

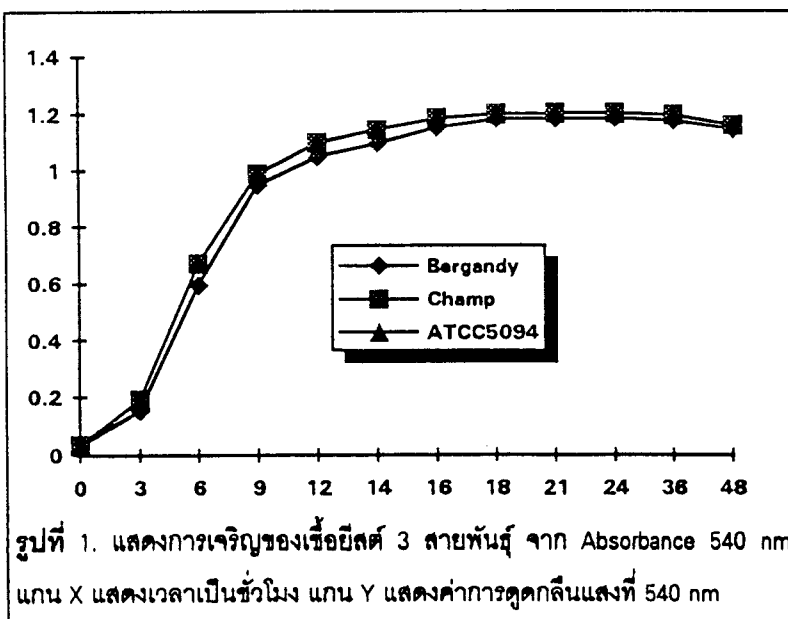
บทที่ 4 ผลการทดลอง

1. การเจริญของเชื้อยีสต์

เพื่อศึกษาการเจริญของเชื้อยีสต์แต่ละสายพันธุ์ ด้วยการวัดจากค่า Absorbance ที่ความยาวคลื่น 540 nm และน้ำหนักเซลล์แห้ง (mg/ml)

ตารางที่ 1 แสดงการเจริญของเชื้อยีสต์ทั้ง 3 สายพันธุ์ ด้วยค่า Absorbance 540 nm. และน้ำหนักเซลล์แห้ง

time (h)	<i>S.cerevisiae</i> (Bergandy)		<i>S.cerevisiae</i> (Champ.)		<i>S.cerevisiae</i> ATcc5094	
	Absorbance	Dry wt	Absorbance	Dry wt	Absorbance	Dry wt
	540 nm.	(mg/ml)	540 nm.	(mg/ml)	540 nm.	(mg/ml)
0.0000	0.0350	0.1500	0.0360	0.1000	0.0360	0.1500
3.0000	0.1530	0.2100	0.1920	0.2900	0.1920	0.2500
6.0000	0.5950	0.3400	0.6710	0.4000	0.6710	0.4400
9.0000	0.9480	0.4800	0.9890	0.6200	0.9890	0.6600
12.0000	1.0490	0.6900	1.0970	0.8100	1.0970	0.7600
14.0000	1.0950	0.3000	1.1460	0.9200	1.1460	0.8400
16.0000	1.1520	0.8400	1.1850	1.0900	1.1850	0.9300
18.0000	1.1830	0.9900	1.2010	1.2200	1.2010	1.1000
21.0000	1.1830	1.0100	1.2020	1.2100	1.2020	1.1200
24.0000	1.1840	1.0000	1.2030	1.2000	1.2030	1.1300
36.0000	1.1760	0.9800	1.1950	1.2000	1.1950	1.1100
48.0000	1.1460	0.9900	1.1610	1.2100	1.1610	1.0900



จากผลการทดลองทำให้ทราบเวลาในการเลี้ยงเซลล์ให้มีการเจริญเต็มที่ ซึ่งเวลา 18 ชั่วโมง เป็นเวลาที่เหมาะสม ได้น้ำหนักแห้งประมาณ 0.75-1.25 mg/ml. เพื่อเก็บเกี่ยวเซลล์ไปใช้ในการทดลองต่อไป

2. ผลของ Zn ต่อการเจริญของเชื้อยีสต์

เพื่อศึกษาว่าการเลี้ยงเชื้อยีสต์แต่ละสายพันธุ์ในอาหารที่มีความเข้มข้นของสังกะสี 5, 10 หรือ 20 ppm. ว่ามีผลต่อการเจริญของเชื้อยีสต์หรือไม่ โดยการวัดการเจริญด้วยเครื่อง Spectrophotometer เป็นค่า Absorbance ที่ 540 nm.

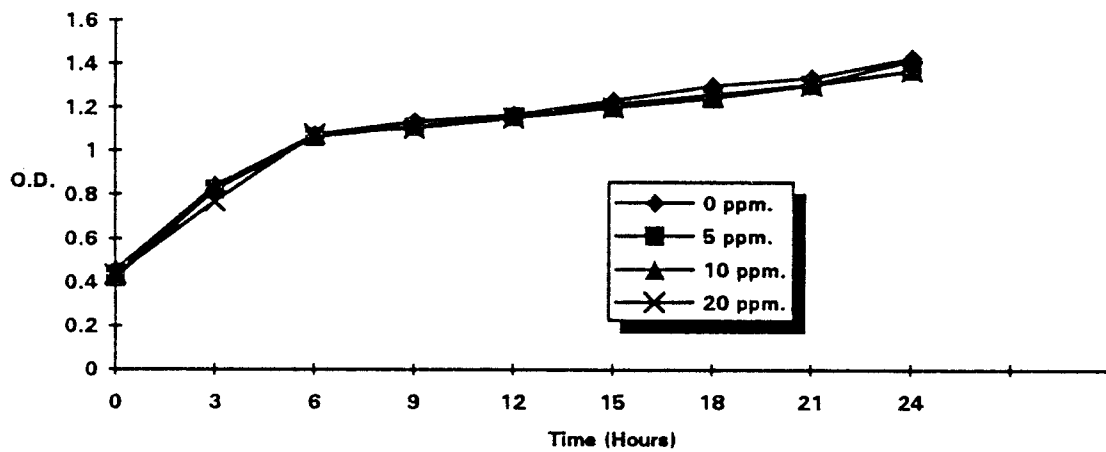
ตารางที่ 2 แสดงการเจริญของเชื้อยีสต์แต่ละสายพันธุ์ ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีความเข้มข้นของสังกะสี 5, 10 หรือ 20 ppm. เป็นค่า Absorbance ที่ 540 nm.

Time (h)	Growth of <i>S.cerevisiae</i> (Bergandy) Absorbance	Concentration (ppm)		
		5	10	20
0.0000	0.4610	0.4220	0.4430	0.4355
3.0000	0.8430	0.8220	0.8350	0.7690
6.0000	1.0740	1.0630	1.0670	1.0771
9.0000	1.1370	1.1120	1.1320	1.1030
12.0000	1.1710	1.1580	1.1700	1.1520
15.0000	1.2350	1.2020	1.2190	1.2010
18.0000	1.3020	1.2450	1.2640	1.2530
21.0000	1.3400	1.3080	1.3100	1.3050
24.0000	1.4320	1.3750	1.4191	1.3730

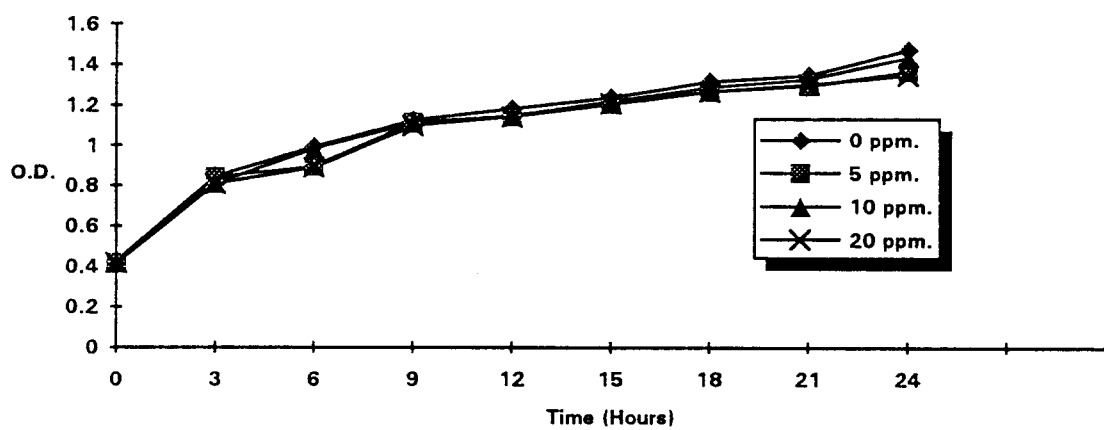


Time (h)	Growth of	Concentration		
	<i>S.cerevisiae</i>	(ppm)		
	(champ)	5	10	20
Absorbance				
0.0000	0.4300	0.4180	0.4180	0.4150
3.0000	0.8480	0.8450	0.8120	0.8100
6.0000	0.9940	1.8980	1.9860	1.8900
9.0000	1.1270	1.1130	1.1140	1.1000
12.0000	1.1820	1.1410	1.1500	1.1410
15.0000	1.2390	1.2060	1.2220	1.2090
18.0000	1.3180	1.2670	1.2890	1.2690
21.0000	1.3510	1.2950	1.3320	1.3060
24.0000	1.4740	1.3680	1.4360	1.3500

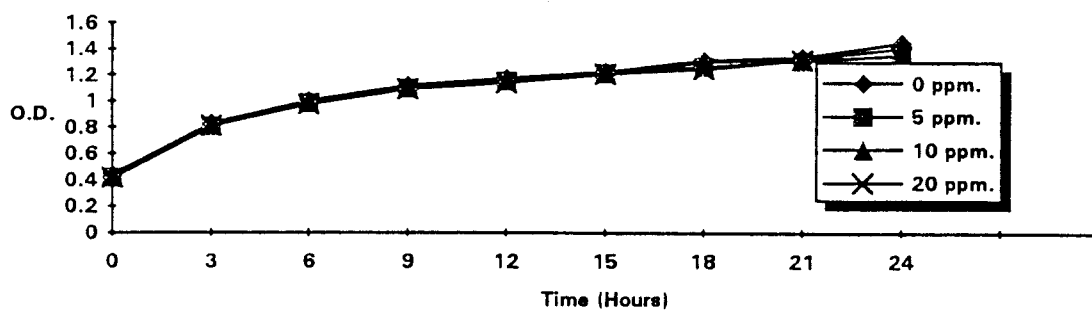
Time (h)	Growth of	Concentration		
	<i>S.cerevisiae</i>	(ppm)		
	ATCC 5094	5	10	20
Absorbance				
0.0000	0.4420	0.4160	0.4310	0.4180
3.0000	0.8330	0.8090	0.8240	0.8120
6.0000	1.0030	0.9840	0.9970	0.9740
9.0000	1.1180	1.0980	1.1060	1.0910
12.0000	1.1790	1.1520	1.1590	1.1390
15.0000	1.2260	1.2130	1.2220	1.2070
18.0000	1.3110	1.2620	1.3000	1.2450
21.0000	1.3420	1.3100	1.3270	1.3180
24.0000	1.4530	1.3580	1.4100	1.3520



รูปที่ 2 แสดงผลของสังกะสี ต่อการเจริญของ *S. cerevisiae* (Bergandy).



รูปที่ 3 แสดงผลของสังกะสี ต่อการเจริญของ *S. cerevisiae* (Champ.).



รูปที่ 4 แสดงผลของสังกะสีต่อการเจริญของเชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* ATCC 5094

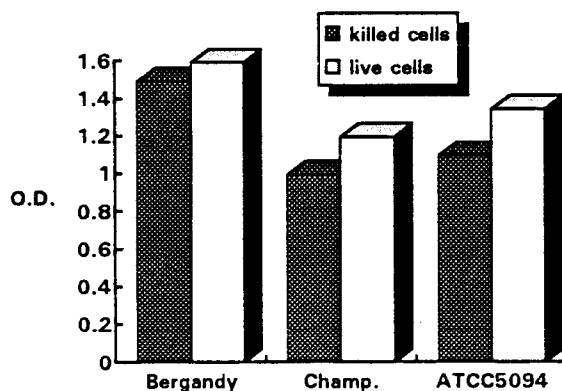
จากผลการทดลองพบว่า การเลี้ยงเชื้อยีสต์ในอาหารที่มีความเข้มข้นของสังกะสี 5, 10 หรือ 20 ppm. ยังไม่มีผลต่อการเจริญของเชื้อยีสต์ทั้ง 3 สายพันธุ์ ยีสต์ทั้ง 3 สายพันธุ์สามารถเจริญได้ดีเท่า ๆ กับ control ที่ไม่มีสังกะสีในอาหาร

3. ผลการดูดซับ Zn โดยเชื้อยีสต์

เพื่อทดสอบความสามารถของเซลล์ที่ตายแล้วกับเซลล์ที่มีชีวิตของยีสต์แต่ละสายพันธุ์ ในการดูดซับสังกะสีว่ามีความสามารถในการดูดซับหรือไม่ในแต่ละสายพันธุ์และแตกต่างกันอย่างไร

โดยทำการเตรียมสารละลายของเซลล์ที่ตายแล้วกับสารละลายของเซลล์ที่มีชีวิต สำหรับใช้ดูดซับโลหะหนักเมื่อเติมสารละลายโลหะหนักลงไปให้มีความเข้มข้นของสังกะสีประมาณ 1 ppm. เป็นเวลา 10, 20, 40, 60, 120 และ 240 นาที เก็บตัวอย่างมาแยกเซลล์ออกด้วยการปั่นเหวี่ยงทันทีที่เก็บตัวอย่าง นำ supernatant ไปวัดค่าความเข้มข้นของสังกะสี ด้วยเครื่อง Atomic absorption spectroscopy

จากผลการทดลองค่าการดูดซับสังกะสีสูงสุดของเซลล์ที่ตายแล้ว ของ *Saccharomyces cerevisiae* (Bergandy) คือ 1.4910 $\mu\text{mol/g dry cells}$ และเซลล์ที่มีชีวิต เท่ากับ 1.5904 $\mu\text{mol/g dry cells}$ ที่เวลา 10 นาที, เซลล์ที่ตายแล้วของ *Saccharomyces cerevisiae* (Champ.) ที่เวลา 10 นาที คือ 0.9840 $\mu\text{mol/g dry cells}$ และเซลล์ที่มีชีวิต เท่ากับ 1.1923 $\mu\text{mol/g dry cells}$ ที่เวลาเดียวกัน ส่วนเซลล์ที่ตายแล้วของ *Saccharomyces cerevisiae* ATCC5094 คือ 1.0934 $\mu\text{mol/g dry cells}$ และเซลล์ที่มีชีวิต เท่ากับ 1.3419 $\mu\text{mol/g dry cells}$

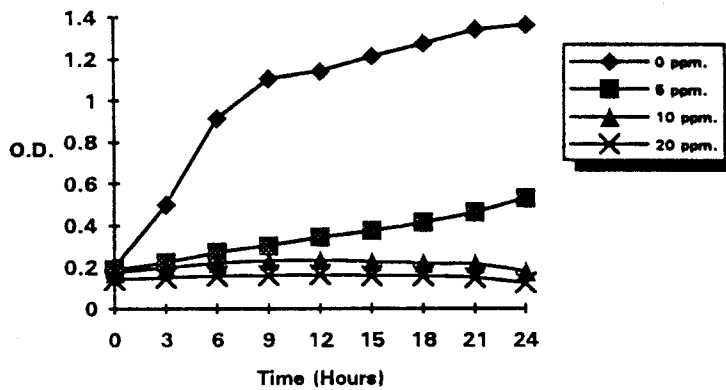


รูปที่ 5 การดูดซับ Zn โดยเซลล์ยีสต์เปรียบเทียบระหว่างเซลล์ที่มีชีวิตกับเซลล์ที่ตายแล้วของแต่ละสายพันธุ์

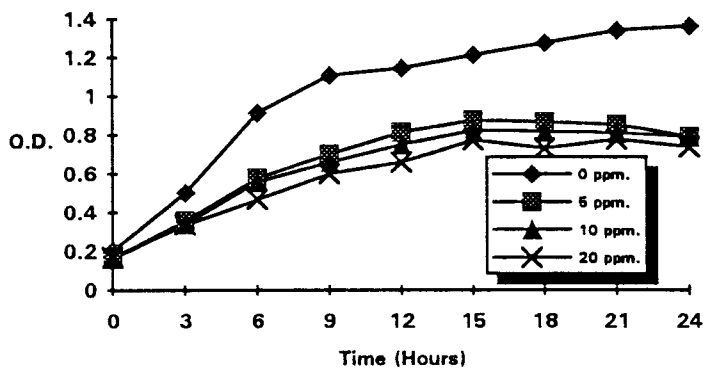
จากผลการทดลองนำเอาค่าดูดซับสูงสุดของเซลล์ที่มีชีวิตกับเซลล์ที่ตายแล้วของแต่ละสายพันธุ์มาแสดงเป็นกราฟแท่ง พบว่าเซลล์ของยีสต์ *S. cerevisiae* (Bergandy) จะมีความสามารถในการดูดซับ Zn ได้ดีกว่า *S. cerevisiae* (Champ.) และ *S. cerevisiae* ATCC 5094 ไม่ว่าจะเป็นเซลล์ที่มีชีวิตและเซลล์ที่ตายแล้ว ดังนั้นจึงจะได้ศึกษาถึงความสามารถของ *S. cerevisiae* (Bergandy) ในการดูดซับโลหะหนักตัวอื่น ๆ ต่อไป ซึ่งจะได้ใช้อักษรย่อ *S.* (Bergandy) เรียกแทน *S. cerevisiae* (Bergandy)

4. ผลของโลหะหนักตัวอื่น ๆ ต่อการเจริญของ *Saccharomyces cerevisiae* (Bergandy)

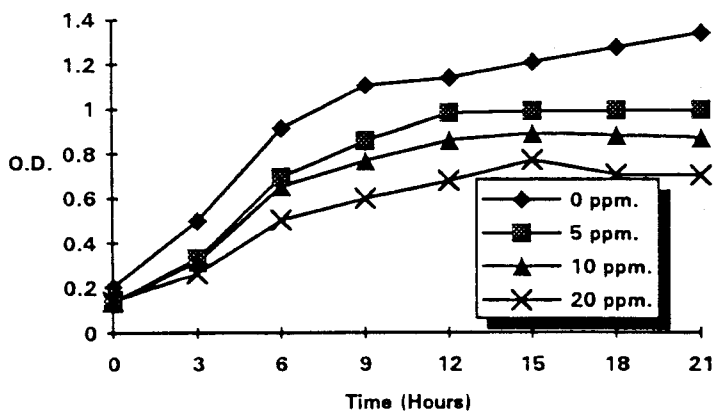
เพื่อศึกษาว่าการเลี้ยง *S. (Bergandy)* ในอาหารที่มีความเข้มข้นของโลหะหนัก 5, 10 และ 20 ppm ซึ่งโลหะหนักที่ใช้ในการศึกษา คือ Cd, Co, Cr, Mn และ Hg ว่ามีผลต่อการเจริญของเชื้อยีสต์หรือไม่โดยวัดการเจริญด้วยเครื่อง Spectrophotometer เป็นค่า Absorbance ที่ความยาวคลื่น 540 nm.



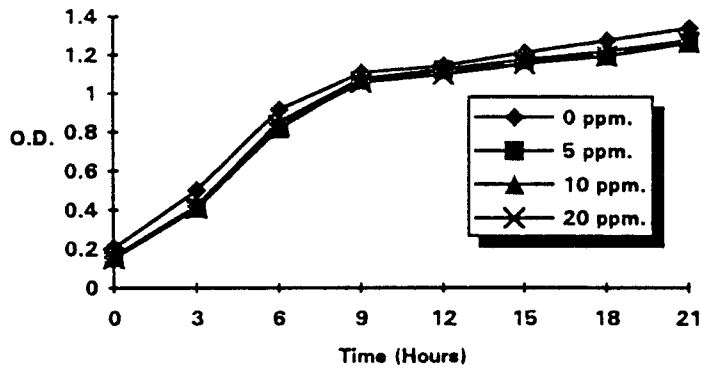
รูปที่ 6 ผลของ Cd ต่อการเจริญของ *S. cerevisiae* (Bergandy)



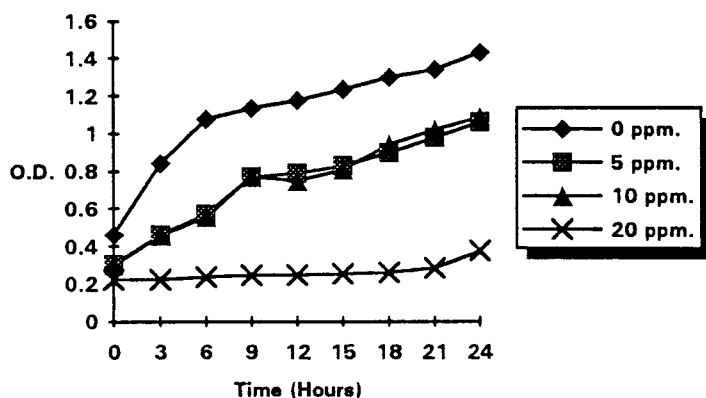
รูปที่ 7 ผลของ Co ต่อการเจริญของ *S. cerevisiae* (Bergandy)



รูปที่ 8 ผลของ Cr ต่อการเจริญของ *S. cerevisiae* (Bergandy)



รูปที่ 9 ผลของ Mn ต่อการเจริญของ *S. cerevisiae* (Bergandy)



รูปที่ 10 ผลของ Hg ต่อการเจริญของ *Saccharomyces cerevisiae* (Bergandy)

จากผลการทดลองที่ได้ทุกความเข้มข้นของ Cd คือ 5, 10 และ 20 ppm มีผลยับยั้งการเจริญของยีสต์ *S. (Bergandy)* เมื่อเปรียบเทียบกับ control ที่ไม่มี Cd อยู่เลย สำหรับ Cr และ Co จะเห็นว่าทุกความเข้มข้นของ Cr และ Co คือ 5, 10 และ 20 ppm จะมีผลต่อการเจริญของยีสต์ในเวลา 15 ชั่วโมงแรก ซึ่งจะเจริญได้ไม่ดีเทียบจาก control และหลังจาก 15 ชั่วโมง Cr และ Co จะมีผลยับยั้งการเจริญของยีสต์ *S. (Bergandy)*

ในกรณีของ Hg ผลที่ได้คือ ที่ความเข้มข้นไม่เกิน 10 ppm จะมีผลต่อการเจริญของยีสต์ โดยเจริญได้ไม่ดีเมื่อเทียบกับ control แต่ที่ความเข้มข้น 20 ppm จะมีผลยับยั้งการเจริญของ *S. (Bergandy)*

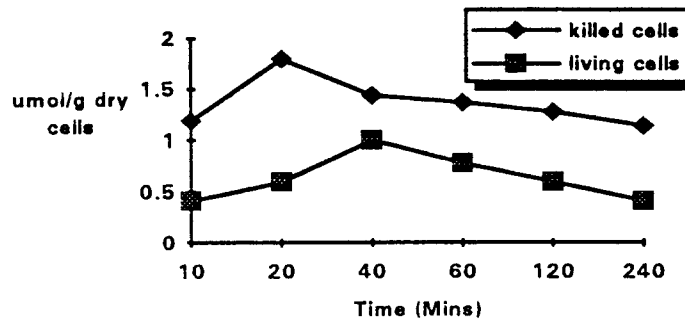
ส่วน Mn นั้นเท่าที่ทำการทดลอง คือความเข้มข้นไม่เกิน 20 ppm ยังไม่มีผลต่อการเจริญของ *S. (Bergandy)* คือ ยีสต์สามารถเจริญได้ดีเท่า ๆ กับ control ที่ไม่มี Mn อยู่เลย

5. ผลของการดูดซับโลหะหนักตัวอื่น ๆ โดยเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* (Bergandy)

เพื่อทดสอบความสามารถของเซลล์ที่ตายแล้วกับเซลล์ที่มีชีวิต ของเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* (Bergandy) ในการดูดซับโลหะหนักตัวอื่น ๆ ว่ามีความสามารถหรือไม่และเซลล์ทั้งสองแบบมีความแตกต่างกันอย่างไร

โดยทำการเตรียมสารละลายเซลล์ที่ตายแล้วกับสารละลายเซลล์ที่มีชีวิต สำหรับใช้ดูดซับโลหะหนักเมื่อเดิม สารละลายโลหะหนักลงไปวัดความเข้มข้นของแต่ละโลหะหนักแตกต่างกันไป แล้วนำมาเก็บตัวอย่างแยกเอาเซลล์ออก ด้วยการปั่นเหวี่ยงแล้วนำ supernatant ไปวัดความเข้มข้นของโลหะหนักด้วยเครื่อง Atomic absorption spectroscopy ซึ่งค่าที่ได้ออกมาจะเป็นค่า Absorbance แล้วจึงนำมาเทียบกับกราฟมาตรฐาน (standard curve) ของโลหะหนักจะได้เป็นความเข้มข้นของโลหะหนัก (ppm) ที่ค่า Absorbance ต่าง ๆ

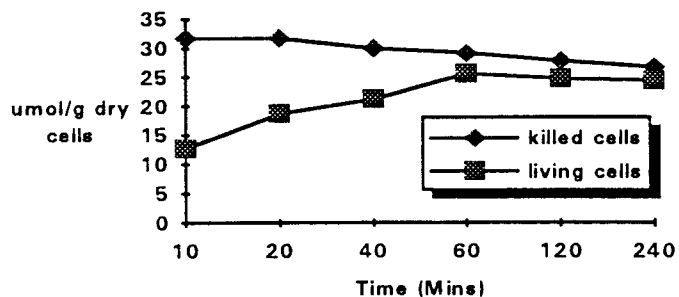
5.1 ผลของการดูดซับโลหะหนัก Cadmium (Cd)



รูปที่ 11 ผลการดูดซับ Cd โดย *Saccharomyces cerevisiae* (Bergandy)

จากผลการทดลองพบว่า killed cells ของ *S. cerevisiae* (Bergandy) จะมีความสามารถในการดูดซับ Cd ได้สูงกว่า living cells โดยจะดูดซับสูงสุดที่เวลา 20 นาที ปริมาณการดูดซับ เท่ากับ 1.8010 $\mu\text{mol/g dry cells}$ หรือ 394.9889 $\mu\text{g/g dry cells}$ สำหรับ living cells จะดูดซับสูงสุดที่เวลา 40 นาที ปริมาณการดูดซับเท่ากับ 1.0030 $\mu\text{mol/g dry cells}$ หรือ 219.9739 $\mu\text{g/g dry cells}$

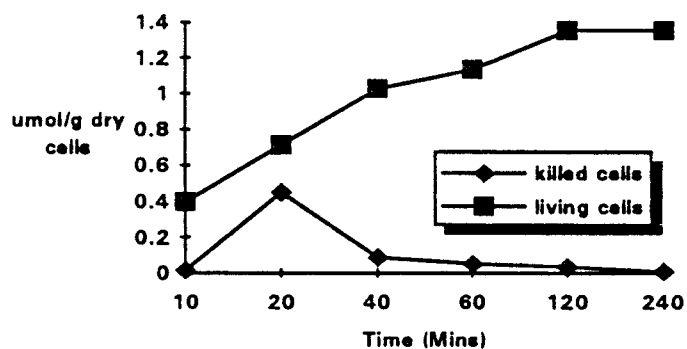
5.2 ผลของการดูดซับโลหะหนัก Mercury (Hg)



รูปที่ 12 ผลการดูดซับ Hg โดย *Saccharomyces cerevisiae* (Bergandy)

จากผลการทดลองพบว่า killed cells ของ *S. cerevisiae* (Bergandy) จะดูดซับ Hg ได้ในปริมาณที่สูงกว่า living cells โดย killed cells จะมีปริมาณการดูดซับสูงสุดเท่ากับ 31.6727 $\mu\text{mol/g dry cells}$ ที่เวลา 20 นาที ในขณะที่ living cells จะมีปริมาณการดูดซับสูงสุด เท่ากับ 25.6012 $\mu\text{mol/g dry cells}$ ที่เวลา 60 นาที

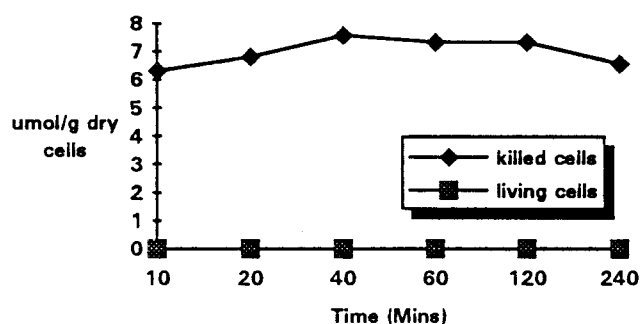
5.3 ผลของการดูดซับโลหะ Zinc (Zn)



รูปที่ 13 ผลการดูดซับ Zn โดย *Saccharomyces cerevisiae* (Bergandy)

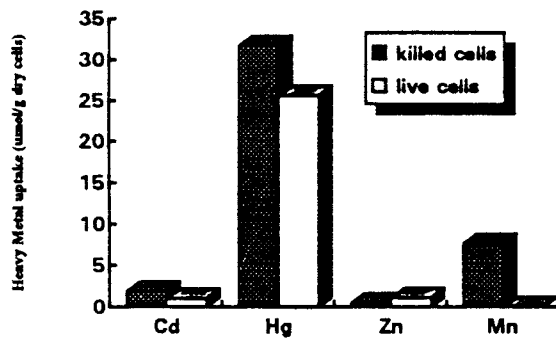
จากผลการทดลองพบว่า living cells ของ *S. cerevisiae* (Bergandy) จะดูดซับ Zn ได้ในปริมาณที่สูงกว่า killed cells โดย living cells จะมีปริมาณการดูดซับสูงสุดเท่ากับ 1.0268 $\mu\text{mol/g}$ dry cells ที่เวลา 40 นาที ในขณะที่ killed cells จะมีปริมาณการดูดซับสูงสุด เท่ากับ 0.4523 $\mu\text{mol/g}$ dry cells ที่เวลา 20 นาที

5.4 ผลของการดูดซับโลหะ Manganese (Mn)



รูปที่ 14 ผลการดูดซับ Mn โดย *Saccharomyces cerevisiae* (Bergandy)

จากผลการทดลองพบว่า living cells ของ *S. cerevisiae* (Bergandy) จะไม่ดูดซับเลย เมื่อเวลาผ่านไปจนถึง 240 นาที ในขณะที่ killed cells จะดูดซับ Mn ได้สูงสุดที่เวลา 40 นาที ปริมาณการดูดซับสูงสุด เท่ากับ 7.5813 $\mu\text{mol/g}$ dry cells ที่เวลา 40 นาที



รูปที่ 15 แสดงการดูดซับโลหะหนัก Cd, Hg, Zn, และ Mn โดยเซลล์ยีสต์ *S. cerevisiae* (Bergandy) โดยเปรียบเทียบความสามารถระหว่างเซลล์ที่มีชีวิตกับเซลล์ที่ตายแล้ว ของโลหะหนักแต่ละโลหะ

จากผลการทดลองพบว่า killed cells ของ *S. cerevisiae* (Bergandy) จะดูดซับ Cd, Hg, Mn ได้ในปริมาณที่สูงกว่า living cells โดยจะดูดซับ Cd มากกว่า living cells คิดเป็น 44% ดูดซับ Hg มากกว่า living cells คิดเป็น 19% และดูดซับ Mn มากกว่า living cells ถึง 100% ส่วน living cells ของ *S. cerevisiae* (Bergandy) จะมีความสามารถในการดูดซับ Zn ได้ในปริมาณที่สูงกว่า killed cells คิดเป็น 67%