomonas paramecium* เมื่อทำการทดสอบความเป็นพิษของสารละลายซิลเวอร์ไนเตรทต่อเซลล์ที่ 6 ความเข้มข้น ๆ ละ 4 ซ้ำ และทำการทดสอบ 3 ชุดการทดลองที่เป็นอิสระต่อกัน

ความเข้มข้นของสารละลายซิลเวอร์ไนเตรท (mg/l)	เปอร์เซ็นต์การตายของ *Chilomonas paramecium* (%)			
	การทดลองครั้งที่ 1	การทดลองครั้งที่ 2	การทดลองครั้งที่ 3	ค่าเฉลี่ย
0.005	13.26	7.58	12.60	11.14
0.010	16.18	13.16	27.06	18.80
0.015	35.20	17.21	44.82	32.41
0.025	68.47	21.56	49.88	46.64
0.035	80.32	29.48	58.16	55.99
0.045	81.65	55.33	82.10	73.03

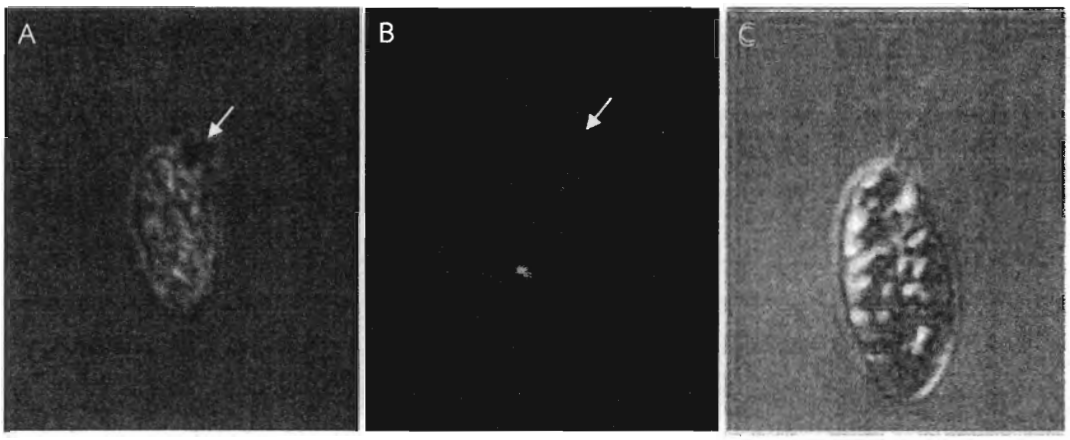


ภาพที่ 5 กราฟแสดงการคำนวณค่าความเข้มข้นของสารละลายซิลเวอร์ไนเตรทที่ทำให้ *C. paramecium* ตายไปจำนวนครึ่งหนึ่ง (LC_{50}) ด้วยวิธี Probit analysis

การศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาของเซลล์เมื่อได้รับสารทดสอบ

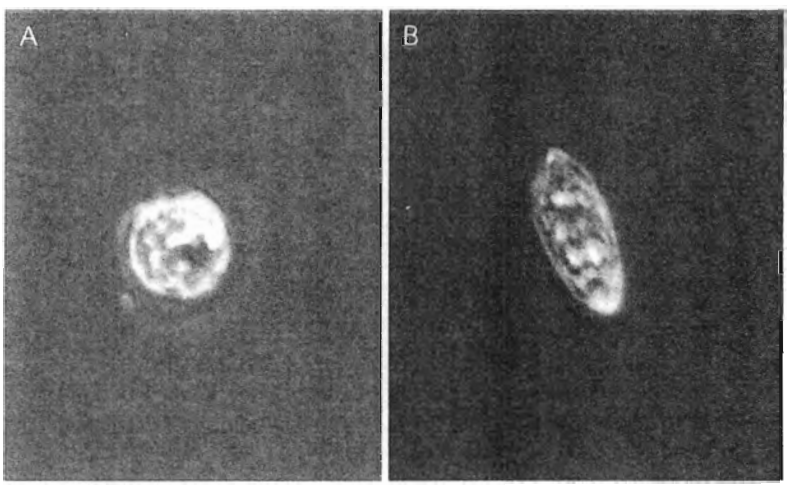
จากการศึกษาผลของสารทั้ง 3 ชนิด ได้แก่ ผงซักฟอกสูตรทั่วไป, ผงซักฟอกสูตรซิลเวอร์นาโน และสารละลายซิลเวอร์ไนเตรท ต่อสัณฐานวิทยาของเซลล์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์เลนส์ประกอบหัวกลับแบบใช้แสงพบว่า เมื่อ *C. paramecium* ได้รับผงซักฟอกสูตรทั่วไปหรือผงซักฟอกสูตรซิลเวอร์นาโน เซลล์จะมีการตอบสนองและมีการเปลี่ยนแปลงของรูปร่างคล้ายคลึงกัน กล่าวคือ *C. paramecium* จะเคลื่อนที่ช้าลงและหยุดเคลื่อนที่ในที่สุด จากนั้นเซลล์จะเสียรูปร่างโดยเกิดการพุพอง (blebbing) ที่

บริเวณผิวเซลล์ บริเวณที่พุพองนี้จะมีขนาดใหญ่ขึ้น จนทำให้เซลล์แตกสลายไปในที่สุด ในขณะที่เซลล์ในชุดควบคุมที่ถูกเพาะเลี้ยงในน้ำต้มฟางที่ไม่ได้ใส่ผงซักฟอกใด ๆ จะเสดงรูปร่างทรงกระสวยและว่ายน้ำเป็นปกติ (ภาพที่ 6)



ภาพที่ 6 เซลล์ *C. paramecium* เมื่อได้รับผงซักฟอกสูตรทั่วไป (A) และผงซักฟอกสูตรซิลเวอร์นาโน (B) แสดงการเกิดการพุพองที่บริเวณผิวเซลล์ (ลูกศร) เมื่อเปรียบเทียบกับเซลล์ในชุดควบคุมที่ไม่ได้รับสารใด ๆ (C)

สำหรับในชุดการทดลองที่เซลล์ *C. paramecium* ได้รับสารละลายซิลเวอร์ไนเตรทพบว่า *C. paramecium* จะหยุดการเคลื่อนที่และเปลี่ยนรูปร่างเป็นทรงกลมทันที เมื่อสัมผัสกับสารดังกล่าว (ภาพที่ 7)



ภาพที่ 7 เซลล์ *C. paramecium* ที่เปลี่ยนรูปร่างเป็นทรงกลม เมื่อได้รับสารละลายซิลเวอร์ไนเตรท (A) เปรียบเทียบกับเซลล์รูปทรงกระสวยในสภาวะปกติที่ถูกเพาะเลี้ยงในน้ำต้มฟางที่ไม่ได้ใส่สารทดสอบ (B)

บทที่ 4
อภิปรายและสรุปผลการศึกษา

ผงซักฟอกเป็นหนึ่งในสารเคมีที่เราใช้ในชีวิตประจำวันในทุกครัวเรือน ในปัจจุบันอุตสาหกรรมการผลิตสารซักล้างประเภทนี้มีการพัฒนาโดยเติมอนุภาคซิลเวอร์นาโนลงไป เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพของผงซักฟอก โดยเฉพาะอย่างยิ่งในด้านการยับยั้งและกำจัดแบคทีเรีย ซึ่งเป็นหนึ่งในสาเหตุของการเกิดกลิ่นในเสื้อผ้าและผลิตภัณฑ์เส้นใยต่าง ๆ อย่างไรก็ตามผลกระทบของผงซักฟอกทั้งในสูตรปกติและสูตรที่มีการเติมอนุภาคซิลเวอร์นาโนต่อจุลชีพที่อาศัยอยู่ในแหล่งน้ำยังมีผู้ทำการศึกษาไม่มากนัก ถึงแม้จะเป็นที่รู้กันดีว่าน้ำที่ใช้ในการซักล้างจะถูกปล่อยลงสู่แหล่งน้ำตามธรรมชาติในที่สุด การศึกษาครั้งนี้ได้ทำการประเมินความเป็นพิษของผงซักฟอกสูตรทั่วไป ผงซักฟอกสูตรซิลเวอร์นาโน และสารละลายของสารประกอบซิลเวอร์ไนเตรท โดยใช้แฟลกเจลเลตน้ำจืด *C. paramecium* เป็นสิ่งมีชีวิตในการทดสอบ โดยพิจารณาค่าความเข้มข้นของสารที่ทำให้เซลล์ตายไปจำนวนครึ่งหนึ่ง (LC_{50}) และการเปลี่ยนแปลงลักษณะสัณฐานวิทยาของเซลล์ (cell morphology) เมื่อได้รับสารทั้งสามชนิด

ผลการทดสอบความเป็นพิษของสารทั้งสามต่อ *C. paramecium* ได้ค่า LC_{50} เมื่อเซลล์ได้รับผงซักฟอกสูตรทั่วไป ผงซักฟอกสูตรซิลเวอร์นาโน และสารละลายซิลเวอร์ไนเตรทที่ผสมในน้ำต้มฟาง 6–7 ความเข้มข้นเป็นเวลา 24 ชั่วโมง เท่ากับ 23.62, 22.98 และ 0.026 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ โดยเมื่อพิจารณาจากค่า LC_{50} แล้วจะพบว่าสารละลายซิลเวอร์ไนเตรทมีความเป็นพิษต่อ *C. paramecium* มากที่สุด รองลงมาคือ ผงซักฟอกสูตรซิลเวอร์นาโน ที่มีความเป็นพิษต่อเซลล์มากกว่าผงซักฟอกสูตรทั่วไปเพียงเล็กน้อย จากการศึกษาของ สกุลทิพย์ นูมหันต์ (2555) ถึงความเป็นพิษของสารละลายซิลเวอร์ไนเตรทต่อโพรติสต์กลุ่มซิลิเอต 3 ชนิด ได้แก่ *Colpoda* sp., *Paramecium* sp. และ *Telotrochidium* sp. พบว่า LC_{50} ของสารละลายซิลเวอร์ไนเตรทต่อซิลิเอตทั้ง 3 ชนิด มีค่าเท่ากับ 0.044, 0.025 และ 0.205 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยเมื่อเปรียบเทียบค่า LC_{50} ที่ได้จากการศึกษาครั้งนี้กับค่าดังกล่าวในการศึกษาของ สกุลทิพย์ นูมหันต์ (2555) พบว่า ค่า LC_{50} ของสารละลายซิลเวอร์ไนเตรทต่อ *C. paramecium* (0.026 มิลลิกรัมต่อลิตร) มีความใกล้เคียงกับค่า LC_{50} ของ *Paramecium* sp. (0.025 มิลลิกรัมต่อลิตร) แสดงให้เห็นว่า *C. paramecium* มีความไวต่อสารละลายซิลเวอร์ไนเตรทใกล้เคียงกันกับซิลิเอตสกุลนี้ โดยซิลิเอตในสกุล *Paramecium* มักถูกใช้เป็นสิ่งมีชีวิตต้นแบบในการศึกษาทางชีววิทยาหลายด้าน เช่น การประเมินคุณภาพน้ำ การบำบัดน้ำเสียโดยวิธีทางชีวภาพ รวมถึงการนำมาใช้ทดสอบเพื่อประเมินความเป็นพิษของสารเคมีชนิดต่าง ๆ ต่อเซลล์ เช่น สารฆ่าแมลง (Hussain et al., 2008; Venkateswara Rao et al., 2006) หรือ โลหะหนัก (Madoni et al., 1992, 1994) เนื่องจากเซลล์มีขนาดเล็ก เหมาะสมต่อการทดสอบในห้องปฏิบัติการ อีกทั้งยังมีต้นทุนในการทดสอบต่ำ (Hussain et al., 2008) และด้วยความไวต่อสารพิษที่ใกล้เคียงกันระหว่าง *Paramecium* sp. และ *C. paramecium* ที่พบในงานวิจัยครั้งนี้เอง เซลล์ *C. paramecium* จึงสามารถใช้เป็นอีกตัวเลือกหนึ่งสำหรับการประเมินความเป็นพิษของสารชนิดต่าง ๆ แทนหรือร่วมกับ *Paramecium* sp. ได้

สำหรับการศึกษาถึงผลความเป็นพิษของผงซักฟอกต่อ *C. paramecium* พบว่า ค่า LC_{50} ของผงซักฟอกสูตรทั่วไปและผงซักฟอกสูตรซิลเวอร์นาโน มีค่าสูงกว่าสารละลายซิลเวอร์ไนเตรทกว่า 1,000 เท่า แสดงให้เห็นว่าสารประกอบโลหะหนักมีความเป็นพิษต่อเซลล์สูงมาก เมื่อเปรียบเทียบกับผงซักฟอกทั้งสูตรที่มีและไม่มีอนุภาคขนาดนาโนของโลหะเงินเป็นองค์ประกอบ จากการศึกษาความเป็นพิษของผงซักฟอกต่อสาหร่ายแฟลกเจลเลตน้ำจืด *Euglena gracilis* ของ Azizullah และคณะ (2011a) พบว่าความเข้มข้นที่ส่งผลกระทบต่อการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของเซลล์จำนวนครึ่งหนึ่ง (half maximal

effective concentration: EC_{50}) มีค่าเท่ากับ 225 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อเปรียบเทียบกับการศึกษาครั้งนี้ พบว่า ค่า LC_{50} ของ *C. paramecium* มีค่าต่ำกว่าประมาณ 10 เท่า แสดงให้เห็นว่า *C. paramecium* มีความไวต่อผงซักฟอกมากกว่า *E. gracilis* และสามารถนำมาใช้เป็นตัวชี้วัดทางชีวภาพอีกทางเลือกหนึ่งสำหรับการทดสอบความเป็นพิษของผงซักฟอกได้ นอกจากนี้ในการศึกษาของ Riess และ Grimme (1993) ถึงผลของสารลดแรงตึงผิว (surfactant) ที่มักใช้เป็นส่วนผสมในแชมพูและสารซักล้างต่อสาหร่ายสีเขียวน้ำจืด *Chlorella fusca* พบว่าสารลดแรงตึงผิวมีผลต่อการเจริญและเพิ่มจำนวนของเซลล์ อีกทั้งยังลดและยับยั้งการหายใจและการสังเคราะห์ด้วยแสงของสาหร่ายสีเขียวชนิดนี้ แสดงให้เห็นว่าหากแหล่งน้ำได้รับน้ำทิ้งที่ผ่านการซักล้างหรือมีผงซักฟอกปนเปื้อนในปริมาณมาก สิ่งมีชีวิตในกลุ่มคริพโตไฟท์ชนิดอื่น ๆ ที่มีความสามารถในการสังเคราะห์ด้วยแสง เช่น *Chroomonas*, *Cryptomonas* หรือ *Rhodomonas* รวมไปถึงสาหร่ายที่สามารถสังเคราะห์ด้วยแสงชนิดอื่นอาจได้รับผลกระทบจากน้ำทิ้งที่ปนเปื้อนสารซักล้างเหล่านี้ ส่งผลให้สิ่งมีชีวิตอื่น ๆ ที่จำเป็นต้องอาศัยออกซิเจนที่ได้จากกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสงในแหล่งน้ำเพื่อการดำรงชีวิตได้รับผลกระทบตามไปด้วย

ในการทดสอบความเป็นพิษของสารต่อเซลล์ เมื่อพิจารณาเปอร์เซ็นต์การตายของ *C. paramecium* เมื่อได้รับผงซักฟอกสูตรทั่วไปและผงซักฟอกสูตรซิลเวอร์นาโนพบว่า ความเข้มข้นของผงซักฟอกทั้ง 2 ชนิดที่ต่ำกว่า 10 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้เปอร์เซ็นต์การตายของเซลล์มีค่าเป็นลบ และให้ผลเช่นเดียวกันทั้ง 3 ชุดการทดลอง ซึ่งทำการทดสอบภายใต้เงื่อนไขเดียวกัน เนื่องจากเซลล์ *C. paramecium* ที่อยู่รอดในความเข้มข้นน้อยกว่า 10 มิลลิกรัมต่อลิตร ของผงซักฟอกทั้ง 2 ชนิด มีจำนวนมากกว่าในชุดการทดลองควบคุม แสดงให้เห็นว่าผงซักฟอกทั้ง 2 ชนิด มีผลกระตุ้นการเจริญเติบโตของ *C. paramecium* สอดคล้องกับการศึกษาถึงบทบาทของฟอสฟอรัส ซึ่งมักพบเป็นหนึ่งในส่วนประกอบของผงซักฟอกต่อการเกิดปรากฏการณ์ eutrophication ของ Correll (1998) ที่รายงานว่าฟอสฟอรัสเป็นหนึ่งในปัจจัยที่ก่อให้เกิดปรากฏการณ์นี้ทั้งในแหล่งน้ำจืดและแหล่งน้ำเค็ม โดยธาตุชนิดนี้ส่งผลให้จำนวนประชากรของสาหร่ายและแบคทีเรียเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว นำไปสู่การเพิ่มอัตราการหายใจในน้ำ เกิดภาวะขาดออกซิเจนหรือมีปริมาณออกซิเจนลดลง ทำให้สิ่งมีชีวิตที่อาศัยอยู่ในมวลน้ำ รวมทั้งบริเวณผิวน้ำในเวลากลางคืนของแหล่งน้ำที่มีสภาพนิ่งและอุณหภูมิอุ่นตายในที่สุด

สำหรับการศึกษาผลของสารทั้ง 3 ชนิดต่อการเปลี่ยนแปลงลักษณะสัณฐานวิทยาของเซลล์พบว่า เมื่อ *C. paramecium* ได้รับผงซักฟอกสูตรทั่วไปหรือผงซักฟอกสูตรซิลเวอร์นาโน เซลล์จะมีรูปแบบการเปลี่ยนแปลงของลักษณะสัณฐานวิทยาคล้ายคลึงกัน กล่าวคือ เซลล์จะเสียรูปร่างและเกิดการพุพอง (blebbing) ที่บริเวณผิวเซลล์ โดยในงานวิจัยของ Poli (1985) ถึงผลของ triton X-100 ซึ่งเป็นสารลดแรงตึงผิวและมักใช้เป็นส่วนผสมของผงซักฟอกต่อ *E. gracilis* พบว่าสารเหล่านี้รบกวนการทำงานของโปรตีนโครงร่างเซลล์ (cytoskeleton protein) ซึ่งเป็นโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับการรักษารูปร่างของเซลล์ ส่งผลให้ผิวเซลล์เสียสภาพฉีกออกจากกัน นอกจากในจุลชีพแล้วการศึกษาถึงผลของผงซักฟอกต่อเกล็ดเลือดในมนุษย์ยังพบว่า ผงซักฟอกส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของเกล็ดเลือด ทำให้เกล็ดเลือดมีลักษณะบวม เกิดการพุพองที่บริเวณผิว เปลี่ยนแปลงรูปร่าง และแตกได้ในที่สุด ทั้งนี้ขึ้นกับความเข้มข้นและระยะเวลาที่เกล็ดเลือดสัมผัสสาร (Shiao et al., 1989) สอดคล้องกับผลของผงซักฟอกต่อ *C. paramecium* ในการศึกษาครั้งนี้

สำหรับการเปลี่ยนแปลงลักษณะสัณฐานวิทยาของเซลล์ *C. paramecium* เมื่อได้รับสารประกอบซิลเวอร์ไนเตรทพบว่า เซลล์จะเปลี่ยนรูปร่างเป็นทรงกลมทันทีที่ได้รับสาร โดยมีรูปแบบการตอบสนองที่รวดเร็วและต่างจากการตอบสนองต่อผงซักฟอกทั้งสองสูตร การเปลี่ยนแปลงรูปร่างเป็นทรงกลมและรูปแบบการตอบสนองที่รวดเร็วนี้คล้ายกับการตอบสนองของสาหร่ายชนิดเดียวกันต่อสารละลายคอปเปอร์

ซัลเฟตที่ความเข้มข้น 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ในการศึกษาของ Abraham-Peskir (1998) โดยเมื่อเปรียบเทียบความเข้มข้นที่เซลล์ตอบสนองระหว่างการศึกษาครั้งนี้กับการศึกษาของ Abraham-Peskir (1998) พบว่าความเข้มข้นที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้อยู่ในช่วง 0.005–0.045 มิลลิกรัมต่อลิตร และที่ความเข้มข้น 0.026 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นความเข้มข้นที่ทำให้เซลล์ตายไปจำนวนครึ่งหนึ่งและใช้ในการศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยาของเซลล์ต่อโลหะหนักครั้งนี้ ค่าความเข้มข้นที่แตกต่างกันถึงกว่า 96 เท่านี้ แสดงให้เห็นว่าสารละลายจากสารประกอบของโลหะเงินมีความเป็นพิษสูงกว่าสารละลายจากสารประกอบของโลหะทองแดง จากการศึกษาของ สุดาสวรรค์ ลิ้มรักษา (2555) ถึงผลของสารประกอบโลหะหนัก 3 ชนิด ได้แก่ แคดเมียมซัลเฟต, นิกเกิลซัลเฟต และซิงค์ซัลเฟต ต่อเซลล์ซิลิเอตทะเล *Euplotes quinquecarinatus* ที่ได้รับสารทั้งสามพบว่า เซลล์จะเปลี่ยนรูปร่างเป็นทรงกลมและตายในที่สุดเช่นเดียวกัน โดยมีงานวิจัยพบว่าโลหะหนักเหล่ามีผลเปลี่ยนแปลงโครงสร้างและรบกวนการทำงานของ actin filament ซึ่งเป็นเส้นใยโปรตีนที่ทำหน้าที่ในการรักษารูปทรงของเซลล์ ส่งผลให้เซลล์เสียรูปร่างและแตกสลายในที่สุด (Prozialeck and Niewenhuis, 1991)

การศึกษาครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าผงซักฟอกสูตรทั่วไปและผงซักฟอกสูตรซิลเวอร์นาโนมีความเป็นพิษต่อ *C. paramecium* ใกล้เคียงกันเมื่อพิจารณาจากค่า LC_{50} อีกทั้งยังมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงลักษณะสัณฐานวิทยาของเซลล์คล้ายคลึงกัน จากการพัฒนาทางอุตสาหกรรมในปัจจุบันที่มีการนำอนุภาคซิลเวอร์นาโนมาใช้ในอุตสาหกรรมหลากหลายประเภท รวมถึงเป็นส่วนประกอบในผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ โดยอาศัยคุณสมบัติในการกำจัดแบคทีเรียของอนุภาคชนิดนี้ ผลการทดลองที่ได้จากการศึกษาครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าผงซักฟอกสูตรซิลเวอร์นาโนมีระดับความเป็นพิษต่อ *C. paramecium* ใกล้เคียงกับผงซักฟอกสูตรทั่วไป แสดงว่าปริมาณของอนุภาคซิลเวอร์นาโนที่ผสมเป็นองค์ประกอบหนึ่งในผงซักฟอกสูตรซิลเวอร์นาโนนี้ อยู่ในปริมาณที่ส่งผลต่อสาหร่าย *C. paramecium* เกินกว่าผงซักฟอกสูตรทั่วไปเพียงเล็กน้อย หากการเติมอนุภาคนี้ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการกำจัดแบคทีเรียตามที่ได้มีการโฆษณา ผลของอนุภาคดังกล่าวอาจเกิดขึ้นกับแบคทีเรียโดยตรง แต่มีปริมาณอยู่ในช่วงที่ไม่ก่อให้เกิดความเสียหายต่อจุลชีพในสาหร่ายกลุ่มคริพโตไฟท์ชนิด *C. paramecium* ได้แตกต่างจากผงซักฟอกสูตรทั่วไป อย่างไรก็ดีการใส่อนุภาคชนิดนี้ลงไปในผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ ควรคำนึงถึงปริมาณที่จะก่อให้เกิดผลกระทบต่อสุขภาพของมนุษย์และสิ่งมีชีวิตอื่น รวมทั้งสิ่งแวดล้อมให้น้อยที่สุด เพื่อให้มนุษย์และสิ่งแวดล้อมสามารถดำรงอยู่ได้อย่างผาสุกและยั่งยืน

เอกสารอ้างอิง

กรมควบคุมมลพิษ, กระทรวงทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม. 2547. *มลพิษทางน้ำ*. [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: http://www.pcd.go.th/info_serv/reg_polwater.html [12 พฤษภาคม 2557]

กรุงเทพธุรกิจ. 2552. *หมดปัญหากลิ่นอับด้วยผงซักฟอกนาโน*. [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: http://www.bangkokbiznews.com./home/detail/it/innovation/20090316/25193/หมดปัญหากลิ่นอับด้วย..ผงซักฟอกนาโน.html [12 พฤษภาคม 2557]

สกุลทิพย์ นูมหันต์. 2555. *ผลของอนุภาคเงินขนาดนาโนเมตรต่อสัณฐานวิทยาของเซลล์, อัตราการเจริญเติบโตและเวลาที่ใช้ในแต่ละชั่วรุ่นของซิลิเอต* Colpoda *sp.*, Paramecium *sp. และ* Telotrochidium *sp.* โครงการการเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์ ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

สุดาสวรรค์ ลิ้มรักษา. 2555. *ความเป็นพิษของโลหะหนักต่อซิลิเอตทะเล* Euplotes *sp. ที่สกัดแยกจากหาดลูกลม เกาะแสมสาร จังหวัดชลบุรี*. โครงการการเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์ ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม, กระทรวงอุตสาหกรรม. 2549. *การกำหนดให้ผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมผงซักฟอกต้องเป็นไปตามมาตรฐาน*. [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: http://app.tisi.go.th/compulsory_news/78_2.html [8 พฤศจิกายน 2557]

Abraham–Peskir, J. V. 1998. Structural changes in fully hydrated *Chilomonas paramecium* exposed to copper. *European Journal of Protistology*. 34: 51–57.

Ahn, J.–M., Eom, H.–J., Yang, X., Meyer, J. N., and Choi, J. 2014. Comparative toxicity of silver nanoparticles on oxidative stress and DNA damage in the nematode, *Caenorhabditis elegans*. *Chemosphere*. 108: 343–352.

Azizullah, A., Richter, P., and Häder, D.–P. 2011a. Toxicity assessment of a common laundry detergent using the freshwater flagellate *Euglena gracilis*. *Chemosphere*. 84: 1392–1400.

Azizullah, A., Nasir, A., Richter, P., Lebert, M., and Häder, D.–P. 2011b. Evaluation of the adverse effects of two commonly used fertilizers, DAP and urea, on motility and orientation of the green flagellate *Euglena gracilis*. *Environmental and Experimental Botany*. 74: 140–150.

Chislock, M. F., Doster, E., Zitomer, R. A., and Wilson, A. E. 2013. Eutrophication: causes, consequences, and controls in aquatic ecosystems. *Nature Education Knowledge*. 4: 10.

Correll, D. L. 1998. The role of phosphorus in the eutrophication of receiving waters: A review. *Journal of Environmental Quality*. 27: 261–266.

Farmer, J. N. 1980. *The protozoa: Introduction to protozoology*. London: The C.V. Mosby.

Hussain, M. M., Amanchi, N. R., Solanki V. R., and Bhagavathi, M. 2008. Low cost microbioassay test for assessing cytopathological and physiological responses of ciliate model *Paramecium caudatum* to carbofuran pesticide. *Pesticide Biochemistry and Physiology*. 90: 66–70.

Lee, S., Basu, S., Tyler, C. W., and Wei, I. W. 2004. Ciliate populations as bio-indicators at Deer Island Treatment Plant. *Advances in Environmental Research*. 8: 371–378.

Madoni, P. and Romeo, M. G. 2006. Acute toxicity of heavy metals towards freshwater ciliated protists. *Environmental Pollution*. 141: 1–7.

Madoni, P., Davoli, D., and Gorbi, G. 1994. Acute toxicity of lead, chromium, and other heavy metals to ciliates from activated sludge plants. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*. 53: 420–425.

Madoni, P., Esteban, G., and Gorbi, G. 1992. Acute toxicity of cadmium, copper, mercury, and zinc to ciliates from activated sludge plants. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*. 49: 900–905.

Massarsky, A., Dupuis, L., Taylor, J., Eisa-Beygi, S., Strek, L., Trudeau, V. L., and Moon, T. W. 2013. Assessment of nanosilver toxicity during zebrafish (*Danio rerio*) development. *Chemosphere*. 92: 59–66.

Poli, F., Pancaldi, S., Dall'Olio, G., and Vannini, G. L. 1985. Cytoskeletal structures in *Euglena gracilis* after triton X-100 extraction and dry cleaving. *Protoplasma*. 128: 218–223.

Prozialeck, W. C. and Niewenhuis, R. J. 1991. Cadmium (Cd^{2+}) disrupts intercellular junctions and actin filaments in LLC-PK1 cells. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 107: 81–97.

Rainbow, P. S. and Luoma, S. N. 2011. Metal toxicity, uptake and bioaccumulation in aquatic invertebrates–Modelling zinc in crustaceans. *Aquatic Toxicology*. 105: 455–465.

Riess, M. H. and Grimme, L. H. 1993. Studies on surfactant toxicity to the freshwater alga *Chlorella fusca*: a common mode of action? *Science of The Total Environment*. 551–558.

Scott, A. 2002. Study provides economic case for ban on STPP in detergents. *Chemical Week*. 164: 15.

Shiao, Y.–J., Chen, J.–C., and Wang, C.–T. 1989. The solubilization and morphological change of human platelets in various detergents. *Biochimica et Biophysica Acta*. 980: 56–68.

Twagilimana, L., Bohatier, J., Groliere, C. A., Bonnemoy, F., and Sargos, D. 1998. A new low-cost microbiotest with the protozoan *Spirostomum teres*: Culture conditions and assessment of sensitivity of the ciliate to 14 pure chemicals. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 41: 231–244.

Venkateswara Rao, J., Srikanth, K., Arepalli, S. K., and Gunda, V. G. 2006. Toxic effects of acephate on *Paramecium caudatum* with special emphasis on morphology, behaviour, and generation time. *Pesticide Biochemistry and Physiology*. 86: 131–137.

Wetzel, R. G. 2001. *Limnology*. 3rd ed. San Diego, CA, USA: Academic Press.

ตารางที่ 1 ผลการทดสอบความเป็นพิษของผงซักฟอกสูตรทั่วไปต่อเซลล์ *C. paramecium* ของชุดการทดลองที่ 1 สุ่มนับครั้งละ 10 ไมโครลิตร จำนวน 3 ครั้ง

ความเข้มข้นของผงซักฟอกสูตรทั่วไป (mg/l)	จำนวนเซลล์ *C. paramecium* ที่อยู่รอด (เซลล์)													จำนวนเซลล์ที่อยู่รอด* (เซลล์)	เปอร์เซ็นต์การอยู่รอด** (%)
	การทดสอบซ้ำครั้งที่ 1			การทดสอบซ้ำครั้งที่ 2			การทดสอบซ้ำครั้งที่ 3			การทดสอบซ้ำครั้งที่ 4			รวม		
	นับครั้งที่ 1	นับครั้งที่ 2	นับครั้งที่ 3	นับครั้งที่ 1	นับครั้งที่ 2	นับครั้งที่ 3	นับครั้งที่ 1	นับครั้งที่ 2	นับครั้งที่ 3	นับครั้งที่ 1	นับครั้งที่ 2	นับครั้งที่ 3			
control	233	303	279	197	162	177	220	250	287	273	259	262	2902	24183.33	100
10	229	376	272	243	306	202	262	213	267	287	270	290	3217	26808.33	110.86
15	204	217	298	246	131	191	227	192	198	195	168	194	2461	20508.33	84.80
20	161	109	167	111	169	130	209	165	172	120	97	165	1775	14791.67	61.16
25	67	67	59	67	80	54	61	72	53	52	53	65	750	6250	25.84
30	33	30	57	29	28	19	27	27	24	28	13	16	331	2758.33	11.41
35	9	15	8	9	7	6	11	11	15	1	3	2	97	808.33	3.34
40	6	7	7	0	1	0	0	0	0	0	0	0	21	175	0.72

* จำนวนเซลล์ที่อยู่รอด (เซลล์ต่อมิลลิลิตร) คำนวณจาก จำนวนเซลล์ *C. paramecium* ที่อยู่รอดที่นับได้ทั้งหมด / จำนวนครั้งที่นับ × 100

** เปอร์เซ็นต์การอยู่รอดคำนวณจาก จำนวนเซลล์ที่อยู่รอด (เซลล์ต่อมิลลิลิตร) / จำนวนเซลล์ที่อยู่รอดของชุดควบคุม (control) (เซลล์ต่อมิลลิลิตร) x 100

ตารางที่ 2 ผลการทดสอบความเป็นพิษของผงซักฟอกสูตรทั่วไปต่อเซลล์ *C. paramecium* ของชุดการทดลองที่ 2 สุ่มนับครั้งละ 10 ไมโครลิตร จำนวน 3 ครั้ง

ความเข้มข้นของผงซักฟอกสูตรทั่วไป (mg/l)	จำนวนเซลล์ *C. paramecium* ที่อยู่รอด (เซลล์)													จำนวนเซลล์ที่อยู่รอด* (เซลล์)	เปอร์เซ็นต์การอยู่รอด** (%)
	การทดสอบซ้ำครั้งที่ 1			การทดสอบซ้ำครั้งที่ 2			การทดสอบซ้ำครั้งที่ 3			การทดสอบซ้ำครั้งที่ 4			รวม		
	นับครั้งที่ 1	นับครั้งที่ 2	นับครั้งที่ 3	นับครั้งที่ 1	นับครั้งที่ 2	นับครั้งที่ 3	นับครั้งที่ 1	นับครั้งที่ 2	นับครั้งที่ 3	นับครั้งที่ 1	นับครั้งที่ 2	นับครั้งที่ 3			
control	161	208	168	182	211	196	169	205	162	191	187	204	2244	18700	100
10	199	201	189	211	210	202	180	185	192	196	180	188	2333	19441.67	103.97
15	134	145	131	134	138	127	143	141	138	152	120	132	1635	13625	72.86
20	128	98	124	118	110	102	108	115	114	119	108	115	1359	11325	60.56
25	74	109	75	98	83	76	107	76	120	80	94	88	1080	9000	48.13
30	74	62	66	71	81	70	65	59	50	57	55	70	780	6500	34.76
35***	2	4	6	7	5	1	6	2	5	7	3	3	51	212.5	1.14
40***	6	7	9	4	2	2	4	2	1	3	2	0	42	175	0.94

* จำนวนเซลล์ที่อยู่รอด (เซลล์ต่อมิลลิลิตร) คำนวณจาก จำนวนเซลล์ *C. paramecium* ที่อยู่รอดที่นับได้ทั้งหมด / จำนวนครั้งที่นับ x 100

** เปอร์เซ็นต์การอยู่รอดคำนวณจาก จำนวนเซลล์ที่อยู่รอด (เซลล์ต่อมิลลิลิตร) / จำนวนเซลล์ที่อยู่รอดของชุดควบคุม (control) (เซลล์ต่อมิลลิลิตร) x 100

*** การสุ่มนับจำนวนเซลล์ที่อยู่รอดที่ความเข้มข้นนี้ ใช้ปริมาตรในการสุ่มนับครั้งละ 20 ไมโครลิตร เนื่องจากเซลล์ที่อยู่รอดมีจำนวนน้อยมาก ดังนั้น จำนวนเซลล์ที่อยู่รอด (เซลล์ต่อมิลลิลิตร) จะคำนวณจาก จำนวนเซลล์ *C. paramecium* ที่อยู่รอดที่นับได้ทั้งหมด / จำนวนครั้งที่นับ x 50

ตารางที่ 3 ผลการทดสอบความเป็นพิษของผงซักฟอกสูตรทั่วไปต่อเซลล์ *C. paramecium* ของชุดการทดลองที่ 3 สุ่มนับครั้งละ 10 ไมโครลิตร จำนวน 3 ครั้ง

ความเข้มข้นของผงซักฟอกสูตรทั่วไป (mg/l)	จำนวนเซลล์ *C. paramecium* ที่อยู่รอด (เซลล์)													จำนวนเซลล์ที่อยู่รอด* (เซลล์)	เปอร์เซ็นต์การอยู่รอด** (%)
	การทดสอบซ้ำครั้งที่ 1			การทดสอบซ้ำครั้งที่ 2			การทดสอบซ้ำครั้งที่ 3			การทดสอบซ้ำครั้งที่ 4			รวม		
	นับครั้งที่ 1	นับครั้งที่ 2	นับครั้งที่ 3	นับครั้งที่ 1	นับครั้งที่ 2	นับครั้งที่ 3	นับครั้งที่ 1	นับครั้งที่ 2	นับครั้งที่ 3	นับครั้งที่ 1	นับครั้งที่ 2	นับครั้งที่ 3			
control	198	121	204	148	135	190	137	178	130	140	162	185	1928	16066.67	100
10	244	187	220	154	144	260	156	164	158	139	161	196	2183	18191.67	113.23
15	140	159	170	127	121	175	138	165	203	159	211	140	1908	15900	98.96
20	117	126	149	51	79	180	142	123	151	149	148	198	1613	13441.67	83.66
25	104	132	110	114	91	107	105	75	77	131	115	96	1257	10475	65.20
30	109	73	95	78	49	100	26	41	15	89	84	67	826	6883.33	42.84
35	43	42	48	67	60	51	36	35	60	54	49	66	611	5091.67	31.69
40	6	6	4	3	5	6	7	7	5	0	5	2	56	466.67	2.90

* จำนวนเซลล์ที่อยู่รอด (เซลล์ต่อมิลลิลิตร) คำนวณจาก จำนวนเซลล์ *C. paramecium* ที่อยู่รอดที่นับได้ทั้งหมด / จำนวนครั้งที่นับ × 100

** เปอร์เซ็นต์การอยู่รอดคำนวณจาก จำนวนเซลล์ที่อยู่รอด (เซลล์ต่อมิลลิลิตร) / จำนวนเซลล์ที่อยู่รอดของชุดควบคุม (control) (เซลล์ต่อมิลลิลิตร) x 100

ตารางที่ 4 ผลการทดสอบความเป็นพิษของผงชักฟอกสูตรซิลเวอร์นาโนต่อเซลล์ *C. paramecium* ของชุดการทดลองที่ 1 สุ่มนับครั้งละ 10 ไมโครลิตร จำนวน 3 ครั้ง

ความเข้มข้นของผงชักฟอกสูตรซิลเวอร์นาโน (mg/l)	จำนวนเซลล์ *C. paramecium* ที่อยู่รอด (เซลล์)													จำนวนเซลล์ที่อยู่รอด* (เซลล์)	เปอร์เซ็นต์การอยู่รอด** (%)
	การทดสอบซ้ำครั้งที่ 1			การทดสอบซ้ำครั้งที่ 2			การทดสอบซ้ำครั้งที่ 3			การทดสอบซ้ำครั้งที่ 4			รวม		
	นับครั้งที่ 1	นับครั้งที่ 2	นับครั้งที่ 3	นับครั้งที่ 1	นับครั้งที่ 2	นับครั้งที่ 3	นับครั้งที่ 1	นับครั้งที่ 2	นับครั้งที่ 3	นับครั้งที่ 1	นับครั้งที่ 2	นับครั้งที่ 3			
control	314	297	234	290	260	240	256	302	340	307	244	313	3397	28308.33	100
5	395	360	347	290	298	275	287	309	275	289	290	298	3713	30941.67	109.30
10	345	248	284	291	292	285	301	276	337	273	295	308	3535	29458.33	104.06
15	295	223	238	228	240	235	263	298	285	269	240	225	3039	25325	89.46
20	132	221	219	226	244	309	253	185	192	265	201	275	2722	22683.33	80.13
25	81	68	106	104	85	80	112	112	120	107	120	113	1208	10066.67	35.56
30***	20	18	17	2	1	3	13	9	15	15	16	14	143	595.83	2.10

* จำนวนเซลล์ที่อยู่รอด (เซลล์ต่อมิลลิลิตร) คำนวณจาก จำนวนเซลล์ *C. paramecium* ที่อยู่รอดที่นับได้ทั้งหมด / จำนวนครั้งที่นับ × 100

** เปอร์เซ็นต์การอยู่รอดคำนวณจาก จำนวนเซลล์ที่อยู่รอด (เซลล์ต่อมิลลิลิตร) / จำนวนเซลล์ที่อยู่รอดของชุดควบคุม (control) (เซลล์ต่อมิลลิลิตร) x 100

*** การสุ่มนับจำนวนเซลล์ที่อยู่รอดที่ความเข้มข้นนี้ ใช้ปริมาตรในการสุ่มนับครั้งละ 20 ไมโครลิตร เนื่องจากเซลล์ที่อยู่รอดมีจำนวนน้อยมาก ดังนั้น จำนวนเซลล์ที่อยู่รอด (เซลล์ต่อมิลลิลิตร) จะคำนวณจาก จำนวนเซลล์ *C. paramecium* ที่อยู่รอดที่นับได้ทั้งหมด / จำนวนครั้งที่นับ × 50

ตารางที่ 5 ผลการทดสอบความเป็นพิษของผงซักฟอกสูตรซิลเวอร์นาโนต่อเซลล์ *C. paramecium* ของชุดการทดลองที่ 2 สุ่มนับครั้งละ 10 ไมโครลิตร จำนวน 3 ครั้ง

ความเข้มข้นของผงซักฟอกสูตรซิลเวอร์นาโน (mg/l)	จำนวนเซลล์ *C. paramecium* ที่อยู่รอด (เซลล์)													จำนวนเซลล์ที่อยู่รอด* (เซลล์)	เปอร์เซ็นต์การอยู่รอด** (%)
	การทดสอบซ้ำครั้งที่ 1			การทดสอบซ้ำครั้งที่ 2			การทดสอบซ้ำครั้งที่ 3			การทดสอบซ้ำครั้งที่ 4			รวม		
	นับครั้งที่ 1	นับครั้งที่ 2	นับครั้งที่ 3	นับครั้งที่ 1	นับครั้งที่ 2	นับครั้งที่ 3	นับครั้งที่ 1	นับครั้งที่ 2	นับครั้งที่ 3	นับครั้งที่ 1	นับครั้งที่ 2	นับครั้งที่ 3			
control	148	137	124	150	137	141	125	123	135	153	148	144	1665	13875	100
5	174	160	154	185	154	148	168	171	160	155	171	142	1942	16183.33	116.64
10	130	135	144	171	122	157	131	143	150	150	153	154	1740	14500	104.50
15	151	131	112	144	130	145	131	117	135	133	128	125	1582	13183.33	95.02
20	117	108	90	100	96	90	103	69	86	100	102	107	1168	9733.33	70.15
25	71	74	74	69	51	70	87	50	60	80	42	65	793	6608.33	47.63
30	71	32	39	62	43	46	51	38	38	68	66	50	604	5033.33	36.28

* จำนวนเซลล์ที่อยู่รอด (เซลล์ต่อมิลลิลิตร) คำนวณจาก จำนวนเซลล์ *C. paramecium* ที่อยู่รอดที่นับได้ทั้งหมด / จำนวนครั้งที่นับ x 100

** เปอร์เซ็นต์การอยู่รอดคำนวณจาก จำนวนเซลล์ที่อยู่รอด (เซลล์ต่อมิลลิลิตร) / จำนวนเซลล์ที่อยู่รอดของชุดควบคุม (control) (เซลล์ต่อมิลลิลิตร) x 100

ตารางที่ 6 ผลการทดสอบความเป็นพิษของผงซักฟอกสูตรซิลเวอร์นาโนต่อเซลล์ *C. paramecium* ของชุดการทดลองที่ 3 สุ่มนับครั้งละ 10 ไมโครลิตร จำนวน 3 ครั้ง

ความเข้มข้นของผงซักฟอกสูตรซิลเวอร์นาโน (mg/l)	จำนวนเซลล์ *C. paramecium* ที่อยู่รอด (เซลล์)													จำนวนเซลล์ที่อยู่รอด* (เซลล์)	เปอร์เซ็นต์การอยู่รอด** (%)
	การทดสอบซ้ำครั้งที่ 1			การทดสอบซ้ำครั้งที่ 2			การทดสอบซ้ำครั้งที่ 3			การทดสอบซ้ำครั้งที่ 4			รวม		
	นับครั้งที่ 1	นับครั้งที่ 2	นับครั้งที่ 3	นับครั้งที่ 1	นับครั้งที่ 2	นับครั้งที่ 3	นับครั้งที่ 1	นับครั้งที่ 2	นับครั้งที่ 3	นับครั้งที่ 1	นับครั้งที่ 2	นับครั้งที่ 3			
control	130	164	147	160	146	197	145	130	139	177	152	169	1856	15466.67	100
5	226	215	244	190	182	171	185	192	197	175	209	186	2372	19766.67	127.80
10	150	177	157	165	149	144	180	133	140	173	141	181	1890	15750	101.83
15	71	88	72	128	116	105	127	145	129	144	122	133	1380	11500	74.35
20	101	92	105	114	99	97	79	92	108	65	69	70	1091	9091.67	58.78
25	64	40	54	70	60	45	64	60	46	42	50	56	651	5425	35.08
30	30	23	29	27	28	33	24	30	38	37	28	35	362	3016.67	19.50

* จำนวนเซลล์ที่อยู่รอด (เซลล์ต่อมิลลิลิตร) คำนวณจาก จำนวนเซลล์ *C. paramecium* ที่อยู่รอดที่นับได้ทั้งหมด / จำนวนครั้งที่นับ x 100

** เปอร์เซ็นต์การอยู่รอดคำนวณจาก จำนวนเซลล์ที่อยู่รอด (เซลล์ต่อมิลลิลิตร) / จำนวนเซลล์ที่อยู่รอดของชุดควบคุม (control) (เซลล์ต่อมิลลิลิตร) x 100

ตารางที่ 7 ผลการทดสอบความเป็นพิษของสารละลายของสารประกอบซิลเวอร์ไนเตรทต่อเซลล์ *C. paramecium* ของชุดการทดลองที่ 1 สุ่มนับครั้งละ 10 ไมโครลิตร จำนวน 3 ครั้ง

ความเข้มข้นของสารละลายซิลเวอร์ไนเตรท (mg/l)	จำนวนเซลล์ *C. paramecium* ที่อยู่รอด (เซลล์)													จำนวนเซลล์ที่อยู่รอด* (เซลล์)	เปอร์เซ็นต์การอยู่รอด** (%)
	การทดสอบซ้ำครั้งที่ 1			การทดสอบซ้ำครั้งที่ 2			การทดสอบซ้ำครั้งที่ 3			การทดสอบซ้ำครั้งที่ 4			รวม		
	นับครั้งที่ 1	นับครั้งที่ 2	นับครั้งที่ 3	นับครั้งที่ 1	นับครั้งที่ 2	นับครั้งที่ 3	นับครั้งที่ 1	นับครั้งที่ 2	นับครั้งที่ 3	นับครั้งที่ 1	นับครั้งที่ 2	นับครั้งที่ 3			
control	103	95	94	93	80	113	89	91	115	98	128	100	1199	9991.67	100
0.005	98	80	102	97	79	84	71	78	81	85	81	104	1040	8666.67	86.74
0.010	81	78	80	98	73	62	75	83	77	100	105	93	1005	8375	83.82
0.015	57	73	71	59	70	58	82	60	62	54	62	69	777	6475	64.80
0.025	39	21	24	38	36	32	37	30	34	20	32	35	378	3150	31.53
0.035	19	19	17	14	16	24	27	22	25	13	18	22	236	1966.67	19.68
0.045	24	23	17	16	13	18	18	5	18	30	19	19	220	1833.33	18.35

* จำนวนเซลล์ที่อยู่รอด (เซลล์ต่อมิลลิลิตร) คำนวณจาก จำนวนเซลล์ *C. paramecium* ที่อยู่รอดที่นับได้ทั้งหมด / จำนวนครั้งที่นับ × 100

** เปอร์เซ็นต์การอยู่รอดคำนวณจาก จำนวนเซลล์ที่อยู่รอด (เซลล์ต่อมิลลิลิตร) / จำนวนเซลล์ที่อยู่รอดของชุดควบคุม (control) (เซลล์ต่อมิลลิลิตร) x 100

ตารางที่ 8 ผลการทดสอบความเป็นพิษของสารละลายของสารประกอบซิลเวอร์ไนเตรทต่อเซลล์ *C. paramecium* ของชุดการทดลองที่ 2 สุ่มนับครั้งละ 10 ไมโครลิตร จำนวน 3 ครั้ง

ความเข้มข้นของสารละลายซิลเวอร์ไนเตรท (mg/l)	จำนวนเซลล์ *C. paramecium* ที่อยู่รอด (เซลล์)													จำนวนเซลล์ที่อยู่รอด* (เซลล์)	เปอร์เซ็นต์การอยู่รอด** (%)
	การทดสอบซ้ำครั้งที่ 1			การทดสอบซ้ำครั้งที่ 2			การทดสอบซ้ำครั้งที่ 3			การทดสอบซ้ำครั้งที่ 4			รวม		
	นับครั้งที่ 1	นับครั้งที่ 2	นับครั้งที่ 3	นับครั้งที่ 1	นับครั้งที่ 2	นับครั้งที่ 3	นับครั้งที่ 1	นับครั้งที่ 2	นับครั้งที่ 3	นับครั้งที่ 1	นับครั้งที่ 2	นับครั้งที่ 3			
control	349	288	266	260	275	210	234	198	170	229	186	252	2917	24308.33	100
0.005	192	204	179	298	283	242	239	223	194	241	210	191	2696	22466.67	92.42
0.010	205	165	203	168	235	214	260	168	162	275	257	221	2533	21108.33	86.84
0.015	210	159	162	195	188	203	213	206	226	200	254	199	2415	20125	82.79
0.025	227	228	175	246	257	226	101	178	182	154	137	177	2288	19066.67	78.44
0.035	215	209	117	160	154	164	144	138	151	200	210	195	2057	17141.67	70.52
0.045	143	132	111	97	65	65	105	91	95	122	140	137	1303	10858.33	44.67

* จำนวนเซลล์ที่อยู่รอด (เซลล์ต่อมิลลิลิตร) คำนวณจาก จำนวนเซลล์ *C. paramecium* ที่อยู่รอดที่นับได้ทั้งหมด / จำนวนครั้งที่นับ x 100

** เปอร์เซ็นต์การอยู่รอดคำนวณจาก จำนวนเซลล์ที่อยู่รอด (เซลล์ต่อมิลลิลิตร) / จำนวนเซลล์ที่อยู่รอดของชุดควบคุม (control) (เซลล์ต่อมิลลิลิตร) x 100

ตารางที่ 9 ผลการทดสอบความเป็นพิษของสารละลายของสารประกอบซิลเวอร์ไนเตรทต่อเซลล์ *C. paramecium* ของชุดการทดลองที่ 3 สุ่มนับครั้งละ 10 ไมโครลิตร จำนวน 3 ครั้ง

ความเข้มข้นของสารละลายซิลเวอร์ไนเตรท (mg/l)	จำนวนเซลล์ *C. paramecium* ที่อยู่รอด (เซลล์)													จำนวนเซลล์ที่อยู่รอด* (เซลล์)	เปอร์เซ็นต์การอยู่รอด** (%)
	การทดสอบซ้ำครั้งที่ 1			การทดสอบซ้ำครั้งที่ 2			การทดสอบซ้ำครั้งที่ 3			การทดสอบซ้ำครั้งที่ 4			รวม		
	นับครั้งที่ 1	นับครั้งที่ 2	นับครั้งที่ 3	นับครั้งที่ 1	นับครั้งที่ 2	นับครั้งที่ 3	นับครั้งที่ 1	นับครั้งที่ 2	นับครั้งที่ 3	นับครั้งที่ 1	นับครั้งที่ 2	นับครั้งที่ 3			
control	228	176	205	184	136	146	194	185	183	171	155	188	2151	17925	100
0.005	142	150	135	199	180	216	161	140	118	211	112	116	1880	15666.67	87.40
0.010	100	81	78	214	136	150	89	96	103	197	169	156	1569	13075	72.94
0.015	93	86	98	57	59	61	114	105	90	156	128	140	1187	9891.67	55.18
0.025	76	67	64	113	101	107	140	131	118	49	53	59	1078	8983.33	50.12
0.035	88	100	86	87	76	104	86	60	55	51	53	54	900	7500	41.84
0.045	42	45	36	43	39	26	34	28	20	22	26	24	385	3208.33	17.90

* จำนวนเซลล์ที่อยู่รอด (เซลล์ต่อมิลลิลิตร) คำนวณจาก จำนวนเซลล์ *C. paramecium* ที่อยู่รอดที่นับได้ทั้งหมด / จำนวนครั้งที่นับ x 100

** เปอร์เซ็นต์การอยู่รอดคำนวณจาก จำนวนเซลล์ที่อยู่รอด (เซลล์ต่อมิลลิลิตร) / จำนวนเซลล์ที่อยู่รอดของชุดควบคุม (control) (เซลล์ต่อมิลลิลิตร) x 100

ประวัติคณะผู้วิจัย

1. ชื่อ - นามสกุล (ภาษาไทย) นายชิดชัย จันทร์ตั้งสี
   ชื่อ - นามสกุล (ภาษาอังกฤษ) Mr. Chitchai Chantangsi
2. เลขหมายบัตรประจำตัวประชาชน 3 1002 00170 19 1
3. ตำแหน่งปัจจุบัน อาจารย์ ดร.
4. หน่วยงานและสถานที่อยู่ที่ติดต่อได้สะดวก พร้อมหมายเลขโทรศัพท์ โทรศัพท์มือถือ โทรสาร และ E-mail

   ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
   254 ถนนพญาไท แขวงวังใหม่ เขตปทุมวัน กรุงเทพมหานคร 10330

โทรศัพท์	02-218-5378
โทรศัพท์มือถือ	086-733-7080
โทรสาร	02-218-5386
E-mail	Chitchai.C@Chula.ac.th, chantangsi01@hotmail.com

5. ประวัติการศึกษาต้องระบุสถาบันการศึกษา สาขาวิชาและปีที่จบการศึกษา

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย	วท.บ. (ชีววิทยา)	ปี 2544
University of Guelph ประเทศแคนาดา	M.Sc. (Biology)	ปี 2549
University of British Columbia ประเทศแคนาดา	Ph.D. (Zoology)	ปี 2552

6. สาขาวิชาการที่มีความชำนาญพิเศษ (แตกต่างจากวุฒิการศึกษา) ระบุสาขาวิชาการ

   โพรติสต์วิทยา (Protistology), ปรสิตวิทยา (Parasitology)

7. ประสบการณ์ที่เกี่ยวข้องกับการบริหารงานวิจัยทั้งภายในและภายนอกประเทศ (โดยระบุสถานภาพในการทำการวิจัยว่าเป็นผู้อำนวยการแผนงานวิจัย หัวหน้าโครงการวิจัย หรือ ผู้ร่วมวิจัยในแต่ละข้อเสนอการวิจัย)

   7.1. หัวหน้าโครงการวิจัย :

   - การจำแนกชนิดของโพรติสต์บางชนิดที่พบในเกาะแสมสาร จังหวัดชลบุรี โดยวิธีทางชีวโมเลกุล (หัวหน้าโครงการวิจัย)
   - การศึกษาสัณฐานวิทยาและวิวัฒนาการเชิงโมเลกุลของแอลวีโอเลตที่เป็นปรสิตบางชนิด (หัวหน้าโครงการวิจัย)
   - การตรวจหาสาเหตุและวิธีการตรวจวินิจฉัยโรคตายด่วนในกุ้งทะเลเลี้ยงของไทย (ผู้ร่วมวิจัย)
   - ความหลากหลายเชิงโมเลกุลของซิลิเอตหน้าดินจากหาดลูกลม เกาะแสมสาร จังหวัดชลบุรี (หัวหน้าโครงการวิจัย)
   - สัณฐานวิทยาและข้อมูลชีวโมเลกุลของปรสิตบางชนิด (ผู้ร่วมวิจัย)
   - การประยุกต์ใช้ความหลากหลายทางชีวภาพของซิลิเอตทะเลหน้าดินจากหาดลูกลม เกาะแสมสาร จังหวัดชลบุรี ในการประเมินความเป็นพิษของโลหะหนักในห้องปฏิบัติการ (หัวหน้าโครงการวิจัย)
   - การหาช่วงรหัสดีเอ็นเอที่เหมาะสมในลำดับนิวคลีโอไทด์ของไรโบโซมอลดีเอ็นเอเพื่อใช้ในการระบุชนิดของซิลิเอตทะเลหน้าดินจากหาดลูกลม เกาะแสมสาร จังหวัดชลบุรี (หัวหน้าโครงการวิจัย)

- การประยุกต์ใช้โพรติสต์จากพื้นที่ อพ.สธ. ในการประเมินความเป็นพิษของมลพิษในห้องปฏิบัติการ: กรณีศึกษาของผงซักฟอก (หัวหน้าโครงการวิจัย)

7.2. งานวิจัยที่เกี่ยวข้องและทำเสร็จแล้ว :

(ชื่อผลงานวิจัย ปีที่พิมพ์ การเผยแพร่ และแหล่งทุนย้อนหลังไม่เกิน 5 ปี)

- Chantangsi, C., Lynn, D. H., Rueckert, S., Prokopowicz, A. J., Panha, S., and Leander, B. S. 2013. *Fusiforma themisticola* n. gen., n. sp., a new genus and species of apostome ciliate infecting the hyperiid amphipod *Themisto libellula* in the Canadian Beaufort Sea (Arctic Ocean), and establishment of the Pseudocolliniidae (Ciliophora, Apostomatia). Protist. 164: 793–810. [IF2012 = 4.140] [ทุนพัฒนาศักยภาพในการทำงานวิจัยของอาจารย์รุ่นใหม่ (สกว. ร่วมกับสำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา และมหาวิทยาลัยต้นสังกัด) (2555–2557)]
- Pudpong, S. and Chantangsi, C. 2015. Effects of four heavy metals on cell morphology and survival rate of the ciliate *Bresslauides* sp. *Tropical Natural History*. 15(2): 117–125. [ทุน 90 ปี จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กองทุนรัชดาภิเษกสมโภช]
- Gentekaki, E. and Chantangsi, C. 2017. Low-level genetic diversity of opalinid morphotypes from the digestive tract of *Hoplobatrachus rugulosus* (Batrachia, Amphibia) in Thailand. *Acta Protozoologica*. 56(4): in press. [IF2015 = 1.491] [กองทุนรัชดาภิเษกสมโภช จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย]
- สุชา เฉยศิริ, มาลินี ฉัตรมงคลกุล และ ชิดชัย จันทร์ตั้งสี. 2556. การเปิดเผยความหลากหลายของซิลิเอตที่ถูกซ่อนเร้น: กรณีศึกษาซิลิเอตที่อาศัยตามทรายชายฝั่งทะเล พื้นที่หาดลูกลม เกาะแสมสาร จังหวัดชลบุรี ประเทศไทย. *การประชุมวิชาการชมรมคณะปฏิบัติงานวิทยาการ อพ.สธ. ครั้งที่ 6 "ทรัพยากรไทย: นำสิ่งดีงามสู่ตาโลก" 21–23 ธันวาคม พ.ศ. 2556 ณ เขื่อนศรีนครินทร์ อำเภอศรีสวัสดิ์ จังหวัดกาญจนบุรี*. หน้า 279–287. [ทุน 90 ปี จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กองทุนรัชดาภิเษกสมโภช และ โครงการวิจัยภายใต้โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี สนองพระราชดำริโดยจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย (อพ.สธ.-จฬ.)]
- มาลินี ฉัตรมงคลกุล, พงษ์ชัย ดำรงโรจน์วัฒนา และ ชิดชัย จันทร์ตั้งสี. 2556. ระบบนิเวศแหล่งน้ำจืด. ใน ผุสตี ปริยานนท์ (บรรณาธิการ), *การวิจัยและพัฒนาทรัพยากรอย่างยั่งยืนสู่เศรษฐกิจพอเพียง*. หน้า 10–32. โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี. บริษัท สิรบุตรการพิมพ์ จำกัด กรุงเทพฯ. [โครงการวิจัยภายใต้โครงการ อพ.สธ.-จฬ.]
- ศุภสิณี ผุดผ่อง และ ชิดชัย จันทร์ตั้งสี. 2558. การใช้ซิลิเอต *Telotrochidium* sp. ที่คัดแยกจากน้ำทิ้งอุตสาหกรรมในการประเมินความเป็นพิษและการกำจัดโลหะหนักในห้องปฏิบัติการ. *วารสารวิทยาศาสตร์*. 69(4): 83–89. [ทุน 90 ปี จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กองทุนรัชดาภิเษกสมโภช]
- ชิดชัย จันทร์ตั้งสี, สถาพร บุตรน้ำเพ็ชร, สุชา เฉยศิริ และ มาลินี ฉัตรมงคลกุล. 2559. การศึกษาความหลากหลายเชิงโมเลกุลของซิลิเอตหน้าดินจากหาดลูกลม เกาะแสมสาร จังหวัดชลบุรี. ใน ผุสตี ปริยานนท์ (บรรณาธิการ), *อนุรักษ์และใช้ประโยชน์ "ทรัพยากรจากผืนทรายสู่ใต้ทะเล"*. หน้า 8–10. โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี. บริษัท สิรบุตรการพิมพ์ จำกัด กรุงเทพฯ. [โครงการวิจัยภายใต้โครงการ อพ.สธ.-จฬ.]

- ชิดชัย จันทร์ตั้งสี, สุชา เฉยศิริ และ มาลินี ฉัตรมงคลกุล. 2559. การจำแนกโพรติสต์บางชนิดที่พบในเกาะแสมสาร จังหวัดชลบุรี โดยวิธีทางชีวโมเลกุล. ใน ผุสตี ปริยานนท์ (บรรณาธิการ), *อนุรักษ์และใช้ประโยชน์ "ทรัพยากรจากฝืนทรายสู่ใต้ทะเล"*. หน้า 11–14. โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี. บริษัท สิรบุตรการพิมพ์ จำกัด กรุงเทพฯ. [โครงการวิจัยภายใต้โครงการ อพ.สธ.-จฬ.]
- ชิดชัย จันทร์ตั้งสี และ สุชา เฉยศิริ. 2560. *ซิลิเอต...ชีวิตในฝืนทราย*. โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี. บริษัท สิรบุตรการพิมพ์ จำกัด กรุงเทพฯ. 104 หน้า. [ทุน 90 ปี จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กองทุนรัชดาภิเษกสมโภช และโครงการวิจัยภายใต้โครงการ อพ.สธ.-จฬ.]

7.3. งานวิจัยที่กำลังทำ :

(ชื่อโครงการวิจัย แหล่งทุน และสถานภาพในการทำวิจัย (ผู้บริหารโครงการ หัวหน้าโครงการ และ/หรือผู้ร่วมวิจัย) ระบุเดือน และปีที่เริ่มต้นและสิ้นสุด)

- ทุนพัฒนาศักยภาพในการทำงานวิจัยของอาจารย์รุ่นใหม่ (สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัยร่วมกับมหาวิทยาลัยต้นสังกัด) (หัวหน้าโครงการวิจัย) [มิถุนายน 2557–ปัจจุบัน]
  เรื่อง "การศึกษาสัณฐานวิทยาและการระบุเชิงโมเลกุลของปรสิตกรีการีนในกุ้งขาวเลี้ยง *Litopenaeus vannamei*"
- โครงการวิจัย Sci-Super โครงการส่งเสริมการทำงานวิจัยเชิงลึกในสาขาวิชาที่มีศักยภาพสูง กองทุนรัชดาภิเษกสมโภชปี 2558 (คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย) (หัวหน้าโครงการวิจัย) [กรกฎาคม 2557–ปัจจุบัน]
  เรื่อง "การตรวจจำแนกเชิงโมเลกุลหาปรสิตที่พบติดเชื้อในหอยแครง *Tegillarca granosa* (Linnaeus, 1758) จากจังหวัดสมุทรปราการ โดยการวินิจฉัยด้วยเทคนิคพีซีอาร์"