บทที่ 4

การวิจารณ์ผลของการทดลอง

ก. การหาปริมาณของ ^{14}C-labelled organochlorine compounds ที่ติดค้างบนแผ่นกรองมิลลิพอร์

จากการวัดกัมมันตภาพรังสีของ ^{14}C-labelled DDT และ ^{14}C-labelled BHC ที่ติดบนแผ่นกรองที่ทุกความเข้มข้นที่ใช้ในการทดลอง (1, 5, 10 และ 50 ไมโครกรัมต่อลิตร) ได้ค่า cpm ไม่แตกต่างกัน (ตารางที่ 2) ถ้าหากในการทดลองใช้ ^{14}C-labelled organochlorine compounds ที่มีความเข้มข้นสูงกว่า 50 ไมโครกรัมต่อลิตรจะต้องทดลองหาปริมาณ ^{14}C-labelled organochlorine compounds ที่ติดค้างบนแผ่นกรองเสียก่อน

ส่วนกรณีการทดลองในโรติเฟอร์ การศึกษาการสะสมของสารประกอบออร์แกนโนคลอรีนโดยวิธีใช้คาร์บอน-14 นี้ ไม่มีปัญหาในการกรองเนื่องจากโรติเฟอร์มีขนาดโตพอที่จะแยกอาหารและน้ำเลี้ยงที่มี ^{14}C-labelled DDT ออกได้หมดโดยใช้ผ้ากรองตาละเอียด (70 ไมครอน) แล้วจึงดูดซับโรติเฟอร์ให้แห้งด้วยแผ่นกรองละเอียดอีกครั้ง ดังนั้นข้อผิดพลาดที่จะเกิดจากการติดค้างบนแผ่นกรองละเอียดของสารประกอบออร์แกนโนคลอรีนที่เหลือจากการสะสมก็ไม่มี

ฉะนั้นการศึกษาการสะสมของสารประกอบออร์แกนโนคลอรีนใน แพลงตอนพืชที่มีขนาดเล็กมาก ๆ โดยใช้ คาร์บอน–14 และกรองแพลงตอนพืชออกจากน้ำเลี้ยงที่มี ^{14}C-labelled organochlorine ด้วยแผ่นกรองละเอียดควรคำนึงถึงความเข้มข้นของสารประกอบออร์แกนโนคลอรีนที่ใช้ทดลองด้วย โดยจะต้องหาปริมาณ ^{14}C-labelled organochlorine compounds ที่ติดบนแผ่นกรองก่อนเสมอ เมื่อมีการใช้ความเข้มข้นที่แตกต่างออกไป ส่วนการศึกษาในแพลงตอนสัตว์ที่มีขนาดใหญ่กว่าคลอเรลลา ดังเช่น โรติเฟอร์สามารถหลีกเลี่ยงการกรองเพื่อแยกน้ำเลี้ยงที่มี ^{14}C-labelled DDT ด้วยแผ่นกรองละเอียดได้โดยใช้ ผ้ากรองตาละเอียดขนาด

70 ไมครอน อย่างไรก็ตามถ้าจะนำวิธีการนี้ไปใช้ศึกษาการสะสมของออร์แกนโนคลอรีนในแพลงตอนสัตว์ชนิดอื่น จะต้องคำนึงถึงชนิดของตัวทำละลายและสารละลาย Scintillator (fluor) ที่เหมาะสม

ข. <u>การศึกษาการสะสมของสารประกอบออร์แกนโนคลอรีนในคลอเรลลา</u>

1. <u>การศึกษาการสะสมของดีดีทีและบีเอชซีในคลอเรลลาน้ำเค็มและคลอเรลลาน้ำจืด</u>

จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า มีการสะสมดีดีทีและบีเอชซีทั้งในคลอเรลลาน้ำเค็มและคลอเรลลาน้ำจืด

เมื่อเปรียบเทียบการสะสมของดีดีทีและบีเอชซีระหว่างความเข้มข้นเดียวกันพบว่าคลอเรลลาน้ำเค็มและคลอเรลลาน้ำจืดมีแนวโน้มจะมีการสะสมดีดีทีสูงกว่าบีเอชซี (ตารางที่ 5, 6 10 และ 11) และคลอเรลลาน้ำเค็มจะมีการสะสมดีดีทีสูงกว่าคลอเรลลาน้ำจืด (ตารางที่ 5 และ 10)

Södergren (1968) รายงานว่าปริมาณการสะสมดีดีทีในคลอเรลลาน้ำจืดในเวลา 1 นาที สะสมไม่น้อยกว่าที่ทดลองเป็นเวลา 24 ชั่วโมง

จากการศึกษาในครั้งนี้ ทดลองในระยะเวลา 18 วัน พบว่าคลอเรลลามีการแบ่งเซลล์เพิ่มขึ้นในระหว่างการทดลองโดยเฉลี่ยไม่น้อยกว่า 3 เท่า ผลการทดลองพบว่าการสะสมดีดีทีและบีเอชซีต่อล้านเซลล์ทั้งในคลอเรลลาน้ำเค็มและคลอเรลลาน้ำจืด จะลด ๆ เพิ่ม ๆ อย่างไม่มีความสัมพันธ์กับเวลาที่ทดลอง และปริมาณการสะสมดีดีทีและบีเอชซีในคลอเรลลาทั้งสองชนิดที่ทดลองเป็นเวลา 3 วัน จะมีปริมาณไม่น้อยกว่าที่ทดลองเป็นเวลา 18 วัน

การสะสมดีดีทีและบีเอชซีทั้งในคลอเรลลาน้ำเค็มและน้ำจืด มีความสัมพันธ์กับความเข้มข้นของดีดีทีและบีเอชซี โดยที่การสะสมจะสูงขึ้นเมื่อความเข้มข้นของดีดีทีและบีเอชซีสูงขึ้น (ตารางที่ 5, 6, 10 และ 11) และในระหว่างการทดลองพบว่า คลอเรลลาที่ได้รับความเข้มข้นของดีดีที และบีเอชซีต่ำกว่า จะแบ่งเซลล์ได้มากกว่าที่ได้รับความเข้มข้นของดีดีทีและบีเอชซีสูงกว่า

เมื่อเปรียบเทียบการแบ่งเซลล์ของคลอเรลลาในแต่ละความเข้มข้นของดีดีทีและบีเอชซี จะเป็นดังนี้ 1 และ 5 > 10 > 50 ไมโครกรัมต่อลิตรเล็กน้อย

นอกจากนี้การสะสมสารประกอบออร์แกนโนคลอรีนทั้งในคลอเรลลาน้ำเค็มที่ตายแล้ว และคลอเรลลาน้ำจืดที่ตายแล้วจะมีการสะสมสูงกว่าคลอเรลลาที่มีชีวิต

Södergren (1968) สรุปว่าการสะสมดีดีทีในคลอเรลลาน้ำจืดเกิดจากการซึมผ่านเข้าไป (absorption) มากกว่าการเกาะติดที่ผิวนอก (adsorption) แต่ Kerr and Vass (1973) สรุปว่าการดูดสารประกอบคลอริเนเตด ไฮโดรคาร์บอนโดยแพลงตอนขนาดเล็กจะเกิดจากการเกาะที่ผิวนอกเป็นส่วนใหญ่

Geike and Parasher (1978) อ้างถึงผลงานของ Parasher and et al., (1978) ว่าที่ความเข้มข้นของเอชซีบี (Hexachlorobenzene, HCB)10 ไมโครกรัม/มล. จะทำให้เกิดการแยกตัวของไธลาคอย (Thylakoid) ในคลอโรพลาสของคลอเรลลา การแยกตัวของไธลาคอยนี้ทำให้เกิดการยับยั้งการสังเคราะห์แสงได้

Bowes (1972) รายงานว่าที่ความเข้มข้นของดีดีที 80 ไมโครกรัมต่อลิตร (0.23 µM) Dunaliella tertiolecta สามารถเจริญเติบโตได้อย่างปกติ และการยับยั้งการเคลื่อนย้ายอีเลคตรอนในคลอโรพลาสของ D. tertiolecta ได้ 50 % เมื่อได้รับดีดีทีและดีดีอีความเข้มข้น 20 µM แสดงว่าดีดีทีจะยับยั้งการเจริญเติบโตได้ จะต้องมีการยับยั้งการเคลื่อนย้ายอีเลคตรอนในคลอโรพลาสและขบวนการนี้จะเกิดขึ้นได้ ถ้ามีดีดีทีซึมผ่าน (absorption) เข้าสู่เซลล์ ฉะนั้นการที่ D. tertiolecta ไม่ถูกยับยั้งการเจริญเติบโตเพราะดีดีทีผ่านเข้าสู่เซลล์ได้น้อยและจะเกิดการดูดเข้าสู่เซลล์ได้ เมื่อมีความเข้มข้นของดีดีทีสูง ๆ

การทดลองครั้งนี้ใช้ดีดีทีและบีเอชซีที่มีความเข้มข้นต่ำคือ 1–50 ไมโครกรัมต่อลิตร ซึ่งพบว่ามีผลยับยั้งการแบ่งเซลล์น้อยมาก จึงคาดว่าการสะสมน่าจะเกิดจากการเกาะติดที่ผิวนอก (adsorption) เป็นส่วนใหญ่ นอกจากนี้อาจมีการกำจัดออกเกิดขึ้นด้วย โดยที่การกำจัดออกจะเกิดช้ากว่าการสะสม

แต่ Södergren (1968) สรุปว่าการสะสมดีดีทีในคลอเรลลาน้ำจืดเกิดจากการซึมผ่าน (absorption) เข้าไปมากกว่าเกาะติดที่ผิวนอกโดยอ้างผลการทดลองว่าที่ความเข้มข้นของดีดีที 0.3 ไมโครกรัมต่อลิตรจะทำให้เซลล์จับกันเป็นกลุ่มและทำให้รูปร่างของคลอโรพลาสในเซลล์เปลี่ยนแปลงไปด้วยหลังจากได้รับดีดีที 3 วัน การทดลองนี้ทดลองกับคลอเรลลาที่เลี้ยงแบบ continucus-flow culture

ดังนั้นเรื่องขบวนการสะสมออร์แกนโนคลอรีนของคลอเรลลานั้นควรจะศึกษาให้ลึกซึ้งในระดับโมเลกุลในเซลล์เพื่อจะหาข้อสรุปต่อไป แต่ที่เห็นชัดจากการศึกษาวิจัยในครั้งนี้คือมีออร์แกนโนคลอรีนตกค้างอยู่ ที่เซลล์คลอเรลลาน้ำเค็มและน้ำจืดปริมาณหนึ่งแน่นอน

2. <u>การศึกษาการสะสมของดีดีทีและบีเอชซีในคลอเรลลาน้ำเค็มและน้ำจืดที่ตายแล้ว</u>

การที่เซลล์คลอเรลลาที่ตายแล้วมีการสะสมดีดีทีและบีเอชซีสูงกว่าเซลล์ที่ยังมีชีวิตอยู่ตั้งแต่เริ่มแรกของการทดลอง (3 วันแรก) ทั้งนี้อาจเนื่องจากเซลล์ที่ตายแล้วไม่มีพลังงานที่จะต่อต้านสิ่งแปลกปลอมที่มากระทบ และความสามารถในการกำจัดอาจสูญเสียไป หรืออาจเป็นไปได้ว่าเซลล์เมมเบรนถูกทำลาย ทำให้ดีดีทีและบีเอชซีผ่านเข้าสู่เซลล์ได้

3. <u>การศึกษาอิทธิพลของแสงที่มีต่อการสะสมดีดีทีในคลอเรลลาน้ำเค็ม</u>

ในการทดลองกับแสง 2,688, 672 และ 298 ลักส์ พบว่าจำนวนเซลล์ในเวลา 9 วัน ใกล้เคียงกันและการสะสมดีดีทีในคลอเรลลาน้ำเค็มไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ทั้งนี้อาจเนื่องจากคลอเรลลาน้ำเค็มสามารถเจริญเติบโตได้ปกติที่ความเข้มแสงในช่วงกว้าง ดังนั้นเมื่อได้รับแสงน้อยขนาด 298 ลักส์ ก็ไม่มีผลต่อการแบ่งเซลล์

4. <u>การศึกษาอิทธิพลของความเค็มที่มีต่อการสะสมดีดีทีในคลอเรลลาน้ำเค็ม</u>

ที่ความเค็ม 15 และ 25 ‰ พบว่าคลอเรลลาสะสมดีดีทีไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ แต่การสะสมดีดีทีจะแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับคลอเรลลาที่เลี้ยงในความเค็ม 35 ‰ และคลอเรลลาที่ความเค็ม 35 ‰ จะแบ่งเซลล์ได้น้อยกว่า แต่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ดังนั้นเมื่อ

ความเค็มสูงเกินไป (35 ‰.) อาจทำให้เซลล์มีประสิทธิภาพในการดำรงชีวิตลดลงมีผลทำให้การกำจัดคีดีที่ได้น้อยกว่าปกติ หรืออาจเนื่องจากเมื่อความเค็มสูงขึ้นทำให้น้ำมีความหนาแน่นเพิ่มขึ้น คลอเรลลาและโมเลกุลของคีดีที่จึงลอยตัวขึ้นทำให้คลอเรลลาและโมเลกุลคีดีที่มีโอกาสสัมผัสกันมากขึ้น จึงพบว่ามีการสะสมคีดีที่สูงกว่าที่ทดลองในความเค็มต่ำกว่า

5. <u>การศึกษาอิทธิพลของอุณหภูมิที่มีต่อการสะสมคีดีที่ในคลอเรลลาน้ำเค็ม</u>

ผลจากการทดลองที่อุณหภูมิ 20° และ 27°ซ พบว่าการสะสมคีดีที่ในคลอเรลลาที่อุณหภูมิทั้ง 2 ระดับ จะลดลงในวันหลัง ๆ ของการทดลอง และจากการวิเคราะห์ว่าเรียนซ์หาความแตกต่างของการสะสมคีดีที่ในเวลาเท่ากันที่อุณหภูมิต่างกันพบว่า ที่อุณหภูมิ 20°ซ จะสะสมคีดีที่สูงกว่าที่ 27°ซ ทุกช่วงเวลาที่ทดลอง (ตารางที่ 24) ทั้งนี้ที่อุณหภูมิต่ำแสดงว่ากระบวนการทางสรีรวิทยาลดลงมีผลทำให้การกำจัดคีดีที่ออกจากเซลล์ลดลงด้วย หรืออาจเนื่องจากอุณหภูมิต่ำทำให้น้ำมีความหนาแน่นเพิ่มขึ้น คลอเรลลาและโมเลกุลคีดีที่จึงลอยตัวขึ้น ทำให้คลอเรลลาและโมเลกุลคีดีที่มีโอกาสสัมผัสกันมากขึ้น จึงพบว่าที่อุณหภูมิต่ำจะมีการสะสมคีดีที่สูงกว่า

ค. <u>การศึกษาการสะสมคีดีที่ในโรติเฟอร์</u>

1. <u>การศึกษาการสะสมคีดีที่ในโรติเฟอร์โดยตรง</u>

ได้มีการศึกษาโดย Salonen and Vaajakorpi, (1974) เกี่ยวกับการสะสมคีดีที่ในสิ่งมีชีวิตและสิ่งไม่มีชีวิตในบ่อเลี้ยง ๆ ที่มีความเข้มข้นของคีดีที่เท่ากับ 1 ไมโครกรัมต่อลิตร พบว่าการสะสมและการกำจัดคีดีที่ในปลาจะแตกต่างกันในเนื้อเยื่อที่ต่างกัน สัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังพวกครัสตาเซียหลายชนิด จะสะสมคีดีที่สูงสุดในวันที่ 4 ของการทดลอง ส่วนหอยสองฝาจะสะสมคีดีที่สูงสุดในวันที่ 2 ของการทดลอง Wyman K.D. and M.B. O' Conners, Jr. (1980) ศึกษาการดูดพีซีบีโดยโคพีพอด (Genus Acartia) จากในน้ำที่มีความเข้มข้นของพีซีบี 10 ไมโครกรัมต่อลิตร (พีซีบี) พบว่าโคพีพอดจะดูดพีซีบีได้สูงสุดในชั่วโมงที่ 36

จากการศึกษาครั้งนี้โรติเฟอร์จะสะสมดีดีทีได้สูงสุดในชั่วโมงที่ 24 เท่ากับ 18.85×10^{-4} ไมโครกรัม/10^3 ตัว ส่วนในโรติเฟอร์ที่ตายแล้วพบว่าการสะสมดีดีทีจะเริ่มลงที่หลังจากชั่วโมงที่ 9 ดังรูปที่ 15

2. <u>การศึกษาการสะสมดีดีทีในโรติเฟอร์โดยการกินอาหาร</u>

ในเวลาเท่ากันโรติเฟอร์จะสะสมดีดีทีโดยตรงได้มากกว่าจากการกินคลอเรลลาที่มีดีดีทีสะสมอยู่ (ตารางที่ 19) อย่างไรก็ตามถ้าหากโรติเฟอร์อาศัยในน้ำที่มีดีดีทีและมีคลอเรลลารวมอยู่ด้วยก็จะทำให้มีการสะสมของดีดีทีสูงกว่าในน้ำที่มีดีดีทีอย่างเดียว เพราะการสะสมดีดีทีจะเกิดขึ้น 2 ทางในเวลาเดียวกัน ผลการทดลองนี้สอดคล้องกับการศึกษาโดย Wyman, K.D. and O' Connors, Jr.H.B. (1980) ซึ่งได้ศึกษาเปรียบเทียบอัตราการรอดของโคพีพอดและการสะสมพีซีบีในโคพีพอดในน้ำที่มีพีซีบีอย่างเดียวกับในน้ำที่มีพีซีบีรวมกับแพลงตอนพืช 2 ชนิดคือ <u>Skeletonema costatum</u> และ <u>Thalassiosira pseudonana</u> โดยที่มีความเข้มข้นของพีซีบีเท่ากันพบว่า โคพีพอดที่อยู่ในน้ำที่มีพีซีบีอย่างเดียวจะมีอัตราการรอดสูงกว่าและการสะสมของพีซีบีน้อยกว่าด้วย ดังนั้น โคพีพอด ในน้ำที่มีพีซีบีกับแพลงตอนพืชได้รับพีซีบี 2 ทาง ทางหนึ่งสัมผัสกับผนังเซลล์โดยตรงอีกทางจากการกินแพลงตอนพืชที่มีพีซีบีสะสมอยู่

จากการทดลองในที่นี้สรุปได้ว่าดีดีทีมีการสะสมในคลอเรลลาและโรติเฟอร์ และในขณะเดียวกันอาจมีการกำจัดออกด้วยแต่จะเกิดช้ากว่าการสะสม และแพลงตอนเป็นสื่อสำคัญอย่างหนึ่งที่ทำให้เกิดการสะสมดีดีทีในสัตว์ระดับสูงขึ้น