

การบำบัดสังกะสีออกไซด์ขนาดนาโนเมตรโดยใช้ผักตบชวา



บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของวิทยานิพนธ์ตั้งแต่ปีการศึกษา 2554 ที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)  
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของวิทยานิพนธ์ ที่ส่งผ่านทางบัณฑิตวิทยาลัย

The abstract and full text of theses from the academic year 2011 in Chulalongkorn University Intellectual Repository (CUIR)  
are the thesis authors' files submitted through the University Graduate School.

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต  
สาขาวิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม (สหสาขาวิชา)  
บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย  
ปีการศึกษา 2559  
ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

PHYTOREMEDIATION OF ZINC OXIDE NANOPARTICLES BY WATER HYACINTH

Mr. Ekkaphop Boonkrue



A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements  
for the Degree of Master of Science Program in Environmental Science  
(Interdisciplinary Program)

Graduate School

Chulalongkorn University

Academic Year 2016

Copyright of Chulalongkorn University

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การบำบัดสังกะสีออกไซด์ขนาดนาโนเมตรโดยใช้
	ผักตบชวา
โดย	นายเอกภพ บุญเครือ
สาขาวิชา	วิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก	รองศาสตราจารย์ ดร.นัยนันทน์ อริยกานนท์

---

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้รับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่ง  
ของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

.....คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย  
(รองศาสตราจารย์ ดร.สุนทร ชูตินธรานนท์)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

.....ประธานกรรมการ  
(รองศาสตราจารย์ ดร.สีหนาท ประสงค์สุข)

.....อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก  
(รองศาสตราจารย์ ดร.นัยนันทน์ อริยกานนท์)

.....กรรมการ  
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.พงศ์ธาริน โล่ห์ตระกูล)

.....กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย  
(รองศาสตราจารย์ ดร.ดวงรัตน์ อินทร)

เอกภพ บุญเครือ : การบำบัดสังกะสีออกไซด์ขนาดนาโนเมตรโดยใช้ผักตบชวา (PHYTOREMEDIATION OF ZINC OXIDE NANOPARTICLES BY WATER HYACINTH) อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: รศ. ดร.นัยนันทน์ อริยกานนท์, 90 หน้า.

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาประสิทธิภาพในการกำจัดสังกะสีออกไซด์ขนาดนาโนเมตรโดยใช้ผักตบชวา (*Eichhornia crassipes*) และผลกระทบของสังกะสีออกไซด์ขนาดนาโนเมตรที่มีต่อปริมาณคลอโรฟิลล์ แคโรทีนอยด์ ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ และแอกทิวิตีของเอนไซม์คะตะเลสในผักตบชวา การวิจัยนี้ปลูกพืชในสารละลายที่มีความเข้มข้นของสังกะสีออกไซด์ขนาดนาโนเมตรเท่ากับ 0, 3.5, 5 และ 7.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 15 วัน ผลการศึกษาพบว่า ผักตบชวาในชุดการทดลองที่มีความเข้มข้นของสังกะสีออกไซด์ขนาดนาโนเมตร 3.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีมวลชีวภาพเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนพืชที่ปลูกในชุดการทดลองที่มีสังกะสีออกไซด์ขนาดนาโนเมตร ความเข้มข้น 5 และ 7.5 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า มวลชีวภาพไม่เปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ตลอดระยะเวลา 15 วัน ประสิทธิภาพของผักตบชวาในการบำบัดสังกะสีออกไซด์ขนาดนาโนเมตรใน ความเข้มข้น 3.5, 5 และ 7.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีค่าเท่ากับ 93%, 91% และ 87% ตามลำดับ ส่วน การสะสมสังกะสีออกไซด์ขนาดนาโนเมตรในผักตบชวา พบว่าจะสะสมในส่วนราก > ลำต้น > ใบ ตามลำดับ โดยผักตบชวาจะสะสมสังกะสีได้มากที่สุดในราก ลำต้น และใบ เท่ากับ  $945.83 \pm 73.69$ ,  $129.11 \pm 5.93$  และ  $61.44 \pm 3.13$  มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ พืชที่ปลูกใน สารละลายสังกะสีออกไซด์ขนาดนาโนเมตรความเข้มข้น 3.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีลักษณะแข็งแรง แต่มี ปริมาณคลอโรฟิลล์ และแคโรทีนอยด์ น้อยกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ส่วนปริมาณไฮโดรเจน เพอร์ออกไซด์ และ แอกทิวิตีของเอนไซม์คะตะเลสของพืชที่ได้รับสังกะสีออกไซด์ขนาดนาโนเมตรจะมี ค่ามากกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ

สาขาวิชา วิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม

ลายมือชื่อนิสิต .....

ปีการศึกษา 2559

ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาหลัก .....

# # 5787276320 : MAJOR ENVIRONMENTAL SCIENCE

KEYWORDS: EICHHORNIA CRASSIPES / ZINC OXIDE NANOPARTICLE / PHYTOREMEDIATION

EKKAPHOP BOONKRUE: PHYTOREMEDIATION OF ZINC OXIDE NANOPARTICLES BY WATER HYACINTH. ADVISOR: ASSOC. PROF.NAIYANAN ARIYAKANON, Ph.D., 90 pp.

The objective of this research is to study the efficiency of zinc oxide nanoparticle (ZnO NPs) removal by water hyacinth (*Eichhornia crassipes*). The effects of ZnO NPs on chlorophyll, carotenoid, hydrogen peroxide and catalase activity were also investigated. In this experiment, plant was grown in the ZnO NPs at the concentration of 0, 3.5, 5 and 7.5 mg/L, from day 0 to day 15. The results showed that biomass of water hyacinth grown in the ZnO NPs at the concentration of 3.5 mg/L significantly increased. The biomass of plant grown in the ZnO NPs at the concentrations of 5 and 7.5 mg/L were not significantly different during 15 days. The removal efficiency of ZnO NPs at the concentrations of 3.5, 5 and 7.5 mg/L by water hyacinth were 93%, 91% and 87%, respectively. The accumulation of ZnO NPs in water hyacinth was in order: roots > stems > leaves. The maximum + SD concentrations of zinc in roots, stems and leaves were  $945.83 \pm 73.69$ ,  $129.11 \pm 5.93$  and  $61.44 \pm 3.13$  mg/kg dry weight, respectively. Plant grown in the ZnO NPs at the concentration of 3.5 mg/L was healthy but chlorophyll content and carotenoid were significantly lower than a control group. The hydrogen peroxide and catalase activity of plant absorbed ZnO NPs were significantly higher than a control group.

Field of Study: Environmental Science      Student's Signature .....

Academic Year: 2016      Advisor's Signature .....

## กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์เล่มนี้สำเร็จลุล่วงได้ด้วยดี เนื่องจากความช่วยเหลือ และความอนุเคราะห์ จากบุคคลผู้มีพระคุณหลายท่าน ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร. นัยนันท์ อริยกานนท์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ที่มอบความรู้ คำปรึกษา ตลอดจนถึงคำแนะนำต่างๆ ตลอดระยะเวลาในการทำวิทยานิพนธ์ และการสละเวลาที่มีค่าของท่านอาจารย์ในการตรวจ แก้ไข และเรียบเรียง จนวิทยานิพนธ์สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี นอกจากนั้นยังให้ความช่วยเหลือ ให้ ข้อคิดคำสอนต่างๆที่เป็นประโยชน์ในการเป็นแนวทางในการดำเนินชีวิต

ขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร. สีหนาท ประสงค์สุข ที่กรุณาให้ความ อนุเคราะห์เป็นประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. พงศ์ธาริน โสท์ ตระกูล และรองศาสตราจารย์ ดร. ดวงรัตน์ อินทร ที่ทุกท่านกรุณาสละเวลาอันมีค่าเป็น กรรมการสอบวิทยานิพนธ์พร้อมทั้ง ให้ความรู้ คำแนะนำ ข้อเสนอแนะ และแนวทางการแก้ไข รายละเอียดต่างๆในวิทยานิพนธ์เพื่อเป็นวิทยานิพนธ์ที่สมบูรณ์

ขอกราบขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ทรรศนีย์ พฤษภาสิทธิ ผู้อำนวยการ หลักสูตรสหสาขาวิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม ที่ให้คำปรึกษา คำแนะนำในการศึกษาในหลักสูตรฯ

กราบขอบพระคุณหลักสูตรสหสาขาวิชาวิทยาศาสตร์ สิ่งแวดล้อม บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ได้มอบทุนอุดหนุนวิจัย ตลอดจนถึงบุคลากรในหลักสูตรทุกท่านที่ให้ คำแนะนำ การช่วยเหลือตลอดระยะเวลาในการศึกษา และทำวิทยานิพนธ์ ขอขอบคุณบุคลากร ทุกท่านจากภาควิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อมและภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในความอนุเคราะห์เครื่องมือ และอุปกรณ์รวมในห้องปฏิบัติการ

ขอกราบขอบพระคุณคุณพ่อสำราญ คุณแม่อัมพวรรณ บุญเครือ ที่ให้การสนับสนุน ด้านการศึกษา ให้คำปรึกษา และกำลังใจที่ติดตลอดมา ตลอดจนถึงมิตรสหายทุกท่านที่คอยให้ กำลังใจ จนทำให้วิทยานิพนธ์สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

## สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญ.....	ช
สารบัญตาราง.....	ฅ
สารบัญภาพ .....	ฉ
บทที่ 1 บทนำ .....	1
1.1 ความสำคัญของปัญหา.....	1
1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย .....	2
1.3 สมมติฐานการวิจัย .....	2
1.4 ขอบเขตการวิจัย.....	3
1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	3
บทที่ 2 เอกสาร และงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง .....	4
2.1 อนุภาคขนาดนาโนเมตร.....	4
2.2 สังกะสีออกไซด์ขนาดนาโนเมตร (Zinc oxide :ZnOnanoparticles (NPs)).....	4
2.3 การบำบัดโดยพืช (Phytoremediation) .....	11
2.4 การสกัดโดยพืช (Phytoextraction) และการกรองโดยรากพืช (Rhizofiltration).....	14
2.5 การบำบัดสังกะสีโดยใช้พืช .....	15
2.6 ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์และ เอนไซม์คะตะเลส.....	16
2.6 ผักตบชวา .....	18
2.7 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	20
บทที่ 3 วิธีดำเนินงานวิจัย.....	22

3.1 เครื่องมือ อุปกรณ์ และสารเคมีที่ใช้ในงานวิจัย .....	22
3.2 สถานที่ดำเนินงานวิจัย .....	24
3.3 ขั้นตอนการวิจัย .....	25
3.3.1 การเตรียมสารละลายธาตุอาหาร .....	25
3.3.2 การกำหนดความเข้มข้นของสารละลายสังกะสีออกไซด์ขนาดนาโนเมตร ที่เหมาะสมในการทดลอง .....	25
3.3.3 การเตรียมสารละลายสังกะสีออกไซด์ขนาดนาโนเมตร .....	26
3.3.4 การเตรียมภาชนะแก้วสำหรับปลูกพืช .....	26
3.3.5 การเตรียมพีชที่ใช้ในการทดลอง .....	26
3.3.6 การเตรียมการทดลอง .....	27
3.3.7 การศึกษาอัตราการเจริญเติบโตและการเก็บเกี่ยวพืช .....	30
3.3.8 การสกัดตัวอย่างพืช .....	30
3.3.9 การวิเคราะห์ตัวอย่างน้ำ .....	30
3.3.10 การศึกษาปริมาณคลอโรฟิลล์ และแคโรทีนอยด์ในผักตบชวา .....	31
3.3.11 การวัดปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ) .....	32
3.1.12 การวัดแอกทิวิตีของเอนไซม์คะตะเลส (catalase) .....	33
3.1.13 การวัดปริมาณโปรตีนในสารสกัดเอนไซม์ .....	34
3.4 การรวบรวมและประมวลผลของข้อมูลที่ได้จากการวิจัย .....	34
บทที่ 4 ผลการทดลองและอภิปรายผลการทดลอง .....	35
4.1 การเปลี่ยนแปลงสมบัติทางเคมี .....	35
4.1.1 อุณหภูมิ .....	35
4.1.2 ความเป็นกรดต่าง .....	37
4.1.3 ค่าออกซิเจนละลาย .....	39



4.1.4	ค่าของแข็งละลาย .....	40
4.1.5	ค่าของแข็งแขวนลอย .....	42
4.2	มวลชีวภาพของผักตบชวา .....	43
4.2.1	น้ำหนักสด.....	43
4.2.2	น้ำหนักแห้ง.....	45
4.2.3	ความยาวราก .....	46
4.3	การสะสมสังกะสีในราก ลำต้น และใบของผักตบชวา และปริมาณสังกะสีที่เหลือใน สารละลายธาตุอาหาร.....	48
4.3.1	Calibration Curve ZnO NPs กับเครื่อง ICP-MS .....	48
4.3.2	ปริมาณสังกะสีที่สะสมในรากผักตบชวา.....	49
4.3.3	ปริมาณสังกะสีที่สะสมในลำต้นผักตบชวา.....	50
4.3.4	ปริมาณสังกะสีที่สะสมในใบผักตบชวา.....	51
4.3.5	ประสิทธิภาพการบำบัดสังกะสีในสารละลายธาตุอาหาร.....	54
4.4	ผลของการสะสมสังกะสี ที่มีต่อรงควัตถุ และการต้านออกซิเดชัน ของผักตบชวา .....	57
4.4.1	ปริมาณคลอโรฟิลล์เอในผักตบชวา .....	57
4.4.2	ปริมาณคลอโรฟิลล์บีในผักตบชวา .....	58
4.4.3	ปริมาณแคโรทีนอยด์ในผักตบชวา.....	60
4.4.4	ปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ในผักตบชวา .....	63
4.4.5	แอกทิวิตีของเอนไซม์อะซีเตลเอสของผักตบชวา.....	64
บทที่ 5	สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ .....	68
5.1	สรุปผลการทดลอง.....	68
5.1.1	สมบัติทางเคมีของสังกะสีออกไซด์ขนาดนาโนเมตร .....	68
5.1.2	มวลชีวภาพของผักตบชวา.....	69

5.1.3	ประสิทธิภาพการบำบัด และการสะสมสังกะสีในผักตบชวา.....	70
5.1.4	ผลของการสะสมสังกะสีออกไซด์ขนาดนาโนเมตร ที่มีต่อรงควัตถุ และ การต้านออกซิเดชัน ของผักตบชวา .....	71
5.2	ข้อเสนอแนะ .....	73
	รายการอ้างอิง .....	74
	ภาคผนวก.....	84
	ภาคผนวก ก .....	85
	ภาคผนวก ข .....	88
	ภาคผนวก ค .....	89
	ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์ .....	90



## สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 2.1 สมบัติทางเคมีโดยทั่วไปของสังกะสีออกไซด์ขนาดนาโนเมตร .....	5
ตารางที่ 3.1 ดำรับการปลูกพืชทดลอง สำหรับการศึกษาการสะสมสังกะสีออกไซด์ขนาดนาโน เมตรของผักตบชวา.....	28
ตารางที่ 3.2 ดำรับการปลูกพืชทดลอง สำหรับการศึกษาการเปลี่ยนแปลงของคลอโรฟิลล์ ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ และแอกทีวิตีเอนไซม์คะตะเลส(CAT) ของผักตบชวา.....	29
ตารางที่ 3.3 พารามิเตอร์และวิธีการวิเคราะห์สมบัติของน้ำ .....	31
ตารางที่ 4.1 ประสิทธิภาพของพืชในการบำบัดสังกะสีออกไซด์ขนาดนาโนเมตรในสารละลาย ธาตุอาหาร .....	54



สารบัญภาพ

	หน้า
ภาพที่ 2.1 โครงสร้างผลึก (Crystal Structure) ของ ZnO ที่มีโครงสร้างแบบ Wurtzite (hexagonal) .....	5
ภาพที่ 2.2 ลักษณะของผงสังกะสีออกไซด์ขนาดอนุภาคนาโนเมตร (Nano powders).....	6
ภาพที่ 2.3 สังกะสีออกไซด์ขนาดนาโนเมตรเมื่อส่องด้วยกล้อง TEM .....	6
ภาพที่ 2.4 ประเภทของกระบวนการ phytoremediation.....	12
ภาพที่ 2.5 กลไกการดูดซึมระหว่างสารพิษอินทรีย์และอินทรีย์ในเซลล์พืช.....	15
ภาพที่ 2.6 โครงสร้างของเอนไซม์คะตะเลส.....	17
ภาพที่ 2.7 โครงสร้าง 3มิติของ H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> .....	17
ภาพที่ 2.8 ผักตบชวา.....	18
ภาพที่ 2.9 โครงสร้างภาพตัดขวางของรากผักตบชวากำลังขยาย 100 เท่า.....	19
ภาพที่ 4.1 อุณหภูมิเฉลี่ยของสารละลายธาตุอาหารที่ปลูกผักตบชวา ( <i>E. crassipes</i> ) ทั้งชุดควบคุมและชุดการทดลอง ตลอดระยะเวลา 15 วัน.....	35
ภาพที่ 4.2 ความเป็นกรดต่างที่เปลี่ยนแปลงของสารละลายที่ปลูกผักตบชวาและชุดควบคุมตลอดระยะเวลา 15 วัน.....	37
ภาพที่ 4.3 ออกซิเจนละลายในสารละลายธาตุอาหารที่ปลูกผักตบชวา และชุดควบคุม ตลอดระยะเวลา 15 วัน .....	40
ภาพที่ 4.4 ของแข็งละลายในสารละลายธาตุอาหารที่ปลูกผักตบชวา และชุดควบคุม ตลอดระยะเวลา 15 วัน.....	41
ภาพที่ 4.5 ค่าของแข็งแขวนลอยในสารละลายธาตุอาหารที่ปลูกผักตบชวา และชุดควบคุม ตลอดระยะเวลา 15 วัน.....	43
ภาพที่ 4.6 น้ำหนักสดของผักตบชวาที่ปลูกในสารละลายธาตุอาหารที่มีสังกะสีออกไซด์ขนาดนาโนเมตร 3 ความเข้มข้น และชุดควบคุมที่ไม่มีสังกะสี ตลอดระยะเวลา 15 วัน .....	44

ภาพที่ 4.7	น้ำหนักแห้งของผักตบชวาที่ปลูกในสารละลายธาตุอาหารที่มีสังกะสีออกไซด์ขนาดนาโนเมตร 3 ความเข้มข้น และชุดควบคุมที่ไม่มีสังกะสี ตลอดระยะเวลา 15 วัน .....	45
ภาพที่ 4.8	ความยาวรากผักตบชวาที่ปลูกในสารละลายธาตุอาหารที่มีสังกะสีออกไซด์ขนาดนาโนเมตร 3 ความเข้มข้น และชุดควบคุมที่ไม่มีสังกะสี ตลอดระยะเวลา 15 วัน.....	46
ภาพที่ 4.9	กราฟแสดงการวัดสังกะสีในรูปสังกะสีออกไซด์ขนาดนาโนเมตร (Calibration Curve) .	48
ภาพที่ 4.10	การยึดเกาะของสังกะสีออกไซด์ขนาดนาโนเมตรบริเวณส่วนรากของหญ้าไรย์ <i>lolium perenne</i> และ การตกค้างตามอแกนแลลในเซลล์ราก .....	50
ภาพที่ 4.11	การสะสมของสังกะสีในราก (A), ลำต้น (B) และใบ (C) ของผักตบชวาที่ปลูกในสารละลายธาตุอาหารที่มีสังกะสีออกไซด์ขนาดนาโนเมตร 3 ความเข้มข้น และชุดควบคุมที่ไม่มีสังกะสี ตลอดระยะเวลา 15 วัน .....	52
ภาพที่ 4.12	ความเข้มข้นของสังกะสีที่เหลือในสารละลายธาตุอาหารในชุดควบคุม และชุดทดลองที่มีสังกะสีออกไซด์ขนาดนาโนเมตร ความเข้มข้น 3.5, 5 และ 7.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ตลอดระยะเวลา 15 วัน .....	55
ภาพที่ 4.13	ปริมาณคลอโรฟิลล์เอของใบผักตบชวาในชุดควบคุม และชุดทดลองที่มีสังกะสีออกไซด์ขนาดนาโนเมตร ความเข้มข้น 3.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ตลอดระยะเวลา 15 วัน..	57
ภาพที่ 4.14	ปริมาณคลอโรฟิลล์บีของใบผักตบชวาในชุดควบคุม และชุดทดลองที่มีสังกะสีออกไซด์ขนาดนาโนเมตร ความเข้มข้น 3.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ตลอดระยะเวลา 15 วัน..	58
ภาพที่ 4.15	ปริมาณคลอโรฟิลล์รวมของใบผักตบชวาในชุดควบคุม และชุดทดลองที่มีสังกะสีออกไซด์ขนาดนาโนเมตร ความเข้มข้น 3.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ตลอดระยะเวลา 15 วัน..	59
ภาพที่ 4.16	ปริมาณแคโรทีนอยด์ของใบผักตบชวาในชุดควบคุม และชุดทดลองที่มีสังกะสีออกไซด์ขนาดนาโนเมตร ความเข้มข้น 3.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ตลอดระยะเวลา 15 วัน..	61
ภาพที่ 4.17	ปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ของใบผักตบชวาในชุดควบคุม และชุดทดลองที่มีสังกะสีออกไซด์ขนาดนาโนเมตร ความเข้มข้น 3.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ตลอดระยะเวลา 15 วัน.....	64

ภาพที่4.18 แอททิวิตี้ของเอนไซม์คะตะเลส ของใบผักตบชวาในชุดควบคุม และชุดทดลองที่มี  
สังกะสีออกไซด์ขนาดนาโนเมตร ความเข้มข้น 3.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ตลอดระยะเวลา  
15 วัน..... 65



## บทที่ 1

### บทนำ

#### 1.1 ความสำคัญของปัญหา

การปนเปื้อนของสังกะสีออกไซด์ขนาดนาโนเมตร (ZnO NPs) เกิดจากการพัฒนาด้านอุตสาหกรรม หลายประเภท เช่น อุตสาหกรรมสี อุตสาหกรรมปุ๋ย ผลิตภัณฑ์สารกันแดด อุปกรณ์อิเล็กทรอนิกส์ (Gottschalk *et al.*, 2009; กิตติพงษ์ อำนวยสวัสดิ์, 2551) ดังนั้นจึงเป็นสาเหตุให้มีการปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อม ได้แก่ ดิน อากาศ และ น้ำ โดยเฉพาะการปนเปื้อนในน้ำทั้งในรูปแบบน้ำเสียอุตสาหกรรม ปุ๋ยการเกษตร ผลิตภัณฑ์ ที่มีส่วนผสมของ ZnO NPs เป็นต้น งานวิจัยในปัจจุบันพบว่า ZnO NPs มีผล ยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่มีหน้าที่ย่อยสลายสารอินทรีย์ ทำให้น้ำเน่าเสีย (กรมควบคุมมลพิษ, 2556)

การปนเปื้อนของ ZnO NPs ในแหล่งน้ำมีผลกระทบต่อมนุษย์ เช่น หากได้รับผ่านทางน้ำดื่มหรือปนเปื้อนในอาหาร จะทำให้มีอาการคลื่นไส้ อาเจียน เป็นต้น (US Environmental Protection Agency, 2005; สุพิณ แสงสุข, 2551) ส่วนผลกระทบต่อระบบนิเวศ และสิ่งมีชีวิต พบว่ามีการตกค้างในสิ่งมีชีวิตในแหล่งน้ำ ผลการวิจัยพบว่า ZnO NPs ทำให้การเจริญเติบโตของสัตว์น้ำลดลง และส่งผลกระทบต่อระบบเนื้อเยื่อ ตลอดจนอวัยวะของสัตว์น้ำ (Wong *et al.*, 2010) จึงจำเป็นต้องมีวิธีการจัดการ และบำบัด ZnO NPs อย่างเหมาะสม ซึ่งการนำพืชมาบำบัด โลหะหนักในสิ่งแวดล้อมนั้นเป็นทางหนึ่ง เนื่องจากเป็นกระบวนการที่มีต้นทุนต่ำ แต่ประสิทธิภาพนั้นขึ้นกับขึ้นกับปัจจัย เช่น ประเภทของพืช ลักษณะของสารพิษ ความเข้มข้นของสารพิษ ระยะเวลาการรับสัมผัส และคุณสมบัติของตัวกลางที่ปนเปื้อน (นัยนันท์ อริยกานนท์, 2558)

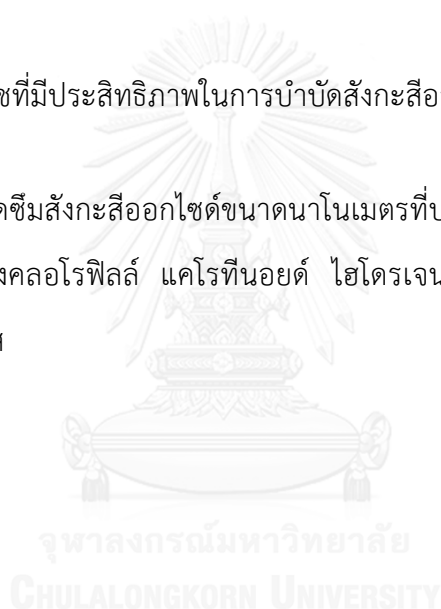
สำหรับงานวิจัยการบำบัดสังกะสีออกไซด์ขนาดนาโนเมตรได้เลือกพืชคือ ผักตบชวา เนื่องจากเป็นวัชพืชท้องถิ่น ที่มีการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็ว มวลชีวภาพมาก และพบได้แพร่หลายในแหล่งน้ำผิวดินทั่วไป มีการแพร่พันธุ์ง่ายเมื่อเทียบกับพืชชนิดอื่นที่ต้องการนำมาบำบัดน้ำเสีย โดยมีงานวิจัยถึงประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำที่ปนเปื้อนโลหะหนัก เช่น โครเมียม (Mohanty, Jha, and Meikap, 2006) ตะกั่ว (Pereira *et al.*, 2014) อาร์เซนิก (Alvarado *et al.*, 2008) เป็นต้น และรวมทั้งความสามารถของผักตบชวาในการบำบัดสารกำจัดศัตรูพืช (ethion) (Xia and Ma, 2006) เป็นต้น นอกจากนี้ผักตบชวายังมีคุณสมบัติลอยน้ำอิสระ ง่ายต่อการวางแผนปลูกและเก็บเกี่ยวเมื่อเปรียบเทียบกับ พืชใต้น้ำ พืชชายน้ำ เป็นต้น สะดวกในการนำไปกำจัด ทำลาย ให้เหมาะสม

## 1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

- 1) เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของผักตบชวาในการบำบัดสังกะสีออกไซด์ขนาดนาโนเมตรที่ปนเปื้อนในน้ำ
- 2) เพื่อศึกษาผลของสังกะสีออกไซด์ขนาดนาโนเมตรต่อปริมาณคลอโรฟิลล์ แคโรทีนอยด์ ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ และเอนไซม์คะตะเลสในผักตบชวา

## 1.3 สมมติฐานการวิจัย

- 1) ผักตบชวาเป็นพืชที่มีประสิทธิภาพในการบำบัดสังกะสีออกไซด์ขนาดนาโนเมตรที่ปนเปื้อนในน้ำ
- 2) เมื่อผักตบชวาดูดซึมสังกะสีออกไซด์ขนาดนาโนเมตรที่ปนเปื้อนในน้ำ จะเกิดกระบวนการเปลี่ยนแปลงของคลอโรฟิลล์ แคโรทีนอยด์ ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ และแอกทิวิตีของเอนไซม์คะตะเลส





#### 1.4 ขอบเขตการวิจัย

- 1) ศึกษาประสิทธิภาพการดูดซึมสังกะสีออกไซด์ขนาดนาโนเมตรที่ปนเปื้อนในน้ำโดยผักตบชวา โดยปลูกพืชในน้ำที่มีความเข้มข้นของสังกะสีออกไซด์ขนาดนาโนเมตร 3 ความเข้มข้น และวิเคราะห์หาปริมาณสารที่เหลือในน้ำ และ สะสมในพืชในวันที่ 0, 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13 และ 15
- 2) พารามิเตอร์ที่ทำการตรวจวัดในน้ำในวันที่ 0, 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13 และ 15 คือ ค่าความเป็นกรดต่าง อุณหภูมิ ออกซิเจนละลาย ปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลาย และปริมาณของแข็งแขวนลอยทั้งหมด และปริมาณสังกะสีทั้งหมด ส่วนในพืชคือ มวลชีวภาพ ความยาวราก และ ปริมาณสังกะสีทั้งหมดในพืช
- 3) ศึกษาการเปลี่ยนแปลงของคลอโรฟิลล์ แคโรทีนอยด์ ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ และแอกทิวิตีของเอนไซม์คะตะเลสในพืช โดยเลือกทำเฉพาะค่าความเข้มข้นของสังกะสีออกไซด์ขนาดนาโนเมตรที่ทำให้พืชเจริญเติบโตมากที่สุดทำการตรวจวัดการเปลี่ยนแปลงในวันที่ 0, 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13 และ 15

#### 1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

- 1) เพื่อใช้เป็นข้อมูลเบื้องต้นเกี่ยวกับประสิทธิภาพของผักตบชวาในการบำบัดน้ำที่มีการปนเปื้อนของสังกะสีออกไซด์ขนาดนาโนเมตร
- 2) ทราบปริมาณคลอโรฟิลล์ แคโรทีนอยด์ ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ และแอกทิวิตีของเอนไซม์คะตะเลสที่เปลี่ยนแปลง

## บทที่ 2

### เอกสาร และงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

#### 2.1 อนุภาคขนาดนาโนเมตร

อนุภาคขนาดนาโนเมตร (nanoparticles) คืออนุภาคที่มีขนาดเล็กในระดับนาโนเมตร ( $10^{-9}$  m) โดยอาจจะรวมถึงการจัดเรียงโครงสร้างอย่างถูกต้องในระดับอะตอมอาจจะเรียกวัดกลุ่มเหล่านี้ว่า วัสดุโครงสร้างนาโนหรือ หรือนาโนวัสดุ ซึ่งในปัจจุบันมีนักวิทยาศาสตร์ทำการศึกษา ลักษณะเฉพาะ กระบวนการ วิธีการต่างๆ เพื่อผลิตวัสดุให้ตรงกับคุณภาพตามความต้องการ เช่นการใช้ใน อุตสาหกรรมยานยนต์ และอุตสาหกรรมสิ่งทอ เป็นต้น (จินดา ศิริตา, 2548)

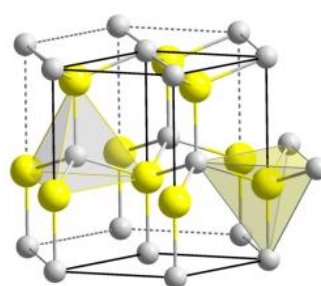
#### 2.2 สังกะสีออกไซด์ขนาดนาโนเมตร (Zinc oxide :ZnOnanoparticles (NPs))

สังกะสีออกไซด์ (ZnO) ในรูปแบบขนาดอนุภาคนาโนเมตรนั้น หรือจะมีชื่อเรียกอีกอย่างว่า นาโนดอท (Nanodots) หรือ นาโนพาวเดอร์ (Nanopowders) ลักษณะมีผิวสูงทรงกลมหรือเหลี่ยมเพชร โดยอนุภาคสังกะสีโดยทั่วไปจะขนาด 20 – 40 นาโนเมตร ( $10^{-9}$  m) (Vaseem, Umar, and Hahn, 2015) ซึ่งสังกะสีที่นิยมนำมาทำในรูปอนุภาคนาโนนั้น เป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากกระบวนการเปลี่ยนแปลงขนาดของอนุภาคของสังกะสีออกไซด์ (Zinc oxide :ZnO) โดยทำให้มีขนาดเล็กลงระดับนาโนเมตร ( $10^{-9}$  m) มีความบริสุทธิ์สูง ซึ่งสังกะสีออกไซด์ขนาดอนุภาคนาโนนั้นมีคุณสมบัติดังตารางที่ 2.1 ดังนี้

ตารางที่ 2.1 สมบัติทางเคมีโดยทั่วไปของสังกะสีออกไซด์ขนาดนาโนเมตร

ชื่อผลิตภัณฑ์	ZnONPs (Zinc Oxide Nano Particles)
สูตรโมเลกุล	ZnO
น้ำหนักโมเลกุล	81.39 g/mole
รูปร่าง	ผงแป้งลักษณะสีขาว
ลักษณะรูปผลึก	Wurtzite (hexagonal)
ความบริสุทธิ์	99.5+ %
ขนาดอนุภาคโดยเฉลี่ย	20 – 40 นาโนเมตร (nm)
พื้นที่ผิวจำเพาะ	26.22 m <sup>2</sup> /g
ความหนาแน่นรวม	0.14 g/cc
ความหนาแน่นแท้จริง	5.6 g/cc
ความเป็นกรด - ด่าง (pH)	7 – 8
จุดเดือด	2,360 °C
จุดหลอมเหลว	1,975 °C
ดัชนีหักเห	2.0041

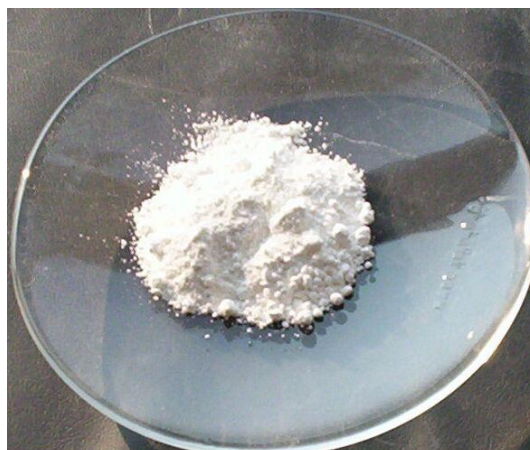
ที่มา: กิตติพงษ์ อำนวยสวัสดิ์ (2551)



Wurtzite (Hexagonal)

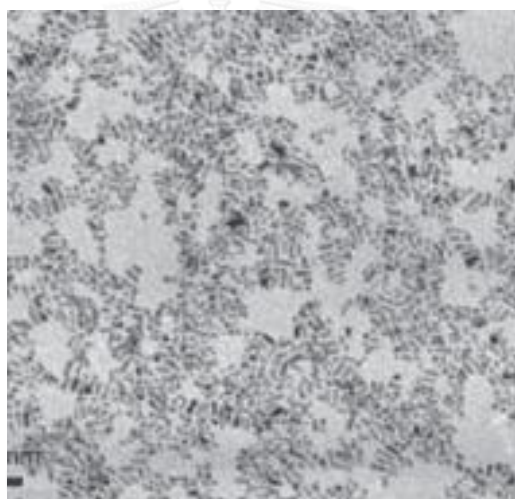
ภาพที่ 2.1 โครงสร้างผลึก (Crystal Structure) ของ ZnO ที่มีโครงสร้างแบบ Wurtzite (hexagonal)

ที่มา: กิตติพงษ์ อำนวยสวัสดิ์ (2551)



ภาพที่ 2.2 ลักษณะของผงสังกะสีออกไซด์ขนาดอนุภาคนาโนเมตร (Nano powders)

ที่มา: <http://www.us-nano.com/inc/sdetail/3992>



ภาพที่ 2.3 สังกะสีออกไซด์ขนาดนาโนเมตรเมื่อส่องด้วยกล้อง TEM

ที่มา: Vaseem *et al.* (2015)

### 2.2.1 ความสำคัญของสังกะสีออกไซด์ขนาดนาโนเมตร

สังกะสีออกไซด์เป็นวัสดุในกลุ่มโลหะออกไซด์ที่มีการนำมาใช้งานในรูปแบบของวัสดุนาโน ได้มีการนำมาใช้งานในรูปแบบประเภทต่างๆ ได้แก่ การใช้งานในกลุ่มอิเล็กทรอนิกส์ หรืออุปกรณ์ในการตรวจจับก๊าซ ใช้สำหรับการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียทางด้านทันตกรรมรักษาแผล การอุดฟันด้วยอมัลกัม (eugenol cement) นอกจากนั้นคุณสมบัติของสังกะสีออกไซด์อนุภาคนาโนเมตรนั้นมาใช้อย่างผลิตภัณฑ์ที่ใช้กับมนุษย์โดยตรง เช่น โลชันปกป้องแสงแดด เนื่องจากมีระดับความสามารถ

ในการป้องกันรังสียูวีได้ในระดับเดียวกับอนุภาคสังกะสีออกไซด์โดยทั่วไป แต่ข้อได้เปรียบที่เห็นได้ชัดของโลชั่นปกป้องแสงแดดที่ใช้อนุภาคนาโนเป็นองค์ประกอบคือการส่งผ่านแสงได้ดีกว่า จึงทำให้ไม่เกิดร่องรอยให้เห็นเป็นสีขาวชัดเจน หรือคราบโลชั่นกันแดด เมื่อเปรียบเทียบกับโลชั่นกันแดดที่ใช้อนุภาคขนาดปกติ (สุพิณ แสงสุข, 2551) ในด้านการประยุกต์ใช้ในด้านอื่น ยังมีการใช้ประโยชน์ได้แก่ การใช้ในอุตสาหกรรมสี โดยช่วยลดการเสื่อมสลายในสีเคลือบพลาสติกและไม้ ยังช่วยลดการเน่าเหม็นของสีเมื่อสัมผัสกับน้ำทะเล จึงมีการใช้ในเรือเดินทะเล ใช้ในอุตสาหกรรมยาง เนื่องด้วยสังกะสีออกไซด์อนุภาคนาโนเมตรนั้น มีคุณสมบัติดูดกลืนความร้อนได้ดี ช่วยเร่งปฏิกิริยาในกระบวนการ อบร้อนยาง ในอุตสาหกรรมพลาสติก (Vaseem *et al.*, 2015) ได้ประยุกต์ในการทำเป็นผลิตภัณฑ์ เช่น บรรจุภัณฑ์พลาสติกกันแสงยูวี พลาสติกกันไฟ เป็นต้น ทางด้านอุตสาหกรรมแก้วและเซรามิก เนื่องจาก สังกะสีออกไซด์อนุภาคนาโนเมตรมีบทบาทใช้ในเป็นส่วนประกอบสำคัญสำหรับแก้วที่สามารถหลอมเหลวในอุณหภูมิต่ำ เช่นการเชื่อมแก้ว ในด้านเซรามิก มีบทบาทในด้านมวลเบา สามารถทนความร้อนสูง และทนกระแสไฟฟ้าได้ (ฉนวนไฟฟ้า) ในด้านอุตสาหกรรมยาสูบได้ใช้ไส้กรองที่มีส่วนผสม ZnO รวมกับถ่าน และ Iron Oxide ช่วยดักจับสารไฮโดรเจนไซยาไนด์ (HCN) และ ไฮโดรเจนซัลไฟด์ (H<sub>2</sub>S) จากควันบุหรี่และยังมีการสังเคราะห์ใช้เป็นอาหารเสริมธาตุ Zinc โดยกำหนดปริมาณที่แนะนำ 15 มิลลิกรัมต่อวัน (กิตติพงศ์ อำนวยสวัสดิ์, 2551)

### 2.2.2 ผลกระทบในด้านความเป็นพิษต่อร่างกาย

ประโยชน์ของสังกะสีออกไซด์ขนาดนาโนเมตรนั้นจะมีมากมาย อย่างไรก็ตามนั้นได้มีการศึกษาถึงผลกระทบในด้านการก่อให้เกิดพิษ โดยเฉพาะอย่างยิ่งการเกิดพิษในร่างกายของมนุษย์

#### กลไกการออกฤทธิ์ (active mechanism)

สำหรับสังกะสีออกไซด์ขนาดนาโนเมตรนั้น เนื่องด้วย มีขนาดที่อนุภาคเล็กลง ดังนั้นจะมีการเข้าสู่ร่างกายไปยังบริเวณเซลล์บริเวณหลอดเลือดหัวใจ (Human aortic endothelial cell :HAEC) โดยขนาดของอนุภาคนั้นจะเข้าไปสะสมอยู่ในเซลล์ อย่างไรก็ตามสังกะสีออกไซด์อนุภาคนาโนนั้นร่างกายจะมีการตอบสนองอยู่ที่ความเข้มข้น 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิตรขึ้นไป ซึ่งก่อให้เกิดความผิดปกติในเซลล์บริเวณหลอดเลือดหัวใจซึ่งพิษนั้นก่อให้เกิดการตายของเซลล์ (TOXNET, 1986)

### การแสดงอาการทางร่างกาย (Health effect)

ในด้านการแสดงอาการของมนุษย์นั้นได้มีการแสดงตามการรับสัมผัส ได้แก่ การได้รับสัมผัสทางการหายใจก่อให้เกิดการระคายเคืองทางจมูก มีอาการไข้ หนาวสั่น วิงเวียนศีรษะ ตาพร่ามัว เกิดการหายใจติดขัด (breathing difficulty) ถ้าหากได้รับพิษสะสม เรื้อรังไว้จะทำให้เกิดความบกพร่องของการทำงานของปอด (US Environmental Protection Agency, 2005) การได้รับสัมผัสทางผิวหนังนั้นพบว่าการได้รับ สังกะสีออกไซด์อนุภาคนาโนเมตรมาจากผลิตภัณฑ์พวกโลชั่นปกป้องผิวหนังกจากแสงแดด ซึ่งพบว่าถ้าหากได้รับมากจนเกินไปก็ให้เกิดการระคายเคืองที่บริเวณผิวหนัง (TOXNET, 1986) ในด้านการรับประทานหรือกลืนเข้าสู่ร่างกายนั้น จะก่อให้เกิดอาการ หนาวสั่น ไข้ ท้องร่วง อาเจียน ร่างกายอ่อนเพลีย ถ้าได้รับสัมผัสทางตาก่อให้เกิดการระคายเคือง (National Institute for Occupational Safety and Health, 1986)

ความเป็นพิษของผิวหนังมนุษย์ถึงผลของอนุภาคนาโน เป็นการศึกษาของเซลล์ผิวหนังที่มีความไวเพื่อเปรียบเทียบความเป็นพิษของอนุภาคนาโนของ ไทเทเนียมไดออกไซด์ ( $\text{TiO}_2$ ) และสังกะสีออกไซด์ พบว่าสังกะสีออกไซด์ออกไซด์มีความเป็นพิษสูงกว่านาโนไททาเนียมไดออกไซด์ โดยสารทั้งสองชนิดจะมีผลต่อเซลล์ผิวหนังที่ช่วยผลิตคอลลาเจน อิลาสติน หรือไฟโบรบลาสต์ (fibroblast cells) ซึ่งมีผลเมื่อทำการศึกษาเวลาที่ให้สารเข้าสู่เนื้อเยื่อไฟโบรบลาสต์เซลล์ที่ 24 ชั่วโมง พบว่าค่าความเข้มข้นที่ทำให้ความบกพร่องของเซลล์ เนื้อเยื่อลดลงร้อยละ 50 (50% inhibitory concentration:  $\text{IC}_{50}$ ) ของอนุภาคนาโนของสังกะสีออกไซด์ และไทเทเนียมไดออกไซด์ ( $\text{TiO}_2$ ) พบว่ามีความเข้มข้นที่  $49.56 \pm 12.89$  ppm และ  $2,696 \pm 667$  ppm ตามลำดับ ซึ่งค่าความเข้มข้นที่น้อยแสดงว่ามีค่าความเป็นพิษที่สูงเมื่อให้ในระยะเวลาที่เท่ากัน (Dechasakulthorn *et al.*, 2007)

### ผลต่อระบบสืบพันธุ์ (Reproductive effect)

ผลกระทบของ สังกะสีออกไซด์ขนาดอนุภาคนาโนเมตรมีผลกระทบต่อเชื้อสุมิจของระบบสืบพันธุ์เพศชาย โดยทำการศึกษาระบบสืบพันธุ์เพศชายในหนูเป็นตัวแทนมนุษย์ ซึ่งผลที่ตรวจได้นั้นพบว่ามีผลที่เป็นพิษต่ออวัยวะของหนูและทำให้กลไกที่ระบบสืบพันธุ์คือ ปริมาณสุมิจิน้อยลง ซึ่งค่าพารามิเตอร์ที่วัดได้นั้นคือ จำนวนและประสิทธิภาพการเคลื่อนที่ของอสุจิหนู และความผิดปกติที่เปลี่ยนแปลงหลังจากให้สังกะสีออกไซด์ขนาดอนุภาคนาโนเมตร (Talebi, Khorsandi, and Moridian, 2013)

ผลต่อการเกิดสารก่อมะเร็ง (Carcinogenic disease )

ด้านการเป็นสารก่อมะเร็งนั้นพบว่า สังกะสีออกไซด์อนุภาคนาโนเมตรนั้น มีความสามารถในการกำจัด เซลล์มะเร็งชนิด ทีเซลล์ (Cancerous T cell) ซึ่งเป็นเซลล์เม็ดเลือดขาวที่ผิดปกติ เมื่อเปรียบเทียบกับกำจัดเซลล์เม็ดเลือดขาวทีเซลล์ชนิดปกติ ดังนั้นจึงมีการศึกษาการใช้สังกะสีออกไซด์อนุภาคนาโนเมตรในการวิจัยเพื่อทำการรักษามะเร็ง (TOXNET, 1986)

### 2.2.3 ผลกระทบต่อสิ่งมีชีวิต สิ่งแวดล้อม และนิเวศวิทยา

ในการศึกษาผลกระทบที่เกิดขึ้นในด้านสิ่งแวดล้อม และนิเวศวิทยานั้นได้มีงานวิจัยในด้านผลกระทบของสังกะสีออกไซด์ที่มีผลที่เกิดขึ้นซึ่งมีการศึกษาดังต่อไปนี้

#### ผลกระทบในด้านการตายของสิ่งมีชีวิต

ผลกระทบที่เกิดขึ้นของการในการศึกษาความเป็นพิษที่ปนเปื้อนในระดับความเข้มข้นต่างๆ ซึ่งได้ยกการศึกษาพิษเฉียบพลันของสังกะสีออกไซด์ โดยวิธี static bioassay ต่อหนอนแดง (*Chironomus calipterus*. Kieffer) ที่ระยะที่ 3 พบว่าการตายของหนอนแดงมีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของสังกะสีออกไซด์เพิ่มขึ้น ค่าความเข้มข้นของสังกะสีออกไซด์ที่ทำให้หนอนแดงตายร้อยละ 50 ( $LC_{50}$ ) ณ เวลา 48 72 และ 96 ชั่วโมงพบว่ามีค่าเท่ากับ 21.00, 10.17 และ 5.90 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ ซึ่งแสดงให้เห็นว่าการตายของหนอนแดงมีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของสังกะสีออกไซด์เพิ่มขึ้น และสามารถคำนวณหาเวลาที่ทำให้สัตว์ทดลองตายร้อยละ 50 ( $LT_{50}$ ) มีค่าเวลาที่ลดลงเมื่อความเข้มข้นของสังกะสีออกไซด์เพิ่มขึ้น (นาตยา เต็มราม และคณะ, 2553)

การเปรียบเทียบความแตกต่างกันของอนุภาคปกติและอนุภาคนาโนเมตรระหว่างสังกะสีออกไซด์ คอปเปอร์ออกไซด์ ( $CuO$ ) และไทเทเนียมไดออกไซด์ ( $TiO_2$ ) ต่อแบคทีเรียและสัตว์น้ำเปลือกแข็ง กลุ่มพวกคลัสเตเซียน (Crustaceans) เช่น กุ้ง ปู เนื่องจากสิ่งมีชีวิตทั้งสองชนิด ถือเป็นห่วงโซ่อาหารกันในระบบนิเวศ ซึ่งผลการศึกษาพบว่าความเป็นพิษของโลหะออกไซด์ทั้งสามชนิด ในขนาดอนุภาคปกติและอนุภาคนาโนเมตร พบว่า ความเป็นพิษต่อแบคทีเรีย *Vibrio fischeri* และ กุ้งชนิด *Thamnocephalus platyurus* โดยทำการวัดที่ ค่าความเข้มข้นที่ทำให้สิ่งมีชีวิตตายไปร้อยละ 50 (50% Lethal concentration:  $LC_{50}$ ) จัดได้ลำดับดังต่อไปนี้  $ZnO > CuO > TiO_2$  ซึ่ง  $ZnO$  มีค่าความเข้มข้นเฉลี่ยต่ำสุดที่ทำให้สิ่งมีชีวิตทั้งแบคทีเรีย และ กุ้ง ตายไปไปครึ่งหนึ่ง (ร้อยละ 50) ของจำนวนทั้งหมด (Heinlaan et al., 2008)

## ผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม และนิเวศวิทยา

ผลกระทบในด้านสิ่งแวดล้อม และนิเวศวิทยานั้นได้มีการศึกษาผลกระทบของโลหะหนักต่างๆ ไม่ว่าจะเป็นทั้งอนุภาคทั่วไป และอนุภาคขนาดนาโนเมตร ที่อาจปนเปื้อนขึ้นในสิ่งแวดล้อมในรูปแบบต่างๆ ไม่ว่าจะเป็นทั้งการปนเปื้อน ทางดิน น้ำ หรืออากาศซึ่งทำให้สิ่งมีชีวิตหรือสิ่งไม่มีชีวิตโดยรอบบริเวณการปนเปื้อนมีความเปลี่ยนแปลง เช่น เกิดมลพิษทางน้ำ มลพิษทางดิน และมลพิษทางอากาศ ซึ่งได้มีการศึกษาการเปรียบเทียบประเมินผลกระทบของอนุภาคนาโนของสังกะสี (Zn NPs) และอนุภาคนาโนของสังกะสีออกไซด์ ต่อการเปลี่ยนแปลงของตัวอ่อนแพลงก์ตอนทะเล (*Artemiasalina*) ในการประเมินความเป็นพิษในระบบนิเวศทางทะเล โดยการให้ความเข้มข้นของสารอนุภาคนาโนทั้งสองชนิดในน้ำทะเล โดยให้ความเข้มข้นที่ 10, 50 และ 100 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยศึกษาที่ระยะเวลา 24 และ 96 ชั่วโมง ซึ่งผลที่เกิดขึ้น ในระยะเวลาที่ 24 ชั่วโมง สารทั้งสองชนิดไม่มีผลต่อการตายของตัวอ่อนแพลงก์ตอนทะเล แต่ในระยะเวลาที่ 96 ชั่วโมงพบว่ามีความกระทบต่อสิ่งมีชีวิตซึ่งดูจากค่า 50% Lethal concentration (LC<sub>50</sub>) พบว่าความเข้มข้น Zn NPs และ ZnO NPs ที่ ประมาณ 100 มิลลิกรัมต่อลิตร และ มากกว่า 100 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ จึงกล่าวได้ว่าความเป็นพิษของ Zn NPs มีความเป็นพิษมากกว่า ZnO NPs เพราะเนื่องจาก Zn มีคุณสมบัติละลายน้ำและแลกเปลี่ยนประจุมีผลต่อการทำลายโปรตีน เช่นที่บริเวณเยื่อหุ้มเซลล์ (Ates *et al.*, 2013)

การศึกษาความเป็นพิษด้านระบบนิเวศของ สังกะสีออกไซด์ขนาดนาโนเมตร (ZnO NPs) ในแหล่งน้ำธรรมชาติ โดยความเป็นพิษที่เกิดขึ้นบริเวณน้ำผิวดินในแหล่งน้ำธรรมชาติ โดยทำการศึกษากลุ่มครัสเตเชียน (Crustaceans) ได้แก่ ไรน้ำชนิด *Daphnia magna* กุ้งชนิด *Thammocephalus* และ กลุ่มโพรโตซัว *Tetrahymena thermophila* โดยทำการเปรียบเทียบ LC<sub>50</sub> พบว่า ZnO NPs มีค่าความเป็นพิษสูงกว่า CuO NPs โดยเมื่อวัดปริมาณของ ZnO NPs และ CuO NPs ในสิ่งมีชีวิตทั้งสามชนิดพบว่า ค่าความเข้มข้นเท่ากับ 1.1-16 มิลลิกรัมต่อลิตร และ มากกว่า 140 mg มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ (Blinova *et al.*, 2010)



ปัญหาการปนเปื้อนของโลหะหนักไม่ว่าจะเป็นทั้งขนาดอนุภาคปกติและอนุภาคขนาดนาโนเมตร ทำให้นักวิทยาศาสตร์ตระหนักถึงผลกระทบที่เกิดขึ้น จึงทำให้มีการวิจัย คิดค้นพัฒนาเทคนิคเพื่อบำบัดการปนเปื้อนสารพิษ ไม่ว่าจะทั้งทางด้านกายภาพ ทางด้านเคมี และชีวภาพ (นัยนันท์ อริยกานนท์, 2558) สำหรับแนวคิดที่จะนำพืชมาใช้บำบัดสารพิษที่ปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อม จะมีข้อดีในด้าน ต้นทุนต่ำ ประหยัดพลังงาน เช่นไฟฟ้า เชื้อเพลิง เป็นต้น ประสิทธิภาพดีในระดับหนึ่งตามงบประมาณ และ ความเหมาะสมการใช้งาน

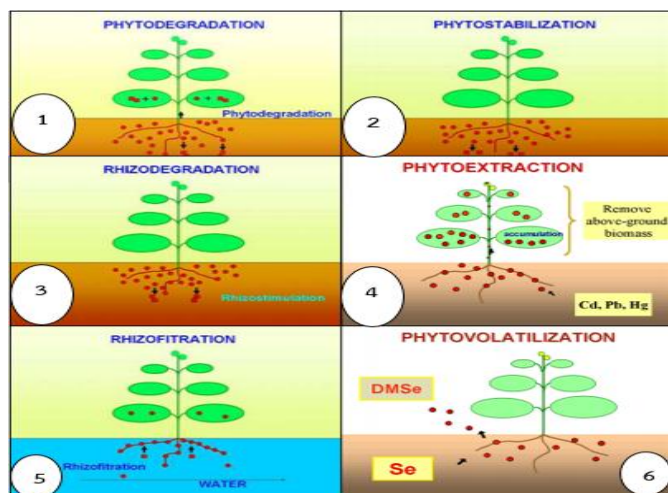
## 2.3 การบำบัดโดยพืช (Phytoremediation)

### 2.3.1 นิยามของการบำบัดโดยพืช

การใช้พืชมาบำบัดสารมลพิษ (Phytoremediation) ที่ปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อม โดยวิธีนี้มีต้นทุนต่ำทั้งการสร้างและบำรุงรักษา ประหยัดพลังงาน ประสิทธิภาพดีในระดับตามความเหมาะสมการใช้งาน การใช้พืชบำบัดสารมลพิษทั้งสารอินทรีย์ และอนินทรีย์ที่ปนเปื้อนนั้น มีหลักการบำบัดแต่ละชนิดตามกลไกในการบำบัดมลพิษที่แตกต่างกัน ขึ้นอยู่กับชนิดของพืช ประเภทของสารมลพิษ ความเข้มข้นของสารมลพิษ ระยะเวลาการรับสัมผัส สมบัติทางกายภาพ และเคมีของตัวกลางที่ปนเปื้อน โดยพืชสามารถบำบัดสารพิษ เช่น โลหะหนัก สารอินทรีย์ ของเสียพวกธาตุอาหาร วัตถุระเบิด เช่น ทีเอ็นที เป็นต้น (International Environmental Technology Center, 2009, Yang Feng, & He, 2012)

### 2.3.2 ประเภทของ Phytoremediation

การแบ่งประเภทของการบำบัดโดยใช้พืชนั้น สามารถแยกชนิดของการบำบัดโดยใช้พืชเป็น 6 กระบวนการหลัก ได้แก่ (ภาพที่ 2.4)



ภาพที่ 2.4 ประเภทของกระบวนการ phytoremediation

ที่มา:<http://systemsbiology.usm.edu/PhytoTech/WRKY07012011.html>

การย่อยสลายโดยพืช (Phytodegradation หรือ Phytotransformation) เป็นการย่อยสลายสารปนเปื้อนประเภทสารอินทรีย์โดยพืชโดยไม่มีส่วนเกี่ยวข้องกับกิจกรรมของจุลินทรีย์ กระบวนการนี้เกิดขึ้นภายในเซลล์หรือภายนอกเซลล์พืช เช่น รากปล่อยเอนไซม์ทำปฏิกิริยาทางเคมีย่อยสลายสารปนเปื้อนในดิน หรือมีการเมแทบอลิซึมในพืช (Newman and Reynolds, 2004) ทำให้สารพิษมีโครงสร้างเปลี่ยนแปลงไปเช่น สารพิษโครงสร้างซับซ้อนกลายเป็นสารที่มีขนาดเล็กลง มีความเป็นพิษน้อยลง โดยมักจะบำบัดสารมลพิษประเภทสารอินทรีย์ (Dhir, 2013)

การตรึงโดยพืช (Phytostabilization) คือพืชทำให้สารมลพิษอินทรีย์ เช่น โลหะหนักที่อยู่ในดินเกิดการคงตัว ไม่เคลื่อนที่ หรือเปลี่ยนสารมลพิษให้เล็กลง สารมลพิษบางส่วนมาเก็บไว้ส่วนราก และไม่เคลื่อนย้ายสารมลพิษไปยังส่วนที่อยู่เหนือพื้นดิน (Andreazza *et al.*, 2013) หรือรากพืชจะปล่อยสารให้ค่าความเป็นกรดต่างในดินเปลี่ยนแปลง ส่งผลต่อการเคลื่อนย้าย การแตกตัว และการละลายผ่านน้ำใต้ดินของสารมลพิษ กระบวนการนี้ทำให้สารพิษเกิดการตกตะกอน มีผลให้สารพิษไม่เคลื่อนย้ายจากดินชั้นบนลงไปยังดินหรือน้ำใต้ดิน สามารถลดผลกระทบของสารมลพิษที่มีต่อสิ่งมีชีวิตผ่านห่วงโซ่อาหารได้ (Ground Water Remediation Technologies Analysis Center, 1997)

การย่อยสลายโดยพืชและจุลินทรีย์ (Rhizodegradation) คือการที่จุลินทรีย์ที่อาศัยในเขตราก ทำหน้าที่ย่อยสลายสารพิษ ส่วนพืชมีบทบาทในการหลังสารเช่น น้ำตาล แอลกอฮอล์ (พันธวัศ สัมพันธ์พานิช, 2558) ที่ทำให้จุลินทรีย์ในเจริญเติบโต และกระตุ้นกิจกรรมในการย่อยสลายสารพิษ สารมลพิษที่จุลินทรีย์สามารถย่อยสลายได้มักเป็นสารอินทรีย์ โดยจุลินทรีย์เป็นพวกแบคทีเรีย ยีสต์ราไมคอร์ไรซาโดยในกระบวนการสารพิษจะมีความเป็นพิษลดลง ซึ่งจุลินทรีย์นำมาเป็นสารอาหารและพลังงาน (นัยนันท์ อริยกานนท์, 2558)

การสกัดโดยพืช (Phytoextraction หรือ Phytoaccumulation) คือการที่พืชกำจัดสารปนเปื้อนออกจากตัวกลางดิน หรือน้ำ โดยพืชจะดูดสารพิษผ่านทางราก และเคลื่อนย้ายไปสะสมไว้ในส่วนที่อยู่เหนือพื้นดิน ในส่วนต่างๆของพืช เมื่อพืชดูดสารพิษจนถึงระยะเวลาที่เหมาะสมแล้ว ให้เก็บเกี่ยวพืชออกไปจากพื้นที่ และนำไปบำบัดด้วยวิธีที่เหมาะสมต่อไป วิธีนี้เป็นการลดปริมาณสารพิษในตัวกลางที่ต้องการบำบัด ในการออกแบบการบำบัดต้องศึกษาพืชที่นำมาใช้ต้องทนต่อความเข้มข้นของสารพิษแต่ละชนิดได้ และศึกษากลไกในพืชที่ช่วยลดความเป็นพิษของสารที่เข้าไป โดยการสกัดโดยพืชนั้นมีความเหมาะสมในการบำบัดสารพวกสารอนินทรีย์โลหะหนักได้มีประสิทธิภาพเช่น ทองแดง เหล็ก แมงกานีส เป็นต้น (Lasert, 2002)

การกรองโดยรากพืช (Rhizofiltration) คือการที่พืชในส่วนรากทำหน้าที่ดูดซับหรือกรองสารพิษ ซึ่งสารพิษอยู่ในรูปของสารละลายที่ปนเปื้อนในน้ำผิวดิน น้ำใต้ดิน น้ำเสีย และในดินที่มีความชุ่มชื้นของน้ำสูงหรือไฮโดรพอนิกส์ โดยพืชจะสะสมไว้ในรากเท่านั้น เช่น การดูดซับแคดเมียมของกลุ่มพืชลอยน้ำ (floating macrophytes) โดย ศึกษาชนิดพืช ได้แก่ *Salvinia herzogii*, *Pistia stratiotes*, *Hydromistia stolonifera* และ *Eichhornia crassipes* โดยผลทดสอบพบว่าปริมาณแคดเมียมส่วนมากสะสมอยู่ในรากพืชของกลุ่ม floating macrophytes ที่นำมาทดลองทั้งหมด (Maine, Duarte, and Sune, 2001) เมื่อทำการเก็บเกี่ยวพืชหลังจากทำการบำบัดแล้ว สามารถนำส่วนที่อยู่เหนือพื้นดินหรือพื้นน้ำเช่น ราก ลำต้น ไปใช้ประโยชน์ได้ สำหรับส่วนรากนั้นจำเป็นจะต้องนำไปบำบัดด้วยวิธีอื่นที่เหมาะสมต่อไป ความสามารถในการดูดซับสารมลพิษ ขึ้นอยู่กับชนิดของพืช เช่น การศึกษาข้อมูลพืชสามารถทนในการสะสมโลหะหนักแต่ละชนิดในปริมาณสูงแต่พืชไม่แสดงอาการ หรือเรียกว่า Hyperaccumulator เช่น จอก (*P.stratiotes*) มีประสิทธิภาพการสะสมโลหะหนักประเภทปรอทประมาณ 1000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักแห้งของพืช (Skinner, Wright, and Porter-Goff, 2007)

การทำให้ระเหยโดยพืช (Phytovolatilization) คือการที่พืชดูดสารพิษที่สามารถละลายน้ำได้เข้ามาทางรากจากนั้นเกิดการลำเลียงเพื่อไปยังส่วนยอด และปลดปล่อยสารออกไปสู่บรรยากาศทางปากใบโดยอาศัยกระบวนการคายน้ำของพืช ซึ่งภายในต้นพืชจะมีกลไกในการเปลี่ยนรูป และลดความเป็นพิษของสารก่อนที่จะปลดปล่อยออกสู่บรรยากาศ สารพิษมักเป็นพวกสารอินทรีย์หรือสารอนินทรีย์ที่ระเหยได้ เช่น ซีลีเนียม ปรอต โพลีไซคลิกอโรมาติกคาร์บอน (PAHs) (อลิสซา วังไฉ, 2558)

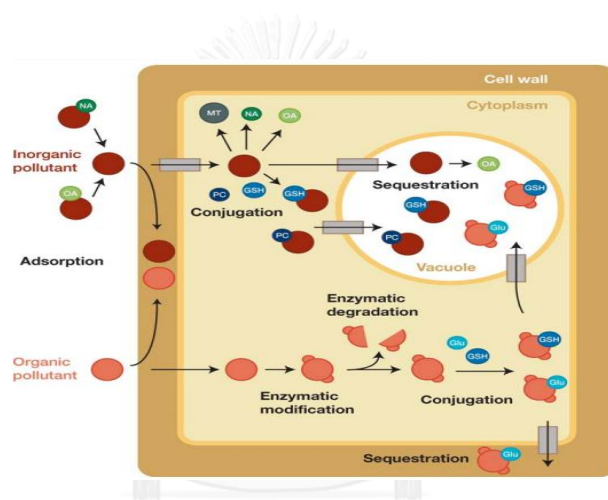
การวางแผนการใช้ ต้องศึกษาประสิทธิภาพของพืชมาก่อน เพื่อวางแผนระบบบำบัดได้อย่างมีประสิทธิภาพ เช่น การบำบัดโดยทดลองการใช้แหนแดง (*Azolla caroliniana*) แหนเป็ดใหญ่ (*Spirodela polyrhiza*) และ จอก (*Pistia stratiotes*) ในการบำบัดสารฆ่าจุลินทรีย์ กลุ่มซัลโฟนาไมด์ (sulfadimethoxine) และ ควิโนโลน (flumequine) พบว่าแหนแดงมีประสิทธิภาพในการสะสมสารและบำบัด และมีสภาพสมบูรณ์ในสภาวะที่ความเข้มข้นสูง ขณะที่จอกนั้นตายในสภาวะเดียวกัน (Forni, Patrizi, and Migliore, 2006)

## 2.4 การสกัดโดยพืช (Phytoextraction) และการกรองโดยรากพืช (Rhizofiltration)

### กลไกของกระบวนการ

กลไกของการสกัดโดยพืช และการกรองโดยรากพืชมีหลักการที่ใกล้เคียงกันเพียงแต่ประสิทธิภาพในการลำเลียงไปสู่ยอดแตกต่างกัน ซึ่งของเสียมักอยู่ในรูปโลหะหนักหรือสารอินทรีย์ โดยในกลไกการบำบัดโลหะหนักนั้น เริ่มจากรากพืชดูดซึมสารพิษเข้ามาทางขนราก จากนั้นเข้าสู่ส่วนเนื้อเยื่อ โดยจะมีตัวขนส่งโลหะ ในการลำเลียงโลหะหนักจะผ่านช่องว่างระหว่างผนังเซลล์ในบริเวณคอร์เทกซ์ (cortex) เคลื่อนเข้าสู่เอนโดเดอริส (endodermis) จะมีแถบแคสพาเรียน (casparian strip) กั้นอยู่ที่ผนังเซลล์ซึ่งบริเวณผนังเซลล์มีหมู่ฟังก์ชัน เช่น ซัลไฟไฮดริล (-SH) ไฮดรอกซิล (-OH) คาร์บอกซิล (-COOH) จะเกิดปฏิกิริยาจับโลหะหนักที่มีประจุบวก (นัยนันท์ อริยกานนท์, 2558) ดังนั้นโลหะหนักไม่สามารถผ่านไปได้ จึงต้องผ่านไปทางไซโทพลาซึม (cytoplasm) และจากนั้นจึงเกิดการตกตะกอนในแวคิวโอล (vacuole) หรือตกค้างในไซโทพลาซึมในเซลล์รากซึ่งเป็นกลไกที่พืชจะเก็บโลหะหนักไว้ในส่วนที่ไม่เป็นอันตรายต่อตัวพืชเอง (ภาพที่ 2.5) (Pilon-Smith, 2005; พันธวัศ

สัมพันธ์พานิช, 2558) โดยงานวิจัยนี้ได้ศึกษาในกลุ่มโลหะหนักออกไซด์ขนาดนาโนเมตร ซึ่งมีคุณสมบัติไม่ละลายในสารละลายอินทรีย์ โดยยกตัวอย่างงานวิจัยของ Lin and Xing (2008) ทำการศึกษาการนำเข้าสู่สังกะสีออกไซด์ขนาดนาโนเมตรในรากของหญ้าไรย์ *lolium perenne* โดยส่องกล้อง SEM พบว่ามีอนุภาคทำการยึดเกาะบริเวณผิวนอกของราก ซึ่งถ้าขนาดอนุภาคมีขนาดเล็กเข้าไปในรูของรากได้จะเกิดการตกตะกอน ตกค้างตามอแกแนลล์ เช่น แวกคิวโอล หรือไซโทพลาซึมในเซลล์ราก โดยศึกษาจากกล้อง TEM ซึ่งประสิทธิภาพในการลำเลียงไปส่วนยอดมีประสิทธิภาพต่ำจากกลไกของพืชดังกล่าว ซึ่งเมื่อเข้าไปส่วนใบโดยอาศัยการลำเลียงน้ำในท่อลำเลียง จะเกิดการตกค้างในอแกแนลล์ ซึ่งส่งผลต่อการทำลายเช่น คลอโรพลาสต์ นิวเคลียสในเซลล์ใบ เป็นต้น (Rao and Shekhawat, 2014)



ภาพที่ 2.5 กลไกการดูดซึมระหว่างสารพิษอนินทรีย์และอินทรีย์ในเซลล์พืช  
ที่มา: Pilon-Smith (2005)

## 2.5 การบำบัดสังกะสีโดยใช้พืช

การปนเปื้อนของสังกะสีในสิ่งแวดล้อมไม่ว่าจะเป็นทางน้ำ หรือทางดิน ได้มีแนวทางในการบำบัดเพื่อลดการปนเปื้อนของโลหะหนักดังกล่าว ซึ่งแนวทางหนึ่งในการบำบัดคือการใช้พืชในการบำบัด ที่เรียกว่า Phytoremediation โดยมีงานวิจัยที่ได้ศึกษาถึงประสิทธิภาพในการบำบัด ทั้งนี้สังกะสีจัดเป็นกลุ่มจุลธาตุของพืช (micronutrient) โดยพืชจะรับที่ประมาณ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร (นวรรตน์ อุดมประเสริฐ, 2558) การใช้พืชจึงเป็นแนวทางในการจัดการสังกะสีที่ปนเปื้อนได้ โดยทั้งนี้

ได้มีงานวิจัยต่างๆ มาศึกษา เช่นการใช้หญ้ารัฐ ในการบำบัดดินที่ปนเปื้อนของสังกะสีที่ปนเปื้อน 1000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักดิน โดยใช้จลนศาสตร์ทางไฟฟ้าเป็นแนวทางร่วมกับพืชด้วย ซึ่งผลการทดลองพบว่า ดินที่มีการปนเปื้อนของสังกะสีเมื่อทำการวัดค่าสังกะสีมีค่าที่ลดลง โดยทั้งนี้ดินที่ปนเปื้อนสังกะสีที่มีการบำบัดร่วมระหว่างพืชและจลนศาสตร์ไฟฟ้ามีค่าลดลงกว่าการปนเปื้อนโดยใช้เฉพาะพืช โดยค่าที่บำบัดโดยใช้พืชอย่างเดียว กับพืชร่วมกับจลนศาสตร์ไฟฟ้า อยู่ที่  $278 \pm 10$  และ  $215 \pm 12$  มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักดิน ตามลำดับ (Rojanapithayakorn and Ariyakonon, 2016) นอกจากนี้ยังมีการศึกษาเกี่ยวกับการบำบัดสังกะสี โดยใช้พืชบำบัดน้ำที่มีการปนเปื้อนของสังกะสี เช่นประสิทธิภาพของจอก ในการบำบัดกลุ่มโลหะหนัก ได้แก่ สังกะสี เหล็ก แมงกานีส ทองแดง โครเมียม และตะกั่ว โดยมีความเข้มข้นที่ 1, 2 และ 4 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยทั้งนี้ผลพบว่า จอกมีคุณสมบัติในการบำบัดกลุ่มโลหะหนักที่ปนเปื้อนในน้ำ ซึ่งประสิทธิภาพของจอกในการบำบัดสังกะสีในน้ำ ที่ความเข้มข้น 1, 2 และ 4 มิลลิกรัมต่อลิตร มีค่าเท่ากับ 91.1%, 90.6% และ 84.3% ตามลำดับ (Miretzky, Saralegui, and Cirelli, 2004)

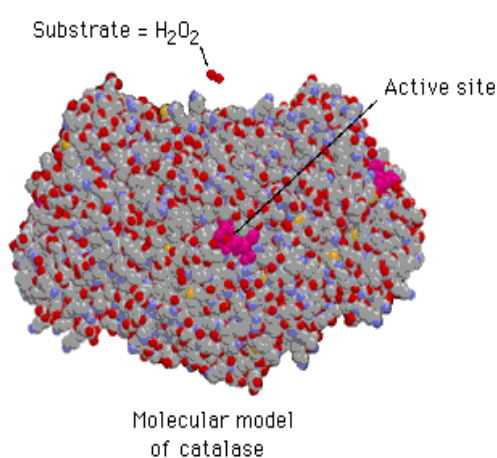
## 2.6 ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์และ เอนไซม์คะตะเลส

ภาวะการเจริญเติบโตของพืช ที่ถูกการรบกวนจากสารอนินทรีย์ เช่น โลหะหนัก ทำให้พืชที่อยู่ภาวะไม่สมดุลในธรรมชาติเกิดอาการการยับยั้งการเจริญเติบโต และลดปริมาณผลผลิตลง จึงมีการปรับตัวให้อยู่รอดในภาวะนั้นๆ เช่น การควบคุมแรงดันออสโมติกในเซลล์ (Semchysyn and Lushchak, 2004) โดยเฉพาะสิ่งมีชีวิตที่หายใจแบบใช้ออกซิเจน เมื่อเกิดกระบวนการ เมตาบอลิซึมขึ้น เช่น กระบวนการหายใจ (Respiration) กระบวนการสลายกรดไขมัน ( $\beta$ -Oxidation) กระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสง (Photosynthesis) หรือ กระบวนการถ่ายทอดอิเล็กตรอน (Electron transport) เป็นต้น ก่อให้เกิด Reactive Oxygen Species (ROS) เป็นผลพวงดังกล่าว โดย ROS ที่พบได้แก่ Superoxide radical ( $O_2^-$ ), Single oxygen ( $O^1_2$ ), Hydroxyl radical ( $HO^1$ ) และ Hydrogen peroxide ( $H_2O_2$ ) (Yang and Poovaiah, 2002)

ROS มีความเป็นพิษต่อเซลล์พืช ดังนั้นพืชจะมีกลไกในการควบคุมหรือกำจัด ROS ที่เกิดขึ้น เพื่อไม่ให้เป็นอันตรายต่อเซลล์ โดยการกำจัดรูปแบบหนึ่งคือการกำจัดโดยใช้เอนไซม์หลายชนิด ซึ่งมีทั้งรูปแบบทั่วไป และจำเพาะ เช่น Superoxide dismutase (SOD), Ascorbate peroxidase (APX) หรือ คะตะเลส (Catalase: CAT) เป็นต้น (Radi *et al.*, 1991) เช่น การลดปริมาณ  $H_2O_2$  โดยอาศัยเอนไซม์คะตะเลส ที่ทำหน้าที่สลาย  $H_2O_2$  ให้เป็นน้ำและออกซิเจนเพื่อลดความเป็นพิษ ดังปฏิกิริยา  $2H_2O_2 \longrightarrow 2H_2O + O_2$  (ภาพที่ 2.6- 2.7) (Bharqava, Joshi, and

Srivastava, 2005; Schiefer, Teifel, and Kind, 1976) เอนไซม์คะตะเลสจึงถือเป็นหนึ่งเอนไซม์ที่สำคัญต่อพืช

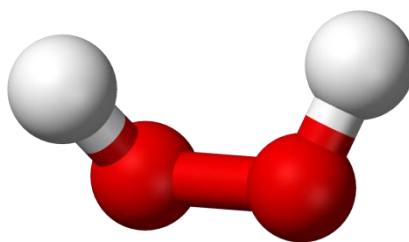
ซึ่งผลกระทบของสังกะสีที่ทำให้เกิดความเครียดในพืช โดยมีการเปลี่ยนแปลงของการเกิด Reactive Oxygen Species (ROS) และ สารต้านออกซิเดชัน ยกตัวอย่างงานวิจัยที่ศึกษาผลกระทบของสังกะสี ในต้นมัลเบอร์รี่พบว่า พืชมีการเพิ่มของ ROS เช่น  $O_2^-$ , และ  $H_2O_2$  และนอกจากนั้นพืชมีการสร้างแอนติออกซิเดชันในการกำจัด อนุมูลอิสระที่ทำให้เกิดความเครียดในพืช โดยมีการเพิ่มขึ้นของเอนไซม์ SOD, CAT, POD และ APX (Tewari, Kumar, and Sharma, 2008)



ภาพที่ 2.6 โครงสร้างของเอนไซม์คะตะเลส

ที่มา: <http://www.rcsb.org/pdb/explore.do?structureId=3j7u>

CHULALONGKORN UNIVERSITY



ภาพที่ 2.7 โครงสร้าง 3มิติของ  $H_2O_2$

ที่มา: <http://www.rcsb.org/pdb/explore.do?structureId=3j7u>

## 2.6 ผักตบชวา



ภาพที่ 2.8 ผักตบชวา

ที่มา: [http://www.rakbankerd.com/webboard/webboard\\_detail.php?topic\\_id=3419](http://www.rakbankerd.com/webboard/webboard_detail.php?topic_id=3419)

ข้อมูลโดยทั่วไป

ชื่อวิทยาศาสตร์: *Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms

ชื่อเรียกอื่น: สวะ ผักปอด ผักโป่ง ผักบัวลอย Water Orchid, Water hyacinth

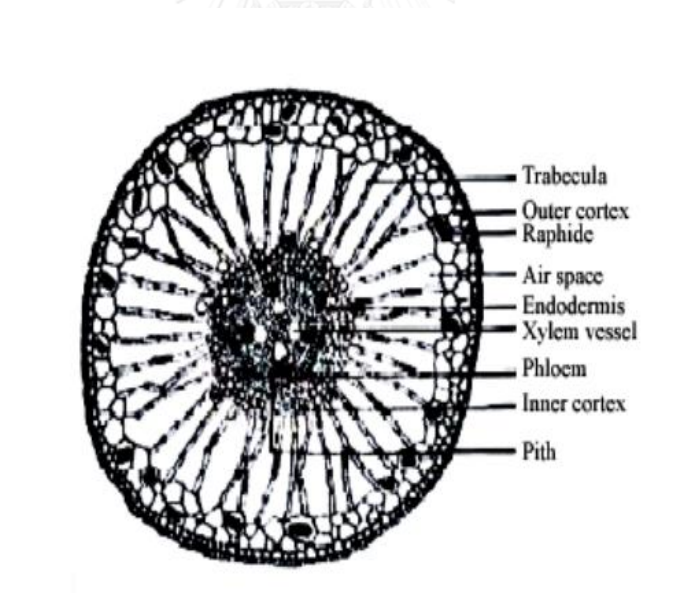
ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

ผักตบชวาเป็นพืชน้ำที่จัดประเภทเป็นพืชใบเลี้ยงเดี่ยว สามารถลอยน้ำได้อย่างอิสระ ไม่จำเป็นต้องยึดเกาะ สามารถแพร่พันธุ์ได้รวดเร็ว ลักษณะของแผ่นใบคล้ายรูปหัวใจ ผิวใบมัน หนา ก้านใบพองออกตรงช่องกลาง (ภาพที่ 2.8) ภายในมีลักษณะรูพรุน เช่นราก เขตราก ทั้งนี้เพื่อช่วยพยุง ลำต้นให้สามารถลอยน้ำได้ (ภาพที่ 2.9) ความสามารถของผักตบชวานั้นสามารถอยู่ได้ทุกสภาพน้ำ ทั้งในน้ำบริเวณที่สกปรกและน้ำสะอาด สภาพความเป็นกรด ต่างที่เจริญเติบโตได้ดีที่ pH 4-10 อุณหภูมิของน้ำไม่สูงกว่า 34 องศาเซลเซียส ผักตบชวานั้นมีน้ำเฉลี่ยประมาณร้อยละ 95 โดยคิดเป็น ใบร้อยละ 89 และในก้านใบร้อยละ 96.7 (Valipour, Raman, and Ahn, 2015)

ผักตบชวามีคุณสมบัติในการบำบัดน้ำเสีย โดยอาศัยคุณสมบัติทำหน้าที่เป็นตัวกรอง ผักตบชวาที่อาศัยขึ้นอยู่บริเวณที่หนาแน่นนั้น เปรียบได้กับการบรรจุวัสดุพรุน ซึ่งจะกรองน้ำที่ไหล ผ่านกอที่ผักตบชวาขึ้นหนาแน่นอย่างช้าๆ จึงทำให้ของแข็งแขวนลอยต่างๆถูกดักจับ นอกจากนั้นราก ของผักตบชวามีระบบในการช่วยกรองสารอินทรีย์ที่ละเอียด และจุลินทรีย์ที่อาศัยเกาะอยู่ที่รากนั้น ช่วยดูดสารอินทรีย์ที่อยู่ในน้ำได้อีกทางหนึ่ง โดยรากของผักตบชวาจะดูดสารอาหารที่อยู่ในน้ำ ลำเลียงไปยังใบเพื่อใช้ในกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสง ในด้านไนโตรเจน และฟอสฟอรัสในน้ำเสีย



จะถูกกำจัดไป ซึ่งไนโตรเจนในน้ำเสียนั้น ส่วนใหญ่จะอยู่ในรูปสารประกอบทางเคมี เช่น สารอินทรีย์ ไนโตรเจน แอมโมเนียไนโตรเจน และไนเตรทไนโตรเจน ซึ่งพบว่าผักตบชวาสามารถดูดไนโตรเจนได้ ทั้ง 3 ชนิด แต่ในปริมาณที่แตกต่างกันคือ ผักตบชวาสามารถดูดอินทรีย์ไนโตรเจนได้สูงกว่าไนโตรเจนรูปอื่น คือประมาณร้อยละ 95 ขณะที่ไนเตรทไนโตรเจน และ แอมโมเนียไนโตรเจน ในน้ำลดลง ร้อยละ 80 และร้อยละ 77 ตามลำดับ ซึ่งส่งผลในการขยายแพร่พันธุ์จึงต้องมีการเก็บเกี่ยวต้นที่เจริญเติบโตมาเป็นระยะๆ ป้องกันการเน่าตาย เพราะจะทำให้ไนโตรเจนและฟอสฟอรัสเพิ่มขึ้นอีก ดังนั้น ผักตบชวาจึงเป็นตัวเลือกอีกหนึ่งตัวเลือกในการบำบัดน้ำเสียและนอกจากนั้นก็มีคุณสมบัติในการกำจัดกลุ่มโลหะหนักในน้ำเสีย เช่น ทองแดง นิเกิล สังกะสี แคดเมียม ตะกั่ว เป็นต้น ซึ่งผักตบชวาจะมีประสิทธิภาพในการบำบัดโลหะหนักแตกต่างกัน ดังนั้นพืชดังกล่าว จึงถูกเลือกให้ใช้ในการใช้ในพื้นที่ชุ่มน้ำเทียม (constructed wetland) ในการบำบัดน้ำเสีย (Liao and Chang, 2004) แต่อย่างไรก็ตามถ้ามีปริมาณสารมลพิษอยู่สูงมาก ประสิทธิภาพในการบำบัดของผักตบชวา จะเห็นผลช้า จึงควรนำการบำบัดน้ำเสียระบบอื่นมารวมกับการใช้ผักตบชวา



ภาพที่ 2.9 โครงสร้างภาพตัดขวางของรากผักตบชวากำลังขยาย 100 เท่า

ที่มา: Valipour, *et al* 2015

## 2.7 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

การศึกษาประสิทธิภาพในการกำจัดโลหะหนักในผักตบชวานั้น ได้มีการศึกษาความสามารถในการสะสมพบว่า ผักตบชวาสามารถสะสมแคดเมียม และโครเมียมได้ดีที่สุด ซึ่งปริมาณแคดเมียมที่สะสมในส่วนยอดกับส่วนรากมีค่าเท่ากับ 371 และ 6,103 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ ส่วนปริมาณโครเมียมที่สะสมในส่วนยอดและส่วนรากมีค่าเท่ากับ 119 และ 3,951 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักแห้ง กล่าวสรุปได้ว่าผักตบชวาจะสะสมแคดเมียม และโครเมียมไว้ในส่วนรากได้มากกว่าส่วนยอดซึ่งเป็นการอธิบายถึงประสิทธิภาพในการลำเลียงโลหะหนักของพืชที่มีประสิทธิภาพต่ำ โดยทั้งนี้ได้มีการสะสมไว้ในส่วนของพืชในส่วนที่ไม่เป็นอันตรายไว้ในเซลล์ราก เช่น แวคิวโอล หรือ ไซโทพลาซึม โดยทั้งนี้พืชมีการเจริญเติบโตตลอดระยะเวลาการทดลอง (Zhu *et al.*, 1999)

การศึกษาประสิทธิภาพการกำจัดโลหะหนัก ได้แก่ เหล็ก (Fe) สังกะสี (Zn) ทองแดง (Cu) โครเมียม (Cr) และแคดเมียม (Cd) ที่ความเข้มข้น 1.0 2.0 และ 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยทำการเปรียบเทียบประสิทธิภาพของพืชน้ำ 3 ชนิด ได้แก่ จอก แหนเปิดใหญ่ และผักตบชวา โดยทำการทดลองเป็นเวลา 15 วัน พบว่าประสิทธิภาพในการบำบัดสูงสุดอยู่ในวันที่ 12 และพืชที่มีประสิทธิภาพในการบำบัดโลหะหนักมากที่สุดคือผักตบชวา โดยยกประสิทธิภาพของผักตบชวาในการบำบัดโลหะหนัก เหล็ก สังกะสี ทองแดง โครเมียม และแคดเมียม ที่ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีประสิทธิภาพในการบำบัดเท่ากับ 78.6%, 85%, 86%, 81% และ 77% ตามลำดับ (Mishra and Tripathi, 2008)

การศึกษาประสิทธิภาพการดูดซับของผักตบชวาในการบำบัดสารอินทรีย์ประเภทสารกำจัดศัตรูพืชที่มีชื่อว่าคลอร์ไพริฟอสในน้ำ ซึ่งผลพบว่าประสิทธิภาพของการสะสมของคลอร์ไพริฟอสของผักตบชวาในชุดการทดลองพบว่า ค่าคงที่ของอัตราการหายไปของคลอร์ไพริฟอสในชุดการทดลองสารละลายธาตุอาหารที่ไม่มีผักตบชวาแต่มีคลอร์ไพริฟอสเข้มข้น 0.1, 0.5, และ 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร มีค่าเท่ากับ 3.52, 2.29, และ 1.84 ไมโครกรัมต่อชั่วโมงตามลำดับ และชุดการทดลองที่ปลูกผักตบชวา และเติมคลอร์ไพริฟอส ความเข้มข้น 0.1, 0.5, และ 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร มีค่าเท่ากับ 17.19, 10.16 และ 7.16 ไมโครกรัมต่อชั่วโมง สำหรับการสะสมในผักตบชวาเกิดขึ้นมากที่สุดในราก >ลำต้น>ใบซึ่งปริมาณคลอร์ไพริฟอสที่สะสมในส่วนราก ลำต้น และใบ จะมีค่ามากที่สุดเท่ากับ 290,125 และ 98.9 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักแห้ง และจะมีค่ามากที่สุดในวันที่ 3, 6 และ 8 ส่วนปริมาณ

ของ 3,5,6 trichloro – 2 – pyridinol ในทุกความเข้มข้นจะมีการสะสมในใบ > ลำต้น > ราก และมีค่ามากที่สุดเท่ากับ 13.8, 11.8 และ 9.7 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ และมีค่าสูงสุดในวัน 10, 7 และ 5 ตามลำดับ (Anudechakul, Vangnai, and Ariyakanon, 2015)

การศึกษาพารามิเตอร์ในด้าน คลอโรฟิลล์-เอ (chlorophyll a) เพื่อศึกษาประสิทธิภาพการสังเคราะห์ด้วยแสง และ Transmission electron microscopy (TEM) ในการดูการเปลี่ยนแปลงของอแกแนลล์คลอโรพลาสต์ ซึ่งมีความสำคัญต่อระบบการสังเคราะห์ด้วยแสง ทั้งนี้เพื่อประเมินสภาพความเครียดของผักตบชวา ซึ่งทำการทดลองในช่วงฤดูร้อน ถึงฤดูฝนในปี 2005 และสภาพพื้นที่โดยรอบของแม่น้ำที่แตกต่างกันในการเก็บผักตบชวา พบว่า ค่าทั้งสองพารามิเตอร์มีความแตกต่างกัน ซึ่งแสดงการตอบสนองของพืชที่มีต่อฤดูกาล และในพื้นที่เขตอุตสาหกรรม พบว่าเมื่อศึกษาด้วย TEM โครงสร้างของคลอโรพลาสต์มีการเปลี่ยนแปลง และรวมถึงโครงสร้างของไทลาคอยด์ กรานา และเยื่อหุ้มเซลล์ โดยพบว่าใบพืชมีการเสื่อมของคลอโรพลาสต์ภายในเซลล์ บริเวณรากมีการเสื่อมสลายของเซลล์ และ vascular cylinder เกิดความเสียหาย นำไปสู่ประสิทธิภาพในการลำเลียงน้ำ ในการคายน้ำและกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสง ซึ่งเป็นปัจจัยทำให้เกิดอนุมูลอิสระ นำไปสู่การเสื่อมสภาพของเซลล์ โดยแสดงออกมาในรูปแบบ chlorosis หรือ necrosis ที่ให้เห็นจากภายนอก (Lage- Pinto *et al.*, 2008)

### บทที่ 3 วิธีดำเนินงานวิจัย

#### 3.1 เครื่องมือ อุปกรณ์ และสารเคมีที่ใช้ในงานวิจัย

##### 3.1.1 อุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง

ภาชนะแก้วขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 7 นิ้ว สำหรับปลูกผักตบชวา  
 ภาชนะขนาดใหญ่ เพื่อเลี้ยงผักตบชวาด้วยสารละลายธาตุอาหาร  
 กระดาษใช้สำหรับ label การทดลอง  
 กระบอกลวดขนาดต่างๆ  
 ปีกเกอร์ขนาดต่างๆ  
 ไมโครปิเปตขนาดต่างๆ  
 ปิเปตขนาดต่างๆ  
 แท่งแก้วคนสาร  
 แผ่นอลูมิเนียมฟอยล์(aluminium foil)  
 กระดาษกรอง whatmanเบอร์ 1 และ 42  
 เครื่องดูดอากาศ (Suction pump)  
 ขวดกรองดูดอากาศ (Suction flask)  
 เตาให้ความร้อน (hot plate)  
 โถดูดความชื้น  
 โกร่งบด  
 หลอดสำหรับปั่นเหวี่ยง (centrifuge tube)

##### 3.1.2 สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

สารละลายธาตุอาหารพืช Hoagland' No.2  
 สารละลาย 0.1% Clorox  
 สารละลาย ZnO(NPs) ยี่ห้อ Sigma-Aldrich  
 Nitric acid (HNO<sub>3</sub>)

80% aqueous acetone  
 Potassium phosphate dibasic ( $\text{KH}_2\text{HPO}_4$ )  
 Potassium phosphate monobasic ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ )  
 Hydroxylamine ( $\text{NH}_2\text{OHHCl}$ )  
 Sulfuric acid ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ )  
 Titanium(III) Sulfate ( $\text{Ti}_2(\text{SO}_4)_3$ )  
 Polyvinylpyrrolidone (PVPP)  
 Hydrogenperoxide ( $\text{H}_2\text{O}_2$ )  
 Dithiothreitol (DTT)  
 phenylmethylsulfonyl fluoride ( $\text{C}_7\text{H}_7\text{FO}_2\text{S}$ )  
 isopropanol ( $\text{C}_3\text{H}_8\text{O}$ )  
 Copper sulfate ( $\text{CuSO}_4\cdot 5\text{H}_2\text{O}$ )  
 Sodium potassium tartrate ( $\text{KNaC}_4\text{H}_4\text{O}_6\cdot 4\text{H}_2\text{O}$ )  
 Sodium hydroxide ( $\text{NaOH}$ )  
 Sodium carbonate ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ )  
 Folin-Ciocalteu phenol reagent  
 Bovine serum albumin (BSA)

### 3.1.3 เครื่องมือที่ใช้ในการวิเคราะห์

Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry (ICP-MS) ยี่ห้อ  
 Thermo scientific, Model iCAP Qc ประเทศเยอรมนี

Microwave digestion ยี่ห้อ Milestone Ethos One รุ่น ประเทศอิตาลี

เครื่องชั่งไฟฟ้าอย่างละเอียด (analytical balance) 4 ตำแหน่ง ยี่ห้อ Mettler  
 Toledo รุ่น MS 2045

เครื่องวัดอุณหภูมิ (Thermometer) ยี่ห้อ Hach, รุ่น sension 156

เครื่องวัด Total Dissolved Solid (TDS meter) ยี่ห้อ Hach รุ่น sension 156

ประเทศสหรัฐอเมริกา

เครื่องวัด pH (pH meter) ยี่ห้อ Hanna instrument รุ่น pH 211

เครื่องวัด Dissolved Oxygen (DO meter) ยี่ห้อ Hach รุ่น sension 156  
ประเทศสหรัฐอเมริกา

เครื่องวัดค่าดูดกลืนแสง UV-Vis spectrophotometer ยี่ห้อ Agilent รุ่น G1103A  
ประเทศจีน

เครื่องปั่นเหวี่ยงแบบควบคุมอุณหภูมิ (Refrigerated centrifuge) ยี่ห้อ Hettich  
Zentrifugen รุ่น Universal 32R ประเทศเยอรมนี

### 3.2 สถานที่ดำเนินงานวิจัย

#### 3.2.1 สถานที่เก็บตัวอย่างผักตบชวาที่ใช้ในการวิจัย

ตัวอย่างพืชที่นำมาใช้เพื่อการทดลองนำมาจากแหล่งน้ำธรรมชาติบริเวณสถาบันเทคโนโลยี  
พระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

#### 3.2.2 สถานที่ใช้ในการปลูกผักตบชวาที่ใช้ในงานวิจัย

งานวิจัยนี้ได้ทำการปลูกผักตบชวา ในบริเวณเรือนทดลองที่สร้างขึ้น ณ ชั้น 4 ภาควิชา  
วิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

#### 3.2.3 สถานที่ทำการวิเคราะห์ตัวอย่างงานวิจัย

งานวิจัยนี้ได้ดำเนินการวิเคราะห์ตัวอย่างที่ห้องปฏิบัติการรวม ชั้น 4 ภาควิชาวิทยาศาสตร์  
สิ่งแวดล้อม และห้องปฏิบัติการกลางภาควิชาพฤกษศาสตร์ ชั้น 3 คณะวิทยาศาสตร์  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

### 3.3 ขั้นตอนการวิจัย

#### 3.3.1 การเตรียมสารละลายธาตุอาหาร

การเตรียมสารละลายธาตุอาหารพืชสูตร Hoagland'No.2 ซึ่งประกอบด้วย  $\text{KNO}_3$  606.6 มิลลิกรัมต่อลิตร  $\text{H}_2\text{MoO}_4$  0.016 มิลลิกรัมต่อลิตร  $\text{MgSO}_4$  240.76 มิลลิกรัมต่อลิตร  $\text{FeC}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  5.32 มิลลิกรัมต่อลิตร  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  0.08 มิลลิกรัมต่อลิตร  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$  656.4 มิลลิกรัมต่อลิตร  $\text{H}_3\text{BO}_3$  2.86 มิลลิกรัมต่อลิตร และ  $\text{NH}_4\text{PO}_4$  115.03 มิลลิกรัมต่อลิตร (Anudechakul *et al.*, 2015) โดยเจือจางให้มีความเข้มข้นลดลงครึ่งหนึ่ง และไม่ใส่  $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$

#### 3.3.2 การกำหนดความเข้มข้นของสารละลายสังกะสีออกไซด์ขนาดนาโนเมตรที่เหมาะสมในการทดลอง

ศึกษาเพื่อหาความเข้มข้นที่เหมาะสมในการทดลองโดยการทำ Preliminary study โดยศึกษาในด้านมวลชีวภาพของผักตบชวา ในระยะเวลา 7 วัน โดยเตรียมสารละลายในรูปสารละลายเบื้องต้น (Stock solution) นั้น ในตัวทำละลาย โดยต้องเก็บไว้ที่อุณหภูมิปกติ โดยมีความเข้มข้นของสังกะสีในสารละลายเท่ากับ 100 มิลลิกรัมต่อลิตรจากนั้นนำสารละลายมาเจือจางด้วยน้ำกลั่นให้ได้ความเข้มข้น โดยให้ความเข้มข้นที่ 5, 10, 15, 20, 25 และ 30 มิลลิกรัมต่อลิตรเมื่อหาช่วงความเข้มข้นในระยะเวลาการทดลองที่เหมาะสมแล้ว กำหนดความเข้มข้นจริงในการทดลอง มา 3 ความเข้มข้น โดยใช้สมการในการเตรียมสารละลายดังนี้

$$M_1V_1=M_2V_2$$

เมื่อ  $M_1$  คือ ความเข้มข้นของสารละลายเบื้องต้น

$M_2$  คือ ความเข้มข้นของสารละลายที่ต้องการทดสอบ

$V_1$  คือ ปริมาตรของสารละลายเบื้องต้น

$V_2$  คือ ปริมาตรของสารละลายทดสอบที่ต้องการ

### 3.3.3 การเตรียมสารละลายสังกะสีออกไซด์ขนาดนาโนเมตร

เมื่อได้ทราบจากการทดลองในข้อ 3.3.2 พบว่าความเข้มข้นที่เหมาะสมคือ 3.5, 5 และ 7.5 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยทำการเตรียมสารละลายที่ใช้ในการทดลองตามวิธีที่ข้อ 3.3.2 มา 3 ความเข้มข้น นอกจากนั้นเตรียมการทำ Calibration curve ในการวัดวิเคราะห์ค่าความถูกต้อง (Relative accuracy) โดยมีความเข้มข้นที่ 1, 3.5, 5, 7.5 และ 10 มิลลิกรัมต่อลิตร

### 3.3.4 การเตรียมภาชนะแก้วสำหรับปลูกพืช

สำหรับภาชนะแก้วสำหรับปลูกพืชที่ใช้ในการทดลอง เป็นภาชนะแก้วที่มีขนาดความจุ 3 ลิตร ซึ่งมีเส้นผ่านศูนย์กลาง 7 นิ้ว ความสูงจากปากภาชนะถึงก้นภาชนะสูง 5 นิ้ว จากนั้นนับจำนวนให้พอดีกับตัวอย่างที่ทดลอง แล้วนำมาล้างด้วยน้ำกลั่น ผึ่งให้แห้ง และทำการระบุชนิดตัวอย่าง (label) ไว้ทุกภาชนะ และเมื่อทำการทดลองให้ใส่สารละลายธาตุอาหารต่อหน่วยภาชนะที่ 2.5 ลิตร ทุกภาชนะ

### 3.3.5 การเตรียมพืชที่ใช้ในการทดลอง

การเก็บตัวอย่างพืชนั้น ต้องมีการคัดเลือกพืชขนาดน้ำหนักมีความใกล้เคียงน้ำหนักประมาณ 220-250 กรัม จากแหล่งน้ำธรรมชาติ โดยคัดเลือกพืชที่ลักษณะต้นตั้งตรง โดยให้มีลักษณะลำต้นที่แข็งแรง สภาพโดยรวมของพืช เช่น ใบ ราก อยู่ในสภาพที่สมบูรณ์ ไม่อ่อนและเหี่ยวเฉา จนเกินไป จากนั้นนำพืชมาทำความสะอาดด้วยน้ำประปา หลังจากนั้นมาแช่ไว้ในสารละลาย Clorox 0.1% (V/V) ในระยะเวลา 2 นาที จากนั้นนำขึ้นมาล้างน้ำกลั่นเบาๆ อีก 2 ครั้ง (Olette *et al.*, 2008) จากนั้นนำไปเลี้ยงเก็บไว้ในถังที่มีขนาด 50 ลิตร ซึ่งมีสารละลายธาตุอาหารพืช Hogland'No.2 ความเข้มข้นครึ่งหนึ่งโดยไม่ใส่  $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$  แล้วทำการเลี้ยงพืชก่อนเตรียมการทดลองเป็นระยะเวลา 2 สัปดาห์ จากนั้นทำการคัดเลือกพืช อีกครั้งที่น้ำหนักประมาณ  $250 \pm 5$  กรัม โดยแยกเป็น 1 ต้นต่อ 1 กระถางปลูกโดยมีขนาดความจุกระถาง 3 ลิตร



### 3.3.6 การเตรียมการทดลอง

การวิจัยนี้ได้มีการวางแผนการทดลองแบบ Complete Randomized Block Design โดยมีการทดลองตามลำดับดังนี้

(1) ความเข้มข้นของสังกะสีออกไซด์ที่ต้องการทดสอบเท่ากับ 3.5 5 และ 7.5 มิลลิกรัมต่อลิตร (ได้ทำการเลือกความเข้มข้นดังกล่าวจากผลการศึกษามวลชีวภาพจากการทดลองเบื้องต้น) ดังตารางที่ 3.1 โดยแผนการทดลองนี้จะวัดมวลชีวภาพของพืช ปริมาณสังกะสีที่สะสมในส่วนของพืช (ราก, ลำต้น และใบ) ปริมาณสังกะสีที่เหลือในสารละลายธาตุอาหาร และพารามิเตอร์น้ำต่างๆ

(2) การหาคลอโรฟิลล์ แคโรทีนอยด์ ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ และแอกทิวิตีของเอนไซม์ คอะตะเลส จะทดลองหลังการทดลอง (1) โดยเลือกมา 1 ความเข้มข้นดูจากค่ามวลชีวภาพที่พืชทนสภาพได้ดีในความเข้มข้นนั้น ดังตารางที่ 3.2 โดยแผนการทดลองนี้จะวัดการเปลี่ยนแปลงของคลอโรฟิลล์เอ คลอโรฟิลล์บี คลอโรฟิลล์รวม แคโรทีนอยด์ ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ และแอกทิวิตีของเอนไซม์คอะตะเลส



ตารางที่ 3.2 ตารางการปลูกพืชทดลอง สำหรับการศึกษาการเปลี่ยนแปลงของคลอโรฟิลล์  
ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ และแอกทิวิตีเอนไซม์คะตะเลส(CAT) ของผักตบชวา

วันที่	ชุดควบคุม ปลูกพืชผักตบชวา แต่ไม่มีสารละลาย ZnO NPs	ชุดทดลอง ปลูกพืช ผักตบชวาในสารละลาย ZnO NPs 1ความเข้มข้น ที่เลือก (มิลลิกรัมต่อลิตร)
0	๐๐๐	๐๐๐
1	๐๐๐	๐๐๐
3	๐๐๐	๐๐๐
5	๐๐๐	๐๐๐
7	๐๐๐	๐๐๐
9	๐๐๐	๐๐๐
11	๐๐๐	๐๐๐
13	๐๐๐	๐๐๐
15	๐๐๐	๐๐๐

### 3.3.7 การศึกษาอัตราการเจริญเติบโตและการเก็บเกี่ยวพืช

เก็บเกี่ยวผักตบชวาในวันที่ 0, 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13 และ 15 ของช่วงการทดลองโดยทำการระบุวันที่จะเก็บไว้ที่ภาชนะแก้วให้ชัดเจน ศึกษาอัตราการเจริญเติบโตของผักตบชวาในวันที่เริ่มปลูก และศึกษาการเจริญเติบโต โดยทำการเก็บเกี่ยวล้างน้ำกลั่นเบาๆ ผึ่งให้แห้ง แล้วชั่งน้ำหนักสด (โดยในตัวอย่างจะชั่งก่อนนำไปวิเคราะห์) วัดความยาวราก จากนั้นนำพืชไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง แล้วชั่งน้ำหนักแห้ง นำตัวอย่างที่เก็บได้มาแยกเป็นส่วนราก ลำต้น และใบ

### 3.3.8 การสกัดตัวอย่างพืช

หลังจากทำการชั่งน้ำหนักแห้งพืช ให้นำตัวอย่างที่อบเสร็จ เข้าโถดูดความชื้น (desicator) เป็นเวลา 1 ชั่วโมง นำมาชั่งน้ำหนักแห้ง จากนั้นตัดแยกส่วนเป็นส่วนราก ลำต้น และใบ ให้ละเอียด จากนั้นนำไปสกัดด้วย 65%  $\text{HNO}_3$  ปริมาตร 10 มิลลิลิตร โดยทำการสกัดโดยเครื่อง Microwave digestion จากนั้นปรับปริมาตรเป็น 10 มิลลิลิตร (EPA 3051 method) แล้วนำตัวอย่างไปวิเคราะห์ปริมาณสังกะสีออกไซด์นาโนเมตรด้วยเครื่อง Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry (ICP-MS)

### 3.3.9 การวิเคราะห์ตัวอย่างน้ำ

การเก็บตัวอย่างน้ำจะดำเนินการวันเดียวที่เก็บตัวอย่างพืช โดยดำเนินการในวันที่ 0, 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13 และ 15 ของช่วงการทดลอง พารามิเตอร์ที่วัดคือ อุณหภูมิ ความเป็นกรดต่าง ปริมาณออกซิเจนละลายน้ำ ปริมาณสารแขวนลอยทั้งหมด และปริมาณของแข็งที่ละลายได้ และปริมาณ ZnO NPs ที่เหลือในสารละลาย โดยเก็บตัวอย่างน้ำแต่ละตัวอย่าง มาเขย่าโดยใช้ sonicator เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นแบ่งน้ำมา 10 มิลลิลิตร แล้วสกัดด้วย 65%  $\text{HNO}_3$  โดยเครื่อง Microwave digester เมื่อสกัดเสร็จนำมาปรับปริมาตรเป็น 50 มิลลิลิตร นำไปวิเคราะห์ปริมาณสังกะสีด้วยเครื่อง ICP-MS (Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry)

ตารางที่ 3.3 พารามิเตอร์และวิธีการวิเคราะห์สมบัติของน้ำ

พารามิเตอร์	วิธีการวิเคราะห์	อ้างอิง
ความเป็นกรดต่าง	pH meter	(กรมควบคุมมลพิษ, 2547)
ปริมาณออกซิเจนละลายในน้ำ(DO)	DO meter	(กรมควบคุมมลพิษ, 2547)
ปริมาณของแข็งแขวนลอยทั้งหมด (TSS)	วิธีวิเคราะห์ของแข็งแขวนลอย	(กรมควบคุมมลพิษ, 2547)
ปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ (TDS)	TDS meter	(กรมควบคุมมลพิษ, 2547)
อุณหภูมิ (Temperature)	Thermometer	(กรมควบคุมมลพิษ, 2547)
ปริมาณสังกะสีออกไซด์ ขนาดนาโนเมตร	ICP-MS (Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry)	(Hank, Caruso, and Zhang, 2015)

### 3.3.10 การศึกษาปริมาณคลอโรฟิลล์ และแคโรทีนอยด์ในผักตบชวา

เก็บใบสดมา 500 มิลลิกรัม บดในโกร่งที่มี 80% acetone จากนั้น ตักตัวอย่างใส่ในหลอดทดลอง ปรับปริมาตรด้วย 80% acetone 15 มิลลิลิตร ทำการปิดฝาหลอด เก็บในที่มืดเป็นเวลา 24 ชั่วโมง (สันต์ ละอองศรี, 2551) จากนั้นนำไปวัดค่าดูดกลืนแสงจะใช้ความยาวคลื่น 645 นาโนเมตร 663 นาโนเมตรและ470 นาโนเมตร และคำนวณปริมาณรงควัตถุตามสมการ ของ Arnon (1949) ดังนี้

$$\begin{aligned} \text{คลอโรฟิลล์-เอ (Chla) (mg/g FW)} &= (12.70A_{663} - 2.69 A_{645}) \times (Z/1000\text{mg} \times n) \\ \text{คลอโรฟิลล์-บี (Chlb) (mg/g FW)} &= (22.90 A_{645} - 4.68A_{663}) \times (Z/1000\text{mg} \times n) \\ \text{คลอโรฟิลล์รวม (total Chl) (mg/g FW)} &= (20.2 A_{645} + 8.02A_{663}) \times (Z/1000\text{mg} \times n) \\ \text{แคโรทีนอยด์ (car) (mg/g FW)} &= ([1000 A_{470} - 3.27 (\text{Chl}_a) - 104(\text{C}_b)]/ 227) \times (Z/1000\text{mg} \times n) \end{aligned}$$

โดย A=ค่าการดูดกลืนแสง (absorbance), Z = total volume(ml), n = tissue weight (mg)

### 3.3.11 การวัดปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)

เก็บตัวอย่างใบพืชแช่ในไนโตรเจนเหลว จากนั้นนำตัวอย่างใบน้ำหนัก 50 มิลลิกรัม มาบดในโกร่ง จากนั้นย้ายตัวอย่างเก็บในตู้แช่เย็นที่มีอุณหภูมิต่ำ เพื่อใช้ในการวิเคราะห์ โดยดัดแปลงวิธีของ Jena and Choudhuri (1982) โดยเป็นการวัดความเข้มสีเหลืองของ pertitanic acid ซึ่งเป็นการทำปฏิกิริยาของ H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> กับ titanium III sulfate ที่ความยาวคลื่น 410 นาโนเมตร (Eisenberg, 1943) โดยมีวิธีการตรวจวัด ดังนี้

เตรียมสารละลายที่ใช้สกัดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (extraction buffer) ประกอบด้วย Potassium phosphate buffer (pH 6.5) 100 มิลลิโมล และ Hydroxylamine 1 มิลลิโมล จากนั้นนำตัวอย่างใบสดประมาณ 50 มิลลิกรัม มาบดให้ละเอียดในโกร่งบดด้วยไนโตรเจนเหลว และโกร่งที่เย็น ปิดเปิดใส่ในหลอดตัวอย่าง (centrifuge tube) จากนั้นเปิดเติม extraction buffer ลงในหลอดตัวอย่าง ตัวอย่างละ 500 ไมโครลิตร เขย่าผสมให้เข้ากัน แล้วแช่หลอดตัวอย่าง ในความเย็นจัด ต่อมานำตัวอย่างที่แช่เย็นจัด มาปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 10,000 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที เก็บส่วนที่เป็นสารละลายใส (supernatant) ปริมาตร 300 ไมโครลิตร ใส่หลอดตัวอย่าง (centrifuge tube) อีกครั้ง แล้วเติม 0.3% Ti<sub>2</sub>(SO<sub>4</sub>)<sub>3</sub> ที่เตรียมไว้ 20% (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) (v/v) ปริมาตร 90 ไมโครลิตร ลงในสารละลายใสที่เก็บไว้ ปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 10,000 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที เก็บสารละลายใสที่ได้ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 410 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง spectrophotometer นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้มาคำนวณหาปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์โดยเทียบกับค่าที่ได้จากกราฟมาตรฐาน

### 3.1.12 การวัดแอกทิวิตีของเอนไซม์คะตะเลส (catalase)

การวัดแอกทิวิตีของเอนไซม์คะตะเลส เป็นการวัดอัตราการลดลงของการดูดกลืนแสงของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ โดยทำการเก็บตัวอย่างใบสดแช่ในไฮโดรเจนเหลว แล้วนำตัวอย่าง 100 มิลลิกรัม บดด้วยไฮโดรเจนเหลวในโกร่งเย็น จากนั้นนำไปผสมกับ extraction buffer 1 มิลลิตร จากนั้นทำการปั่นเหวี่ยง (centrifugation) ที่ 15,000 รอบที่อุณหภูมิต่ำ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที จากนั้นนำสารละลายส่วนใส (supernatant) เพื่อวัดกิจกรรมของเอนไซม์ต่อไป โดยการเตรียมสารละลายที่ใช้สกัดเอนไซม์ (extraction buffer) ประกอบด้วย

- Potassium phosphate buffer (pH 7) 50 มิลลิโมล
- polyvinylpolypyrrolidone (PVPP) 4 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร
- dithiothreitol (DTT) 4 มิลลิโมล
- phenylmethylsulfonyl fluoride 1 มิลลิโมล (stock เตรียมใน isopropanol)

โดยเตรียมใหม่ทุกครั้งในการทดลอง

ในการวัดแอกทิวิตีของเอนไซม์คะตะเลส นั้น โดยเป็นการวัดการสลายของ  $H_2O_2$  โดยวัดค่าดูดกลืนแสงโดยใช้ความยาวคลื่น 240 นาโนเมตรที่ลดลงภายในเวลา 5 นาที (Beers and Sizer, 1952) เตรียม 10mM  $H_2O_2$  ใน 50mM Potassium phosphate buffer (pH 7) เป็น substrate mixture ปริมาตร 150 ไมโครลิตร แล้วใส่สารสกัดเอนไซม์ประมาณ 50 ไมโครลิตรใน microcuvette จากนั้นจับเวลา 5 นาที โดยมีสัมประสิทธิ์การสูญเสียน้ำ (extinction coefficient)  $\epsilon$ ,  $0.0436 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$  เพื่อไว้ใช้คำนวณค่าแอกทิวิตีของเอนไซม์ดังสมการ

$$\text{แอกทิวิตีของเอนไซม์คะตะเลส} = \frac{(\text{dABs}_{240} / \text{นาที}) \times Z \times D}{(\mu\text{moleH}_2\text{O}_2/\text{min}/\text{mg protein}) \text{ extinction coefficient} \times V \times M}$$

Z = ปริมาตรรวมของปฏิกิริยา (ml)

D = dilution factor

V = ปริมาตรสารละลายเอนไซม์ (ml)

M = mg protein/ml crude

โดยทำการปิเปตสารละลายใน micro-cuvette โดย reference cuvette ทำการปิเปต 50mM Potassium phosphate buffer (pH7) 50 ไมโครลิตร และ ปิเปต substrate mixture 150 ไมโครลิตร รวมเป็น 200 ไมโครลิตร ในขณะที่ sample cuvette ทำการปิเปต substrate mixture 150 ไมโครลิตร จากนั้นทำการปิเปต crude extract ที่ได้จากการสกัดมา 50 ไมโครลิตร จากนั้นวัดค่าดูดกลืนแสงแบบ kinetic ทันทีเป็น เวลา 5 นาที

### 3.1.13 การวัดปริมาณโปรตีนในสารสกัดเอนไซม์

ในการวิจัยครั้งนี้ใช้วิธีการหาโปรตีนโดยวิธี Lowry et al. (1951) โดยนำสารสกัดเอนไซม์มา 50 ไมโครลิตร เติมน้ำกลั่น 950 ไมโครลิตร ตามด้วยปิเปตเติม Lowry's reagent (เป็นการเตรียมสาร  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ , Sodium potassium tartrate, Sodium hydroxide, Sodium carbonate ผสมกัน) โดยปิเปตปริมาตร 0.7 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน ทิ้งไว้ให้เกิดปฏิกิริยาสมบูรณ์ประมาณ 10 นาที แล้ว ปิเปตด้วย folin-cioalceu reagent 0.1 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน ทิ้งไว้ให้เกิดปฏิกิริยาสมบูรณ์ในความมืด ประมาณ 30 นาที โดยในการวัดแต่ละครั้งมีการทำ 3 ซ้ำ (triplicate) จากนั้นนำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 750 นาโนเมตร นำค่าที่ได้ไปเปรียบเทียบกับค่าของโปรตีนมาตรฐาน Bovine Serum Albumin (BSA)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย  
CHULALONGKORN UNIVERSITY

### 3.4 การรวบรวมและประมวลผลของข้อมูลที่ได้จากการวิจัย

ทำการรวบรวมข้อมูลนำมาวิเคราะห์ทางสถิติเพื่อหาความแตกต่างระหว่างชุดควบคุม และแต่ละชุดการทดลองใช้วิธีการวิเคราะห์ความแปรปรวน (One way ANOVA ด้วยโปรแกรม SPSS for Windows) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%



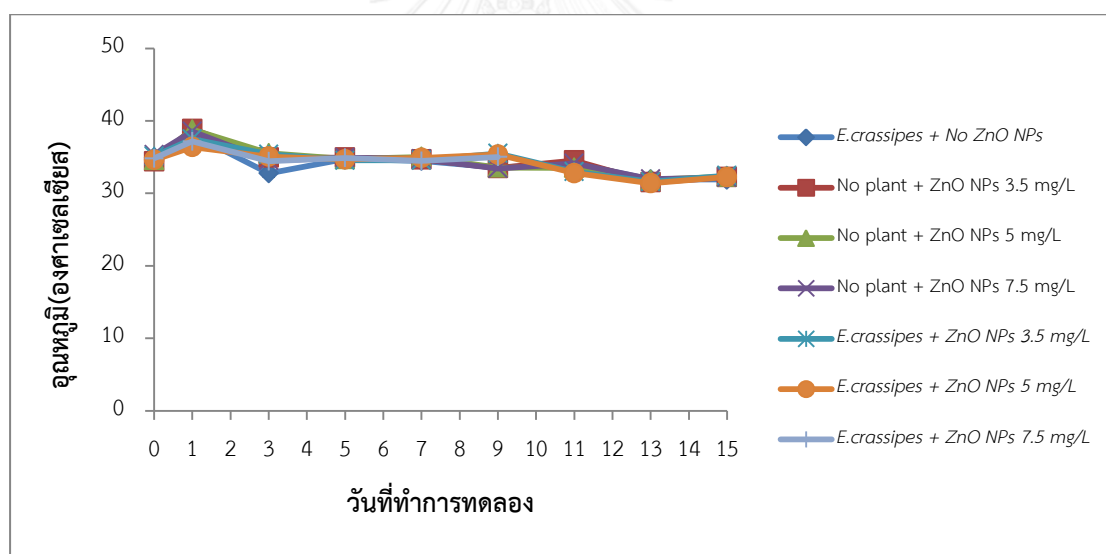
## บทที่ 4

### ผลการทดลองและอภิปรายผลการทดลอง

#### 4.1 การเปลี่ยนแปลงสมบัติทางเคมี

##### 4.1.1 อุณหภูมิ

จากผลการทดลองพบว่าอุณหภูมิของสารละลายธาตุอาหารที่ใช้เลี้ยงพืช ในชุดควบคุมและชุดการทดลองทั้งหมดไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ( $p > 0.05$ ) โดยมีอุณหภูมิระหว่าง 33-35 องศาเซลเซียสจากสภาวะการทดลองที่ทดลองในระบบเปิดที่มีแสงแดดจัดและทำการวัดในช่วงเวลา 10.00 น. เป็นต้นไปในทุกวันของการ ซึ่งทุกชุดการทดลองมีลักษณะการเพิ่มขึ้นและลดลงคล้ายคลึงกัน เนื่องจากสภาวะแวดล้อมในการทดลองอยู่ในสภาพเดียวกัน (ภาพที่ 4.1)



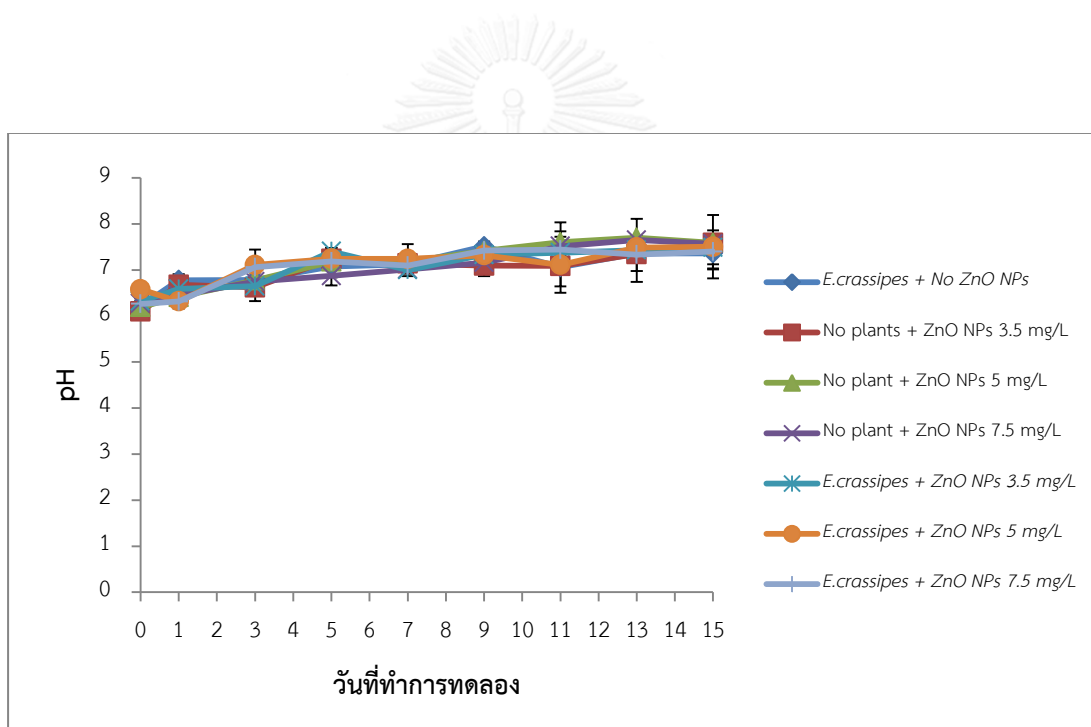
ภาพที่ 4.1 อุณหภูมิเฉลี่ยของสารละลายธาตุอาหารที่ใช้ปลูกผักตบชวา (*E. crassipes*) ทั้งชุดควบคุมและชุดการทดลอง ตลอดระยะเวลา 15 วัน

เมื่ออุณหภูมิมีการเปลี่ยนแปลงที่เพิ่มขึ้นจะมีการเกิดปฏิกิริยาเคมีและด้านชีวเคมีที่เพิ่มขึ้นตาม จะเกิดการละลายของแก๊ส เช่น ออกซิเจนละลายน้ำลดลง เป็นต้น การละลายของธาตุอาหารจะเพิ่มขึ้น ซึ่งอุณหภูมิของน้ำตามธรรมชาติจะแปรผันตาม อุณหภูมิของสภาพอากาศ ที่เกิดขึ้นตามฤดูกาล ลักษณะภูมิประเทศ ที่ตั้งตามละติจูดและลองจิจูด รวมถึงกระแสลม ความลึกของพื้นน้ำ ความเข้มแสงของดวงอาทิตย์ และ ปริมาณสารแขวนลอยหรือความขุ่น โดยทั่วไปแหล่งน้ำหากมีการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิกว่าปกติ 2-3 องศาเซลเซียส จะมีผลต่อคุณสมบัติของน้ำ เช่น ความหนาแน่น ความหนืดของน้ำ ความสามารถในการละลายออกซิเจน การแบ่งชั้นของน้ำ และการหมุนเวียนในแร่ธาตุต่างๆ เป็นต้น แต่ผลกระทบที่มีผลต่อสิ่งมีชีวิตในน้ำเมื่ออุณหภูมิเปลี่ยนแปลงเช่น ปริมาณออกซิเจนละลายในน้ำที่จะลดลงเมื่อมีอุณหภูมิที่สูงขึ้น จะมีผลกระทบต่อสิ่งมีชีวิตเช่นพวกจุลินทรีย์ และแบคทีเรียที่ย่อยสลายสิ่งปฏิกูลต่างๆ ที่จะมีการเมตาบอลิซึมมากขึ้น และมีความต้องการใช้ออกซิเจนละลายในน้ำเพิ่มขึ้น เมื่อปริมาณออกซิเจนละลายในน้ำลดลง ไม่เพียงพอต่อปริมาณจุลินทรีย์ย่อยสลาย แหล่งน้ำนั้นจะเกิดภาวะพร่องออกซิเจน (Hypoxia) ซึ่งมีออกซิเจนระดับต่ำ และภาวะขาดออกซิเจน (Anoxia) ของน้ำจะเกิดการเน่าเสีย (กรรณิการ์ สิริสิงห์, 2544)

สำหรับอุณหภูมิที่มีผลต่ออัตราการเจริญเติบโตของพืชนั้น มีผลในด้านการสังเคราะห์ด้วยแสง การดูดของธาตุอาหารเข้าสู่ตัวพืช การคายน้ำ การหายใจของพืช และกิจกรรมของเอนไซม์ในการต้านอนุมูลอิสระต่างๆ โดยทั่วไปนั้นพืชแต่ละชนิดจะมีช่วงอุณหภูมิที่เหมาะสมในการควบคุมประสิทธิภาพของเอนไซม์ในช่วงแคบๆของอุณหภูมิที่พืชต้องการ หากมีการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิจากที่เหมาะสม ประสิทธิภาพการทำงานของเอนไซม์จะลดลง เมื่อถึงจุดนี้ พืชจะอยู่สภาวะเครียด (oxidative stress) ซึ่งอาจจะชะลอหรือหยุดการเจริญเติบโต จนกระทั่งตายในที่สุด (นวรรตน์ อุดมประเสริฐ, 2558) ซึ่งทั้งนี้ในการทดลองผักตบชวาเป็นพืชเขตร้อน ที่สามารถเจริญเติบโตได้ดีในอุณหภูมิในเขตร้อนประมาณ 25-33 องศาเซลเซียส โดยจะมีการเจริญเติบโตประกอบกับกิจกรรมในการสังเคราะห์ด้วยแสง การคายน้ำ และกิจกรรมของเอนไซม์ได้อย่างมีประสิทธิภาพ (Pereira *et al.*, 2014)

#### 4.1.2 ความเป็นกรดต่าง

ความเป็นกรดต่างของสารละลายธาตุอาหาร ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p > 0.05$ ) โดยมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นจากวันแรกถึงวันที่ 15 ของจำนวนวันที่ทดลองทั้งหมด โดยค่าความเป็นกรดต่าง ของชุดควบคุมที่ปลูกผักตบชวา แต่ไม่มีสารละลายสังกะสีออกไซด์ขนาดนาโนเมตรและไม่ปลูกผักตบชวาแต่มีสารละลายสังกะสีออกไซด์ขนาดนาโนเมตร 3.5, 5 และ 7.5 มิลลิกรัมต่อลิตรมีค่าระหว่าง 6.2-7.36 , 6.02-7.13, 6.12-7.73 และ 6.13-7.54 ตามลำดับ ส่วนในชุดทดลองที่ปลูกผักตบชวาและเติมสารละลายสังกะสีออกไซด์ขนาดนาโนเมตร 3.5, 5 และ 7.5 มิลลิกรัมต่อลิตรมีค่าระหว่าง 6.31-7.49, 6.32-7.48 และ 6.26-7.44 ตามลำดับ (ภาพที่ 4.2)

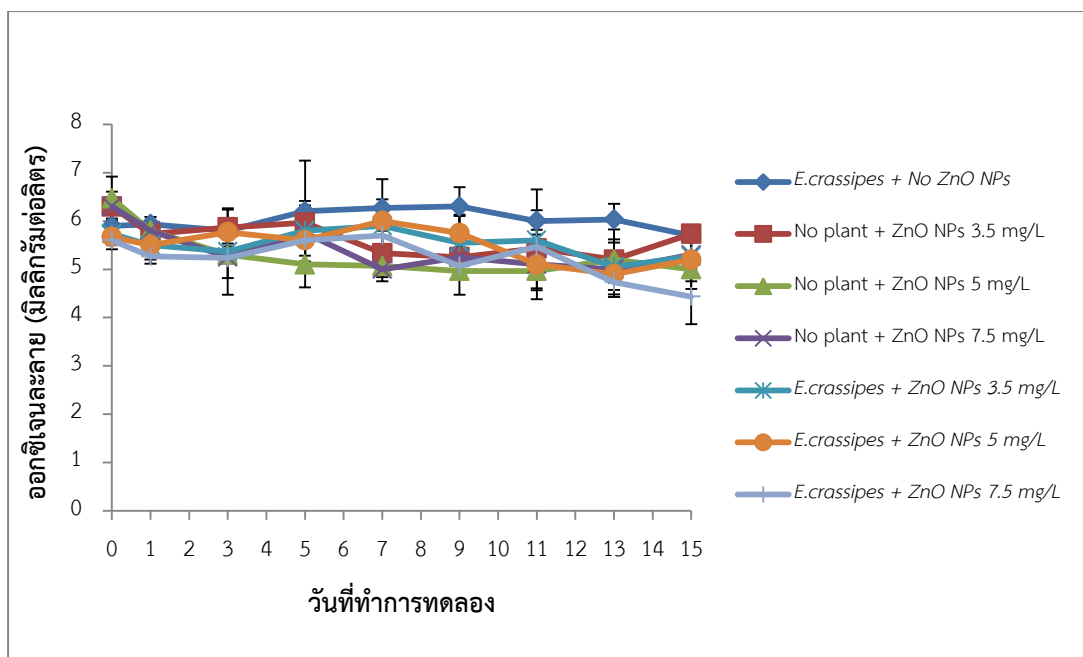


ภาพที่ 4.2 ความเป็นกรดต่างที่เปลี่ยนแปลงของสารละลายที่ปลูกผักตบชวาและชุดควบคุมตลอดระยะเวลา 15 วัน

สำหรับความเป็นกรดต่างนั้นมีค่าสำคัญต่อการทำงานในกระบวนการ เช่น การบำบัดน้ำเสียทางชีวภาพ การตกตะกอน การสลายตัวของสาร เป็นต้น โดยช่วงที่เหมาะสมในกระบวนการดังกล่าวนี้จะมีค่าไม่เท่ากัน ขึ้นกับปัจจัยทางเคมี หรือชีวภาพของกระบวนการดังกล่าว ซึ่งโดยทั่วไปนั้นแหล่งน้ำตามธรรมชาติจะมีค่าความเป็นกรดต่าง ที่ 4 ถึง 9 แต่ส่วนใหญ่จะเป็นค่าเล็กน้อย เนื่องจากมีคาร์บอเนต และ ไบคาร์บอเนต โดยขึ้นอยู่กับสภาพแวดล้อมและภูมิประเทศ สำหรับคุณภาพน้ำที่มีค่าความเป็นกรดต่างสูง หรือต่ำกว่าค่าดังกล่าวอาจเนื่องจากถูกปะปนโดยกรดหรือต่างแก่ จากน้ำทิ้งโรงงานอุตสาหกรรม โดยสิ่งบ่งชี้ความเป็นกรด คือไฮโดรเจนไอออน  $[H^+]$  ซึ่งเป็นอิทธิพลของการแตกตัวเป็นไอออนและการละลายน้ำของสารต่างๆ ซึ่งจะมีผลต่อการดูดซับสิ่งปนเปื้อนในน้ำที่เพิ่มขึ้น นอกจากนี้ความเข้มข้นของคาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายในน้ำมีส่วนของความเป็นกรดต่าง เพราะคุณสมบัติของคาร์บอนไดออกไซด์เมื่อละลายในน้ำมากจะทำให้น้ำมีสภาพเป็นกรดมากขึ้น ซึ่งจากการทดลองทุกชุดการทดลองค่าความเป็นกรดต่างเปลี่ยนแปลงโดยค่า pH สูงขึ้น เนื่องจากคาร์บอนไดออกไซด์ในแหล่งน้ำมาจากการหายใจของพืช และการย่อยสลายของสารอินทรีย์จึงมีการปล่อยคาร์บอนไดออกไซด์ในแหล่งน้ำซึ่งมีผลทำให้มีค่าความเป็นกรด แต่ในการทดลองพืชน้ำนั้นต้องมีใช้คาร์บอนไดออกไซด์ เพื่อใช้ในการสังเคราะห์ด้วยแสงในเวลากลางวัน (อาร์ักษ์ ธีรอำพน, 2544) ทำให้ความเป็นกรดต่างมีค่าสูงขึ้น เพราะในช่วงการเจริญเติบโตของลำต้นและใบ พืชจะมีการดูด  $NO_3^-$  เป็นส่วนใหญ่ ดังนั้นพืชจะปล่อยไบคาร์บอเนตไอออน ( $HCO_3^-$ ) ออกมาเท่ากัน มีผลให้ความเป็นกรดต่างของสารละลายเพิ่มขึ้น โดยจากการลดของคาร์บอนไดออกไซด์ในน้ำ และนอกจากนั้นมีการเปลี่ยนของไบคาร์บอเนตไอออน ( $HCO_3^-$ ) เป็นคาร์บอเนตไอออน ( $CO_3^{2-}$ ) ซึ่งไอออนนี้จะทำปฏิกิริยากับแคลเซียมไอออน ( $Ca^{2+}$ ) ในน้ำ ตกตะกอนเป็นแคลเซียมคาร์บอเนต ( $CaCO_3$ ) (มันสิน ตัญกุลเวศม์, 2545) โดยในการทดลองผักตบชวาจะมีการดึงคาร์บอนไดออกไซด์ใช้ในการสังเคราะห์ด้วยแสง โดยอยู่ในกระบวนการตรึงคาร์บอนไดออกไซด์ (Calvin cycle) เพื่อสร้างแป้งและน้ำตาลไปใช้ในการหายใจเพื่อสลายพลังงานต่อไป โดยเมื่อพืชได้รับผลกระทบจากสังกะสีออกไซด์ขนาดนาโนเมตรจะส่งผลถึงการนำเข้าน้ำทางราก และอาจมีผลต่อการนำเข้าน้ำคาร์บอนไดออกไซด์จากปากใบเนื่องจากการลดการคายน้ำ พืชจึงมีการนำเข้าน้ำคาร์บอนไดออกไซด์ที่ปล่อยจากการหายใจลงสู่ น้ำ กลับเข้าไปใหม่เพื่อใช้กระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสง ซึ่งอาจมีการสังเคราะห์ด้วยแสงในส่วนลำต้น เพราะส่วนลำต้นมี คลอโรพลาสต์ส่วนที่เรียกว่า คลอโรเกราไมท์ใช้ในการสังเคราะห์ด้วยแสงเช่นเดียวกับส่วนใบ (Richards and Lee, 1986)

#### 4.1.3 ค่าออกซิเจนละลาย

ค่าออกซิเจนละลาย ที่ละลายในสารละลายธาตุอาหารนั้น มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) ซึ่งจะมีแนวโน้มที่จะลดลงจากวันแรกที่วัดจนถึงวันที่ 15 ของจำนวนวันทำการทดลองทั้งหมด (ดังภาพที่ 4.3) โดยที่ค่าออกซิเจนละลายน้ำของชุดควบคุมที่ปลูกผักตบชวาไม่เติมสารละลายสังกะสีออกไซด์ขนาดนาโนเมตร และชุดควบคุมที่ไม่ปลูกพืชแต่เติมสารละลายสังกะสีออกไซด์ขนาดนาโนเมตร 3.5, 5 และ 7.5 มิลลิกรัมต่อลิตร จะมีค่าอยู่ในช่วง 6.2-5.7, 6.3-5.2, 6.4-5.0 และ 6.3-5.1 มิลลิกรัมต่อลิตรตามลำดับ และในชุดทดลองที่ปลูกผักตบชวาและเติมสารละลายสังกะสีออกไซด์ขนาดนาโนเมตร 3.5, 5 และ 7.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีค่าอยู่ในช่วง 5.8-5.0, 6.0-5.1 และ 5.7-4.7 มิลลิกรัมต่อลิตรตามลำดับ ซึ่งชุดที่ปลูกพืชมีแนวโน้มการลดลงมากกว่าชุดที่ไม่ปลูกพืช ทั้งนี้มีปัจจัย เช่น การเกี่ยวเนื่องกับอุณหภูมิ เมื่ออุณหภูมิสูงจะทำให้ออกซิเจนจากอากาศเข้ามาภายในน้ำ จะมีประสิทธิภาพละลายน้ำได้น้อยลง ประกอบกับการหายใจของพืชที่มีความต้องการใช้ออกซิเจนในการดำรงชีวิต และยังมีกรย่อยสลายทางชีวภาพโดยจุลินทรีย์ เช่นการย่อยสลายซากพืช ซึ่งต้องการออกซิเจนที่ละลายน้ำในการย่อยสลายอินทรีย์สาร ซึ่งองค์ประกอบทั้งหมดทำให้ปริมาณออกซิเจนลดลง โดยปกติแล้วค่าออกซิเจนในน้ำที่เหมาะสมกับการดำรงชีวิตของสิ่งมีชีวิตอยู่ที่ระหว่าง 5-8 มิลลิกรัมต่อลิตร (พูลสุข โพธิ์รักขิต-ปรัชญานุสรณ์, 2553) โดยจากการทดลองพบว่า ชุดทดลองที่ปลูกผักตบชวามีแนวโน้มการลดลงอย่างต่อเนื่อง ทั้งนี้พืชได้มีการดึงนำไปใช้ในกระบวนการหายใจเพื่อสลายพลังงาน โดยจะเกิดเป็นกระบวนการหายใจระดับเซลล์คือ กระบวนการไกลโคไลซิส วัฏจักรเครปส์ และกระบวนการลูกโซ่เพื่อการหายใจ (oxidative phosphorylation) ซึ่งเป็นกระบวนการที่ใช้ออกซิเจน นอกจากนั้นผักตบชวายังมีการนำออกซิเจนมาเป็นอากาศเก็บไว้ที่เรียกว่า air sac หรือ ช่องแอรียงไคมาที่ราก หรือเขตราก (rhizosphere) เสมือนเป็นท่อนลอยให้กับตัวพืชในการลอยน้ำอย่างอิสระ (Lage- Pinto *et al.*, 2008; May and Coetzee, 2013)

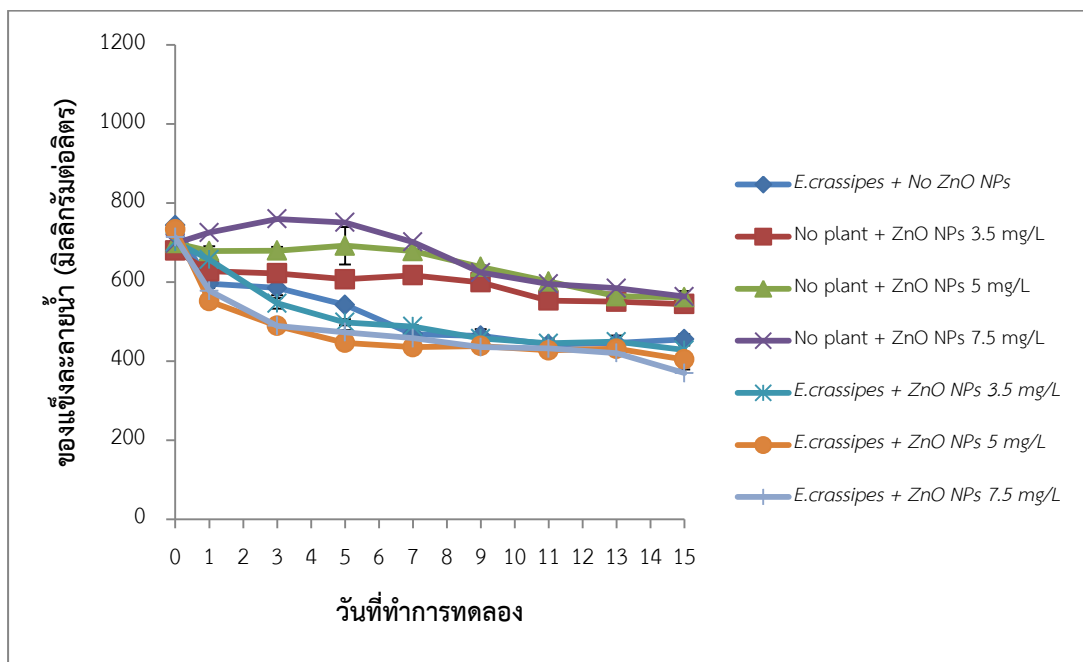


ภาพที่ 4.3 ออกซิเจนละลายในสารละลายธาตุอาหารที่ปลูกผักตบชวา และชุดควบคุม ตลอดระยะเวลา 15 วัน

#### 4.1.4 ค่าของแข็งละลาย

ค่าของแข็งละลายน้ำจากผลการทดลองทั้งหมด พบว่ามีการเปลี่ยนแปลงที่ลดลงในระยะเวลาที่ทดลอง ในเวลา 15 วันอย่างเห็นได้ชัด (ภาพที่ 4.4) โดยชุดควบคุมที่ปลูกผักตบชวาไม่เติมสารละลายสังกะสีออกไซด์ขนาดนาโนเมตร และชุดควบคุมที่ไม่ปลูกพืชแต่เติมสารละลายสังกะสีออกไซด์ขนาดนาโนเมตร 3.5, 5 และ 7.5 มิลลิกรัมต่อลิตร จะมีค่าอยู่ในช่วง 740- 542, 670-540, 698-560 และ 750-563 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ และในชุดทดลองที่ปลูกผักตบชวาและเติมสารละลายสังกะสีออกไซด์ขนาดนาโนเมตร 3.5, 5 และ 7.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีค่าอยู่ในช่วง 701-428, 733-404 และ 710- 370 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ โดยชุดที่ปลูกพืชและชุดที่ไม่ปลูกพืชมีแนวโน้มการลดลงที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) โดยของแข็งละลายน้ำเป็นแร่ธาตุเกลือ หรือ โลหะละลายซึ่งในที่นี้คือ สารละลายธาตุอาหาร โดยจะบ่งบอกถึงความบริสุทธิ์ของน้ำโดย USEPA ได้กำหนดมาตรฐานน้ำเพื่อการบริโภคอยู่ที่ 500 มิลลิกรัมต่อลิตร (กรมควบคุมมลพิษ, 2556) ซึ่งจากการทดลองสามารถพิจารณาค่าที่มีแนวโน้มลดลงเนื่องจาก ในช่วงเวลาการทดลอง พืชมีการนำเข้าสู่สารละลายธาตุอาหารผ่านการดูดน้ำของพืช และการนำธาตุอาหารไปใช้ของจุลินทรีย์ในน้ำในแต่ละวัน และเมื่อก่อนทำการวิเคราะห์ก็ได้ทำการเติมน้ำกลั่นให้อยู่ระดับเดียวกับ

ปริมาณเริ่มต้นในการวิเคราะห์พารามิเตอร์น้ำต่างๆ ดังนั้นค่าของแข็งที่ละลายได้จึงมีแนวโน้มลดลง โดยเฉพาะชุดการทดลองที่ทำการปลูกพืช เพราะประสิทธิภาพในการดูดธาตุอาหารของพืชซึ่งมี ประสิทธิภาพสูง เช่น เกลืออนินทรีย์ หรือ สารอินทรีย์ ซึ่งค่าของแข็งละลายน้ำเป็นค่าบ่งบอกถึงความ กระด้างของน้ำ (กรรณิการ์ สิริสิงห์, 2544) โดยมีผลต่อการดูดน้ำของพืชผ่านทางรากโดยใช้แรงดัน ออสโมติก (Osmotic pressure) และแรงดันเพื่อการคายน้ำ (Mass flow) ซึ่งถ้าหากมีปริมาณ ของแข็งละลายน้ำมีปริมาณสูงกว่าพืชแต่ละชนิดรับได้ พืชนั้นจะมีประสิทธิภาพในการดูดน้ำลดลง ส่งผลให้พืชเหี่ยว ร่วงโรย ชะลอหรือหยุดการเจริญเติบโต

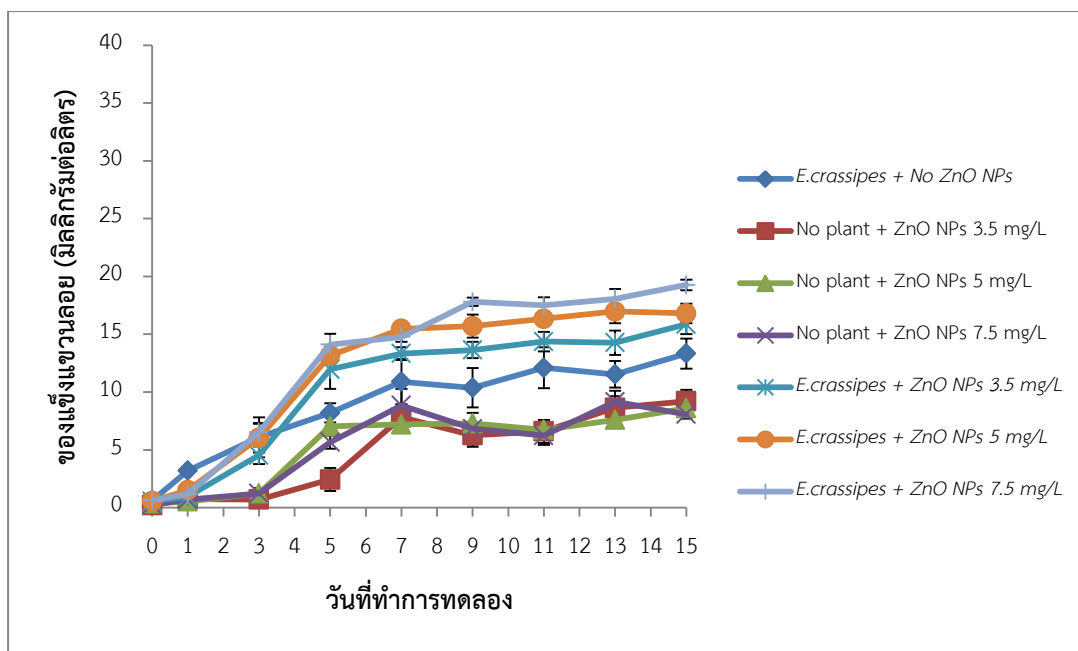


ภาพที่ 4.4 ของแข็งละลายในสารละลายธาตุอาหารที่ปลูกผักตบชวา และชุดควบคุม ตลอดระยะเวลา 15 วัน

#### 4.1.5 ค่าของแข็งแขวนลอย

ค่าของแข็งแขวนลอยจากผลการทดลองทั้งหมด พบว่าทุกชุดการทดลองมีแนวโน้มที่จะเพิ่มขึ้น โดยชุดควบคุมที่ปลูกผักตบชวาไม่เติมสารละลายสังกะสีออกไซด์ขนาดนาโนเมตร และชุดควบคุมที่ไม่ปลูกพืชแต่เติมสารละลายสังกะสีออกไซด์ขนาดนาโนเมตร 3.5, 5 และ 7.5 มิลลิกรัมต่อลิตร จะมีค่าอยู่ในช่วง 0.6-13.3, 0.2-9.2, 0.3-8.6 และ 0.2- 8.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ ในชุดทดลองที่ปลูกผักตบชวาและเติมสารละลายสังกะสีออกไซด์ขนาดนาโนเมตร 3.5, 5 และ 7.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีค่าอยู่ในช่วง 0.5- 15.8, 0.5-16.9 และ 0.6- 19.2 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ (ภาพที่ 4.5) ทั้งนี้การเพิ่มขึ้นของของแข็งแขวนลอย ระหว่างชุดที่ปลูกพืชและชุดที่ไม่ปลูกพืชมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) ทั้งนี้สังเกตว่าชุดควบคุม และชุดการทดลองปลูกผักตบชวา มีปริมาณที่สูงกว่าชุดควบคุมที่ไม่ปลูกผักตบชวา สาเหตุจากของแข็งแขวนลอยของชุดควบคุมที่ไม่ปลูกผักตบชวามาจากในน้ำมีจุลินทรีย์ที่ได้รับธาตุอาหารและมีออกซิเจน จึงเอื้อต่อการย่อยสลายจนเกิดเป็นตะกอนแขวนลอยในน้ำ มีการสังเคราะห์ด้วยแสงของกลุ่มตะไคร่น้ำเกาะอยู่บริเวณภาชนะ และนอกจากนั้นจากการตกตะกอนของแคลเซียมคาร์บอเนต ( $\text{CaCO}_3$ ) ที่เกิดจากการที่คาร์บอเนตไอออน ( $\text{CO}_3^{2-}$ ) ทำปฏิกิริยากับแคลเซียมไอออน ( $\text{Ca}^{2+}$ ) จากการที่มีการสังเคราะห์ด้วยแสงของพืช และกลุ่มตะไคร่ที่เกาะ แต่ในด้านชุดที่มีการปลูกผักตบชวามีของแข็งแขวนลอยมากกว่า เพราะมาจากเศษชิ้นส่วนของผักตบชวา ที่มีการหลุดร่วง เช่น ขนราก ตะกอนดินเล็กๆ และการเหี่ยวเฉาในช่วงการทดลอง ลงไปในสารละลายธาตุอาหาร ทำให้มีปริมาณของแข็งแขวนลอยเพิ่มขึ้น ค่าที่วัดได้จึงมีปริมาณสูงกว่าชุดที่ไม่ได้ปลูกผักตบชวา และเมื่อพิจารณาในชุดทดลองที่ปลูกผักตบชวาในสังกะสีออกไซด์ขนาดนาโนเมตรพบว่า ค่าความเข้มข้นที่ 7.5 มิลลิกรัมต่อลิตรมีปริมาณของแข็งแขวนลอยมากที่สุด ทั้งนี้เนื่องจากการสะสมของสังกะสีออกไซด์ขนาดนาโนเมตรได้ยึดเกาะที่บริเวณราก ทำให้พืชตอบสนองต่อความเข้มข้นของโลหะหนัก จนทำให้เกิดความเป็นพิษที่เกิดขึ้นที่บริเวณเซลล์ราก โดยอาจเกิดความบกพร่องการทำงานของอแกแนลล์ ก่อให้เกิดอนุมูลอิสระ ที่สามารถทำลาย เซลล์ และเนื้อเยื่อ เช่น lipid peroxidation และ DNA damage เป็นต้นส่งผลทำให้เซลล์บริเวณนั้นตายเกิดการหลุดออกจากตัวพืช (White and Shabala, 2012)





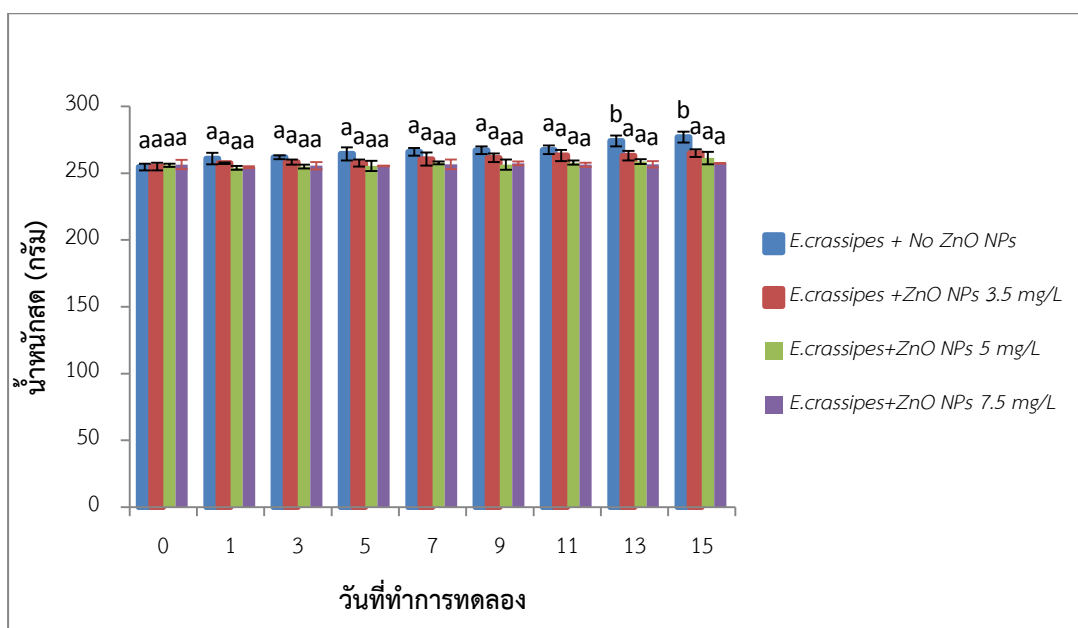
ภาพที่ 4.5 ค่าของแข็งแขวนลอยในสารละลายธาตุอาหารที่ปลูกผักตบชวา และชุดควบคุม ตลอดระยะเวลา 15 วัน

## 4.2 มวลชีวภาพของผักตบชวา

### 4.2.1 น้ำหนักสด

จากผลการเติบโตของผักตบชวาในการทดลองพบว่าในวันที่ 0 จนถึงวันที่ 11 นั้น ชุดควบคุมที่ปลูกผักตบชวาแต่ไม่เติมสารละลายสังกะสีออกไซด์ขนาดนาโนเมตร และชุดทดลองที่ปลูกผักตบชวาและเติมสารละลายสังกะสีออกไซด์ขนาดนาโนเมตร ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p > 0.05$ ) แต่มาพบการเปลี่ยนแปลงในวันที่ 13 และ 15 โดยพบว่าชุดควบคุมที่ไม่มีการเติมสารละลายสังกะสีออกไซด์ขนาดนาโนเมตร มีค่าน้ำหนักสดสูงกว่าชุดการทดลองที่มีความแตกต่างกันทางนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) เมื่อพิจารณาน้ำหนักสดตลอดช่วงระยะเวลาการทดลองนั้น ชุดควบคุมที่ไม่มีการเติมสารละลายสังกะสีขนาดนาโนเมตรมีค่าระหว่าง  $254 \pm 2.51$  -  $277 \pm 4.10$  กรัม และชุดการทดลองที่ 3.5, 5 และ 7.5 มิลลิกรัมต่อลิตรพบว่ามีค่ามวลชีวภาพ น้ำหนักสดมีค่าระหว่าง  $255 \pm 2.82$  -  $265 \pm 2.93$ ,  $254 \pm 1.14$  -  $261 \pm 4.73$  และ  $254 \pm 0.70$  -  $257 \pm 0.19$  กรัม ตามลำดับ (ภาพที่ 4.6)

ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยในการวิเคราะห์ประสิทธิภาพพืชน้ำที่ใช้ในการบำบัดโลหะหนัก พบว่าในชุดควบคุมที่น้ำไม่ปนเปื้อนโลหะหนักพบว่า มีน้ำหนักสดที่มากกว่าชุดการทดลองที่ใช้พืชน้ำ ในการบำบัดน้ำเสียที่ปนเปื้อนโลหะหนัก (Mishra and Tripathi, 2008; Skinner *et al.*, 2007) และนอกจากนั้น ผลกระทบจากการสะสมของสังกะสีออกไซด์ขนาดนาโนเมตร (ZnO NPs) ในพืชน้ำ มีผลต่อน้ำหนักสดที่ลดลง ซึ่งบ่งบอกถึงการเจริญเติบโตของพืชในสถานะที่มีการสะสมอนุภาคของ โลหะหนักดังกล่าว

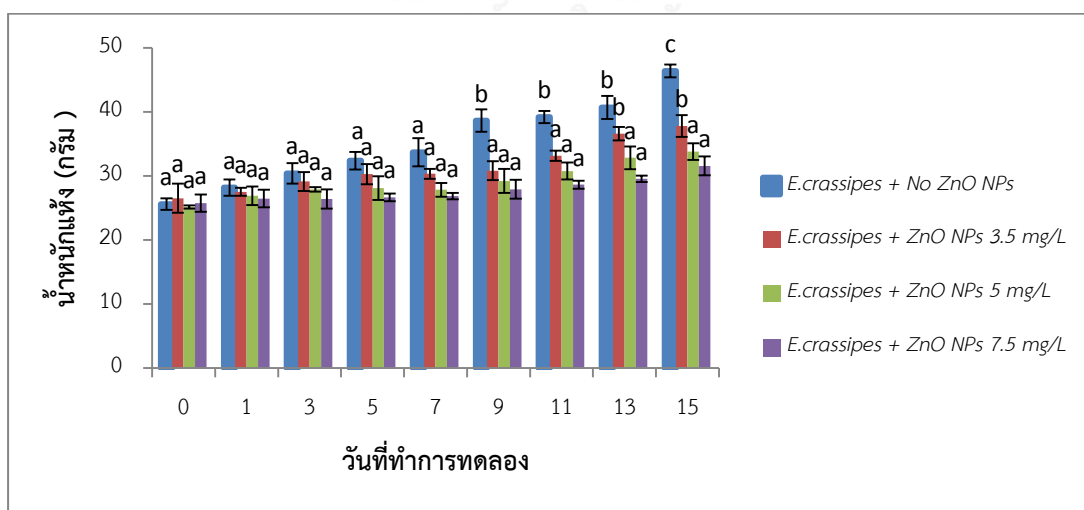


ภาพที่ 4.6 น้ำหนักสดของผักตบชวาที่ปลูกในสารละลายธาตุอาหารที่มีสังกะสีออกไซด์ขนาดนาโนเมตร 3 ความเข้มข้น และชุดควบคุมที่ไม่มีสังกะสี ตลอดระยะเวลา 15 วัน

หมายเหตุ: ตัวอักษรที่ต่างกันบนกราฟระหว่างชุดควบคุมและชุดทดลอง 3 ความเข้มข้น หมายถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ )

#### 4.2.2 น้ำหนักแห้ง

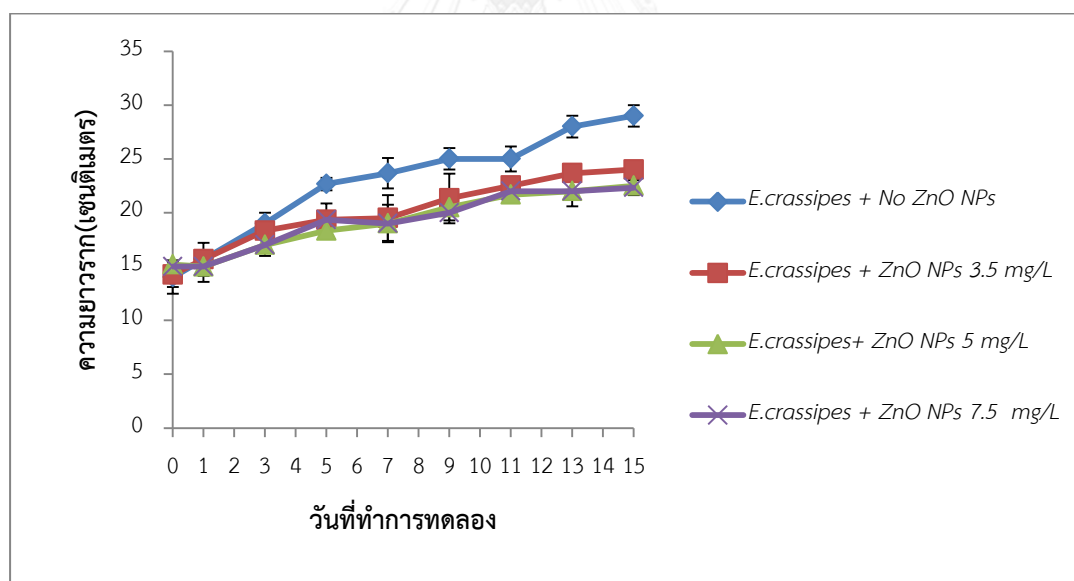
จากผลการทดลองในการศึกษาน้ำหนักแห้งของผักตบชวาในการบำบัดสังกะสีออกไซด์ขนาดนาโนเมตรพบว่า ในชุดควบคุมและชุดทดลองสังกะสีขนาดนาโนเมตร ทั้ง 3 ความเข้มข้น ในวันที่ 0 ถึงวันที่ 7 พบว่าค่าน้ำหนักแห้งไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p > 0.05$ ) แต่เริ่มมีความแตกต่างในวันที่ 9 จนถึงวันที่ 15 ซึ่งในชุดควบคุมที่ไม่มีสารละลายสังกะสีออกไซด์ขนาดนาโนเมตร มีค่าน้ำหนักแห้งสูงกว่าชุดทดลอง โดยมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) และเมื่อพิจารณาชุดทดลองสารละลายสังกะสีขนาดนาโนเมตรที่ 3.5 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่ามีค่าน้ำหนักแห้งสูงกว่าชุดการทดลองที่ 5 และ 7.5 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) ตั้งแต่วันที่ 13 ถึงวันที่ 15 โดยตลอดระยะเวลาการทดลอง ชุดควบคุมที่ไม่มีการเติมสารละลายสังกะสีขนาดนาโนเมตรมีค่าน้ำหนักแห้ง ระหว่าง  $25 \pm 0.89 - 46 \pm 0.99$  กรัม ในขณะที่ชุดการทดลองที่ 3.5, 5 และ 7.5 มิลลิกรัมต่อลิตรพบว่า มีค่าน้ำหนักแห้งระหว่าง  $26 \pm 2.25 - 37 \pm 1.69$ ,  $25 \pm 0.23 - 33 \pm 1.27$ ,  $25 \pm 1.35 - 31 \pm 1.47$  กรัมตามลำดับ (ภาพที่ 4.7) ซึ่งในการวิเคราะห์ค่าน้ำหนักแห้งนั้นสามารถบ่งบอกถึงประสิทธิภาพการเติบโตได้ดีกว่าน้ำหนักสด ทั้งนี้เนื่องจากน้ำหนักสดภายในเนื้อเยื่อของพืชนั้น มีองค์ประกอบของน้ำที่ใช้ในการดำรงชีวิต ดังนั้นค่าน้ำหนักสดเป็นน้ำหนักของพืชที่อุ้มน้ำ



ภาพที่ 4.7 น้ำหนักแห้งของผักตบชวาที่ปลูกในสารละลายธาตุอาหารที่มีสังกะสีออกไซด์ขนาดนาโนเมตร 3 ความเข้มข้น และชุดควบคุมที่ไม่มีสังกะสี ตลอดระยะเวลา 15 วัน  
 หมายเหตุ: ตัวอักษรที่ต่างกันบนกราฟระหว่างชุดควบคุมและชุดทดลอง 3 ความเข้มข้น หมายถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ )

### 4.2.3 ความยาวราก

ในการศึกษาการเจริญเติบโตของผักตบชวาโดยการวัดความยาวรากของพืชเป็นอีกหนึ่งตัวชี้วัด ในการทดลองนี้ได้ทำการวัดรากของชุดควบคุมที่ปลูกผักตบชวาแต่ไม่เติมสารละลายสังกะสีขนาดนาโนเมตรและชุดทดลองที่ปลูกผักตบชวาและเติมสารละลายสังกะสีขนาดนาโนเมตรความเข้มข้น 3.5 , 5 และ 7.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ตลอดทั้ง 15 วันในการทดลอง พบว่าความยาวรากมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นโดยมีความยาวรากระหว่าง  $14 \pm 1.52$  -  $29 \pm 1.00$ ,  $14.5 \pm 0.35$  -  $22.9 \pm 0.70$  ,  $15 \pm 1.52$  -  $22.5 \pm 0.70$  และ  $15 \pm 0.57$  -  $22.3 \pm 0.70$  เซนติเมตรตามลำดับ ซึ่งเห็นได้อย่างชัดเจน (ภาพที่ 4.8) และในวันที่ 7 เป็นต้นไประหว่างชุดควบคุม และ ชุดการทดลอง 3 ความเข้มข้นเริ่มมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) โดยทั้งนี้ชุดทดลองมีความยาวของรากที่ลดลงเนื่องจากการนำเข้าสู่สังกะสีออกไซด์ขนาดนาโนเมตรที่ทำให้เกิดความเป็นพิษ โดยทำให้เกิดความเครียดของพืชที่บริเวณเซลล์ราก โดยทำลาย DNA ยับยั้งการแบ่งเซลล์แบบไมโทซิส (mitosis cell division) ซึ่งเป็นการแบ่งเซลล์แบบการเจริญเติบโต (Rao and Shekhawat, 2014)



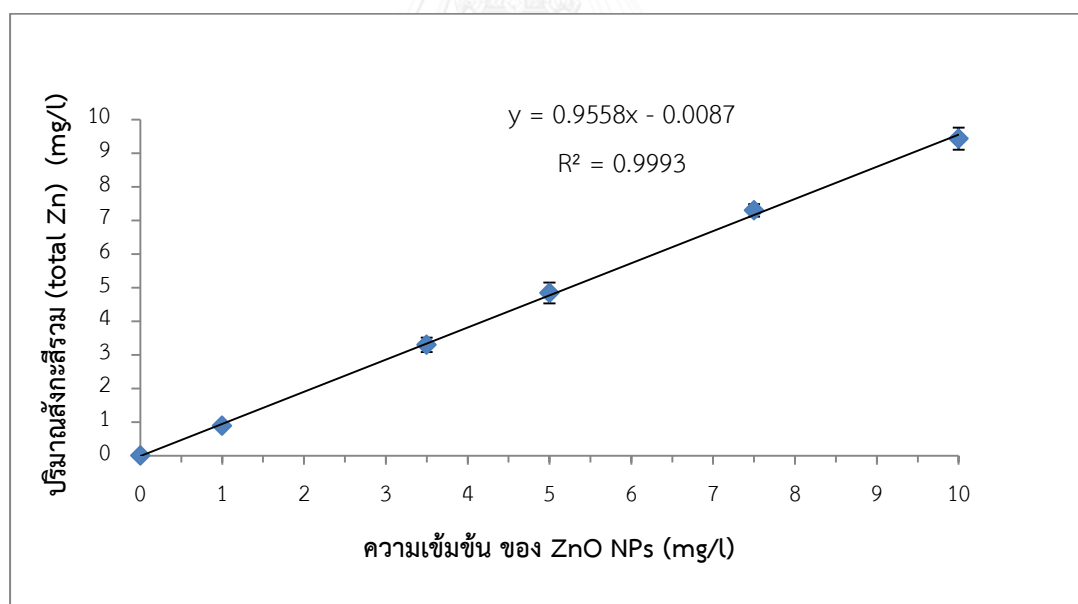
ภาพที่ 4.8 ความยาวรากผักตบชวาที่ปลูกในสารละลายธาตุอาหารที่มีสังกะสีออกไซด์ขนาดนาโนเมตร 3 ความเข้มข้น และชุดควบคุมที่ไม่มีสังกะสี ตลอดระยะเวลา 15 วัน

การเปลี่ยนแปลงของมวลชีวภาพของผักตบชวา ได้แก่ น้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง และความยาวราก ในการทดลองนั้นโดยเฉพาะชุดทดลองที่ปลูกพืชในสารละลายสังกะสีขนาดนาโนเมตร 3 ความเข้มข้น ที่พบว่ามีการเติบโตที่ลดลงกว่าชุดควบคุม ซึ่งผลดังกล่าวนี้สามารถชี้วัดในความสามารถทนความเป็นพิษสังกะสีออกไซด์ขนาดนาโนเมตร และความสัมพันธ์ระหว่างพืชกับโลหะหนักในการเจริญเติบโตในสภาพแวดล้อมนั้นได้ ทั้งนี้มีการศึกษาของ Vestena *et al.* (2011) ทำการศึกษาประสิทธิภาพการทนความเป็นพิษของแคดเมียมของ ผักตบชวา และ จอกหูหนู พบว่าในเวลา 6 วัน ค่าน้ำหนักแห้งในราก และใบ ของพืชทั้งสองระหว่างชุดควบคุมและชุดทดลอง มีความแตกต่างกัน และซึ่งชุดควบคุมมีน้ำหนักเพิ่มสูงขึ้นมากกว่าชุดทดลองในแต่ละวันที่ทำการวิเคราะห์ และนอกจากนั้นผลการทดลองในการศึกษามวลชีวภาพของพืชเป็นการบ่งบอกถึงภาพรวมของการเจริญเติบโตของพืชในสภาวะที่พืชสะสมโลหะหนักขนาดอนุภาคนาโนเมตร ที่พบว่าพืชมีการชะลอการเจริญเติบโตเป็นลักษณะการแสดงออกว่าพืชมีการตอบสนอง และมีแนวโน้มอาจไม่สามารถดำรงชีวิตได้ ซึ่งปัจจัยในการคงทนของพืชต่อโลหะหนักนั้นมีปัจจัย ได้แก่ ค่าความเข้มข้นของโลหะหนักที่ได้รับ ความเป็นพิษของโลหะหนักแต่ละชนิด ระยะเวลาในการรับสัมผัส ชนิดของพืช รวมถึงสิ่งแวดล้อมที่พืชดำรงอยู่ โดยจากผลการทดลองแสดงถึงปัจจัยดังกล่าวที่เข้ามามีบทบาท สอดคล้องกับงานวิจัยของ Sheetal *et al* (2016) ที่ทำการศึกษาโดยใช้ผักมัสตาร์ด (mustard) ในการสะสมโลหะหนักแต่ละชนิด คือ นิเกิล โครเมียม ตะกั่ว แคดเมียม และปรอท แต่ละความเข้มข้น ซึ่งในการศึกษามวลชีวภาพโดยศึกษาจากค่าน้ำหนักแห้งพบว่า พืชมีน้ำหนักแห้งที่ลดลงในชุดทดลองของโลหะหนักแต่ละชนิดเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมพืชที่ไม่ได้มีการสะสมโลหะหนัก และนอกจากนั้นยังการศึกษาเมื่อพืชสะสมโลหะหนัก โดยเป็นการสะสมสังกะสีออกไซด์ขนาดนาโนเมตร (ZnO NPs) จะมีผลกระทบต่อการงอกและการขยายความยาวของรากของ *Arabidopsis* (*Arabidopsis thaliana*) โดยผลการทดลองพบว่า เมื่อมีความเข้มข้นของสังกะสีออกไซด์ขนาดนาโนเมตรมากขึ้นจะทำให้ขนาดความยาว และการงอกของรากต่ำลง (Song and Lee, 2016) ซึ่งการทดลองสามารถบ่งบอกถึงการเข้าคู่กันระหว่างพืช และชนิดของโลหะหนักในการบำบัดในสภาพแวดล้อม และระยะเวลาที่จะคงทนจนกว่าพืชไม่สามารถดำรงชีวิตได้ เพื่อสามารถสร้างระบบบำบัดของเสียประเภทโลหะหนักโดยใช้พืชได้อย่างมีประสิทธิภาพสูงสุด

#### 4.3 การสะสมสังกะสีในราก ลำต้น และใบของผักตบชวา และปริมาณสังกะสีที่เหลือในสารละลายธาตุอาหาร

##### 4.3.1 Calibration Curve ZnO NPs กับเครื่อง ICP-MS

ในการศึกษาประสิทธิภาพการสะสมของสังกะสีออกไซด์โดยใช้ Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry (ICP-MS) นั้นเป็นการวัดสังกะสีในรูปสังกะสีรวม (Total Zn) ดังนั้นจึงทำการทำ Calibration Curve เพื่อเป็นการวัดประสิทธิภาพของเครื่องมือ โดยเตรียม ZnO NPs ที่ความเข้มข้น 1, 3.5, 5, 7.5 และ 10 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งผลจากการวัดสังกะสีรวมโดย ICP-MS มีค่าเท่ากับ  $0.8875 \pm 0.0247$ ,  $3.2975 \pm 0.2114$ ,  $4.8425 \pm 0.3090$ ,  $7.2975 \pm 0.1901$  และ  $9.4301 \pm 0.3264$  มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ ซึ่งวิเคราะห์ค่าความถูกต้อง (Relative accuracy) แต่ละความเข้มข้นได้เป็น 88.75%, 94.21%, 96.85%, 97.30% และ 94.30% ตามลำดับ

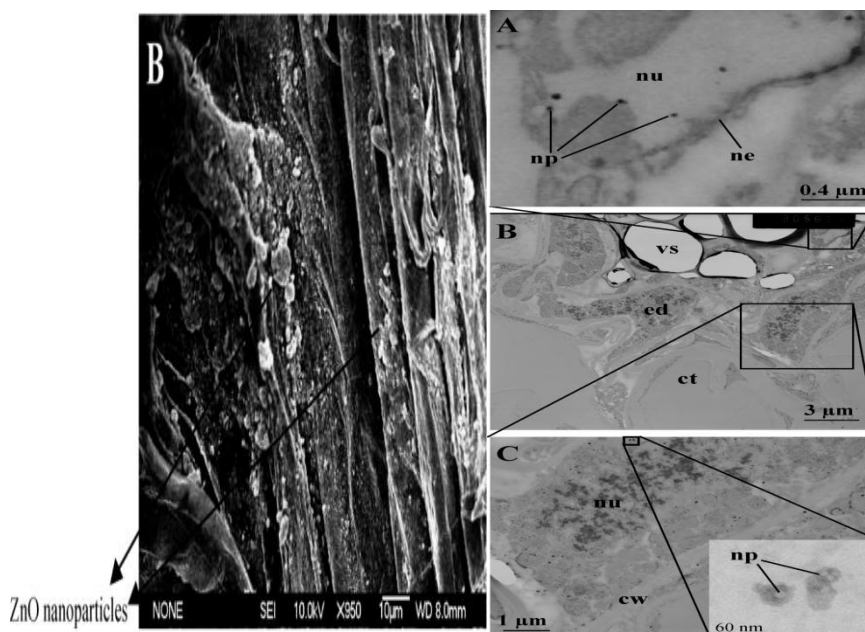


ภาพที่ 4.9 กราฟแสดงการวัดสังกะสีในรูปสังกะสีออกไซด์ขนาดนาโนเมตร (Calibration Curve)

### 4.3.2 ปริมาณสังกะสีที่สะสมในรากผักตบชวา

ผลการศึกษา พบว่าการสะสมของสังกะสีในรากของผักตบชวาในชุดควบคุม และชุดการทดลองที่มีสารละลายสังกะสีขนาดนาโนเมตรความเข้มข้น 3.5, 5 และ 7.5 มิลลิกรัมต่อลิตรนั้น ประสิทธิภาพของการสะสมในรากเริ่มมีความแตกต่างระหว่างชุดควบคุม และชุดทดลอง 3 ความเข้มข้นตั้งแต่วันที่ 1 เป็นต้นไป และเมื่อวิเคราะห์ในวันที่ 15 ของการทดลองพบว่า ประสิทธิภาพการสะสมสังกะสีในราก (มิลลิกรัม) ต่อน้ำหนักแห้ง (กิโลกรัม) ของชุดการทดลองที่ปลูกผักตบชวาและเติมสารละลายสังกะสีออกไซด์ขนาดนาโนเมตรที่ความเข้มข้น 3.5, 5 และ 7.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีค่าการสะสมเท่ากับ  $769.04 \pm 25.69$ ,  $824.32 \pm 7.45$  และ  $945.83 \pm 73.69$  มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักแห้งของราก และเมื่อพิจารณาวันที่ 15 พบว่ามีการสะสมระหว่างชุดทดลอง 3 ความเข้มข้น โดยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) ทั้งนี้เมื่อพิจารณาในชุดควบคุมที่ปลูกผักตบชวาแต่ไม่เติมสารละลายสังกะสีขนาดนาโนเมตรนั้น พบว่ามีค่าการสะสมสังกะสี ทั้งนี้เนื่องจากพืชที่นำมานั้นมาจากแหล่งน้ำตามธรรมชาติจึงมีสังกะสีที่เกิดจากการที่พืชรับมาจากแหล่งน้ำ (ภาพที่ 4.11A) สำหรับชุดการทดลองที่พบว่ามีแนวโน้มของการสะสมสังกะสีที่เพิ่มขึ้น ทั้งนี้จากการนำเข้าของอนุภาคนาโนเมตรจะลำเลียงผ่านน้ำที่ดูดเข้ามาผ่านทางแรงดันออสโมติก แรงคาพิลลารี และแรงดันเพื่อการคายน้ำ โดยจะมีการยึดเกาะกับราก อีกส่วนจะผ่านเข้าสู่ชั้นอีพิเดอร์มิส (epidermis) คอร์เท็กซ์ (cortex) ซึ่งภายในมีช่องแอร์ริงไคมา (aerenchyma) โดยจะเข้าทางช่องว่างบริเวณนอกเซลล์ผ่านทางช่องอโพลาสต์ (apoplastic pathway) โดยจะเคลื่อนที่ไปถึงบริเวณโปรโทพลาสต์ (protoplast) ของเซลล์ส่วนเอนโดเดอร์มิส (endodermis) เพื่อเข้าสู่ท่อลำเลียง (vascular cylinder) แต่ทั้งนี้ก็มีแถบแคสพารีเยน (casparian strip) บริเวณระหว่างเอนโดเดอร์มิสทำหน้าที่ขวางกั้นสิ่งที่เคลื่อนที่มาทางอโพลาสต์ จึงมีการตกค้างของอนุภาคที่บริเวณไซโทพลาซึม หรือ แวกคิวโอลในเซลล์บริเวณนี้ด้วย (ภาพที่ 4.10) ส่วนอีกทาง จะผ่านเข้าภายในเซลล์ และจะเคลื่อนที่ระหว่างเซลล์ (symplastic pathway) (Eichert *et al.*, 2008; Hank *et al.*, 2015; Nair *et al.*, 2010) โดยการที่สังกะสีออกไซด์ขนาดนาโนเมตร (ZnO NPs) สามารถเข้าไปในเซลล์บริเวณรากของผักตบชวาและเคลื่อนที่ไปถึงบริเวณสตีล (stele) นั้น ZnO NPs จะแทรกบริเวณช่องว่างที่บริเวณผนังเซลล์ ซึ่งเมื่อเข้าไปยังเซลล์อนุภาคของสังกะสีออกไซด์ขนาดนาโนเมตรจะเคลื่อนที่ผ่านระหว่างเซลล์ผ่านทางพลาสโมเดสมตา (plasmodesmata) ซึ่งเป็นช่องขนาดเล็กคอยตัดผ่านผนังเซลล์พืช ทำให้อนุภาคเคลื่อนย้ายระหว่างเซลล์หนึ่งไปยังเซลล์หนึ่งได้ โดยจะมีการตกค้างของอนุภาคภายในแวกคิวโอล หรือ ไซโทพลาซึมภายในเซลล์ บริเวณส่วน คอร์เท็กซ์ แอร์ริงไคมา และเอนโดเดอร์มิสด้วย ซึ่งเมื่ออนุภาคสามารถที่สามารถผ่านมาได้ จะเข้าสู่ด้านในซึ่งมีท่อลำเลียงโดยอาศัยท่อไซเล็ม (xylem) เพื่อไปสู่เรื้อนยอดต่อไป (Broadley *et al.*, 2006; Lin and Xing, 2008)

และเนื่องด้วยผักตบชวาเป็นพืชที่มีการดูดน้ำ และสารละลายธาตุอาหารในปริมาณที่สูง จึงทำให้ประสิทธิภาพในการดูด ZnO NPs จากสารละลายธาตุอาหารสู่เขตราก (rhizohere) ของพืชเป็นไปได้ อย่างมีประสิทธิภาพ (นวรรตน์ อุดมประเสริฐ, 2558; นัยนันท์ อริยกานนท์, 2558)



ภาพที่ 4.10 การยัดเกาะของสังกะสีออกไซด์ขนาดนาโนเมตรบริเวณส่วนรากของหญ้าไรย์ *lolium perenne* และ การตกค้างตามอแกแนลลีในเซลล์ราก

\*np= nanoparticle ,ct= cortex, cw= cell wall, ed= endodermis, nu=nucleus,  
ne=nucleus envelope, vs= vesicle

ที่มา: Lin and Xing (2008)

#### 4.3.3 ปริมาณสังกะสีที่สะสมในลำต้นผักตบชวา

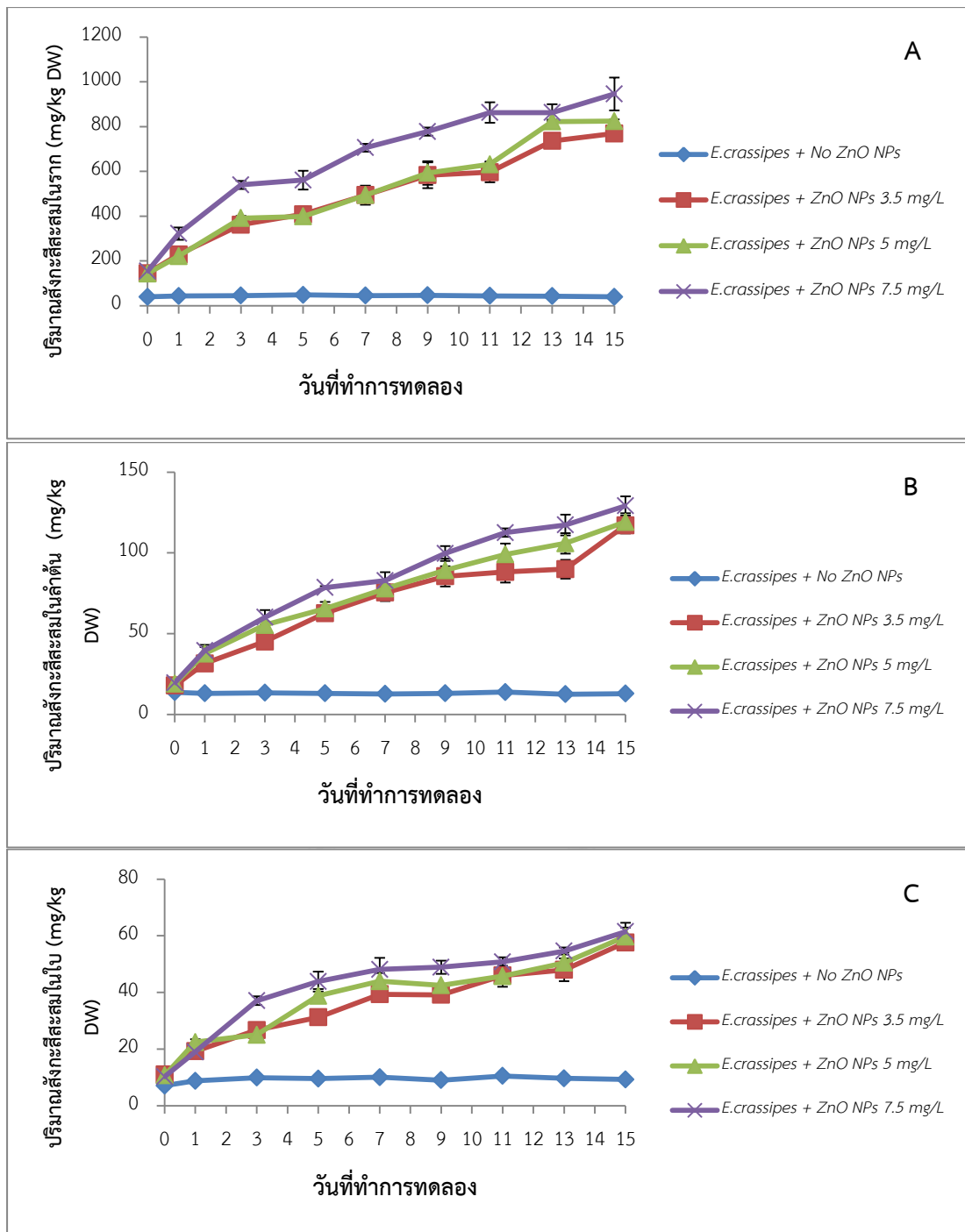
การสะสมของสังกะสีในส่วนของลำต้นนั้นตั้งแต่วันที่ 0 ถึง วันที่ 15 ของการทดลอง พบว่ามีแนวโน้มของการสะสมของสังกะสีเพิ่มสูงขึ้น (ภาพที่ 4.11B) และเมื่อพิจารณาในวันที่ 15 พบว่าชุดการทดลองที่ปลูกผักตบชวา และเติมสารละลายสังกะสีออกไซด์ขนาดนาโนเมตรที่ความเข้มข้น 3.5, 5 และ 7.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีค่าการสะสมเท่ากับ  $117.03 \pm 5.02$ ,  $119.13 \pm 5.43$  และ  $129.11 \pm 5.93$  มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักแห้งของลำต้น ตามลำดับ โดยไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p > 0.05$ ) ผลการวิเคราะห์ พบว่าอยู่ในปริมาณที่น้อยกว่าส่วนราก เนื่องจากอนุภาคสังกะสีขนาดนาโนเมตรส่วนใหญ่ได้ยัดเกาะกับรากของผักตบชวาและมีการตกตะกอนภายในคิวโวล



(vacuole) และ ไซโทพลาซึม (cytoplasm) ของเซลล์ในบริเวณ คอร์เท็กซ์ แอริงโคมา และ เอนโดเดอริมิสในราก (Lin and Xing, 2008) ทำให้มีอนุภาคสังกะสีขนาดนาโนเมตรบางส่วน ที่เคลื่อนย้ายผ่านทางไซเล็ม โดยแรงดันออสโมติก แรงดันเพื่อการคายน้ำ (Mass flow) และแรงคาพิลลารีไปยังส่วนเหนือพื้นดินต่อไป (Doshi *et al.*, 2008)

#### 4.3.4 ปริมาณสังกะสีที่สะสมในใบผักตบชวา

การสะสมของสังกะสีในส่วนของใบนั้น พบว่ามีแนวโน้มของการสะสมสังกะสีเพิ่มสูงขึ้น (ภาพที่ 4.11C) และเมื่อพิจารณาในวันที่ 15 พบว่าชุดการทดลองที่ปลูกผักตบชวา และเติมสารละลายสังกะสีออกไซด์ขนาดนาโนเมตรที่ความเข้มข้น 3.5, 5 และ 7.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีค่าการสะสมเท่ากับ  $57.63 \pm 1.62$ ,  $59.70 \pm 3.24$  และ  $61.44 \pm 3.13$  มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักแห้งตามลำดับ โดยไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p > 0.05$ ) ทั้งนี้เนื่องจากอนุภาคของโลหะสังกะสีออกไซด์ขนาดนาโนเมตรนั้นมีประสิทธิภาพในการเคลื่อนย้ายมายังส่วนยอดโดยผ่านไซเล็มนั้นน้อยมาก ซึ่งสังกะสีส่วนหนึ่งเมื่อมีการเคลื่อนภายในไซเล็มมาจนถึงบริเวณใบ พืชจะมีบทบาทในการ กำจัด หรือคีเลชั่น(chelation) ในบริเวณเซลล์ใบโดยจะนำอนุภาคของโลหะหนักเคลื่อนไปยังตำแหน่งเฉพาะ เช่น บริเวณแวคิวโอล หรือไซโทพลาซึม ซึ่งเป็นส่วนที่ไม่เป็นอันตรายภายในเซลล์ใบ เพื่อหลีกเลี่ยงความเป็นพิษของการรับปริมาณโลหะหนัก (Zhao *et al.*, 2012) โดยผลกระทบที่เกิดจากการที่อนุภาคมาสะสมในใบอาจมีผลต่อการทำลายรงควัตถุ ซึ่งมีส่วนประกอบที่สำคัญคือ คลอโรพลาสต์ (Chloroplast) ที่มีคุณสมบัติในการสังเคราะห์ด้วยแสง เมื่อคลอโรพลาสต์มีการทำลาย โดยจะมีจำนวนไทลาคอยด์ (Thylakoid) และกรานา (Grana) ซึ่งเป็นอแกแนลลีในคลอโรพลาสต์ มีจำนวนลดลงของคลอโรฟิลล์ โดยจะมีผลต่อการดูดกลืนแสง กระบวนการปฏิกิริยาแสง และการถ่ายทอดอิเล็กตรอน (Ebbs and Uchil, 2008; Khater, 2015)



ภาพที่ 4.11 การสะสมของสังกะสีในราก (A), ลำต้น (B) และใบ (C) ของผักตบชวาที่ปลูกในสารละลายธาตุอาหารที่มีสังกะสีออกไซด์ขนาดนาโนเมตร 3 ความเข้มข้น และชุดควบคุมที่ไม่มีสังกะสี ตลอดระยะเวลา 15 วัน

จากประสิทธิภาพของผักตบชวาในการสะสมสังกะสีออกไซด์ขนาดอนุภาคนาโนเมตรในแต่ละส่วนของพืช ได้แก่ ราก ลำต้น และใบนั้นพบว่าปริมาณการสะสมในรากมีการสะสมมากที่สุด ในทุก 3 ความเข้มข้น รองลงมาเป็นการสะสมในลำต้น และใบ ตามลำดับ ซึ่งแสดงให้เห็นถึงการตอบสนองในการหลีกเลี่ยง และการทนต่อโลหะหนัก โดยลดการเคลื่อนย้ายของอนุภาคโลหะหนักไปส่วนยอด ซึ่งเป็นแนวทางการกรองโดยรากพืช และการสกัดโดยพืชนั้นจะมีการสะสมโดยอาจตกค้างในอแกแนลล์ เช่น แวกิวโอล หรือ โซโทพลาซึม เพื่อลดความเป็นพิษที่อาจเกิดกับตัวพืชต่อไป ทั้งนี้อนุภาคที่จะลำเลียงผ่านน้ำขึ้นไปส่วนยอดโดยอาศัยท่อไซเลมมีจำนวนน้อย โดยหลักการดังกล่าว สอดคล้องในงานวิจัยที่ใช้พืชน้ำในการสะสมโลหะหนักขนาดอนุภาคนาโนเมตร โดยใช้แหนเป็ด *Lemna gibba* ในการบำบัดสะสมอนุภาคของเงินขนาดนาโนเมตร (Ag NPs) ที่ความเข้มข้น 0.01, 0.1, 1 และ 10 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าพืชมีการสะสมอยู่ที่ 7.72, 9.5, 11.3 และ 17.5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักแห้ง (Oukarroum *et al.*, 2012) ซึ่งพืชนั้นสามารถนำเข้าอนุภาคโลหะหนักขนาดนาโนเมตรผ่านการลำเลียงน้ำทางราก และนอกจากนั้นคุณสมบัติของแหนเป็ดนั้น ใบพืชสัมผัสกับน้ำจึงทำให้อนุภาคเงินขนาดนาโนเมตรสามารถนำเข้าทางปากใบได้อีกทางหนึ่ง ซึ่งจะส่งผลเสียหายแก่ตัวพืช เพราะ อนุภาคโลหะหนักเข้าสู่ใบได้ง่ายกว่าพืชน้ำที่ใบพืชไม่สัมผัสกับน้ำอย่างผักตบชวา ค่ามวลชีวภาพของแหนเป็ดจึงมีค่าลดลงในช่วงระยะเวลาการทดลอง ในขณะที่งานวิจัยนี้พบว่าผักตบชวามีมวลชีวภาพยังคงเพิ่มขึ้นทุกชุดการทดลอง เนื่องจากปัจจัยที่พืชมีกลไกดักจับอนุภาคโลหะหนักด้วยวิธีการสกัดโดยพืช และการกรองโดยรากพืช โดยทั้งนี้ประสิทธิภาพในการใช้พืชสะสมโลหะหนักที่มีขนาดอนุภาคนาโนเมตรนั้นมีการศึกษาตามชนิดของพืช อาทิ พืชใต้น้ำ (submerged plant) และพืชชายน้ำ (marginal plant) เช่น สาหร่ายหางกระรอก และ ต้นอ้อ ตามลำดับ ในการสะสมสังกะสีออกไซด์ขนาดนาโนเมตร พบว่า ต้นอ้อ มีประสิทธิภาพในการสะสมได้ดีกว่าสาหร่ายหางกระรอก โดยสาหร่ายหางกระรอกมีลักษณะใบชิดเหลือียง ซึ่งเป็นผลจากการนำเข้า อนุภาคโลหะหนักขนาดนาโนเมตรทางปากใบที่ได้ไปทำลายคลอโรพลาสต์ เกิดความบกพร่องในกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสงจึงทำให้พืช มีประสิทธิภาพในการนำเข้าโลหะหนักลดลง (Song and Lee, 2016 ) สำหรับพืชลอยน้ำในการศึกษาประสิทธิภาพการสะสมโลหะหนักขนาดนาโนเมตร เช่น จอก ในการสะสมอนุภาคของเงินขนาดนาโนเมตร (Ag NPs) ใน 3 ความเข้มข้น คือ 0.02, 0.2 และ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า พืชมีประสิทธิภาพในการสะสมในส่วนรากสูงกว่าส่วนใบ โดย ในส่วนรากมีการสะสมอยู่ที่ 10.4, 45.2, และ 127 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักแห้ง ในขณะที่ส่วนใบมีการสะสมอยู่ที่ 0.11, 1.08 และ 2.71 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักแห้ง ซึ่งบ่งบอกถึงประสิทธิภาพของกลไกของพืชในการไม่ให้อนุภาคเคลื่อนย้ายเพื่อลดผลกระทบจากการสะสม ทั้งนี้ในการสะสมขึ้นอยู่กับารับสัมผัสส่วนของพืชกับโลหะหนักที่ปนเปื้อนในน้ำ กลไกการหลีกเลี่ยงและการทนต่อสภาพแวดล้อมของพืช (Hank *et al.*, 2015)

#### 4.3.5 ประสิทธิภาพการบำบัดสังกะสีในสารละลายธาตุอาหาร

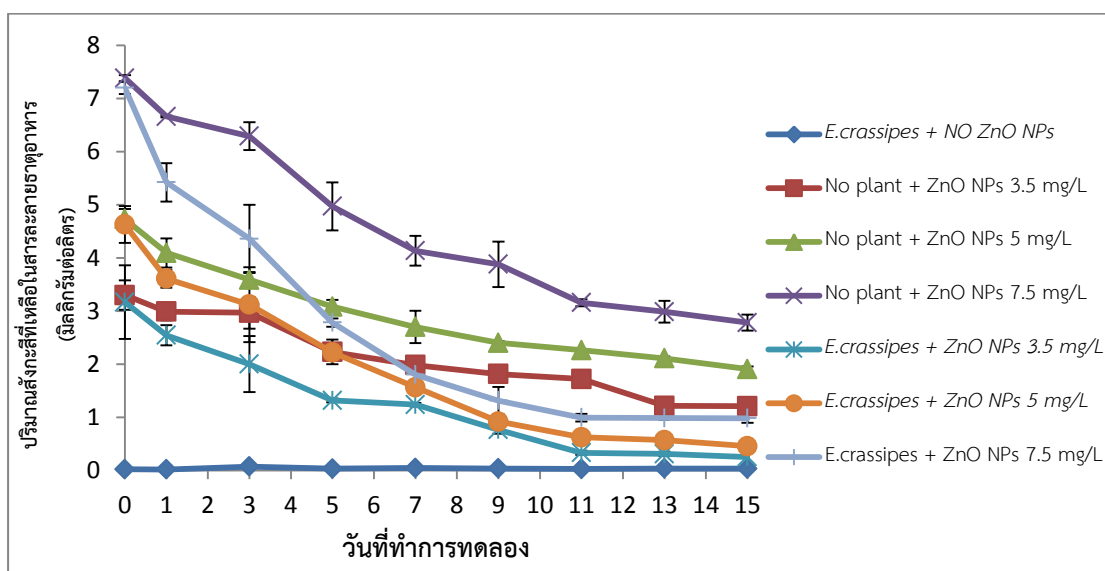
ความเข้มข้นของสังกะสีที่เหลืออยู่ในสารละลาย ผลการทดลองพบว่ามีแนวโน้มที่จะลดลง โดยในชุดควบคุมที่ไม่ปลูกผักตบชวา แต่เติมสารละลายสังกะสีขนาดนาโนเมตรที่ความเข้มข้น 3.5, 5 และ 7.5 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยในวันที่ 15 พบว่ามีค่าเท่ากับ  $1.21 \pm 0.14$ ,  $1.90 \pm 0.05$  และ  $2.78 \pm 0.15$  มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ และชุดการทดลองที่ปลูกผักตบชวา และเติมสารละลายสังกะสีขนาดนาโนเมตรที่ความเข้มข้น 3.5, 5 และ 7.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีค่าเท่ากับ  $0.25 \pm 0.15$ ,  $0.45 \pm 0.08$  และ  $0.98 \pm 0.08$  มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ (ภาพที่ 4.12) ซึ่งคิดเป็นประสิทธิภาพของพืชในการบำบัดดังนี้ (ตาราง 4.1)

ตารางที่ 4.1 ประสิทธิภาพของพืชในการบำบัดสังกะสีออกไซด์ขนาดนาโนเมตรในสารละลายธาตุอาหาร

	ZnO NPs	ZnO NPs	ZnO NPs	ZnO NPs	ZnO NPs	ZnO NPs
<b>ป ริ ม า ณ</b>	3.5 mg/L	5 mg/L	7.5 mg/L	3.5 mg/L	5 mg/L	7.5 mg/L
<b>สังกะสีที่</b>	ไม่มีพืช	ไม่มีพืช	ไม่มีพืช	+ผักตบชวา	+ผักตบชวา	+ผักตบชวา
<b>เหลือใน</b>						
<b>วันที่ 15</b>	$1.21 \pm 0.14$	$1.90 \pm 0.05$	$2.78 \pm 0.15$	$0.25 \pm 0.15$	$0.45 \pm 0.08$	$0.98 \pm 0.08$
	ประสิทธิภาพในการบำบัดของพืชเท่ากับ			93%	91%	87%

โดยชุดที่มีการปลูกผักตบชวาพบว่ามีอัตราคงเหลือน้อยกว่าชุดที่ไม่ได้ปลูกผักตบชวา ทั้งนี้เพราะพืชได้มีการดูดซึมอนุภาคของโลหะหนัก พร้อมกับการดูดน้ำผ่านทางราก และเมื่อพิจารณาประสิทธิภาพของการบำบัดพบว่าค่าความเข้มข้นของสารละลายสังกะสีออกไซด์ขนาดนาโนเมตรที่ 7.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีประสิทธิภาพในการบำบัดต่ำที่สุด ทั้งนี้เนื่องจากพืชมีการตอบสนองในด้านความเป็นพิษของโลหะหนัก จึงทำให้ประสิทธิภาพในการดูดซึมเริ่มมีประสิทธิผลลดลงเพื่อที่จะหลีกเลี่ยงความเป็นพิษที่อาจส่งผลกระทบต่อตัวพืช (นวรรัตน์ อุดมประเสริฐ, 2558; นัยนันท์ อริยกานนท์, 2558) ทั้งนี้การละลายของโลหะหนักนั้นขึ้นอยู่กับสภาพของตัวกลาง ซึ่งโลหะหนักที่นำมาทดลองนั้นอยู่ในรูปแบบของสารละลายสังกะสีออกไซด์ ซึ่งสารประกอบเชิงซ้อนในรูปออกไซด์ ที่ไม่สามารถแลกเปลี่ยนไอออนได้ (nonexchangeable ions) ซึ่งจะเกิดการแขวนลอยกับสารประกอบอนินทรีย์

ที่ไม่ละลายได้ ซึ่งจากการทดลองพบว่าสารจะแขวนลอยร่วมกับสารละลายธาตุอาหารซึ่งเมื่อพืชได้ทำการดูดน้ำผ่านทางราก ทำให้อนุภาคของสังกะสีออกไซด์ขนาดนาโนเมตร (ZnO NPs) ได้ยึดเกาะกับราก และอีกส่วนได้เข้าไปกับรากพร้อมทั้งสารละลายธาตุอาหาร และไปยึดเกาะทำให้เกิดการตกค้างในตัวพืช เช่น ตกตะกอนในแวคิวโอล หรือไซโทพลาซึมในเซลล์รากของพืช (Lin and Xing, 2008; Zhao *et al*, 2013)



ภาพที่ 4.12 ความเข้มข้นของสังกะสีที่เพื้อในสารละลายธาตุอาหารในชุดควบคุม และชุดทดลองที่มีสังกะสีออกไซด์ขนาดนาโนเมตร ความเข้มข้น 3.5, 5 และ 7.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ตลอดระยะเวลา 15 วัน

การศึกษาประสิทธิภาพของผักตบชวาในการบำบัดสังกะสีออกไซด์ขนาดนาโนเมตรพบว่าพืชมีประสิทธิภาพในการบำบัดสูงโดยพิจารณาจากประสิทธิภาพของการบำบัด ทั้งนี้แนวโน้มของสังกะสีออกไซด์ในชุดควบคุมที่ไม่ปลูกพืชมีแนวโน้มลดลงเนื่องจากอนุภาคโลหะหนักเกิดการตกตะกอน เนื่องจากเป็นอนุภาคที่แขวนลอยเมื่อทิ้งไว้เป็นเวลานาน จะตกตะกอนไปพร้อมกับตะกอนอินทรีย์ เช่น ตะไคร่น้ำ หรือ เศษพืชที่หลุดร่วง โดยในการวิเคราะห์น้ำ ด้วย ICP-MS จะต้องทำการกรอง ตะกอนอินทรีย์ออกจากน้ำ เพื่อป้องกันความเสียหายของเครื่องมือ และเมื่อพิจารณาในชุดที่ปลูกพืชจะมีประสิทธิภาพการบำบัดแตกต่างกัน เนื่องจากพืชตอบสนองต่อความเป็นพิษ จึงมีกลไกในการหลีกเลี่ยงสารพิษดังกล่าว (นวรรตน์ อุดมประเสริฐ, 2558) โดยการนำพืชมาบำบัดน้ำเสียที่ปนเปื้อนโลหะหนักนั้น พบว่ามีพืชชนิดอื่นที่สามารถบำบัดได้ เช่น งานวิจัยของ Kamal *et al*.

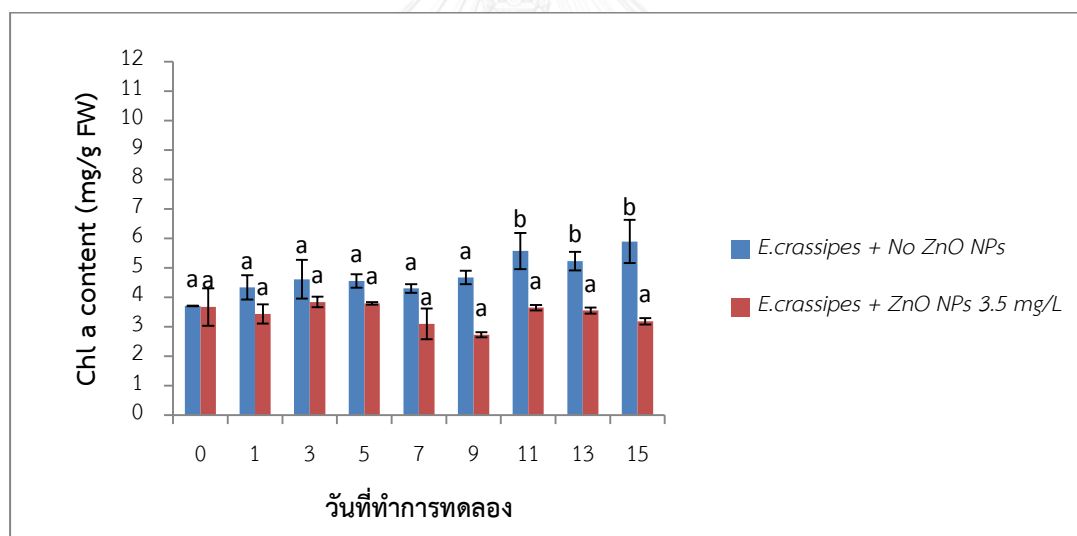
(2004) ได้ศึกษาโดยใช้กลุ่มพืชน้ำ อาทิตี parrot feather (*Myriophyllum aquaticum*) creeping primrose (*Ludwigia palustris*) และ water mint (*Mentha citrate*) ในการบำบัดน้ำเสียชุมชน โดยวิเคราะห์ของกลุ่มโลหะหนัก ได้แก่ เหล็ก สังกะสี ทองแดง และปรอท ในระยะเวลา 2 สัปดาห์ ซึ่งผลการศึกษาพบว่า creeping primrose มีคุณสมบัติในสะสมกลุ่มโลหะหนัก ทั้ง 3 ชนิด ได้มากที่สุด โดยมีการสะสมของ เหล็ก > สังกะสี > ทองแดง > ปรอท ซึ่งมีค่าการสะสมเท่ากับ 46,300, 1,498, 848 และ 335 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักแห้งของพืช นอกจากนี้งานวิจัยของ Deng *et al.* (2004) ซึ่งได้ศึกษาการสะสมของโลหะหนักในส่วนของพืช โดยใช้กลุ่มพืชขายน้ำ 3 กลุ่ม ได้แก่ swamp ricegrass (*Leersia hexandra*), soft rush grass (*Juncus effusus*) และ horsetail (*Equisetum ramosisti*) จำนวน 12 ชนิด โดยปลูกในรูปแบบระบบพื้นที่ชุ่มน้ำเทียม (constructed wetland) และวิเคราะห์การสะสมโลหะหนักในพืช ได้แก่ ตะกั่ว สังกะสี ทองแดง และแคดเมียม ผลการศึกษาพบว่าพืชทั้ง 3 กลุ่ม มีการสะสมโลหะหนักแต่ละชนิดในบริเวณรากมากกว่า ส่วนลำต้น ทั้งนี้ในการสะสมโลหะหนักจะมีปริมาณมากน้อยตามชนิดของพืช และชนิดของโลหะหนัก จึงกล่าวได้ว่าแนวทางในการใช้กลุ่มพืชน้ำมาบำบัดน้ำเสียที่ปนเปื้อนโลหะหนักจะมีประสิทธิภาพขึ้นอยู่กับ การเข้ากันของพืชที่สามารถดูดซึมโลหะหนักชนิดนั้นได้ ซึ่งสามารถวิเคราะห์จากอัตราการคงเหลือที่ปนเปื้อนในน้ำเสียเมื่อหลังทำการบำบัด งานวิจัยที่ศึกษาปริมาณโลหะหนักที่เหลือจากการบำบัดน้ำเสียโดยใช้พืชในระบบพื้นที่ชุ่มน้ำเทียม (constructed wetland) พบว่าปริมาณโลหะหนักที่วิเคราะห์ ได้แก่ ตะกั่ว แคดเมียม เหล็ก นิกเกิล โครเมียม และทองแดง โดยใช้กลุ่มพืชน้ำ ใช้หลักการให้น้ำเข้า-ออก ผ่านบริเวณที่มีการปลูกพืช ซึ่งเมื่อวิเคราะห์เปรียบเทียบน้ำก่อนเข้าระบบกับน้ำที่หลังการผ่านระบบแล้วพบว่า ประสิทธิภาพในการบำบัดตะกั่ว แคดเมียม เหล็ก นิกเกิล โครเมียม และทองแดง ได้แก่ 50%, 91.9%, 74.1%, 40.9%, 89% และ 48.3% ตามลำดับ (Khan *et al.*, 2009) ซึ่งค่าดังกล่าวบอถึงประสิทธิภาพของพืชในการเข้าสู่ของการบำบัดโลหะหนักแต่ละชนิด

จากการทดลองในศึกษาประสิทธิภาพของผักตบชวาในการบำบัดสังกะสีออกไซด์ขนาดนาโนเมตรในความเข้มข้น 3.5, 5 และ 7.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ในระยะเวลา 15 วันของการทดลอง โดยศึกษาในด้านมวลชีวภาพ ด้านน้ำหนักราก และน้ำหนักแห้งพบว่า ผักตบชวาที่มีการปลูกในสารละลายธาตุอาหารที่มีสังกะสีออกไซด์ขนาดนาโนเมตรที่ 3.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นกว่าพืชที่ปลูกในสังกะสีออกไซด์ขนาดนาโนเมตรที่ความเข้มข้น 5 และ 7.5 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยศึกษาจากน้ำหนักแห้งในวันที่ 15 ที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) และนอกจากนั้นเมื่อพิจารณาในด้านประสิทธิภาพในการบำบัดพบว่า ผักตบชวาสามารถบำบัดสังกะสีออกไซด์ขนาดนาโนเมตรที่ความเข้มข้น 3.5 มิลลิกรัมต่อลิตรได้สูงกว่าความเข้มข้นที่ 5 และ 7.5 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยค่ามวลชีวภาพยังคงเพิ่มสูงขึ้น ดังนั้นจึงนำความเข้มข้นที่ 3.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มาศึกษาในด้านแรงควัดถู รวมถึงการต้านออกซิเดชันในระยะเวลา 15 วัน ของการทดลอง

#### 4.4 ผลของการสะสมสังกะสี ที่มีต่อรงควัตถุ และการต้านออกซิเดชัน ของผักตบชวา

##### 4.4.1 ปริมาณคลอโรฟิลล์เอในผักตบชวา

ปริมาณคลอโรฟิลล์เอของผักตบชวาในชุดควบคุมมีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้น โดยมีความแตกต่างระหว่างชุดควบคุมในแต่ละวันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) ตั้งแต่วันที่ 11 ในขณะที่ชุดทดลองไม่มีการเปลี่ยนแปลงตลอดระยะเวลา 15 วัน และไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p > 0.05$ ) ซึ่งปริมาณคลอโรฟิลล์เอ ตั้งแต่วันที่ 0 จนถึงวันที่ 15 ของทั้งชุดควบคุมและชุดทดลอง อยู่ที่ระหว่าง  $3.70 \pm 0.41$ -  $5.89 \pm 0.73$  และ  $2.72 \pm 0.08$  -  $3.84 \pm 0.17$  มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักสดของใบตามลำดับ (ภาพที่ 4.12)



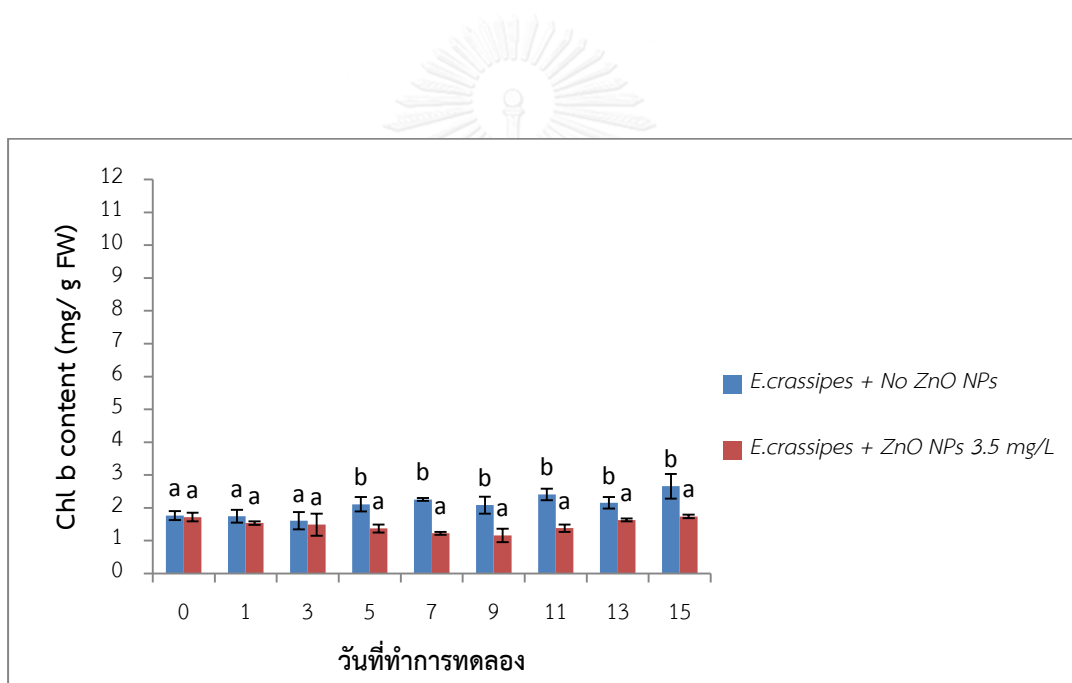
ภาพที่ 4.13 ปริมาณคลอโรฟิลล์เอของใบผักตบชวาในชุดควบคุม และชุดทดลองที่มีสังกะสีออกไซด์

ขนาดนาโนเมตร ความเข้มข้น 3.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ตลอดระยะเวลา 15 วัน

หมายเหตุ: ตัวอักษรที่ต่างกันบนกราฟระหว่างชุดควบคุมและชุดทดลอง หมายถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ )

#### 4.4.2 ปริมาณคลอโรฟิลล์บีในผักตบชวา

ปริมาณคลอโรฟิลล์บีของผักตบชวาในชุดควบคุมมีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้น โดยมีความแตกต่างระหว่างชุดควบคุมในแต่ละวันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) ตั้งแต่วันที่ 5 ในขณะที่ชุดทดลองไม่มีการเปลี่ยนแปลงตลอดระยะเวลา 15 วัน และไม่มี ความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p > 0.05$ ) โดยปริมาณคลอโรฟิลล์บี ตั้งแต่วันที่ 0 จนถึงวันที่ 15 ของทั้งชุดควบคุมและชุดทดลอง อยู่ที่ระหว่าง  $1.60 \pm 0.26$  -  $2.65 \pm 0.37$  และ  $1.22 \pm 0.04$  -  $1.73 \pm 0.04$  มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักสดของใบตามลำดับ (ภาพที่ 4.13)

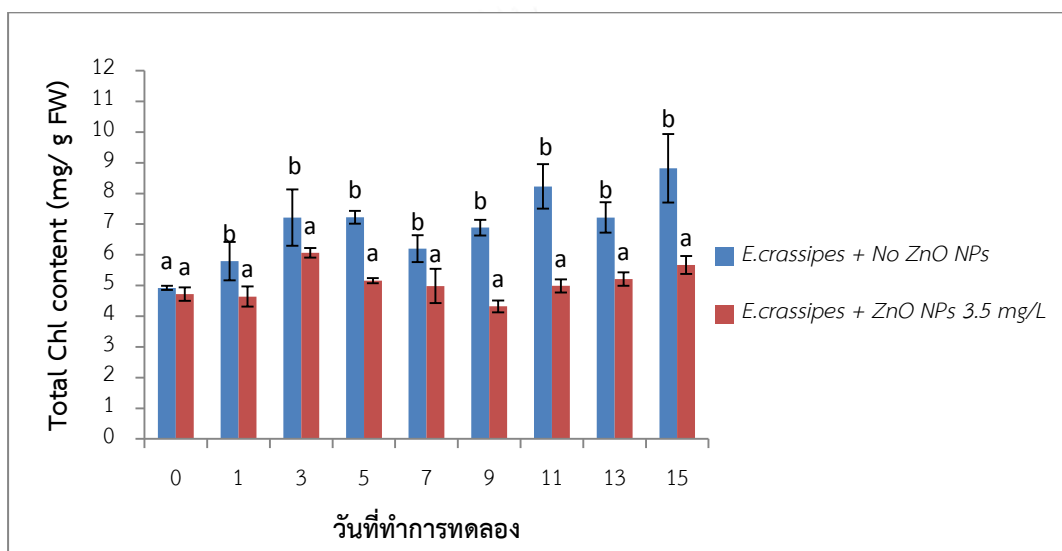


ภาพที่ 4.14 ปริมาณคลอโรฟิลล์บีของใบผักตบชวาในชุดควบคุม และชุดทดลองที่มีสังกะสีออกไซด์ ขนาดนาโนเมตร ความเข้มข้น 3.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ตลอดระยะเวลา 15 วัน  
หมายเหตุ: ตัวอักษรที่ต่างกันบนกราฟระหว่างชุดควบคุมและชุดทดลอง หมายถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ )



#### 4.4.3 ปริมาณคลอโรฟิลล์รวมในผักตบชวา

ปริมาณคลอโรฟิลล์รวมของผักตบชวาในชุดควบคุมมีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้น โดยมีความแตกต่างระหว่างชุดควบคุมในแต่ละวันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) ตั้งแต่วันที่ 1 ในขณะที่ชุดทดลองไม่มีการเปลี่ยนแปลงตลอดระยะเวลา 15 วัน และไม่มีมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p > 0.05$ ) โดยเมื่อพิจารณาระหว่างชุดควบคุมและชุดทดลอง จากวันที่ 0 ถึงวันที่ 15 พบว่ามีค่าปริมาณคลอโรฟิลล์รวมอยู่ที่ระหว่าง  $4.92 \pm 0.06$  -  $8.82 \pm 1.11$  และ  $4.32 \pm 0.19$  -  $6.06 \pm 0.16$  มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักสดของใบตามลำดับ (ภาพที่ 4.15)



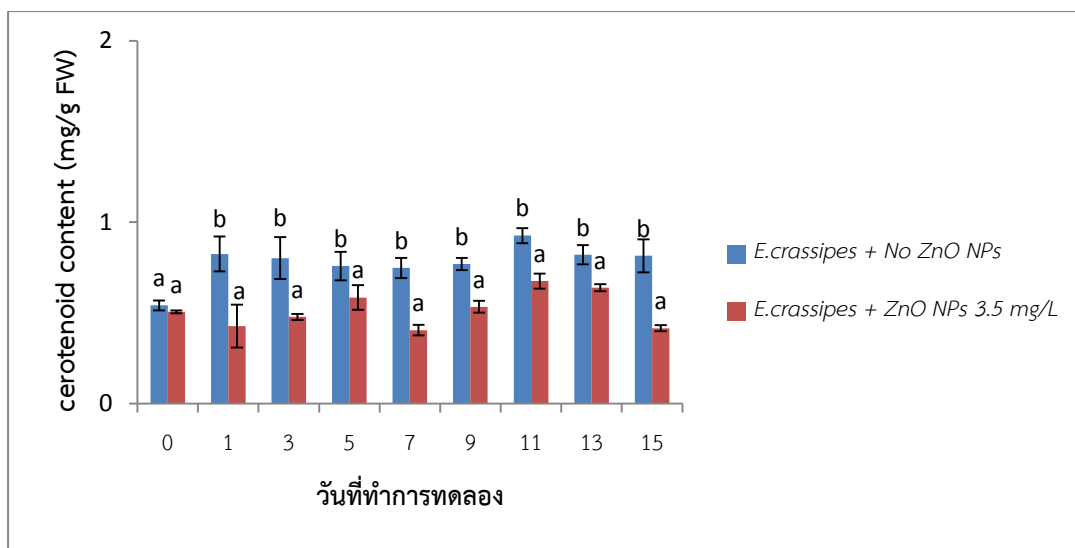
ภาพที่ 4.15 ปริมาณคลอโรฟิลล์รวมของใบผักตบชวาในชุดควบคุม และชุดทดลองที่มีสังกะสีออกไซด์ขนาดนาโนเมตร ความเข้มข้น 3.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ตลอดระยะเวลา 15 วัน  
หมายเหตุ: ตัวอักษรที่ต่างกันบนกราฟระหว่างชุดควบคุมและชุดทดลอง หมายถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ )

ผลกระทบจากการสะสมสังกะสีในผักตบชวาพบว่า ปริมาณคลอโรฟิลล์เอ คลอโรฟิลล์บี และคลอโรฟิลล์รวม มีการเปลี่ยนแปลงโดยชุดควบคุมที่ไม่ได้รับสังกะสีออกไซด์ขนาดนาโนเมตรมีปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ คลอโรฟิลล์ บี และคลอโรฟิลล์รวม มีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นและมีความแตกต่างระหว่างวันในช่วงการทดลองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) กับชุดทดลอง เนื่องจากพืชได้รับธาตุอาหาร มีการสังเคราะห์ด้วยแสงอย่างเต็มที่ พืชจึงมีการเจริญเติบโตตามปกติ มีขนาดของใบที่เพิ่มมากขึ้น ในขณะที่ชุดการทดลองพบว่า ปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ คลอโรฟิลล์ บี และคลอโรฟิลล์รวม ไม่มีการเปลี่ยนแปลงตลอดช่วงระยะเวลาการทดลอง ทั้งนี้เนื่องจาก ปริมาณโลหะหนักที่สะสมอยู่

ในตัวพืช เช่นราก มีผลในการลำเลียงน้ำเพื่อใช้ในกระบวนการคายน้ำ ทำให้เกิดความบกพร่องในการเปิด-ปิด ปากใบในการคายน้ำลดลง และส่งผลต่อการนำเข้าคาร์บอนไดออกไซด์เข้าสู่ปากใบลดลง เพื่อใช้ในกระบวนการตรึงคาร์บอนไดออกไซด์ และส่วนประกอบในปฏิกิริยาแสงของกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสง โดยแม้ว่ามวลชีวภาพจะทำให้พืชเกิดการขยายของใบ แต่พืชนั้นสูญเสียคลอโรพลาสต์จากการทำลายโดยอนุภาคโลหะหนักที่เคลื่อนย้ายผ่านทางท่อวาสคิวลาร์ถึงส่วนใบ และถูกทำลายจากอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นจากความบกพร่องจากการสังเคราะห์ด้วยแสง เป็นต้น โดยจะทำลายเยื่อหุ้มไทลาคอยด์ (Thylakoid membrane) เป็นสาเหตุของการสลายของคลอโรพลาสต์ในเซลล์ (Clijsters and Assche, 1985) ทำให้ปริมาณคลอโรฟิลล์ที่อยู่ภายในทั้งคลอโรฟิลล์ เอ และคลอโรฟิลล์บีเสื่อมสภาพ ทำให้การสังเคราะห์ด้วยแสงไม่เต็มที่ ทั้งนี้หากคลอโรพลาสต์ในเซลล์ใบพืชที่ได้รับโลหะหนักถูกทำลายมาก จะทำให้จะแสดงออกมาเป็นภาวะ leaf chlorosis เป็นภาวะมีใบซีดเหลือง ทั้งนี้พืชมีความต้องการธาตุสังกะสีในการเป็นธาตุอาหารรอง (micro nutrient) อยู่ที่ประมาณ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร (นวรรตน์ อุดมประเสริฐ, 2558) ซึ่งเมื่อได้รับมากเกินไปจะเกิดอาการเป็นพืชดังกล่าวจากการที่อนุภาคของโลหะหนักได้ตกค้างอยู่ในเซลล์ใบพืช จากผลการทดลองดังกล่าวสอดคล้องงานวิจัยของ John *et al.* (2009) ได้ศึกษาผลกระทบเมื่อพืชสะสมแคดเมียม และตะกั่ว โดยใช้ผักกาดเขียว (*Brassica juncea*) โดยศึกษาในพารามิเตอร์ต่างๆ หนึ่งในนั้นคือการวัดปริมาณรงควัตถุ พบว่าในชุดควบคุมที่ไม่มีโลหะหนัก มีปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ คลอโรฟิลล์บี และคลอโรฟิลล์รวมมากกว่าชุดการทดลองที่มีการสะสมแคดเมียม และตะกั่ว

#### 4.4.3 ปริมาณแคโรทีนอยด์ในผักตบชวา

การศึกษาปริมาณแคโรทีนอยด์ของผักตบชวาในชุดควบคุมมีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นโดยมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) ตั้งแต่วันที่ 1 ในขณะที่ชุดทดลองไม่มีการเปลี่ยนแปลงตลอดระยะเวลา 15 วัน และไม่มี ความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p > 0.05$ ) โดยเมื่อพิจารณา ระหว่างชุดควบคุมและชุดทดลอง จากวันที่ 0 ถึงวันที่ 15 พบว่ามีค่าปริมาณคลอโรฟิลล์รวมอยู่ที่ระหว่าง  $0.54 \pm 0.02$  -  $0.92 \pm 0.04$  และ  $0.40 \pm 0.02$  -  $0.67 \pm 0.04$  มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักสดของใบตามลำดับ (ภาพที่ 4.16)



ภาพที่ 4.16 ปริมาณแคโรทีนอยด์ของใบผักตบชวาในชุดควบคุม และชุดทดลองที่มีสังกะสีออกไซด์ ขนาดนาโนเมตร ความเข้มข้น 3.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ตลอดระยะเวลา 15 วัน

หมายเหตุ: ตัวอักษรที่ต่างกันบนกราฟระหว่างชุดควบคุมและชุดทดลอง หมายถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ )

ความแตกต่างระหว่างปริมาณแคโรทีนอยด์ระหว่างชุดควบคุม และชุดทดลองนั้นมีการเปลี่ยนแปลงที่เป็นไปในทางเดียวกับคลอโรฟิลล์ โดยเป็นการวัดปริมาณในรูปของ total carotenoid ไม่ได้ตรวจสอบเฉพาะเจาะจงของปริมาณแคโรทีนอยด์ในแต่ละชนิด โดยหน้าที่ของแคโรทีนอยด์นั้นช่วยปกป้องพืชจากรังสีอัลตราไวโอเล็ต (UV) จากแสงแดด ป้องกันสารก่อมะเร็งจากสิ่งแวดล้อม และอนุมูลอิสระที่เป็นอันตราย (Suzuki and Shioi, 2004) โดยทั้งนี้ชุดทดลองมีปริมาณแคโรทีนอยด์ไม่เปลี่ยนแปลงเนื่องจากแม้ว่าพืชมีการเจริญเติบโตมีขนาดใบเพิ่มขึ้น แต่ปัจจัยการทำลายระบบแสง ในการสังเคราะห์ด้วยแสง โดยหน้าที่ของแคโรทีนอยด์เกิดความบกพร่องในการรับแสง ซึ่งจะก่อให้เกิดปัจจัยที่แสงทำให้เกิดการปล่อยอิเล็กตรอนจากออกซิเจน เกิดเป็น singlet oxygen ( $^1O_2$ ) โดยอิเล็กตรอนที่ถูกปลดปล่อยอาจทำให้เกิด Reactive oxygen species (ROS) ที่ก่อให้เกิดความเครียดในพืชต่อไป (Sharma *et al.*, 2012) ทั้งนี้ในภาพรวมของการสะสมสังกะสีที่พืชได้รับ ทำให้มีผลต่อการเกิดการเปลี่ยนแปลงในด้านการสังเคราะห์ด้วยแสงของรงควัตถุ โดยจากผลการทดลองของ คลอโรฟิลล์เอ (chl a) คลอโรฟิลล์บี (chl b) คลอโรฟิลล์รวม (total chl) และแคโรทีนอยด์ (car) นั้นสอดคล้องกับงานวิจัยของ Mukhopadhyay *et al.* (2013) ที่ทดสอบการได้รับปริมาณสังกะสีของใบชาในระยะเวลา 8 สัปดาห์ พบว่ามีปริมาณการสังเคราะห์รงควัตถุที่ลดลงของคลอโรฟิลล์เอ คลอโรฟิลล์บี และแคโรทีนอยด์ เมื่อเทียบกับชุดควบคุม และงานวิจัยของ Malar *et al.* (2014) ที่ทดสอบความเป็นพิษ ของตะกั่วเมื่อสะสมในผักตบชวา เมื่อทำการศึกษาคลอโรฟิลล์

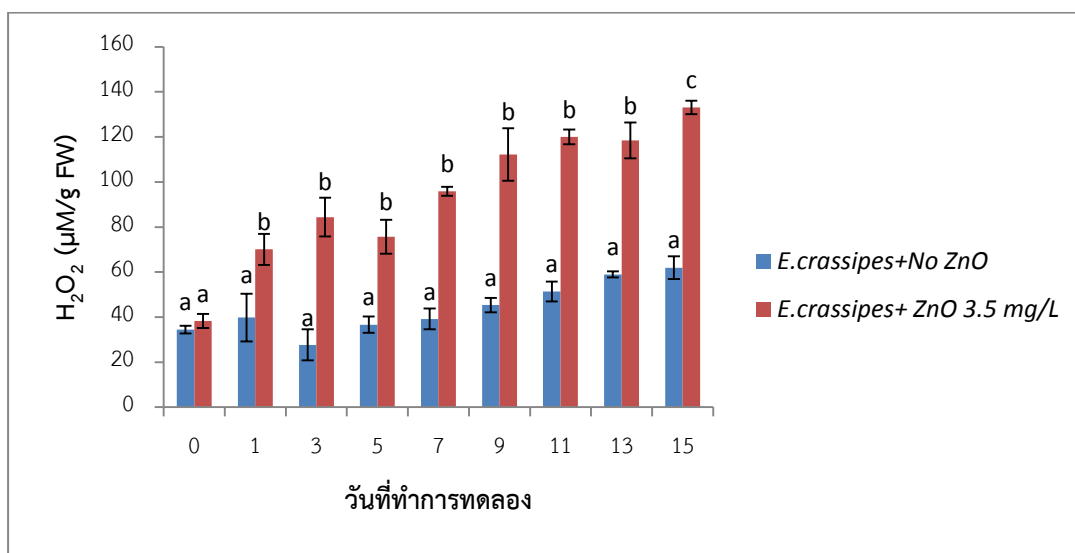
เอ คลอโรฟิลล์บี และ แคโรทีนอยด์ แต่ละความเข้มข้นในระยะเวลา 7 วัน พบว่า แต่ละค่ามีปริมาณลดลงเมื่อเทียบกับชุดควบคุมในวันที่ 7 ของการทดลอง

โดยจากการที่ผักตบชวาได้รับการสะสมสังกะสีออกไซด์ขนาดนาโนเมตรมีผลทำให้เกิดการสังเคราะห์รงควัตถุต่างๆ ไม่เต็มที่ โดยจะมีการสร้างอาหาร เช่น แป้ง และ น้ำตาลลดลง โดยแป้งและน้ำน้ำตาลจะนำไปใช้ในกระบวนการสลายพลังงานโดยใช้ออกซิเจน เพื่อให้ได้พลังงานในการเจริญเติบโตต่อไป (Richards and Lee, 1986; White and Shabala, 2012) โดยปัจจัยดังกล่าวซึ่งสอดคล้องงานวิจัยที่ศึกษาโลหะหนักอนุภาคนาโนเมตรมีผลต่อการสังเคราะห์รงควัตถุในพืช เช่น Rao *et al.* (2014) ศึกษาผลกระทบของสังกะสีออกไซด์ขนาดอนุภาคนาโนเมตร (ZnO NPs) นั้นมีศึกษาต่อผลกระทบในการลดลงของปริมาณของคลอโรฟิลล์ของผักกาดเขียว (*Brassica juncea*) โดยพบว่าเมื่อความเข้มข้นของ ZnO NPs เพิ่มขึ้น จะส่งผลให้ปริมาณคลอโรฟิลล์รวมลดลง โดยปริมาณคลอโรฟิลล์เป็นดัชนีบอกลถึงการเกิดปฏิกิริยาแสง และการถ่ายทอดอิเล็กตรอน ซึ่งกระบวนการดังกล่าวนี้เป็นส่วนหนึ่งที่ทำให้เกิด Reactive oxygen species (ROS) หากได้รับปริมาณการสะสม ZnO NPs มากเกินไปจะมีผลต่อการลดลงของปริมาณคลอโรฟิลล์ เนื่องจากการสลายของคลอโรพลาสต์ และทำให้มีการลดจำนวนของไทลาคอยด์ (Thylakoid) และกรานา (Grana) (Dimkpa *et al.*, 2012) แต่สำหรับผักตบชวานั้น ถือเป็นพืชกลุ่ม Hyperaccumulator ซึ่งเป็นกลุ่มพืชที่สามารถสะสมโลหะหนักได้ในระดับสูง โดยยังไม่แสดงอาการผิดปกติอย่างรวดเร็ว ดังนั้นในการทดลองแม้ว่าชุดทดลองจะมีค่ารงควัตถุต่างๆ น้อยกว่าชุดควบคุม แต่การสังเคราะห์ด้วยแสงยังคงเกิดขึ้นในช่วงระยะเวลาการทดลอง

#### 4.4.4 ปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ในผักตบชวา

ปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ระหว่างชุดควบคุมและชุดทดลองพบว่ามีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) โดยมีความแตกต่างเกิดขึ้นตั้งแต่วันที่ 1 ถึงวันที่ 15 และชุดทดลองพบว่ามีแนวโน้มเพิ่มขึ้น โดยเมื่อพิจารณาระหว่างชุดควบคุมและชุดทดลอง จากวันที่ 0 ถึงวันที่ 15 พบว่ามีค่าปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์อยู่ระหว่าง  $27.69 \pm 6.95$  -  $61.91 \pm 5.04$  และ  $38.29 \pm 3.06$  -  $133.09 \pm 3.02$  ไมโครโมลต่อกรัมน้ำหนักสดของใบ ตามลำดับ (ภาพที่ 4.17) ทั้งนี้พบว่าชุดควบคุม ไม่มีการเปลี่ยนแปลงของ  $H_2O_2$  ตลอดทั้ง 15 วัน เนื่องจากพืชไม่ได้รับปริมาณโลหะหนัก โดยได้รับสารอาหารจากสารละลายธาตุอาหารเท่านั้น ต่างจากชุดทดลองคือ การได้รับปริมาณสังกะสีออกไซด์ขนาดนาโนเมตร โดยอิทธิพลของโลหะหนักที่สะสมในพืช ทำให้เกิดกลไกในการสร้าง Reactive Oxygen Species (ROS) ที่สามารถทำลายโครงสร้างเซลล์พืชได้ ซึ่ง ROS หนึ่งในนั้น คือ  $H_2O_2$  โดยเกิดจากกระบวนการ ROS and antioxidants defense mechanism cycle โดยในกระบวนการได้มีการทำงานของเอนไซม์ superoxide dismutase (SOD) ที่เปลี่ยนซูเปอร์ออกไซด์เรดิคัล (superoxide radical;  $O_2^-$ ) เป็น ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (hydrogen peroxide:  $H_2O_2$ ) (Tuteja, 2007) โดยการสะสมปริมาณ  $H_2O_2$  เป็นพารามิเตอร์หนึ่งในการบ่งบอกความเครียดของพืช (plant stress) ในสภาวะที่สะสมโลหะหนัก เนื่องจากมีผลต่อการทำลายเซลล์เนื้อเยื่อของพืช หากมี  $H_2O_2$  หรือ ROS ชนิดอื่นสะสมอยู่ในเซลล์พืช โดยตำแหน่งออกแกแนลล์ที่สามารถค้นพบ  $H_2O_2$  ได้แก่ ไมโทคอนเดรีย คลอโรพลาสต์ เพอรอกซิโซม แวกคิวโอล และบริเวณไซโทพลาซึมของเซลล์ (Cho and Seo, 2005; Gill and Tuteja, 2010; Nakano and Asada, 1981; Oukarroum *et al.*, 2012; Quan *et al.*, 2008) โดยมีงานวิจัยที่ศึกษาของผลกระทบของโลหะหนัก เช่น ผลกระทบของโครเมียมมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของ  $H_2O_2$  ในเมล็ดข้าวที่ปลูกในโครเมียมเป็นเวลา 28 ชั่วโมง ผลการศึกษาพบว่าเมล็ดข้าวมีอัตราการเพิ่มขึ้นของ  $H_2O_2$  พร้อมกับกลุ่ม ROS ชนิดอื่น เช่น superoxide radical ( $O_2^-$ ) และการเกิด malondialdehyde (MDA) (Panda, 2007) นอกจากนี้มีการศึกษาถึงปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่มีการเปลี่ยนแปลงเนื่องจากการสะสมอนุภาคทองคำขนาดนาโนเมตร (Au NPs) ในผักกาดเขียว (*Brassica juncea*) ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ โดยผลการทดลองพบว่า ผักกาดเขียวที่ปลูกในดินที่มีอนุภาคทองคำขนาดนาโนเมตรปนเปื้อนระดับความเข้มข้นสูงจะมีการสะสมในพืช และส่งผลให้มีปริมาณ  $H_2O_2$  เพิ่มขึ้นสูงกว่าความเข้มข้นที่ต่ำกว่า ซึ่งสอดคล้องกับค่าพารามิเตอร์ชนิดอื่น เช่น มวลชีวภาพ ยกตัวอย่างขนาดของใบผักกาดเขียวที่มีขนาดเล็กลง และอัตราการงอกของรากต่ำลงในชุดทดลองที่มีความเข้มข้นสูง

ซึ่งเป็นผลเนื่องมาจากการที่พืช ตอบสนองต่อความเครียดในการสะสมอนุภาคขนาดนาโนเมตรของ โลหะหนักดังกล่าว (Arora *et al.*, 2012)

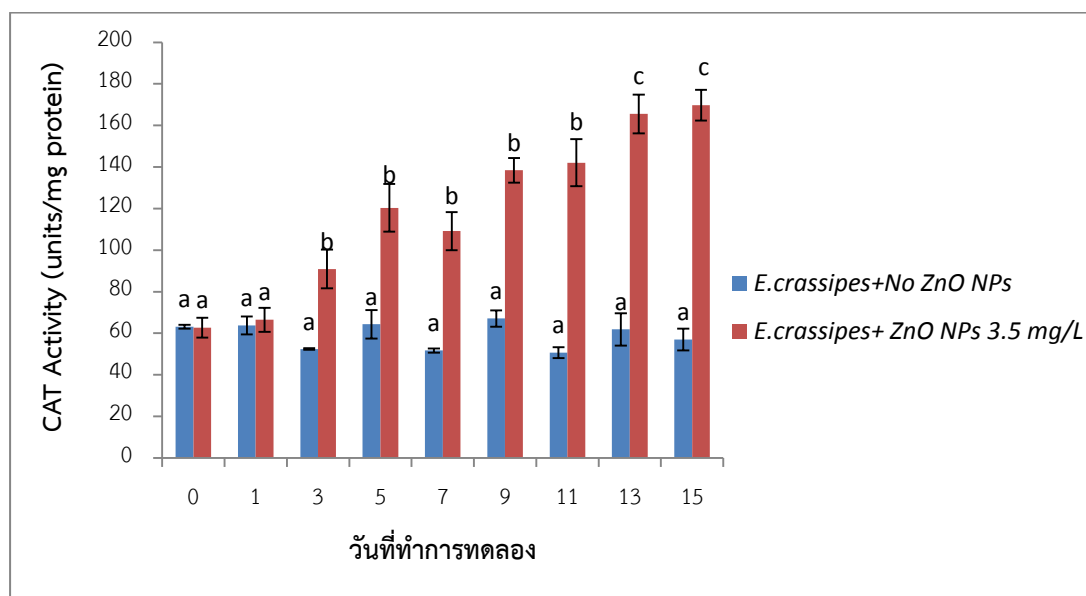


ภาพที่ 4.17 ปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ของใบผักตบชวาในชุดควบคุม และชุดทดลองที่มีสังกะสี ออกไซด์ขนาดนาโนเมตร ความเข้มข้น 3.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ตลอดระยะเวลา 15 วัน  
หมายเหตุ: ตัวอักษรที่แตกต่างกันบนกราฟระหว่างชุดควบคุมและชุดทดลอง หมายถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ )

#### 4.4.5 แอกทิวิตีของเอนไซม์คะตะเลสของผักตบชวา

การศึกษาแอกทิวิตีของเอนไซม์คะตะเลส (CAT activity) ของผักตบชวาที่มีการสะสมสังกะสี ออกไซด์ขนาดนาโนเมตร โดยผลการทดลองพบว่า แอกทิวิตีของเอนไซม์ได้เพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับ ชุดควบคุม เมื่อพิจารณาจากกราฟสามารถแบ่งได้เป็น 3 ช่วงระยะของการเกิดแอกทิวิตีของเอนไซม์ คือช่วงวันที่ 0 ถึงวันที่ 1 พบว่าแอกทิวิตีของเอนไซม์คะตะเลสของชุดควบคุมและชุดทดลอง ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p > 0.05$ ) ระยะต่อมาตั้งแต่ช่วงวันที่ 3 ถึง 11 พบว่า ชุดทดลองเริ่มมีแอกทิวิตีของเอนไซม์คะตะเลสเพิ่มสูงขึ้น โดยกิจกรรมของเอนไซม์คะตะเลส ระหว่าง ชุดควบคุมและชุดทดลองมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) และช่วงระยะเวลา วันที่ 13 ถึง 15 พบว่าชุดทดลองเป็นช่วงที่มีแอกทิวิตีของเอนไซม์คะตะเลสเกิดขึ้นสูงสุดในตลอดช่วง ระยะเวลาการทดลอง โดยแตกต่างจากชุดควบคุมอย่าง มีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) เมื่อพิจารณา ระหว่างชุดควบคุม และชุดทดลอง จากวันที่ 0 ถึงวันที่ 15 พบว่ามีค่าแอกทิวิตีของเอนไซม์คะตะเลส

มีค่าระหว่าง  $50.64 \pm 2.56$  –  $67.09 \pm 3.89$  และ  $62.63 \pm 4.80$  -  $169.70 \pm 7.41$  หน่วย (ไมโครโมล  $H_2O_2$ / นาที) ต่อมิลลิกรัมโปรตีนตามลำดับ (ภาพที่ 4.18)



ภาพที่ 4.18 แอ็กทิวิตีของเอนไซม์คะตะเลส ของใบผักตบชวาในชุดควบคุม และชุดทดลองที่มีสังกะสีออกไซด์ขนาดนาโนเมตร ความเข้มข้น 3.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ตลอดระยะเวลา 15 วัน  
 หมายเหตุ: ตัวอักษรที่ต่างกันบนกราฟระหว่างชุดควบคุมและชุดทดลอง หมายถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ )

แอ็กทิวิตีของเอนไซม์คะตะเลสของผักตบชวาที่เกิดขึ้นนั้น มีปัจจัยของการเกิดปฏิกิริยาของแอ็กทิวิตี ไม่ว่าจะเป็นอนุมูลอิสระ ความเป็นกรดต่าง และปริมาณความเพียงพอของธาตุอาหาร ซึ่งพบว่าชุดควบคุมมีปริมาณของเอนไซม์คะตะเลสคงที่ ส่วนชุดทดลองที่ปลูกพืชที่เติมสังกะสีออกไซด์ขนาดนาโนเมตร ในสารละลายธาตุอาหาร ทำให้ความเครียดจากการสะสมของสังกะสีส่งผลให้มีปริมาณของแอ็กทิวิตีเอนไซม์คะตะเลสสูงกว่าชุดควบคุม และมีแนวโน้มสูงขึ้นในช่วงระยะเวลาการทดลอง เนื่องจากพืช มีกลไกในการจัดการความเครียดจากการสะสมโลหะหนักชนิดดังกล่าว เมื่อพืชได้รับความเครียด เซลล์พืชจะมีการสร้าง ROS ชนิดต่างๆ หนึ่งในนั้น เช่น  $H_2O_2$  ซึ่งมีคุณสมบัติในการทำลายเซลล์พืชได้ (Prasad *et al.*, 1994) พืชจึงมีกลไกในการสร้างสารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant) เพื่อที่กำจัด ROS ให้อยู่ในสภาวะสมดุลกันทั้งนี้เพื่อทำให้พืชสามารถมีชีวิตรอดและเจริญเติบโตในสภาพแวดล้อมดังกล่าวได้ (Gill and Tuteja, 2010; Rout and Das, 2003) โดยหน้าที่ของ CAT นั้นจะมีการสร้างที่บริเวณเพอรอกซิโซม (peroxisome) โดยจะกำจัด  $H_2O_2$  จาก

ปฏิกิริยาปิตา-ออกซิเดชัน ( $\beta$ -oxidation) การหายใจแสง และการสลายพิวรีน (purine catabolism) และยังสามารถพบไซโทซอล คลอโรพลาสต์ และไมโทคอนเดรียในเซลล์พืช (Sharma *et al.*, 2012) ซึ่งเมื่อมีการเกิด  $H_2O_2$  นั้น CAT จะมีหน้าที่ในการกำจัด  $H_2O_2$  โดยอาศัยหลักการทำงานที่เป็น เอนไซม์-สับสเตรท (enzyme-substrate complex) โดย  $H_2O_2$  เป็นสับสเตรท และCAT จะดักจับสับสเตรท จากนั้นจะมีการสลาย  $H_2O_2$  ให้กลายเป็นออกซิเจน ( $O_2$ ) และน้ำ ( $H_2O$ ) ซึ่งจะไม่มีความเป็นพิษต่อพืช ทั้งนี้มีงานวิจัยในการศึกษา แอกทิวิตีของเอนไซม์คะตะเลสที่เพิ่มสูงขึ้นของ ต้นมัลเบอร์รี่ (*Morus nigra* L) เมื่อปลูกในดินที่มีการปนเปื้อนของสังกะสี (Tewari *et al.*, 2008) และการศึกษา CAT ในเซลล์พืชของพืชน้ำ ได้แก่ ผักตบชวา (*E. crassipes*) (Vestena *et al.*, 2011) และแห่นเป็ด (*L. gibba*) (Palak and Yilmaz, 2013) ที่มีการสะสมของแคดเมียม พบว่า ในชุดทดลองที่พืชทั้งสองชนิดมีการสะสมแคดเมียม มีปริมาณของแอกทิวิตีของเอนไซม์คะตะเลสสูงกว่าชุดควบคุมที่ไม่มีการสะสมของแคดเมียมในพืช และงานวิจัยในการศึกษาความเครียดจากการสะสมสังกะสีออกไซด์ขนาดนาโนเมตร (ZnO NPs) ในข้าวสาลี (*Triticum aestivum*) โดยมีการวิเคราะห์กลุ่มสารต้านออกซิเดชันชนิดต่างๆ โดยมีการวิเคราะห์แอกทิวิตีของเอนไซม์เปอร์ออกซิเดส (POD) และแอกทิวิตีของเอนไซม์คะตะเลส (CAT) พบว่ามีการเพิ่มขึ้นของเอนไซม์ทั้งสองชนิด และการศึกษาจากการสะสมแคดเมียมที่มีผลต่อความเครียดใน *Arabidopsis thaliana* โดยทำการศึกษาหลายพารามิเตอร์รวมทั้งไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ และ แอกทิวิตีของเอนไซม์คะตะเลส พบว่ามีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเมื่อมีการสะสมแคดเมียมเป็นเวลานาน (Cho and Seo, 2005) สำหรับผลการทดลองครั้งนี้พบว่า ปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ( $H_2O_2$ ) และ แอกทิวิตีของเอนไซม์คะตะเลส (CAT) ในผักตบชวามีแนวโน้มไปในทางเดียวกันตลอดระยะเวลา 15 วัน โดยเฉพาะชุดทดลองที่มีแนวโน้มเดียวกันระหว่างค่าปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ และแอกทิวิตีของเอนไซม์คะตะเลส ซึ่งอยู่ในสถานะที่สามารถรับความเครียดจากการได้รับผลการสะสมสังกะสีออกไซด์ขนาดนาโนเมตรในเซลล์พืช โดยสอดคล้องว่าพืชนั้นสามารถที่จะเจริญเติบโตได้ในช่วงระยะเวลาการทดลอง



สำหรับในภาพรวมของการใช้ผักตบชวาในการบำบัดสังกะสีออกไซด์ขนาดนาโนเมตรนั้นพบว่าพืชมีประสิทธิภาพในการบำบัดในความเข้มข้น 3 ความเข้มข้น โดยยังมีการเจริญเติบโต ประกอบกับค่าพารามิเตอร์ด้านความเครียดและ การต้านออกซิเดชัน อยู่สภาวะสมดุลกัน อีกทั้งประสิทธิภาพในการบำบัดสูง ผักตบชวาจึงเป็นกลุ่มพืชน้ำที่จัดเป็น hyperaccumulator plants โดยสามารถสะสมโลหะหนักในพืชได้ในปริมาณมากโดยไม่ตอบสนองอย่างรวดเร็ว ทั้งนี้ ผักตบชวาได้ถูกใช้เป็นพืชในระบบบำบัดน้ำเสียในรูปแบบ พื้นที่ชุ่มน้ำเทียม (Constructed wetland pond) และประกอบกับมีงานวิจัยที่ได้ศึกษาประสิทธิภาพของพืชในการบำบัดโลหะหนัก เช่น แคดเมียม (Maine *et al.*, 2001) ตะกั่ว (Malar *et al.*, 2014) โครเมียม และสังกะสี (Mishra and Tripathi, 2009) เป็นต้น แต่ในปัจจุบันโลหะหนักได้ถูกพัฒนาให้อยู่ในรูปแบบขนาดอนุภาคนาโนเมตร ซึ่งเมื่อเกิดการปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อมเช่น น้ำเสีย การบำบัดโดยใช้พืชจึงมีการศึกษาประสิทธิภาพพืชในการบำบัดโลหะหนักขนาดอนุภาคนาโนเมตร ซึ่งงานวิจัยนี้สามารถอธิบายถึงประสิทธิภาพของการบำบัดสังกะสีออกไซด์ขนาดนาโนเมตรโดยใช้ผักตบชวาว่ามีประสิทธิภาพในการบำบัด ทั้งนี้ได้สอดคล้องงานวิจัยที่ได้ศึกษาโดยใช้พืชในการบำบัดโลหะหนักที่มีขนาดอนุภาคนาโนเมตรไม่ว่าจะเป็นจอก หรือ แหนเป็ด ในการบำบัดอนุภาคเงินขนาดอนุภาคนาโนเมตร (Hank *et al.*, 2015; Oukarroum *et al.*, 2012) เป็นต้น ซึ่งผักตบชวามักถูกเลือกให้เป็นพืชที่ใช้บำบัดในพื้นที่ชุ่มน้ำเนื่องด้วยปริมาณการแพร่พันธุ์สูง ความคงทนในสภาพแวดล้อมและความ เป็นพืช (Mishra and Tripathi, 2008) ซึ่งสามารถศึกษาจากปัจจัยโดยงานวิจัยนี้ได้ศึกษาปัจจัยที่ แสดงออกภายนอก ได้แก่ มวลชีวภาพ น้ำหนักสด น้ำหนักแห้งและความยาวราก ที่ตอบสนองการทน ต่อความเป็นพิษ และศึกษาจากปัจจัยภายในพืช ได้แก่ ปริมาณรงควัตถุ อนุมูลอิสระดัดขึ้นบ่งบอก ความเครียดพืช (ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์) และการสร้างสารต้านออกซิเดชันในการจัดการอนุมูลอิสระ (แอกทิวิตีเอนไซม์คะตะเลส) เพื่อให้ทราบถึงการเข้าคู่กันของพืชกับชนิดโลหะหนัก ระยะเวลาที่เหมาะสมในการบำบัด เพื่อให้เกิดประสิทธิภาพสูงสุด และทั้งนี้ในการกำจัดพืชที่มีการสะสมโลหะหนักจะต้องมีวิธีในการกำจัดต่อไป เช่น การเผาด้วยอุณหภูมิสูง (Incineration) หรือการฝังกลบตาม หลักรักษาภิบาล (Sanitation landfill) เพื่อลดการแพร่กระจายของอนุภาคโลหะหนักที่สะสมในพืช ไปยังสิ่งแวดล้อม (Valipour *et al.*, 2015)

## บทที่ 5

### สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

#### 5.1 สรุปผลการทดลอง

##### 5.1.1 สมบัติทางเคมีของสังกะสีออกไซด์ขนาดนาโนเมตร

###### 5.1.1.1 อุณหภูมิ

ในการศึกษาผลของอุณหภูมิของสารละลายธาตุอาหารที่ใช้เลี้ยงผักตบชวาโดยทุกชุดการทดลองอยู่ในช่วงอุณหภูมิ 33-35 องศาเซลเซียส และในแต่ละชุดการทดลองไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

###### 5.1.1.2 ค่าความเป็นกรดต่าง

ค่าความเป็นกรดต่างของสารละลายธาตุอาหารที่ใช้เลี้ยงพืชในทุกชุดการทดลองมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตั้งแต่วันที่เริ่มการวิเคราะห์จนถึงวันที่ 15 และในแต่ละชุดการทดลองไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

###### 5.1.1.3 ค่าออกซิเจนละลาย

ค่าการละลายของออกซิเจนในสารละลายธาตุอาหารในทุกชุดการทดลองตลอดในช่วงเวลา 15 วัน โดยมีแนวโน้มที่ลดลงและทุกชุดการทดลองมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

###### 5.1.1.4 ปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลาย

จากการทดลองพบว่า ปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายตลอดการทดลอง 15 วันมีแนวโน้มลดลง โดยชุดทดลองผักตบชวาที่ปลูกในสารละลายธาตุอาหารที่มีสังกะสีออกไซด์ขนาดนาโนเมตร 3.5, 5 และ 7.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีค่าของแข็งละลายระหว่าง 701-428, 733-404 และ 710-370 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ

#### 5.1.1.5 ปริมาณของแข็งแขวนลอยทั้งหมด

จากการทดลองพบว่า ปริมาณของแข็งแขวนลอยทั้งหมดตลอดการทดลอง 15 วัน มีแนวโน้มที่เพิ่มขึ้น เนื่องจากได้มีตะกอนที่เกิดขึ้นจากการหลุดร่วงของพืช เช่นรากที่หลุดร่วง การเกิดตะกอนจากการย่อยสลายโดยจุลินทรีย์ จึงเกิดตะกอนแขวนลอยที่เพิ่มมากขึ้น

### 5.1.2 มวลชีวภาพของผักตบชวา

#### 5.1.2.1 น้ำหนักสด

จากการชั่งน้ำหนักสด พบว่าในวันที่ 15 ชุดควบคุมที่ปลูกผักตบชวาในสารละลายธาตุอาหารที่ไม่มีสังกะสีออกไซด์ขนาดนาโนเมตรมีน้ำหนักสดเพิ่มขึ้นมากกว่าชุดทดลองผักตบชวาที่ปลูกในสารละลายธาตุอาหารที่มีสังกะสีออกไซด์ขนาดนาโนเมตร 3.5, 5 และ 7.5 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยเรียงลำดับน้ำหนักสดในวันที่ 15 จากมากไปหาน้อย คือ control > ZnO NPs 3.5 mg/L > ZnO NPs 5 mg/L > ZnO NPs 7.5 mg/L ตามลำดับ ซึ่งมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

#### 5.1.2.2 น้ำหนักแห้ง

ในการชั่งน้ำหนักแห้งพบว่าในวันที่ 15 ชุดควบคุมปลูกผักตบชวาในสารละลายธาตุอาหารที่ไม่มีสังกะสีออกไซด์ขนาดนาโนเมตรมีน้ำหนักแห้งเพิ่มขึ้นมากกว่าชุดทดลองผักตบชวาที่ปลูกในสารละลายธาตุอาหารที่มีสังกะสีออกไซด์ขนาดนาโนเมตร 3.5, 5 และ 7.5 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยเรียงลำดับน้ำหนักแห้งในวันที่ 15 จากมากไปหาน้อย คือ control > ZnO NPs 3.5 mg/L > ZnO NPs 5 mg/L > ZnO NPs 7.5 mg/L ตามลำดับ ซึ่งมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

### 5.1.2.3 ความยาวราก

การศึกษาการเจริญเติบโตโดยการวัดความยาวราก พบว่าชุดควบคุมปลูกผักตบชวาในสารละลายธาตุอาหารที่ไม่มีสังกะสีออกไซด์ขนาดนาโนเมตรมีความยาวรากมากกว่าชุดทดลองปลูกผักตบชวาที่ปลูกในสารละลายธาตุอาหารที่มีสังกะสีออกไซด์ขนาดนาโนเมตร  $3.5 > 5 > 7.5$  มิลลิกรัมต่อลิตร

### 5.1.3 ประสิทธิภาพการบำบัด และการสะสมสังกะสีในผักตบชวา

#### 5.1.3.1 ประสิทธิภาพการบำบัด

ความเข้มข้นของสังกะสีที่เหลืออยู่ในสารละลาย ในชุดควบคุมที่ไม่ปลูกผักตบชวา แต่เติมสารละลายสังกะสีขนาดนาโนเมตรที่ความเข้มข้น 3.5, 5 และ 7.5 มิลลิกรัมต่อลิตรจะมีประสิทธิภาพการบำบัดเท่ากับ 93%, 91% และ 87% ตามลำดับ โดยมีแนวโน้มที่จะลดลงซึ่งในวันที่ 15 มีค่าสังกะสีเหลือในสารละลายเท่ากับ  $1.21 \pm 0.14$ ,  $1.90 \pm 0.05$  และ  $2.78 \pm 0.15$  มิลลิกรัมต่อลิตรตามลำดับ และชุดการทดลองที่ปลูกผักตบชวาและเติมสารละลายสังกะสีขนาดนาโนเมตรที่ความเข้มข้น 3.5, 5 และ 7.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีค่าเท่ากับ  $0.25 \pm 0.15$ ,  $0.45 \pm 0.08$  และ  $0.98 \pm 0.08$  มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ โดยชุดควบคุมและชุดทดลองมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

#### 5.1.3.2 การสะสมสังกะสีในรากผักตบชวา

การสะสมของสังกะสีขนาดนาโนเมตรในรากของผักตบชวาพบว่ามีแนวโน้มเพิ่มขึ้นโดยในวันที่ 15 พบว่า ชุดการทดลองที่มีสารละลายสังกะสีขนาดนาโนเมตรความเข้มข้น 3.5, 5 และ 7.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีค่าเท่ากับ  $769.04 \pm 25.69$ ,  $824.32 \pm 7.45$  และ  $945.83 \pm 73.69$  มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักแห้งตามลำดับ โดยมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

### 5.1.3.3 การสะสมสังกะสีในลำต้นผักตบชวา

การสะสมของสังกะสีในส่วนของลำต้นนั้น มีแนวโน้มเพิ่มขึ้น โดยในวันที่ 15 พบว่า ชุดการทดลอง ที่มี ZnO NPs ความเข้มข้น 3.5, 5 และ 7.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีค่าเท่ากับ  $117.03 \pm 5.02$ ,  $119.13 \pm 5.43$  และ  $129.11 \pm 5.93$  มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ ซึ่งไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

### 5.1.3.4 การสะสมสังกะสีที่สะสมในใบผักตบชวา

การสะสมของสังกะสีในส่วนของใบนั้น พบว่ามีแนวโน้มเพิ่มขึ้น โดยในวันที่ 15 พบว่า ชุดการทดลองที่มี ZnO NPs ความเข้มข้น 3.5, 5 และ 7.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีค่าเท่ากับ  $57.63 \pm 1.62$ ,  $59.70 \pm 3.24$  และ  $61.44 \pm 3.13$  มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ ซึ่งไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

## 5.1.4 ผลของการสะสมสังกะสีออกไซด์ขนาดนาโนเมตร ที่มีต่อรวงควัสดุ และการต้านออกซิเดชัน ของผักตบชวา

### 5.1.4.1 ปริมาณคลอโรฟิลล์เอ

ปริมาณคลอโรฟิลล์เอ ของผักตบชวาของชุดควบคุมมีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นและมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่ชุดทดลองไม่มีความแตกต่าง โดยปริมาณคลอโรฟิลล์เอ ตั้งแต่วันที่ 0 จนถึงวันที่ 15 ของทั้งชุดควบคุมและชุดทดลอง อยู่ที่ระหว่าง  $3.70 \pm 0.41$  -  $5.89 \pm 0.73$  และ  $2.72 \pm 0.08$  -  $3.84 \pm 0.17$  มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักสดของใบ ตามลำดับ

### 5.1.4.2 ปริมาณคลอโรฟิลล์บี

ปริมาณคลอโรฟิลล์บี ของผักตบชวาของชุดควบคุมมีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นและมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่ชุดทดลองไม่มีความแตกต่าง โดยปริมาณคลอโรฟิลล์บีตั้งแต่วันที่ 0 จนถึงวันที่ 15 ของทั้งชุดควบคุมและชุดทดลอง อยู่ที่ระหว่าง  $1.60 \pm 0.26$  -  $2.65 \pm 0.37$  และ  $1.22 \pm 0.04$  -  $1.73 \pm 0.04$  มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักสดของใบ ตามลำดับ

#### 5.1.4.3 ปริมาณคลอโรฟิลล์รวม

ปริมาณคลอโรฟิลล์รวมของผักตบชวาของผักตบชวาของชุดควบคุมมีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นและมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่ชุดทดลองไม่มีความแตกต่าง โดยเมื่อพิจารณาระหว่างชุดควบคุมและชุดทดลอง จากวันที่ 0 ถึงวันที่ 15 พบว่ามีค่าปริมาณคลอโรฟิลล์รวมอยู่ที่ระหว่าง  $4.92 \pm 0.06$  -  $8.82 \pm 1.11$  และ  $4.32 \pm 0.19$  -  $6.06 \pm 0.16$  มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักสดของใบตามลำดับ

#### 5.1.4.4 ปริมาณแคโรทีนอยด์

ปริมาณแคโรทีนอยด์ ของผักตบชวาของชุดควบคุมมีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นและมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่ชุดทดลองไม่มีความแตกต่าง โดยเมื่อพิจารณาระหว่างชุดควบคุมและชุดทดลอง จากวันที่ 0 ถึงวันที่ 15 พบว่ามีค่าปริมาณแคโรทีนอยด์อยู่ที่ระหว่าง  $0.54 \pm 0.02$  -  $0.81 \pm 0.04$  และ  $0.40 \pm 0.02$  -  $0.67 \pm 0.04$  มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักสดของใบตามลำดับ

#### 5.1.4.5 ปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์

ปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ระหว่างชุดควบคุมและชุดทดลองในวันที่ 15 พบว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ และมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นโดยพบว่าวันที่ 0 ถึงวันที่ 15 พบว่ามีค่าปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์อยู่ที่ระหว่าง  $27.69 \pm 6.95$  -  $61.91 \pm 5.04$  และ  $38.29 \pm 3.06$  -  $133.09 \pm 3.02$  ไมโครโมลต่อกรัมน้ำหนักสดของใบตามลำดับ

#### 5.1.4.6 แอกทิวิตีของเอนไซม์คะตะเลส

แอกทิวิตีของเอนไซม์คะตะเลสระหว่างชุดควบคุมและชุดทดลองในวันที่ 15 พบว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ และมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นโดยเมื่อพิจารณาระหว่างชุดควบคุมและชุดทดลอง จากวันที่ 0 ถึงวันที่ 15 พบว่ามีค่าแอกทิวิตีของเอนไซม์คะตะเลสอยู่ที่ระหว่าง  $50.64 \pm 2.56$  -  $67.09 \pm 3.89$  และ  $62.63 \pm 4.80$  -  $169.70 \pm 7.41$  หน่วย (ไมโครโมล  $H_2O_2$ /นาที) ต่อ มิลลิกรัมโปรตีนตามลำดับ

## 5.2 ข้อเสนอแนะ

1. การทดลองในครั้งนี้เป็นการทดลองในห้องปฏิบัติการ จึงน่าจะมีการพัฒนานำผลการทดลองที่ได้ ไปใช้บำบัดน้ำเสียจริง หรือใช้ในสถานที่จริงที่แหล่งน้ำนั้นมีการปนเปื้อนของสิ่งที่ต้องการบำบัด เช่น อาจสร้างรูปแบบบ่อบำบัดน้ำเสียบำบัดโดยใช้พืช (Constructed wetland pond)

2. ควรมีการศึกษาทดลองประสิทธิภาพของผักตบชวาในการสะสมโลหะหนักในอนุภาคนาโนเมตรชนิดอื่นเพิ่มเติม เพื่อให้ทราบถึงคุณสมบัติการบำบัดโลหะหนักขนาดนาโนเมตรที่ปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อม และอาจมีการตรวจกลุ่ม Reactive Oxygen Species (ROS) และแอกทิวิตีของเอนไซม์ การต้านออกซิเดชันตัวอื่นเพิ่มเติมเพื่อศึกษากลไกในการเกิดความเครียดและการต้านออกซิเดชันได้มากขึ้น

3. สามารถศึกษาพืชชนิดอื่นหรือตัวกลางชนิดอื่น เช่น ดิน ในสิ่งแวดล้อมที่มีการปนเปื้อนของสังกะสีออกไซด์ขนาดนาโนเมตรเพิ่มเติม



## รายการอ้างอิง

### ภาษาไทย

- กรมควบคุมมลพิษ. (2547). คู่มือการตรวจสอบคุณภาพสิ่งแวดล้อมอย่างง่าย :คุณภาพน้ำ. กรุงเทพมหานคร; กรมควบคุมมลพิษ กระทรวงทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม.
- กรมควบคุมมลพิษ. (2556). รายงานสถานการณ์คุณภาพน้ำ ประจำปี 2555. กรุงเทพมหานคร.
- กรรณิการ์ สิริสิงห์. (2544). เคมีของน้ำ น้ำโสโครกและการวิเคราะห์ พิมพ์ครั้งที่ 3. กรุงเทพมหานคร: ประยูรวงศ์.
- กิตติพงศ์ อำนวยสวัสดิ์. (2551). การอบรมนวัตกรรมนาโนเทคโนโลยี วัสดุนาโนซิงค์ออกไซด์ และการประยุกต์ใช้. กรุงเทพมหานคร: วิทยาลัยนาโนเทคโนโลยีพระจอมเกล้าลาดกระบัง สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.
- จินดา ศิริตา. (2548). การสังเคราะห์ และการหาลักษณะเฉพาะของอนุภาคนาโนสังกะสีออกไซด์. (วิทยานิพนธ์ปริญญาโทบริหารบัณฑิต), มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.
- ธงชัย พรรณสวัสดิ์. (2535). คู่มือวิเคราะห์น้ำเสีย. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพมหานคร: โรงพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- นวรรตน์ อุดมประเสริฐ. (2558). สรีรวิทยาของพืชภายใต้สภาวะเครียด พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพมหานคร: สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- นัยนันท์ อริยกานนท์. (2558). การฟื้นฟูสิ่งแวดล้อมโดยพืช พิมพ์ครั้งที่ 1 . กรุงเทพมหานคร: สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- นัตยา เต็มราม, ยุพดี ชัยสุขสันต์, วรณชไม การณัด, และ สมพร ประเสริฐสงสกุล. (2553). พิษเฉียบพลันของซิงค์ออกไซด์ต่อหนอนแดง *Acute Toxicity of Zinc Oxide to Chironomus calipterus* (Kieffer) วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี 18, 9-16.
- พันธวัศ สัมพันธ์พานิช. (2558). การฟื้นฟูพื้นที่ปนเปื้อนโลหะหนักด้วยพืช พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพมหานคร: สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- พิชามญชุ์ ประเสริฐทรัพย์. (2552). การกำจัดคลอโรไฟลอสโดยใช้จาก *Pistiastratiotes*. และแทนเป็ด *Lemna minor*. (วิทยานิพนธ์ปริญญาโทบริหารบัณฑิต), จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, บัณฑิตวิทยาลัย.



- พูลสุข โปธิรักขิต-ปรัชญานุสรณ์. (2553). เคมีสิ่งแวดล้อม Enviromental Chemistry. พิมพ์ครั้งที่1. กรุงเทพมหานคร: เอ-บุ๊ก ดิสทริบิวชั่น.
- มันสิน ตัณฑุลเวศม์. (2545). เคมีวิทยาของน้ำและน้ำเสีย พิมพ์ครั้งที่1. กรุงเทพมหานคร: โรงพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- สัณฑ์ ละอองศรี. (2551). การศึกษาปริมาณคลอโรฟิลล์ในใบชาสด. วารสารวิทยาศาสตร์การเกษตร, 39, 178-181.
- สุพิณ แสงสุข. (2551). นาโนซิงค์ออกไซด์. กรุงเทพมหานคร: สถาบันวิจัยโลหะและวัสดุ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
- อลิสรา วังโน. (2558). การบำบัดสารมลพิษทางชีวภาพ. กรุงเทพมหานคร: สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- อารักษ์ ธีรอำพน. (2544). การปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน. พิมพ์ครั้งที่ 2. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี นครราชสีมา: โชคเจริญมาร์เก็ตติ้ง.

#### ภาษาอังกฤษ

- Achille, K., Mamime, A., Sabas, B., and Kouame, D. (2014). Detoxifying hydrogen peroxide enzymes activity in two plant species exposed to air pollution in ABIDJAN CITY (CÔTE D'IVOIRE). *Int Journal of plant Animal and Environmental Science* 5, 140-145.
- Alvarado, S., Guedez, M., Lue-Meru, M., Nelson, G., Alvaro, A., Jesus, A., and Gyula, Z. (2008). Arsenic removal from waters by bioremediation with the aquatic plants Water Hyacinth (*Eichhornia crassipes*) and Lesser Duckweed (*Lemna minor*). *Bioresource Technology*, 99, 8436-8440.
- Andreazza, R., Bortolon, L., Pieniz, S., Camargo, F., and Bortolon, E. (2013). Copper Phytoextraction and Phytostabilization by *Brachiariade cumbens* Stapf. In Vineyard Soils and a Copper Mining Waste. *Journal of Soil Science*, 3, 273-282.
- Anudechakul, C., Vangnai, A. S., and Ariyakanon, N. (2015). Removal of Chlorpyrifos by Water Hyacinth (*Eichhornia crassipes*) and the Role of a Plant-Associated

- Bacterium. *Int J Phytoremediation*, 17(7), 678-685. doi: 10.1080/15226514.2014.964838
- Arnon, D. (1949). Copper enzymes in isolated chloroplasts, polyphenoxidase in beta vulgaris. *Plant physiology*, 24, 1-15.
- Arora, S., Sharma, P., Kumar, S., Nayan, R., Khanna, P. K., and Zaidi, M. H. (2012). Gold-nanoparticle induced enhancement in growth and seed yield of *Brassica juncea*. *Plant Growth Regul.*, 66, 303-310.
- Ates, M., Daniels, J., Arslan, Z., Farah, I. O., and Rivera, H. F. (2013). Comparative evaluation of impact of Zn and ZnO nanoparticles on brine shrimp (*Artemia salina*) larvae: effects of particle size and solubility on toxicity. *Environmental Science-Processes & Impacts*, 15(1), 225-233. doi: 10.1039/c2em30540b
- Beers, R. F., Jr., and Sizer, I. W. (1952). A spectrophotometric method for measuring the breakdown of hydrogen peroxide by catalase. *J Biol Chem*, 195(1), 133-140.
- Bharqava, K., Joshi, R., and Srivastava, G. (2005). Catalase and peroxidase. activity in sugarcane infected with sugarcane mosaic virus. *Cell. Mol. Life. Sci.*, 26, 216-217.
- Blinova, I., Ivask, A., Heinlaan, M., Mortimer, M., and Kahru, A. (2010). Ecotoxicity of nanoparticles of CuO and ZnO in natural water. *Environ Pollut*, 158(1), 41-47. doi: 10.1016/j.envpol.2009.08.017
- Broadley, M., White, P., Hammaond, J., Zelko, I., and Lux, A. (2006). Zinc in Plants. *Tansley Review*, 173, 677-702.
- Cho, U., and Seo, N. (2005). Oxidative stress in *Arabidopsis thaliana* exposed to cadmium is due to hydrogen peroxide accumulation *Plant Science*, 168, 113-120.
- Clijsters, H., and Assche, F. (1985). Inhibition of photosynthesis by heavy metals *Photosynthesis Research*, 7, 31-40.
- Dechasakulthorn, F., Hayes, A., Bakand, S., Joeng, L., and Winder, C. (2007). *In vitro cytotoxicity assessment of selected nanoparticles using human skin fibroblast*. Paper presented at the 6<sup>th</sup> World Congress on Alternatives & Animal. Use in the life Sciences, Sydney.

- Deng, H., Ye, Z., and Wong, M. (2004). Accumulation of lead, zinc, copper and cadmium by 12 wetland plant species thriving in metal-contaminated site in China. *Environment Pollution*, 132, 29-40.
- Dhir, B. (2013). *Phytoremediation : Role of Aquatic Plants in Environmental Clean Up*. New Delhi: University of Delhi South Campus.
- Dimkpa, C., Mclean, M., Latta, D., Manangon, E., Britt, D., Johnson, W., and Anderson, A. (2012). CuO and ZnO nanoparticles: phytotoxicity, metalspeciation, and induction of oxidative stress in sand-grown wheat. *J Nanopart Res*, 14, 1-15.
- Doshi, R., Braidia, W., Christodoulatos, C., Wazne, M., and O'coner, G. (2008). Nano aluminium Transport through sand columns and environmental effects on plants and soil communities. *Environmental Research*, 106, 296-303.
- Ebbs, S., & Uchil, S. (2008). Cadmium and zinc induced chlorosis in Indian mustard (*Brassica juncea* (L.) Czern) involves preferential loss of chlorophyll b. *Photosynthetica*, 46, 49-55.
- Eichert, T., Kurtz, A., Steiner, U., and Goldbach, H. (2008). Size exclusion limits and lateral heterogeneity of the stomatal foliar uptake pathway for aqueous solutes and water suspended nanoparticles. *Physiologia Plantarum*, 134, 151-160.
- Eisenberg, G. (1943). Colorimetric determination of hydrogen peroxide. *Industrial and Engineering Chemistry*, 15, 327-328.
- Forni, C., Patrizi, C., and Migliore, L. (2006). Floating aquatic macrophytes as a decontamination tool for antimicrobial drug. *Soil and Water Pollution Monitoring, Protection and Remediation*, 69, 467-477.
- Gill, S. S., and Tuteja, N. (2010). Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, 48, 909-930.
- Gottschalk, F., Sonderer, T., Scholz, R., and Nowack, B. (2009). Modeled environmental concentrations of engineered nanomaterials (TiO<sub>2</sub>, ZnO, Ag, CNT, Fullerenes) for different regions. *Environ. Sci. Technol.*, 43, 9216-9222.

- Ground Water Remediation Technologies Analysis Center, G. (1997). Technology Evaluation Report: Phytoremediation. Pittsburgh PA.
- Hank, N., Caruso, J., and Zhang, P. (2015). Assessing *Pistia stratiotes* for phytoremediation of silver nanoparticles and Ag(I) contaminated waters. *Journal of Environmental Management*, 164, 41-45.
- Heinlaan, M., Ivask, A., Blinova, I., Dubourguier, H. C., and Kahru, A. (2008). Toxicity of nanosized and bulk ZnO, CuO and TiO<sub>2</sub> to bacteria *Vibrio fischeri* and crustaceans *Daphnia magna* and *Thamnocephalus platyurus*. *Chemosphere*, 71(7), 1308-1316. doi: 10.1016/j.chemosphere.2007.11.047
- International Environmental Technology Center. (2009). Phytoremediation: An environmentally sound technology for pollution prevention, control and remediation and introduction guide to decision-makers. Retrieved 2015, September 3, from Division of Technology, Industry and economics <http://www.unep.or.jp/ietc/Publications/Freshwater/FMS2/index.aspZ2003>
- Jena, S., and Choudhuri, M. (1982). Glycolate metabolism of three submerged aquatic angiosperms during ageing. *Aquatic Botany*, 91, 181-186.
- John, R., Ahmad, P., Gadgil, K., and Sharma, S. (2009). Heavy metal toxicity: Effect on plant growth, biochemical parameters and metal accumulation by *Brassica juncea* L. *International Journal of Plant Production*, 3, 65-76.
- Kamal, M., Ghaly, A., Mahmoud, N., and Cote, R. (2004). Phytoaccumulation of heavy metals by aquatic plants. *Environment international*, 29, 1029-1039.
- Khan, S., Ahmed, S., Shah, M., Rehman, S., and Khalig, A. (2009). Use of constructed wetland for the removal of heavy metals from industrial wastewater. *Journal of Environmental Management* 90, 3451-3457.
- Khater, M. (2015). Effect of Titanium Nanoparticles (TiO<sub>2</sub>) on Growth, Yield and Chemical Constituents of Coriander Plants. *Arab Journal of Nuclear Science* 48, 187-194.
- Lage- Pinto, F., Oliverira, J., Cunha, M., Souza, C., Rezende, C., Azevedo, R., and Victoria, A. (2008). Chlorophyll a fluorescence and ultrastructural changes in

- chloroplast of water hyacinth as indicators of environmental stress. *Environmental and Experimental Botany*, 64, 307 – 313.
- Laset, M. (2002). Phytoextraction of Toxic Metals: A Review of Biological Mechanisms. *J Environ. Qual*, 31, 109- 120.
- Liao, S. W., and Chang, N. (2004). Heavy metal phytoremediation by water hyacinth at constructed wetlands in Taiwan. *Journal of Aquatic Plant Management*, 42, 60-68.
- Lichtenthaler, H., and Wellburn, A. (1983). Determinations of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf extracts in different solvents. *Biochemical Society Transactions*, 11, 591-592.
- Lin, D., and Xing, B. (2008). Root uptake and Phytotoxicity of ZnO Nanoparticles. *Environ. Sci. Technol.*, 42, 5580-5585.
- Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L., and Randall, R. J. (1951). Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem*, 193(1), 265-275.
- Maine, M. A., Duarte, M. V., and Sune, N. L. (2001). Cadmium uptake by floating macrophytes. *Water Res*, 35(11), 2629-2634.
- Malar, S., Vikram, S., Favas, P., and Perumal, V. (2014). Lead heavy metal toxicity induced changes on growth and antioxidative enzymes level in water hyacinth (*Eichhornia crassipes*). *Botanical Study*, 55, 1-11.
- May, B., and Coetzee, J. (2013). Comparisons of the thermal physiology of water hyacinth biological control agents: predicting establishment and distribution pre- and post-release. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 147, 241-250.
- Miretzky, P., Saralegui, A., and Cirelli, A. (2004). Aquatic macrophytes potential for the simultaneous removal of heavy metals (Buenos Aires, Argentina). *Chemosphere*, 57, 997-1005.
- Mishra, V., and Tripathi, B. (2009). Accumulation of chromium and zinc from aqueous solutions using water hyacinth (*Eichhornia crassipes*). *Journal of Hazardous Materials* 164, 1059-1063.
- Mishra, V. K., and Tripathi, B. D. (2008). Concurrent removal and accumulation of heavy metals by the three aquatic macrophytes. *Bioresour Technol*, 99(15), 7091-7097. doi: 10.1016/j.biortech.2008.01.002

- Mohanty, K., Jha, M., and Meikap, B. (2006). Biosorption of Cr(VI) from aqueous solutions by *Eichhornia crassipes*. *Chemical Engineering Journal*, 117, 71-77.
- Mukhopadhyay, M., Das, A., Subba, P., Bantawa, P., Sarkar, B., Ghosh, P., and Mondel, T. (2012). Structural, Physiological, and biochemical profiling of tea plants under zinc stress. *Biologia Plantarum*, 57, 474-480.
- Nair, R., Varghese, S., G, B., Maekawa, N., Yoshida, Y., and DS., K. (2010). Nanoparticulate material delivery to plants. *Plant Science*, 179, 154-163.
- Nakano, Y., and Asada, K. (1981). Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate specific peroxidase in spanish chloroplasts. *Plant Cell Physiol*, 22, 867-880.
- National Institute for Occupational Safety and Health. (1986). Registry of toxic effects of chemical substances (RTECS). Atlanta, GA: CDC.
- Newman, L. A., and Reynolds, C. M. (2004). Phytodegradation of organic compounds. *Curr Opin Biotechnol*, 15(3), 225-230. doi: 10.1016/j.copbio.2004.04.006
- Olette, R., Couderchet, M., Biagiante, S., and Eullaffroy, P. (2008). Toxicity and removal of pesticides by selected aquatic plants. *Chemosphere*, 70(8), 1414-1421. doi: 10.1016/j.chemosphere.2007.09.016
- Oukarroum, A., Barhoumi, L., Pirastru, L., and Dewez, D. (2012). Silver nanoparticle toxicity effect on growth and cellular viability of aquatic plants *Lemna gibba*. *Environmental Toxicology and chemistry*, 32, 902-907.
- Palak, K., and Yilmaz, D. (2013). Ecophysiological tolerance of *Lemna gibba* L. exposed to cadmium. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 91, 79-85.
- Panda, S. K. (2007). Chromium-mediated oxidative stress and ultrastructural changes in root cells of developing rice seedling. *Journal of Plant Physiology*, 164, 1419-1428.
- Pereira, F., Castro, E., Oliveira, C., Pires, M., Pereira, M., Ramos, S., and Faquin, V. (2014). Lead tolerance of water hyacinth (*Eichhornia crassipes* Mart. - Pontederiaceae) as defined by anatomical and physiological traits. *An Acad Bras Cienc*, 86, 1423-1433.
- Pilon-Smith, E. (2005). Phytoremediation. *Annu Rev Plant Biol*, 56, 15-39.

- Prasad, T., Anderson, M., Martin, B., and Stewart, C. (1994). Evidence for chilling-induced oxidative stress in maize seedlings and a regulatory role for hydrogen peroxide *Plant Cell*, 6, 65-74.
- Quan, L. J., Zhang, B., Shi, W. W., and H.Y., L. (2008). Hydrogen Peroxide in Plants: a Versatile Molecule of the Reactive Oxygen Species Network. *Journal of Integrative Plant Biology*, 50, 2-18.
- Radi, R., Turrens, J. F., Chang, L. Y., Bush, K. M., Crapo, J. D., and Freeman, B. A. (1991). Detection of catalase in rat heart mitochondria. *J Biol Chem*, 266(32), 22028-22034.
- Rao, S., and Shekhawat, G. (2014). Toxicity of ZnO engineered nanoparticles and evaluation of their effect on growth, metabolism and tissue specific accumulation in *Brassica juncea*. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 2, 105-114.
- Richards, J., and Lee, D. (1986). Light effects on leaf morphology in water hyacinth (*Eichhornia crassipes*). *American Journal of Botany* 73, 1741- 1747
- Rojanapithayakorn, D., and Ariyakanon, N. (2016). Electrokinetic Enhancement on Phytoremediation in Zinc Contaminated Soil by Ruzi Grass. *EnvironmentAsia*, 9, 92-98.
- Rout, G., and Das, P. (2003). Effect of metal toxicity on plant growth and metabolism: I. zinc. *Agronomie*, 23, 3-11.
- Schiefer, S., Teifel, W., and Kind, H. (1976). Purification and characterization of catalase from leave lens enlinaris. *Plant microbody protein*, 1, 357, 163- 175.
- Semchyshyn, H. M., and Lushchak, V. I. (2004). Oxidative stress and control of catalase activity in Escherichia coli. *Ukr Biokhim Zh* (1999), 76(2), 31-42.
- Shah, K., Kumar, R., Verma, S., and RS., D. (2001). Effect of cadmium on lipid peroxidation superoxide anion generation and activities of antioxidant enzymes in growing rice seedling. *Plant Science*, 161, 1135-1144.
- Sharma, P., ., Jha, A., Dubey RS., and Pessarakli, M. (2012). Reactive Oxygen Species, Oxidative Damage, and Antioxidative Defense Mechanism in Plants under Stressful Conditions *Journal of Botany*, 2012, 1-25.

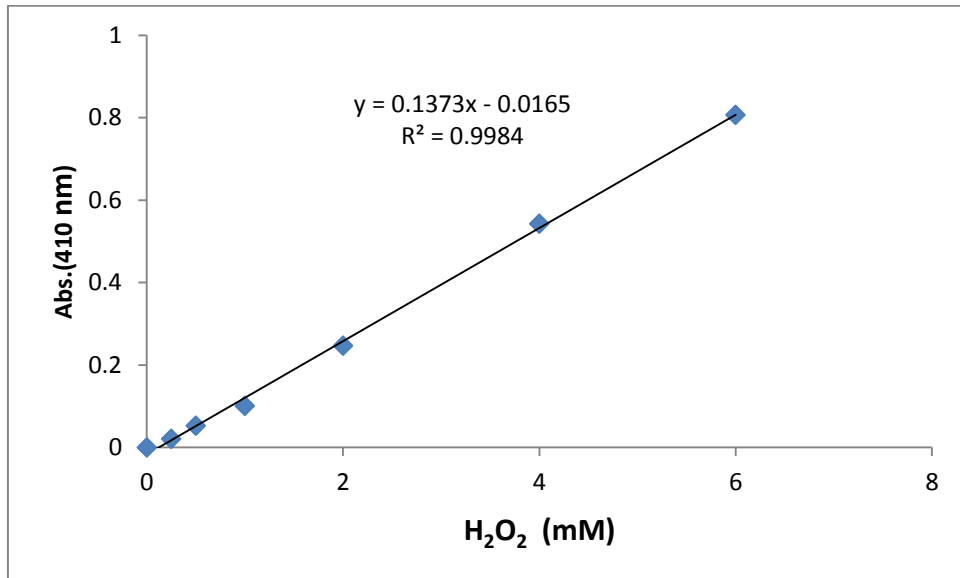
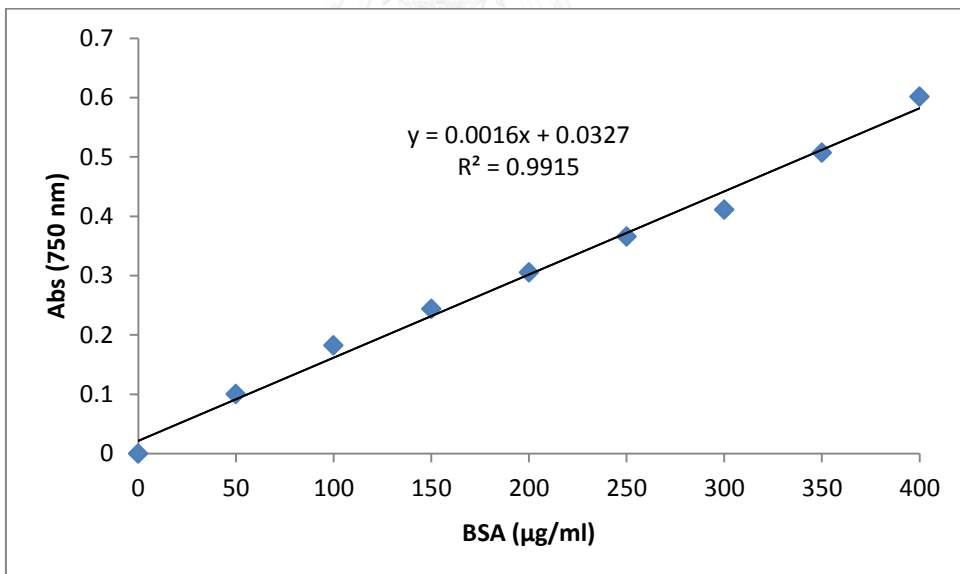
- Sharma, P., Jha, A., Dubey, R., and Pessarakli, M. (2012). Reactive Oxygen Species, Oxidative Damage, and Antioxidative Defense Mechanism in Plants under Stressful Conditions. *Journal of Botany*, 2012, 1-26.
- Sheetal, K., Singh, S., Anand, A., and Prasad, S. (2016). Heavy metal accumulation and effects on growth, biomass and physiological process in mustard. *Ind J Plant Physiol*, 21, 219-223.
- Skinner, K., Wright, N., and Porter-Goff, E. (2007). Mercury uptake and accumulation by four species of aquatic plants. *Environ Pollut*, 145(1), 234-237. doi: 10.1016/j.envpol.2006.03.017
- Song, U., and Lee, S. (2016). Phytotoxicity and accumulation of zinc oxide nanoparticles on the aquatic plants *Hydrilla verticillata* and *Phragmites Australis*: leaf-type-dependent responses. *Environmental Science Pollution Research* 23, 8539-8545.
- Suzuki, Y., and Shioi, Y. (2004). Changes in chlorophyll and carotenoid contents in radish (*Raphanus sativus*) cotyledons show different time courses during senescence. *Physiologia Plantarum*, 122, 291-296.
- Talebi, A. R., Khorsandi, L., and Moridian, M. (2013). The effect of zinc oxide nanoparticles on mouse spermatogenesis. *J Assist Reprod Genet*, 30(9), 1203-1209. doi: 10.1007/s10815-013-0078-y
- Tewari, R., Kumar, P., and Sharma, P. (2008). Morphology and physiology of zinc-stressed mulberry plants. *J Plant Nutr Soil Sci.*, 171, 286-294.
- TOXNET. (1986). National library of medicine's toxicology data network *Hazardous Substances Databank (HSBD)*. Public Health Service. Bethesda, MD NLM.: National Institute of Health U.S. Department of Health and Human Service.
- Tuteja, N. (2007). Mechanisms of high salinity tolerance in plants. *Meth. Enzymol Osmosen. Osmosignal.*, 428, 419-438.
- US Environmental Protection Agency, U. (2005). Toxicological review of Zinc and compound *Summary information on the Integrated Risk Information System (IRIS)*. Washington DC: USEPA.



- Valipour, A., Raman, V., and Ahn, Y. (2015). Effectiveness of Domestic Wastewater Treatment Using a Bio-Hedge Water Hyacinth Wetland System. *Water*, 7, 329-347.
- Vaseem, M., Umar, A., and Hahn, Y. (2015). ZnO Nanoparticles: Growth, Properties, and Applications. *Metal Oxide Nanostructures*, 5(1-36).
- Vestena, V., Cambraia, J., Ribeiro, C., Oliveira, J., and Oliva, M. (2011). Cadmium-induced Oxidative Stress and Antioxidative enzyme Response in Water Hyacinth and Salvinia. *Braz. J. Plant Physiol.*, 23, 131-139
- White, P., and Shabala, S. (2012). Heavy metal toxicity in plants. *Plant Stress Physiology*.
- Wong, S., Leung PTY., Djuricic, A., and Leung, K. (2010). Toxicities of nano zinc oxide to five marine organisms: influences of aggregate size and ion solubility. *Anal Bioanal Chem*, 396, 609-618.
- Xia, H., and Ma, X. (2006). Phytoremediation of ethion by water hyacinth (*Eichhornia crassipes*) from water. *Bioresource Technology*, 97, 1050-1054.
- Yang, T., and Poovaiah, B. (2002). Hydrogen peroxide homeostasis: Activation of plant catalase by calcium/calmodulin. *Proc. Natl Acad Sci.*, 99, 4097- 4102.
- Yang, X., Feng, Y., and He, Z. (2012). Molecular mechanisms of heavy metal hyperaccumulation and phytoremediation. *J Trace Elem Med Biol* 18, 339-353.
- Zhao, L., Hernandez-Viezcas, J., Peralta-Video, J., Bandyopadhyay, S., Peng, B., Munoz, B., and Gardea-Torresdey, J. (2013). ZnO Nanoparticle fate in soil and zinc bioaccumulation in corn plants (*Zea mays*) influenced by alginate. *Environmental Science: Process & Impacts*, 15, 260-266.
- Zhu, Y., Zayed, A., Qian, J., Souza, M., and Terry, N. (1999). Phytoaccumulation of trace elements by wetland plants: Water Hyacinth. *J Environ. Qual.*, 28, 339-344.



## ภาคผนวก ก

กราฟมาตรฐาน ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ( $H_2O_2$ )

กราฟโปรตีนมาตรฐานโดยใช้ bovine serum albumin

คำนวณหาโปรตีนมาตรฐานและสารสกัดโปรตีน วิธี Lowry *et al* (1951)

ละลาย BSA 0.1g ใช้น้ำกลั่น 10 ml เป็น stock solution 1000 ug/ml เจือจางเป็น 9 ความเข้มข้นโดยปิเปตและปรับให้ได้ 1 ml เป็นแต่ละ ug/ml

หลอด	ปริมาตร (มิลลิลิตร)									
	1 (0ug/ ml)	2 (50ug/ ml)	3 (100ug /ml)	4 (150ug/ ml)	5 (200ug /ml)	6 (250ug/ ml)	7 (300ug /ml)	8 (350ug /ml)	9 (400ug/ ml)	10
สาร										
Std BSA ug/ml (ปิเปตml)	0.00	0.05	0.10	0.15	0.20	0.25	0.30	0.35	0.40	-
H <sub>2</sub> O (ปิเปตml)	1.00	0.95	0.90	0.85	0.80	0.75	0.70	0.65	0.60	0.95
Crude (ปิเปตml)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.05

↓  
Alkaline (Lowry's solution) 0.7 ml ทิ้ง 10 นาที

↓  
folin-ciocalteu reagent 0.1 ml ทิ้ง 30 นาที

↓  
นำค่า OD ที่วัด 750 nanometer คำนวณกับ slope equation และความเจือจางเป็นค่าความเข้มข้นโปรตีนก่อนเจือจางเป็นตัวอย่างตั้งต้น

เตรียม มาตรฐาน  $H_2O_2$

$H_2O_2$  (ข้อมูลข้างขวด 30%  $H_2O_2$  Density=  $1.115g/cm^3$ , 1L= 1.11kg และ  $H_2O_2=34.01g/mol$ )

$$H_2O_2 \text{ (mol/L)} = (30ml_{H_2O_2}/100 \text{ ml}) \times (1.1115g/1ml) \times (1mol_{H_2O_2}/34.01g_{H_2O_2}) \times (1000ml/1L)$$

$$= 9.804 \text{ mol/L}$$

ตัวอย่าง ต้องการเตรียมเพื่อทำกราฟมาตรฐาน 1mM

$$H_2O_2 \text{ (mol/L)} = (0.001_{H_2O_2}/1000ml) \times (1000/9.804mol_{H_2O_2}) \times 1000 \text{ ml}$$

$$= 0.101 \text{ ml}$$

ปิเปตมา 0.101 แล้วปรับที่น้ำกลั่น 1000 ml

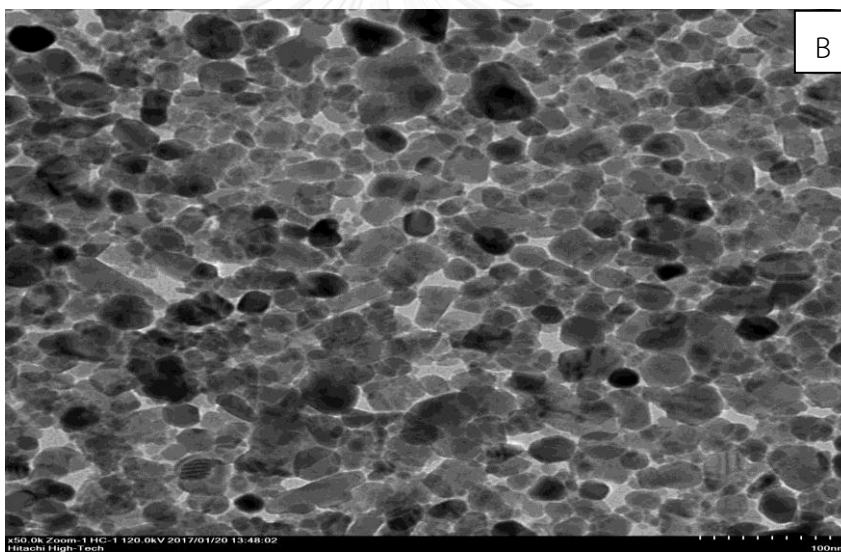
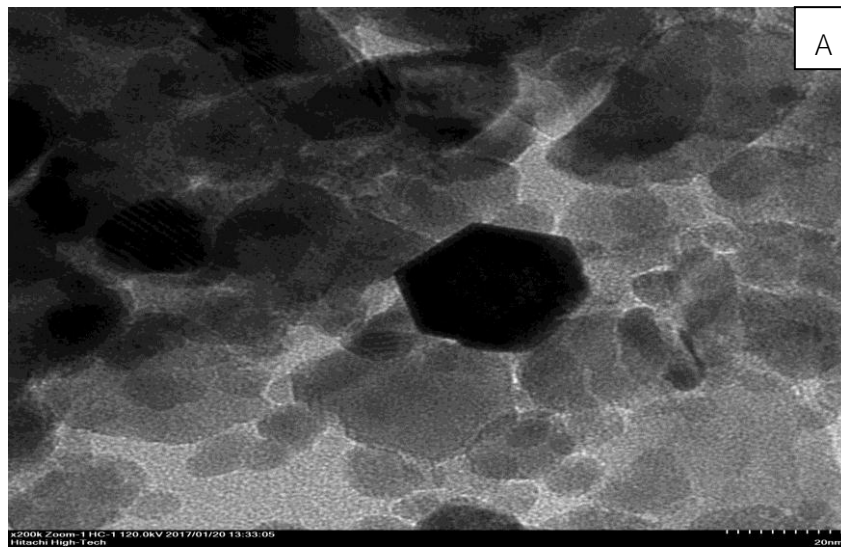
ทุกกราฟมาตรฐานทำแบบเดียวกันแต่คนละ mM ดังนั้นการปิเปตก็ต่างกัน

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย  
CHULALONGKORN UNIVERSITY

ทำแบบเดียวกับการวัดสารสกัดเอนไซม์ ปิเปตมา 500 ไมโครลิตร แล้วเติม 0.3%  $Ti_2(SO_4)_3$  ที่เตรียมไว้ 20% ( $H_2SO_4$ ) (v/v) ปริมาตร 90 ไมโครลิตร ลงในสารละลายใส่ที่เตรียมทำมาตรฐาน ปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 10,000 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที

ปิเปตสารละลายส่วนใสมาวัดที่ค่าดูดกลืนแสง 410 นาโนเมตร สร้างกราฟมาตรฐาน

## ภาคผนวก ข



รูปภาพของ Zinc oxide nanoparticle (ZnO NPs) จากการส่องกล้อง Transmission Electron Microscope (TEM) ;

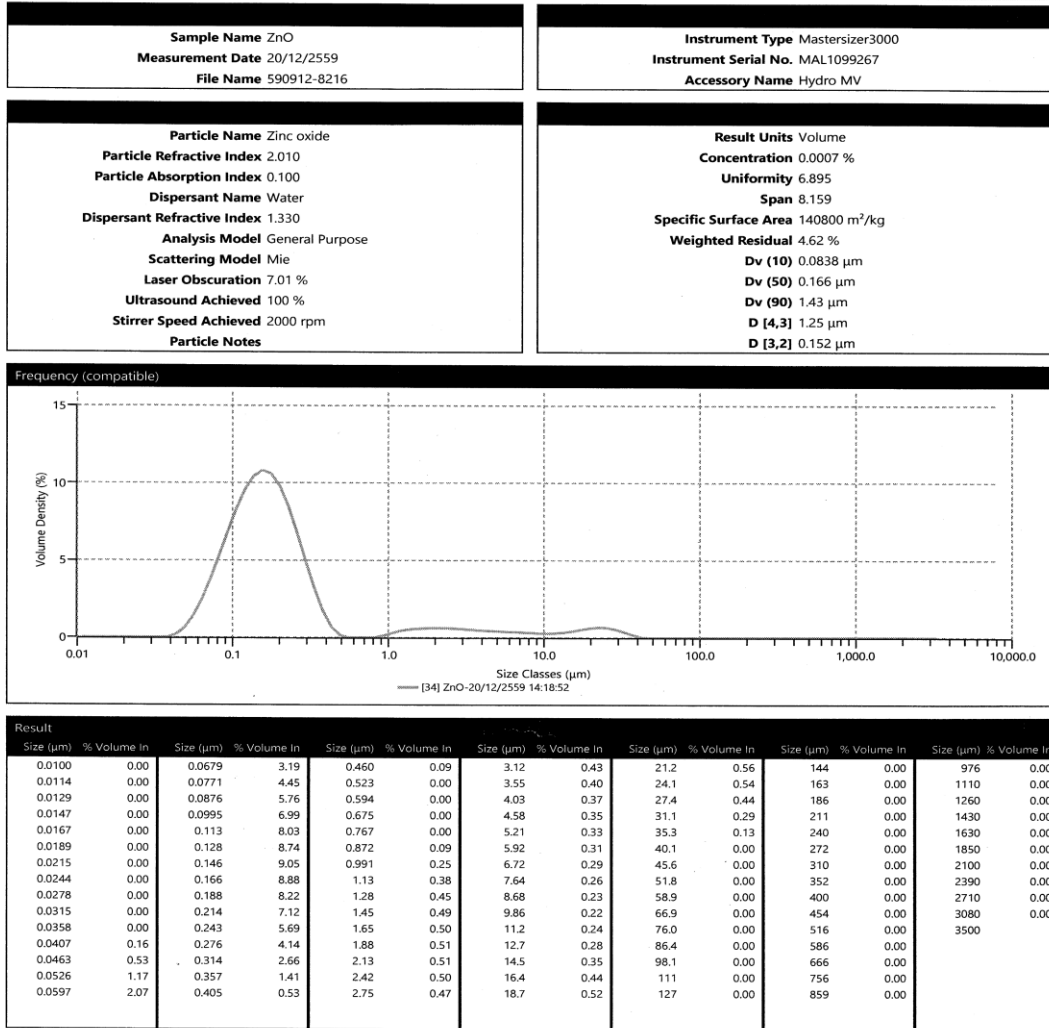
(A) กำลังขยาย 200,000 เท่า มาตรฐาน 20 นาโนเมตร

(B) กำลังขยาย 50,000 เท่า มาตรฐาน 100 นาโนเมตร

ภาคผนวก ค

การส่งตรวจอนุภาคสังกะสีออกไซด์ขนาดนาโนเมตรที่ใช้ในการทดลอง

Scientific and Technological Research Equipment Centre (STREC), Chulalongkorn University



### ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นายเอกภพ บุญเครือ เกิดเมื่อวันอาทิตย์ที่ 9 มิถุนายน พุทธศักราช 2534 ที่อำเภอเมืองนครศรีธรรมราช จังหวัดนครศรีธรรมราช สำเร็จการศึกษาระดับปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (เกียรตินิยมอันดับสอง) สาขาวิชาสาธารณสุขศาสตร์ เอกอนาามัยสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ในปีการศึกษา 2556 และเข้าศึกษาต่อในหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในปีการศึกษา 2557

ผลงานวิชาการ

The 4th EnvironmentAsia International Conference on “Practical Global Policy and Environment Dynamics”

21-23 June 2017 Bangkok, Thailand



จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย  
CHULALONGKORN UNIVERSITY