การบำบัดดินที่ปนเปื้อนออกซีเตตราซัยคลินโดยต้นดาวเรือง

โดย
นางสาววรินทิพย์ สิทธิชัย

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม
ภาควิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม
บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร
ปีการศึกษา 2558
ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

การบำบัดดินที่ปนเปื้อนออกซีเตเตราซัยคลินโดยต้นดาวเรือง

โดย
นางสาววรินทิพย์ สิทธิชัย

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม
ภาควิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม
บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร
ปีการศึกษา 2558
ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

PHYTOREMEDIATION OF OXYTETRACYCLINE CONTAMINATED SOIL BY *TAGETES ERECTA* L.

By

Miss Warinthip Sittichai

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree

Master of Science Program in Environmental Science

Department of Environmental Science

Graduate School, Silpakorn University

Academic Year 2015

Copyright of Graduate School, Silpakorn University

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร อนุมัติให้วิทยานิพนธ์เรื่อง “ การบำบัดดินที่ปนเปื้อนออกซีเตเตราซัยคลินโดยต้นดาวเรือง ” เสนอโดย นางสาววรินทิพย์ สิทธิชัย เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม

.....
(รองศาสตราจารย์ ดร.ปานใจ ธารทัศนวงศ์)
คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย
วันที่.....เดือน..... พ.ศ.....

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์
รองศาสตราจารย์ ดร.มลิวรรณ บุญเสนอ

คณะกรรมการตรวจสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.นภวรรณ รัตสุข)
...../...../.....

..... กรรมการ
(ดร.เบญจลักษณ์ กาญจนเศรษฐ์)
...../...../.....

..... กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร.มลิวรรณ บุญเสนอ)
...../...../.....

คำสำคัญ : การบำบัดด้วยพืช; ดิน; ออกซีเตตราซัยคลิน; ดาวเรือง

วรินทิพย์ สิทธิชัย : การบำบัดดินที่ปนเปื้อนออกซีเตเตราซัยคลินโดยต้นดาวเรือง
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ : รศ.ดร.มลิวรรณ บุญเสนอ. 72 หน้า.

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการบำบัดดินปนเปื้อนออกซีเตตราซัยคลินโดยต้นดาวเรือง การศึกษาประกอบด้วย 3 ชุดทดลองคือ การทดลองการดูดซับออกซีเตตราซัยคลินในดิน การทดลองการสลายตัวของออกซีเตตราซัยคลินในดิน และการทดลองการสะสมออกซีเตตราซัยคลินของต้นดาวเรือง สำหรับการทดลองการดูดซับออกซีเตตราซัยคลินในดินพบว่าค่าการดูดซับออกซีเตตราซัยคลินในดิน (K_d) ที่อุณหภูมิ 25 ± 2 °ซ ที่จุดสมดุลมีค่าเท่ากับ 3.11 ล./กก. แสดงว่าสารถูกดูดซับในดินได้ค่อนข้างต่ำ ส่วนการทดลองการสลายตัวในดินที่อุณหภูมิ 25 ± 2 °ซ และไม่มีแสง พบว่าความเข้มข้นของออกซีเตตราซัยคลินในดินลดลงตามเวลา โดยอัตราคงที่ของการสลายตัว (k_{deg}) ในดินมีค่าเท่ากับ 0.29 ต่อวัน และ ค่าครึ่งชีวิต ($t_{1/2}$) ของสารเท่ากับ 2.4 วัน

การทดลองการสะสมออกซีเตตราซัยคลินในต้นดาวเรืองใช้เวลา 25 วัน ผลการทดลองพบว่า ต้นดาวเรืองสามารถสะสมออกซีเตตราซัยคลินไว้ในรากและลำต้นแสดงว่ามีการเคลื่อนย้ายสารจากรากสู่ลำต้น (Translocation) สำหรับค่าการสะสมออกซีเตตราซัยคลินในราก (RCF) มีค่าระหว่าง 1.20 - 2.80 กก.ดินแห้ง/กก.รากแห้ง และลำต้น (SCF) มีค่าระหว่าง 1.40 - 2.70 กก.ดินแห้ง/กก.ลำต้นแห้ง ตามลำดับ ส่วนค่าการสะสมในต้นดาวเรือง (Bioconcentration factor หรือ BCF) มีค่าสูงสุดเท่ากับ 2.05 กก.ดินแห้ง/กก.พืชแห้ง ผลการศึกษาการบำบัดออกซีเตตราซัยคลินในดินของต้นดาวเรืองพบว่ามีประสิทธิภาพ 86 เปอร์เซ็นต์ จึงสรุปว่าสามารถเลือกใช้ต้นดาวเรืองในการบำบัดดินที่มีออกซีเตตราซัยคลินปนเปื้อนได้

ภาควิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร
ลายมือชื่อนักศึกษา..... ปีการศึกษา 2558
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ .....
55311320 : MAJOR : (ENVIRONMENTAL SCIENCE)

KEY WORD : PHYTOREMEDIATION/ SOIL/ OXYTETRACYCLINE / *TAGETES ERECTA* L.

WARINTHIP SITTICHAI : PHYTOREMEDIATION OF OXYTETRACYCLINE CONTAMINATED SOIL BY *TAGETES ERECTA* L..

THESIS ADVISOR : ASSOC.PROF.MALIWAN BOONSANER,Ph.D. 72 pp.

The Objective of this study was to investigate the phytoremediation of oxytetracycline contaminated soil by Marigolds (*Tagetes erecta* L.). Three experiments were performed; soil sorption experiment, degradation of oxytetracycline in soil experiment and bioaccumulation of oxytetracycline by Marigolds experiment. For soil sorption experiment, the soil sorption capacity (K_d) of oxytetracycline at equilibrium under the temperature control of 25 ± 2 ºC was 3.11 L/Kg. The relatively low K_d indicated that oxytetracycline was not likely to sorb on the experimental soil. For degradation experiment, the degradation rate constant (k_{deg}) of oxytetracycline in soil at 25 ± 2 ºC and without illumination was 0.29 per day and the half-life ($t_{1/2}$) was 2.4 day.

The Bioconcentration of oxytetracycline in the marigolds had been conducted for 25 days. The result showed the accumulation of oxytetracycline in both Root and Shoot which indicated the translocation occurred from Root to Shoot. The Root Concentration Factor (RCF) were between 1.20 - 2.80 Kg. soil dry weight/kg. root dry weight and Shoot Concentration Factor (SCF) were between 1.40 - 2.70 Kg. soil dry weight/Kg. shoot dry weight The highest Bioconcentration Factor (BCF) of oxytetracycline in Marigold were 2.05 Kg. soil dry weight/Kg. plant dry weight. The removal efficiency of oxytetracycline in soil by Marigolds was 86 %. In conclusion, Marigolds can be used in phytoremediation of oxytetracycline contaminated in soil.

Department of Environmental Science Graduate School, Silpakorn University

Student's signature ..... Academic Year 2015

Thesis Advisor's signature .....

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของงานวิจัยจากภาควิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อมคณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร ซึ่งงานวิจัยครั้งนี้ ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.มลิวรรณ บุญเสนอ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ที่กรุณาให้คำปรึกษาและแนะนำข้อคิดเห็นต่างๆ ตลอดจนช่วยตรวจสอบและปรับปรุงแก้ไขข้อบกพร่องต่างๆของวิทยานิพนธ์เล่มนี้ให้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

ขอขอบคุณบุคลากรภาควิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม ที่ให้คำแนะนำ ช่วยเหลือ และอนุเคราะห์การใช้เครื่องมือ สารเคมี และอุปกรณ์ต่างๆในการทำงานวิจัยครั้งนี้

ขอขอบคุณ คุณพ่อ คุณแม่ และพี่ๆน้องๆทุกคนที่ได้ให้การสนับสนุน เป็นกำลังใจและช่วยเหลือทำให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลงด้วยดี

มหาวิทยาลัยศิลปากร

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย..... ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ..... จ
กิตติกรรมประกาศ..... ฉ
สารบัญตาราง..... ญ
สารบัญภาพ..... ฏ
บทที่
1 บทนำ..... 1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา..... 1
1.2 ความมุ่งหมายและวัตถุประสงค์ของการศึกษา..... 2
1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ..... 2
1.4 สมมติฐานของการศึกษา..... 2
1.5 ขอบเขตของการศึกษา..... 3
1.6 ขั้นตอนการศึกษา..... 3
2 ทบทวนเอกสาร..... 4
2.1 ดิน..... 4
2.1.1 องค์ประกอบของดิน..... 4
2.2 กระบวนการซับ..... 5
2.2.1 ปัจจัยที่มีผลต่อกระบวนการซับ..... 6
2.2.2 คุณสมบัติของดิน..... 7
2.2.3 คุณสมบัติของพืช..... 8
2.3 ค่าสัมประสิทธิ์การแบ่งส่วนระหว่างดินกับน้ำ..... 8
2.4 สารปฏิชีวนะ..... 9
2.4.1 ออกซีเตตราซัยคลิน..... 9
2.4.2 สมบัติทางกายภาพและเคมี..... 9
2.4.3 กลไกการออกฤทธิ์..... 10
2.4.4 ประโยชน์..... 10
2.4.5 การสลายตัว..... 10
2.5 การสะสมในสิ่งมีชีวิต..... 13
2.5.1 การรับสารในพืช..... 13
2.5.2 ค่าการสะสมสารในพืช..... 13
2.6 ออกซีเตตราซัยคลินในสิ่งแวดล้อม..... 13

บทที่ หน้า
2.6.1 งานวิจัยที่เกี่ยวกับออกซีเตตราซัยคลินในดิน..... 15
2.6.2 งานวิจัยที่เกี่ยวกับออกซีเตตราซัยคลินในพืช..... 16
2.7 การบำบัดดินด้วยพืช..... 17
2.7.1 เทคโนโลยี Phytoremediation..... 17
2.7.2 ตัวอย่างการใช้พืชบำบัดสารพิษในดิน..... 19
2.8 ดาวเรือง..... 20
3 การทดลอง..... 22
3.1 การเตรียมการทดลอง..... 22
3.1.1 การเตรียมน้ำ..... 22
3.1.2 การเตรียมพืช..... 22
3.1.3 การเตรียมดิน..... 23
3.1.4 สารเคมี..... 23
3.1.5 เครื่องมือและอุปกรณ์..... 23
3.2 วิธีการสกัดและการวิเคราะห์ 24
3.2.1 การสกัดออกซีเตตราซัยคลินในตัวอย่างดินและพืช..... 24
3.2.2 การสกัดออกซีเตตราซัยคลินในตัวอย่างน้ำ..... 27
3.2.3 ค่า Instrument Detection Limit, Method Detection Limit และ % Recovery..... 28
3.2.4 การวิเคราะห์คุณสมบัติทั่วไปของดินและพืชทดลอง..... 28
3.3 วิธีการทดลอง..... 29
3.3.1 การทดลองที่ 1 การทดลองการดูดซับออกซีเตตราซัยคลินในดิน..... 29
3.3.2 การทดลองที่ 2 ทดลองการสลายตัวของออกซีเตตราซัยคลินในดิน..... 32
3.3.3 การทดลองที่ 3 ทดลองการสะสมออกซีเตตราซัยคลินในต้นดาวเรือง.. 33
3.3.4 การคำนวณสะสมออกซีเตตราซัยคลินในต้นดาวเรือง..... 36
4 ผลการทดลองและการอภิปรายผลการทดลอง..... 37
4.1 การศึกษาสมบัติทั่วไปของดินและพืชทดลอง..... 37
4.1.2 ลักษณะสมบัติของต้นดาวเรือง..... 38
4.2 การดูดซับออกซีเตตราซัยคลินในดิน..... 39
4.3 การทดลองการสลายตัวของออกซีเตตราซัยคลินในดิน..... 41
4.4 การสะสมออกซีเตตราซัยคลินในต้นดาวเรือง..... 43
4.4.1 ความเข้มข้นของออกซีเตตราซัยคลินในราก..... 43
4.4.2 ความเข้มข้นของออกซีเตตราซัยคลินในลำต้น..... 43

บทที่ หน้า

4.4.3 กระบวนการเคลื่อนย้ายออกซีเตตราซัยคลินในต้นดาวเรือง..... 44
4.4.4 ความเข้มข้นของออกซีเตตราซัยคลินในดิน..... 45
4.4.5 ค่าการสะสมออกซีเตตราซัยคลินในต้นดาวเรือง..... 46
4.4.6 ประสิทธิภาพในการบำบัดออกซีเตตราซัยคลินในดินโดยต้นดาวเรือง... 49
4.5 ข้อเสนอแนะในการทดลองต่อไป..... 49
5 สรุปผลการทดลอง..... 50

บรรณานุกรม..... 52

ภาคผนวก..... 58
ภาคผนวก ก วิธีเตรียมสารเคมี 59
ภาคผนวก ข วิธีการหา ค่า Instrument detection limit (IDM), Method detection limit (MDL) และ % Recovery..... 61
ภาคผนวก ค ขั้นตอนการทดลอง..... 64
ภาคผนวก ง รายละเอียดการทดลอง..... 67

ประวัติผู้วิจัย..... 72

มหาวิทยาลัยศิลปากร

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
2.1	ค่า Kd ของออกซีเตตราซัยคลินในดิน	9
2.2	ค่าครึ่งชีวิตของออกซีเตตราซัยคลินในสิ่งแวดล้อม	12
2.3	ปริมาณออกซีเตตราซัยคลินที่ตรวจพบในสิ่งแวดล้อม	14
3.1	สรุปวิธีวิเคราะห์สมบัติทางกายภาพของดิน	28
4.1	สมบัติเบื้องต้นของดินที่ใช้ทดลอง	37
4.2	ปริมาณไขมันในส่วนรากและในส่วนต้นของต้นดาวเรือง	39
4.3	อัตราคงที่ของการหายไป การสลายตัวและค่าครึ่งชีวิตของออกซีเตตราซัยคลิน	52
4.4	ค่าการสะสมของออกซีเตตราซัยคลินในราก (RCF) ลำต้น (SCF) และทั้งต้น (BCF)	54

ตารางผนวกที่

ง.1	น้ำหนักพืชก่อน - หลังการทดลอง เพื่อสังเกตการณ์เจริญเติบโต	68
ง.2	ปริมาณการใช้น้ำของต้นดาวเรืองโดยเฉลี่ยต่อวัน	69
ง.3	ความเข้มข้นของออกซีเตตราซัยคลินในดินระหว่างการทดลองการสลายตัว	69
ง.4	ความเข้มข้นของออกซีเตตราซัยคลินในดิน	70
ง.5	ความเข้มข้นของออกซีเตตราซัยคลินในรากของต้นดาวเรือง	70
ง.6	ความเข้มข้นของออกซีเตตราซัยคลินในลำต้นของต้นดาวเรือง	71

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
2.1	องค์ประกอบของดิน	4
2.2	การดูดซับของสารในดิน	6
2.3	โครงสร้างเคมีของ Oxytetracycline	10
2.4	การเคลื่อนย้ายสารในราก	13
2.5	กระบวนการที่เกี่ยวข้องกับ Phytoremediation	18
2.6	ต้นดาวเรือง (*Tagetes erecta L.*)	20
3.1	ขั้นตอนการสกัดออกซีเตตราซัยคลินในดิน และพืช	26
3.2	ขั้นตอนการสกัดออกซีเตตราซัยคลินในน้ำ	27
3.3	ขั้นตอนการหา Equilibrium time ของออกซีเตตราซัยคลินในดิน	30
3.4	ขั้นตอนการวิเคราะห์หา Kd	31
3.5	ขั้นตอนวิเคราะห์การสลายตัวออกซีเตตราซัยคลินในดิน	32
3.6	ขั้นตอนวิเคราะห์การสะสมออกซีเตตราซัยคลินในต้นดาวเรือง	35
4.1	equilibrium time ของออกซีเตตราซัยคลินระหว่างดินและน้ำ ในวันที่ 1, 2 และ 3	40
4.2	ความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่างความเข้มข้นของออกซีเตตราซัยคลินในดินและในน้ำของในสภาวะสมดุลที่อุณหภูมิ 25 $\pm$ 2 องศาเซลเซียส	40
4.3	ความสัมพันธ์ระหว่าง ln C กับเวลา	42
4.4	ความเข้มข้นของออกซีเตตราซัยคลินในรากและในลำต้นของต้นดาวเรือง	44
4.5	เปรียบเทียบความเข้มข้นของออกซีเตตราซัยคลินในรากและในลำต้นของต้นดาวเรือง	45
4.6	เปรียบเทียบปริมาณออกซีเตตราซัยคลินในดิน และในราก ลำต้นของต้นดาวเรือง	47
4.7	แสดงการเปรียบเทียบการสะสม RCF SCF และ BCF ของต้นดาวเรือง	48

ภาพผนวกที่

ข.1	กราฟมาตรฐานของออกซีเตตราซัยคลิน	62
ค.1	เตรียมพืชก่อนเริ่มทดลอง	65
ค.2	ผสมดินกับสารละลายออกซีเตตราซัยคลินที่ความเข้มข้น 5 มก./กก	65
ค.3	การทดลองการสะสมออกซีเตตราซัยคลินโดยต้นดาวเรือง	65
ค.4	การวิเคราะห์หาไขมันในต้นดาวเรือง	66
ค.5	การสกัดออกซีเตตราซัยคลินในตัวอย่างดินและพืช	66

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

การบำบัดดินที่มีสารเคมีหรือสารพิษต่างๆปนเปื้อนโดยใช้พืชนั้นอาศัยทฤษฎีที่พืชส่วนใหญ่สามารถดูดซับสารต่างๆได้ และนำไปเก็บไว้ที่ราก ลำต้น หรือใบ (อลิสา, 2550) แต่ปริมาณที่สะสมจะมากน้อยขึ้นกับชนิดของพืช คุณสมบัติของดินและสมบัติทางกายภาพและเคมีของสาร โดยส่วนใหญ่พืชที่สามารถดูดซับสารต่างๆได้ดีจะมีประสิทธิภาพในการบำบัดสูง (Alkorta and Garbisu, 2001) วิธีการใช้พืชบำบัดดินที่มีมลพิษปนเปื้อนนั้นคือ ควรใช้พืชที่สะสมสารไว้ได้ดีและมลพิษนั้นจะต้องไม่เป็นพิษต่อพืช หรือพืชนั้นจะต้องไม่ถูกนำไปบริโภคต่อ เมื่อพืชดูดซับสารพิษเอาไว้ก็จะทำให้ปริมาณสารในดินลดลงตามเวลา

การบำบัดด้วยพืช (Phytoremediation) เป็นบำบัดวิธีหนึ่งที่เป็นที่นิยมเนื่องจากการดูแลไม่ต้องใช้ความรู้มาก ค่าลงทุนต่ำ และใช้ได้ดีในพื้นที่ที่มีการปนเปื้อนไม่มาก (Boonsaner et al., 2011) การบำบัดด้วยพืชเป็นกระบวนการใช้พืชดูดซับสารพิษต่างๆแล้วอาศัยรากพืชช่วยดูดซึมสารเข้าไปสะสมในรากหรือถูกกักเก็บในเยื่อพืช เป็นต้น การศึกษาประสิทธิภาพในการบำบัดดินที่มีสารปนเปื้อนจะขึ้นกับค่าการสะสมของสารในพืช หรือ BCF (Bioconcentration Factor)

ดินเป็นแหล่งที่รองรับมลสารหลายชนิดโดยการดูดซับสารจะขึ้นกับกระบวนการที่สารยึดเกาะกับอนุภาคของดิน ในกรณีที่ดินสามารถดูดซับสารได้อย่างแข็งแรง สารก็จะสะสมอยู่ในดินได้นาน แต่ขณะเดียวกันสารจะถูกดูดซึมเข้าสู่พืชได้น้อยลง ในการศึกษาการใช้พืชดูดซับสารจึงจำเป็นต้องศึกษาการดูดซับสารในดิน (Soil Sorption Capacity) และการสะสมสารในพืช (Bioconcentration) เพื่อใช้เป็นแนวทางในการพิจารณาว่าพืชที่ใช้ทดลองสามารถดูดซับสารในพื้นที่ที่ต้องการบำบัดได้ดีเพียงใด นอกจากนั้นการศึกษาการสลายตัวจะช่วยอธิบายว่าสารในดินทำให้ความเข้มข้นของสารที่พืชสะสมได้น้อยกว่าที่ควรหรือไม่ สำหรับการสลายตัวของสารในดินจะขึ้นกับปัจจัยต่างๆ เช่น คุณสมบัติของดิน อุณหภูมิ และแสงแดด (Halling-Sørensen et al., 2003)

ในการวิจัยนี้เป็นการประยุกต์ใช้ต้นดาวเรืองในการบำบัดดินที่มีออกซีเตตราซัยคลินปนเปื้อน สำหรับออกซีเตตราซัยคลินเป็นสารปฏิชีวนะที่มีการใช้อย่างแพร่หลายในฟาร์มเลี้ยงสัตว์ Chee-Sanford et al. (2009) กล่าวว่าสารนี้อาจถูกขับออกทางมูลสัตว์ในรูปที่ไม่ถูกเมตาบอไลท์ได้สูงถึง 75 เปอร์เซ็นต์ของที่สัตว์รับเข้าไป ซึ่งในปัจจุบันมีการนำมูลสัตว์ไปใช้ทำเป็นปุ๋ยคอกเพื่อการเกษตรจึงทำให้สารสามารถปนเปื้อนในดินซึ่งส่วนใหญ่ใช้ในการเพาะปลูก (Arikan et al., 2007) และผลที่ตามมาคือ การเคลื่อนย้ายของออกซีเตตราซัยคลินไปสู่พืช และในที่สุดมาถึงคนซึ่งเป็นผู้บริโภคสุดท้ายในห่วงโซ่อาหาร (Kumar et al., 2005) เนื่องจากออกซีเตตราซัยคลินมีความคงทน

พอสมควร การปนเปื้อนของสารในดินอาจทำให้จุลินทรีย์ในดินเกิดการดื้อยาและเป็นอันตรายต่อระบบนิเวศได้ (Boonsaner and Hawker, 2013)

สำหรับต้นดาวเรืองเป็นพืชให้ดอกที่เกษตรกรนิยมปลูกเพื่อจำหน่ายเป็นดอกไม้บูชาพระหรือตกแต่งบ้าน ปัจจุบันมีผู้สนใจนำต้นดาวเรืองมาบำบัดมลพิษ เช่น การบำบัดดินที่มีโลหะหนัก เช่น สารหนูปนเปื้อน (Chintakovid et al., 2007) แต่สำหรับการใช้ต้นดาวเรืองเพื่อบำบัดออกซีเตตราซัยคลินในดินยังไม่มีผู้ศึกษา โดยการศึกษานี้ทำให้ทราบประสิทธิภาพของการบำบัดที่จะใช้เป็นแนวทางเพื่อให้การบำบัดดินที่มีออกซีเตตราซัยคลินที่ปนเปื้อนในดินโดยต้นดาวเรือง

1.2 ความมุ่งหมายและวัตถุประสงค์ของการศึกษา

1.2.1 เพื่อศึกษาการดูดซับออกซีเตตราซัยคลินที่ปนเปื้อนในดิน

1.2.2 เพื่อศึกษาอัตราการสลายตัวของออกซีเตตราซัยคลินที่ปนเปื้อนในดิน

1.2.3 เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของต้นดาวเรืองในการบำบัดดินที่มีออกซีเตตราซัยคลินปนเปื้อน

1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.3.1. ทราบประสิทธิภาพของต้นดาวเรืองในการบำบัดดินที่มีออกซีเตตราซัยคลินปนเปื้อน

1.3.2. เป็นข้อมูลพื้นฐานในการใช้ต้นดาวเรืองเพื่อบำบัดดินที่ปนเปื้อนออกซีเตตราซัยคลิน

1.4 สมมติฐานของการศึกษา

พืชสามารถดูดซับสารต่างๆและเก็บไว้ที่ราก ใบ หรือต้น แต่ปริมาณที่สะสมจะขึ้นกับชนิดของพืช คุณสมบัติของดินและสมบัติทางกายภาพและเคมีของสาร โดยส่วนใหญ่พืชที่สามารถดูดซับสารต่างๆได้ดีจะมีประสิทธิภาพในการบำบัดสูง วิธีการใช้พืชบำบัดดินที่มีมลพิษปนเปื้อนนั้นคือควรใช้พืชที่สะสมสารไว้ได้ดีและมลพิษนั้นจะต้องไม่เป็นพิษต่อพืช หรือพืชนั้นจะต้องไม่ถูกนำไปบริโภคต่อ เมื่อพืชดูดซับสารพิษเอาไว้ก็จะทำให้ปริมาณสารในดินลดลงตามเวลา ด้วยเหตุนี้การศึกษาว่าพืชจะใช้บำบัดดินที่มีการปนเปื้อนได้ดีเพียงใดจึงขึ้นอยู่กับค่าการสะสมสารในพืช หรือ BCF (Bioconcentration factor) ซึ่งคำนวณได้จากความเข้มข้นของสารในพืช (C_B) หารด้วยความเข้มข้นของสารในดิน (C_S) ในการวิจัยนี้ได้ตั้งสมมติฐานว่าต้นดาวเรืองสามารถบำบัดดินที่มีออกซีเตตราซัยคลินปนเปื้อนได้ และการที่ใช้ต้นดาวเรืองมาทดลองก็เนื่องจากต้นดาวเรืองเป็นไม้ดอกที่ไม่มีการนำไปเป็นอาหาร ดังนั้นจึงไม่ทำให้ออกซีเตตราซัยคลินแพร่ไปตามห่วงโซ่อาหาร นอกจากนั้นต้นดาวเรืองยังมีการเจริญเติบได้เร็ว เพาะปลูกง่าย มีระบบรากที่หนาแน่นจำนวนมาก จึงทำให้ดูดซับสารจากดินได้ดี และเนื่องจากต้นดาวเรืองเพาะปลูกได้แพร่หลายจึงเหมาะสำหรับการนำไปประยุกต์ใช้ในการทำ Phytoremediation สรุปต้นดาวเรืองสามารถบำบัดดินที่ปนเปื้อนออกซีเตตราซัยคลินได้

1.5 ขอบเขตของการศึกษา

การทดลองการบำบัดดินที่มีออกซีเตตราซัยคลินปนเปื้อนด้วยพืชนี้ใช้ต้นดาวเรือง (*Tagetes erecta* L.) อายุประมาณ 30 - 45 วัน เป็นพืชทดลอง ส่วนความเข้มข้นของออกซีเตตราซัยคลินในดินที่ใช้ทดลอง คือ 5 มก./กก. และเนื่องจากความเข้มข้นที่ต้นดาวเรืองดูดซับจะขึ้นกับความเข้มข้นของออกซีเตตราซัยคลินในดินซึ่งอาจมีการเปลี่ยนแปลงเนื่องจากการสลายตัวของสารในสภาวะที่ทดลอง คือที่อุณหภูมิ 25 ± 2 °ซ และไม่มีแสง ดังนั้นในการศึกษานี้จึงได้ทดลองการสลายตัวของออกซีเตตราซัยคลินในดินด้วยในสภาวะเดียวกับที่ทดลองการสะสม และทดลองการดูดซับบออกซีเตตราซัยคลินในดินเพื่อให้ทราบว่าออกซีเตตราซัยคลินจะถูกดินดูดซับหรือถูกพืชสะสมไว้ในส่วนต่างๆ

1.6 ขั้นตอนการศึกษา

1.6.1 สืบค้นข้อมูลที่เกี่ยวข้อง
1.6.2 วางแผนการทดลองและเขียนโครงร่างการวิจัย
1.6.3 ขออนุมัติหัวข้อและโครงร่างวิทยานิพนธ์
1.6.4 ทำการทดลองและวิเคราะห์ผลการทดลอง
1.6.5 รวบรวมผลการทดลองและเขียนวิทยานิพนธ์
1.6.6 เสนอวิทยานิพนธ์เพื่อขอสอบ
1.6.7 สอบวิทยานิพนธ์
1.6.8 แก้ไขวิทยานิพนธ์
1.6.9 ส่งวิทยานิพนธ์ฉบับสมบูรณ์

มหาวิทยาลัยศิลปากร

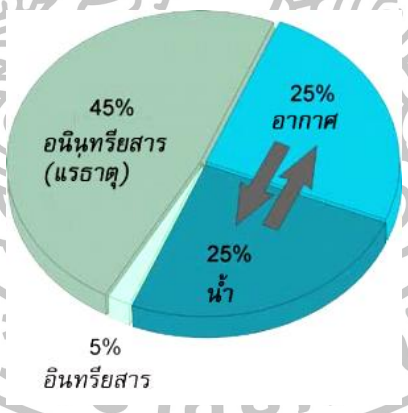
บทที่ 2
ทบทวนเอกสาร

2.1 ดิน

ดิน (Soil) เกิดจากผลของการผุพังสลายตัวของหินและแร่ธาตุ ผสมรวมกับอินทรียวัตถุที่ได้มาจากการสลายตัวของเศษซากพืชและสัตว์จนเป็นเนื้อเดียวกัน มีลักษณะร่วนไม่เกาะกันจนแข็งเป็นหิน อนุภาคของดินมีหลายรูปทรงและมีขนาดแตกต่างกัน แบ่งได้เป็น 3 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มอนุภาคขนาดทราย (เส้นผ่านศูนย์กลาง 2.00 – 0.05 มล.) กลุ่มอนุภาคขนาดทรายแป้ง (เส้นผ่านศูนย์กลาง 0.05 – 0.02 มล.) กลุ่มอนุภาคขนาดดินเหนียว (เส้นผ่านศูนย์กลาง < 0.02 มล.) ดินเกิดจากผลของการผุพังสลายตัวของหินและแร่ธาตุ ผสมรวมกับอินทรียวัตถุที่ได้มาจากการสลายตัวของเศษซากพืชและสัตว์จนเป็นเนื้อเดียวกัน มีลักษณะร่วนไม่เกาะกันจนแข็งเป็นหิน ทำหน้าที่ปกคลุมพื้นผิวโลกอยู่เป็นชั้นบาง และเป็นที่ยึดเหนี่ยวในการเจริญเติบโตของพืช

2.1.1 องค์ประกอบของดิน

ดินมีองค์ประกอบที่สำคัญ 4 ส่วน ดังแสดงในภาพที่ 2.1 ดังนี้



ภาพที่ 2.1 องค์ประกอบของดิน
ที่มา: กรมพัฒนาที่ดิน (2556)

1) อนินทรียสาร (Inorganic matter)

เป็นองค์ประกอบส่วนใหญ่ของดิน เกิดจากการผุพังสลายตัวของหินและแร่ โดยแร่ที่สำคัญต่อการเจริญเติบโตของพืชได้แก่ คาร์บอน ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส โพแทสเซียม เป็นต้น

2) อินทรียสาร (Organic matter)

เกิดจากซากพืชหรือซากสัตว์ที่กำลังถูกย่อยสลาย รวมทั้งเซลล์จุลินทรีย์ทั้งที่มีชีวิตและในส่วนที่ตายแล้ว สารเหล่านี้รวมเรียกว่า ฮิวมัส มีลักษณะสีดำหรือน้ำตาล เป็นแหล่งสำคัญของธาตุอาหารของพืช เช่น ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และกำมะถัน อีกทั้งยังมีอิทธิพลต่อสมบัติต่างๆ ของดินทั้งทางกายภาพ เคมี และชีวภาพ เช่น โครงสร้างดิน ความร่วนซุย การระบายน้ำ การถ่ายเทอากาศ การดูดซับน้ำและธาตุอาหารของดิน

3) น้ำ (Soil water)

เป็นน้ำที่พบอยู่ในช่องว่างระหว่างอนุภาคดินหรือเม็ดดิน น้ำในดินเป็นส่วนประกอบที่สำคัญของดิน ช่วยในการเจริญเติบโตของพืช เนื่องจากเป็นตัวช่วยในการละลายธาตุอาหารในดินที่พืชนำไปใช้ และเป็นส่วนสำคัญในการเคลื่อนย้ายอาหารพืชจากรากไปสู่ทุกส่วนของพืช

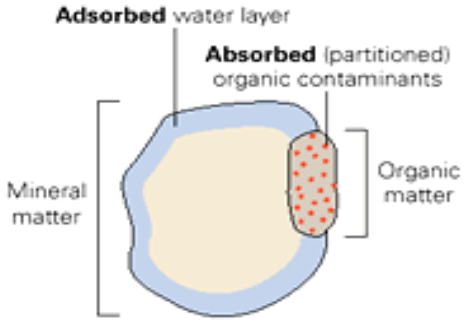
4) อากาศ (Organic matter)

เป็นส่วนของอากาศที่แทรกอยู่ในช่องว่างระหว่างเม็ดดินในส่วนที่ไม่มีน้ำอยู่ ก๊าซที่พบโดยทั่วไปในดิน คือ ก๊าซไนโตรเจน (N_2) ออกซิเจน (O_2) และคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) ซึ่งรากพืชและจุลินทรีย์ในดินใช้ใช้ออกซิเจนในการหายใจให้ได้พลังงานเพื่อใช้ในการดูดน้ำและธาตุอาหาร

ดินเป็นแหล่งที่รองรับมลสารหลายชนิดที่อยู่ในน้ำ อากาศ และกิจกรรมของมนุษย์ ดินจะดูดซับสารได้ดีเพียงใดขึ้นกับกระบวนการดูดซับที่สารยึดเกาะกับอนุภาคของดิน กรณีที่ดินสามารถดูดซับสารได้อย่างแข็งแรงสารก็อาจสะสมอยู่ในดินได้นานแต่ขณะเดียวกันก็อาจเข้าสู่พืชได้น้อยลงเช่นกัน ในการศึกษาการใช้พืชดูดซับสารพิษจึงจำเป็นต้องศึกษาการดูดซับสารในดินและในพืชด้วย

2.2 กระบวนการซับ

กระบวนการซับ (Sorption processes) ประกอบด้วยส่วนสำคัญ 2 ส่วน คือ ตัวที่ถูกดูดซับ (Sorbate) เช่น สาร ประกอบอินทรีย์ หรือสารประกอบที่ไม่มีขั้ว และตัวดูดซับ (Sorbent) ซึ่งเป็นตัวกลางที่เป็นของแข็ง เช่น ดิน ตะกอนดิน เป็นต้น ภาพที่ 2.2



ภาพที่ 2.2 การดูดซับของสารในดิน
ที่มา: Chiou et al. (1983)

การซับเป็นการจับกันของสารกับอนุภาคของดินโดยเป็นได้ทั้งการดูดซับ (Adsorption) และการดูดซึม (Absorption) ทั้งสองกระบวนการนี้มักเกิดในช่วงระยะเวลาสั้น โดยตอนแรกสารจะถูกดูดจับไว้ที่พื้นผิวภายนอก เรียกว่า การดูดซับ (Adsorption) จากนั้นสารที่ถูกดูดจับไว้จะเริ่มเข้าสู่ภายในของ Sorbent หรือเข้าสู่กระบวนการดูดซึม (Absorption) ความแตกต่างทั้งสองกระบวนการคือ Adsorption เป็นการดูดดึงกันระหว่างพื้นผิวภายนอกของอนุภาคของแข็ง ในขณะที่ Absorption เป็นการรับ (Uptake) สารปนเปื้อนเข้าไปสู่โครงสร้างทางกายภาพของแข็ง

ส่วนการรับสารของพืชอาศัยกระบวนการซับ (Sorption) และปลดปล่อย (Desorption) คือ เมื่อสารอยู่ในดินสารจะแพร่ไปอยู่ในน้ำในดินแล้วถูกดูดซึมเข้าไปในรากอย่างรวดเร็ว จากนั้นสารจึงเคลื่อนย้ายจากรากไปส่วนต่างๆของต้น โดยส่งผ่านท่อลำเลียงน้ำและอาหารของพืช (Xylem)

2.2.1 ปัจจัยที่มีผลต่อกระบวนการซับ

กระบวนการซับขึ้นอยู่กับสมบัติทางกายภาพและเคมีของสารซึ่งเป็นตัวถูกดูดซับ (Sorbate) และคุณสมบัติของตัวดูดซับ (Sorbent) โดยสมบัติทางกายภาพและเคมีของสารที่สำคัญได้แก่

1) ค่าการละลายน้ำของสาร (Water solubility)

ค่าการละลายน้ำของสารเป็นค่าที่บ่งชี้แนวโน้มการเกิดการดูดซับสารกับอนุภาคดินหรือพืช รวมทั้งการสลายตัวของสารด้วย สารมีค่าการละลายน้ำมากมีแนวโน้มที่ถูกดูดซับกับอนุภาคดินหรือพืชได้น้อยและสลายตัวเร็วจากปฏิกิริยาไฮโดรไลซีสกับน้ำ

2) ค่าสัมประสิทธิ์การแบ่งส่วนระหว่างออคตานอลกับน้ำ (Octanol/water partition coefficient, K_{ow})

ค่านี้ใช้เป็นตัวบ่งชี้การละลายในไขมันของสารและเนื่องจากออคตานอลมีโครงสร้างคล้ายไขมันของสิ่งมีชีวิต จึงมักใช้บ่งชี้ว่าสารสามารถสะสมในสิ่งมีชีวิตได้ดีเพียงใด สารที่มีค่า K_{ow} สูง จะเป็นพวกที่ละลายน้ำได้น้อย ดังนั้นจึงมีแนวโน้มที่จะถูกดูดซับไว้กับดินได้ดี และจะสะสมในสิ่งมีชีวิตได้ดีด้วย

สำหรับในพืชค่า K_{ow} ช่วยบอกแนวโน้มในการสะสมของสารในต้นพืช คือ สารที่มีค่า log K_{ow} น้อยกว่า 0.5 สารจะเคลื่อนที่ผ่านผนังเซลได้ดี สำหรับสารที่มีค่า log K_{ow} ไม่เกิน 1.8 สารจะเคลื่อนที่จากรากไปสู่ลำต้นได้น้อย ส่วนใหญ่จะถูกเก็บสะสมในราก ส่วน log K_{ow} มากกว่า 1.8 สารจะไม่ค่อยถูกดูดซึมเพราะสารถูกจับไว้ในชั้นของเซลเมมเบรน (มลิวรรณ, 2552) ด้วยเหตุนี้จึงพบว่าสารต่างๆสะสมในส่วนต่างๆของพืชได้ไม่เหมือนกัน

3) ค่าการแตกตัวของสาร (pKa)

ค่า pKa จะขึ้นอยู่กับค่าความเป็นกรดด่าง (pH) ของดินซึ่งไม่มีผลโดยตรงต่อการเจริญเติบโตของพืช แต่จะมีผลทางอ้อมคือเป็นตัวควบคุมการละลายของธาตุอาหารของพืชให้มาอยู่ในรูปที่พืชสามารถดูดซึมไปใช้ประโยชน์ รวมทั้งควบคุมการละลายของสารที่เป็นพิษ

4) ค่าสัมประสิทธิ์การแบ่งส่วนระหว่างคาร์บอนอินทรีย์ในเฟสดินกับน้ำ (Soil organic carbon – water partition coefficient, K_{oc})

ค่านี้บ่งชี้ว่าสารประกอบอินทรีย์จะแบ่งส่วนอยู่ในเฟสดินกับน้ำได้ดีเพียงใด โดยในเฟสดินเป็นการซับมวลของสารต่อหน่วยมวลของคาร์บอนอินทรีย์ในดินที่สภาวะสมดุล ถ้าค่า K_{oc} สูง บ่งชี้ว่าสารนั้นอาจถูกดูดซับไว้ในคาร์บอนอินทรีย์ในดินได้มาก

2.2.2 คุณสมบัติของดิน

คุณสมบัติของดินที่สำคัญได้แก่

1) เนื้อดิน (Soil texture)

เนื้อดินมีความสำคัญมากในกระบวนการซับ โดยดินที่มีองค์ประกอบเป็นดินเหนียวและอินทรียวัตถุสูงจะมีความสามารถในการซับสารได้มากเพราะส่วนของดินเหนียวมีขนาดเล็ก มีพื้นที่ผิวมาก และมีประจุพื้นที่ผิวมาก ส่วนผลต่อการเจริญเติบโตของรากพืชคือ พืชจะเจริญเติบโตในดินร่วนได้ดีดว่าดินเหนียวเพราะรากพืชจะแทรกตัวผ่านดินร่วนได้ลึกกว่าดินเหนียว

2) ค่าความเป็นกรดด่าง (Soil pH)

ความเป็นกรดด่างของดินมีผลต่อกระบวนการซับเพราะค่าความเป็นกรดด่างมีผลต่อการละลายของสาร เช่น กรดอินทรีย์มีแนวโน้มที่จะดูดซับได้ดีในสภาวะที่เป็นกรด เป็นต้น (Ferrante et al., 2007)

3) ความสามารถในการแลกเปลี่ยนประจุในดิน

ประจุในดินจะทำหน้าที่กักเก็บปริมาณธาตุอาหารต่างๆ ไว้ในดิน และปลดปล่อยออกมาให้พืชได้ใช้ประโยชน์ แร่ธาตุอาหารในดินที่พืชต้องการส่วนใหญ่จะมีประจุบวก เช่น ธาตุไนโตรเจนในรูปของแอมโมเนียม แคลเซียม แมกนีเซียม โพแทสเซียม เหล็ก สังกะสี (กรมพัฒนาที่ดิน, 2556)

2.2.3 คุณสมบัติของพืช

พืชแต่ละชนิดทนทานต่อสภาพแวดล้อมและความเป็นพิษของสารได้ต่างกัน พืชที่มีระบบรากแข็งแรง รากยาวและมีปริมาณของรากมากทำให้มีการสัมผัสกับสารปนเปื้อนในดินได้มากกว่าพืชที่มีระบบรากสั้น พืชที่ใช้เพื่อบำบัดมลพิษในดินควรเป็นพืชที่เจริญเติบโตเร็ว เป็นพืชที่ง่ายต่อการปลูกและดูแลรักษา มีวงจรชีวิตสั้น และเจริญเติบโตได้ดีในดินหลายประเภททั้งดินร่วน ดินเหนียว และดินทราย รวมทั้งทนทานต่อพิษของสารอินทรีย์หรือสารอนินทรีย์ที่ปนเปื้อนในดินได้ดี

สำหรับสภาพแวดล้อมของพืชคือดินนั้นมีความสัมพันธ์ต่อการเจริญเติบโตของพืช โครงสร้างของดินที่เหมาะต่อการปลูกพืชคือ เป็นดินโปร่ง ร่วนซุย เพื่อให้รากสามารถดูดซึมสารจากดินได้ง่าย นอกจากนั้นควรเป็นดินที่มีความชื้นที่ 20 - 25 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งเหมาะต่อรากพืชที่ดูดเอาความชื้นจากดินไปใช้ในการเจริญเติบโต (คณาจารย์ภาควิชาปฐพีวิทยา, 2526)

2.3 ค่าสัมประสิทธิ์การแบ่งส่วนระหว่างเฟสดินกับน้ำ

ค่าสัมประสิทธิ์การแบ่งส่วนระหว่างเฟสดินกับน้ำ (Soil-water partition coefficient, K_d) จะมีการแพร่ไปมาระหว่างดินกับน้ำในดิน และรากหรือลำต้นของพืช คำนวณโดยใช้อัตราส่วนระหว่างความเข้มข้นของสารที่ดูดจับสารไว้ในเฟสดิน (C_s) กับความเข้มข้นของสารในเฟสน้ำ (C_w) ที่จุดสมดุลณ อุณหภูมิคงที่ (Lüers and Hulscher; 1996) ดังนี้

$$K_d = C_s / C_w$$

เมื่อ K_d คือ ค่าสัมประสิทธิ์การแบ่งส่วนระหว่างดินกับน้ำ (กก./ล.)
C_s คือ ความเข้มข้นของสารในดิน (มก./กก.)
C_w คือ ความเข้มข้นของสารในน้ำ (มก./ล.)

ค่า K_d ที่ได้จะขึ้นอยู่กับชนิดของสารเคมี ชนิดของดิน และอุณหภูมิ ซึ่งค่า K_d เป็นค่าที่ได้จากการทดลอง ซึ่งค่าที่ได้จะเปลี่ยนไปเมื่ออุณหภูมิเปลี่ยน การศึกษาที่ผ่านมาได้มีศึกษาค่าสัมประสิทธิ์การแบ่งส่วนระหว่างเฟสดินกับน้ำของออกซีเตตราซัยคลิน ดังตารางที่ 2.1

ตารางที่ 2.1 ค่า K_d ของออกซีเตตราซัยคลินในดิน

ลักษณะของดิน	K_d (ล./กก.)	เอกสารอ้างอิง
ดินที่ผสมมูลสัตว์	2.60-3.00	Loke et al., (2002)
ดินที่มีออกซีเตตราซัยคลิน 25 มก./กก. ดินแห้ง	0.10	Wang and Yates (2008)
ดินที่ใช้เพาะปลูก	2.75-4.29	Gong et al. (2012)
ตะกอนดินแม่น้ำ	0.97	Xu and Li (2010)
ตะกอนดินทะเลชายฝั่ง	0.21	Xu and Li (2010)
ตะกอนดินทะเล	0.30	Tolls (2001)

2.4 สารปฏิชีวนะ

สารปฏิชีวนะ (Antibiotics) หมายถึง สารที่ผลิตขึ้นจากเชื้อราหรือแบคทีเรียที่สามารถยับยั้งหรือชะลอการเจริญเติบโตของเชื้อจุลชีพกลุ่มใดกลุ่มหนึ่งหรือมีฤทธิ์ไปทำลายเชื้อจุลชีพกลุ่มนั้นได้ สารปฏิชีวนะมีหลายชนิด แต่ละชนิดออกฤทธิ์ที่แตกต่างกัน บางชนิดออกฤทธิ์เฉพาะกับเชื้อโรค บางชนิดออกฤทธิ์ได้กว้างขวาง การใช้สารปฏิชีวนะเพื่อการรักษาและป้องกันโรคควรเลือกใช้ที่เหมาะกับโรคนั้น

2.4.1 ออกซีเตตราซัยคลิน

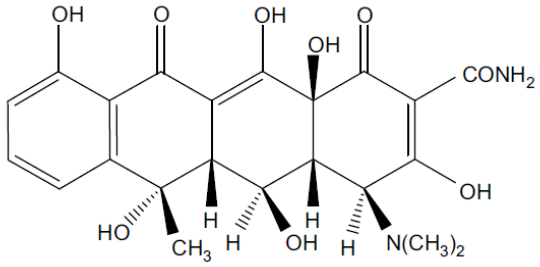
ออกซีเตตราซัยคลิน (Oxytetracycline) เป็นสารปฏิชีวนะในกลุ่ม เตตราซัยคลิน (Tetracycline) ซึ่งมีกลไกการออกฤทธิ์ขัดขวางการสร้างโปรตีนของแบคทีเรีย โดยสารกลุ่มนี้จะทำหน้าที่ไปยับยั้งการทำงานของไรโบโซมที่อยู่ในเซลล์ของแบคทีเรีย ออกซีเตตราซัยคลินถูกใช้อย่างแพร่หลายในฟาร์มสุกร ฟาร์มไก่และฟาร์มกุ้ง ถูกนำไปใช้เพื่อรักษาโรคหลายชนิด เนื่องจากสารปฏิชีวนะชนิดนี้สามารถออกฤทธิ์กว้างครอบคลุมเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบหลายชนิด ถูกแยกสกัดจากเชื้อ *S. rimosus* ได้ตั้งแต่ปี ค.ศ.1949 และมีการใช้กันอย่างแพร่หลายเป็นเวลานาน เพื่อรักษาโรคติดเชื้อ ทำให้เกิดการดื้อยา และพบในสิ่งแวดล้อมอยู่เสมอ (คนาวรรณ และปนัดดา, 2547)

2.4.2 สมบัติทางกายภาพและเคมี

ออกซีเตตราซัยคลิน (Oxytetracycline) เป็นสารปฏิชีวนะชนิดหนึ่ง มีสูตรเคมี คือ $C_{22}H_{22}N_2O_9$ มีลักษณะเป็นผงสีเหลืองไม่มีกลิ่นหรือมีกลิ่นเล็กน้อย เป็นอนุพันธ์ของเตตราซัยคลิน ซึ่งมีโครงสร้างทางเคมีประกอบด้วยวงแหวนติดกัน 4 วง (ภาพที่ 2.3) โดยวงแหวนแรกเป็นวงแหวนอะโรมาติกที่เป็นตัวกำหนดสี (Chromophere) ทำให้อนุพันธ์นี้มีสีเหลืองและสีที่เกิดจะเข้มขึ้นเมื่อเวลาผ่านไปเพราะเกิดการสลายตัวจากแสง

ออกซีเตตราซัยคลินค่อนข้างเสถียรภายใต้อุณหภูมิและความดันปกติไวต่อแสง สามารถละลายน้ำได้ง่าย มีน้ำหนักโมเลกุลเท่ากับ 460.44 จุดหลอมเหลว 183 °ซ และความสามารถ

ในการละลายน้ำ 0.6 มก./มล. (6.9 0.6 มก./มล. as HCl salt) 0.6 มก./มล. (20 °ซ) (Halling-Sørensen et al., 2003)



ภาพที่ 2.3 โครงสร้างเคมีของออกซีเตตราซัยคลิน
ที่มา: คนาวรรณ และปนัดดา (2547)

2.4.3 กลไกการออกฤทธิ์

ออกซีเตตราซัยคลินจะเข้าไปยับยั้งการสังเคราะห์โปรตีนโดยจับกับ 30_S ไรโบโซมของแบคทีเรีย ออกฤทธิ์กว้างทั้งแบคทีเรียแกรมลบและแกรมบวก หากออกซีเตตราซัยคลินออกฤทธิ์ปริมาณสูงก็จะขัดขวางการสังเคราะห์โปรตีนในเซลล์ของสัตว์ที่เลี้ยงลูกด้วยนมทุกชนิดและจะออกฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย

2.4.4 ประโยชน์

ประโยชน์ของออกซีเตตราซัยคลิน มีหลายประการ ได้แก่ ช่วยยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่คอยทำลายหรือแย่งอาหารของสัตว์ หรือยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่ขับของเสียในตัวสิ่งมีชีวิตออกมามากเกินไป

2.4.5 การสลายตัว

กระบวนการเปลี่ยนรูปและการสลายตัวของสารในดินเกิดจากกระบวนการต่างๆ ดังนี้

1) ปฏิกิริยาการสลายตัวโดยแสง (Photolysis) เป็นกระบวนการที่อาศัยแสงในการเกิดปฏิกิริยา มักเกิดบริเวณพื้นผิวหน้าของดินซึ่งโดนแสงแดดส่องถึง เมื่อสารดูดซับแสงแดดจะเกิดการเปลี่ยนรูปโดยแสง (Phototraformation) ไปเป็นสารอื่น กระบวนการนี้สามารถเรียกได้ว่า (Photodegration)

2) ปฏิกิริยาไฮโดรไลซีส (Hydrolysis) เป็นกระบวนการสลายของสารเมื่อมีน้ำมาอยู่ด้วย โดยอัตราการเกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซีสขึ้นอยู่กับอุณหภูมิและพีเอช เนื่องจากการเกิดปฏิกิริยาที่มีน้ำมักจะเร่งให้เกิดไฮโดรเนียมไอออน (Hydronium ion, H^+) หรือไฮดรอกไซด์ไอออน (Hydroxide ion, OH^-)

3) กระบวนการย่อยสลายทางชีวภาพ (Biodrgradation) เป็นกระบวนการสลายตัวโดยที่จุลินทรีย์เป็นตัวย่อยสลายสารอินทรีย์ (Microbial degradation) อัตราการเกิดการย่อยสลายโดยจุลินทรีย์ขึ้นอยู่กับปัจจัยต่างๆเช่น อุณหภูมิ พีเอช การดูดซับ ชนิดและจำนวนจุลินทรีย์ ความชื้น เป็นต้น โดยทั่วไปการย่อยสลายสารในสิ่งแวดล้อมที่อยู่ใต้ดิน เช่น ในดินและน้ำใต้ดิน กระบวนการโดยแสงจะส่งผลได้น้อย ในขณะที่การย่อยสลายโดยจุลินทรีย์จะมีความสำคัญมากกว่า

ปัจจัยที่มีผลต่อการสลายตัวของออกซีเตตราซยคลินในสิ่งแวดล้อม ได้แก่ ความเป็นกรดด่าง อุณหภูมิ และแสง การศึกษาของ Doi and Stoskopf (2000) ได้ทดลองการสลายตัวของออกซีเตตราซัยคลินในสภาวะควบคุม ได้แก่ ความเป็นกรดด่าง อุณหภูมิ และแสง ที่แตกต่างกัน พบว่าออกซีเตตราซัยคลินมีความเสถียรที่อุณหภูมิ 4 °ซ และจะสลายตัวในอุณหภูมิ 43 °ซ นอกจากนั้นการที่ออกซีเตตราซัยคลินสัมผัสกับแสงโดยตรง จะทำให้อัตราการสลายตัวสูงกว่าในสภาวะที่ไม่มีแสงถึง 3 เท่า และในสภาวะที่ออกซีเตตราซัยตลินมีความเป็นกรดด่างเท่ากับ 3.0 จะมีความคงตัวมาก

การศึกษาของ Yang et al. (2009) ซึ่งทดลองการสลายตัวของออกซีเตตราซัยคลินในดิน พบว่า ดินที่ไม่ผ่านการฆ่าเชื้อ มีค่าครึ่งชีวิตเท่ากับ 29-56 วัน ส่วนดินที่ผ่านการฆ่าเชื้อมีค่าครึ่งชีวิตเท่ากับ 99-120 วัน ซึ่งแสดงให้เห็นว่า การฆ่าเชื้อดินทำให้การสลายตัวของออกซีเตตราซัยคลินช้าลง เนื่องจากจุลินทรีย์ในดินสามารถย่อยสลายออกซีเตตราซัยคลินในดินได้

การศึกษาของ Boonsaner and Hawker. (2010) ได้ศึกษาการสลายตัวของออกซีเตตราซัยคลินในดินและในน้ำพบวาการสลายตัวของออกซีเตตราซัยคลินในน้ำจะเร็วกว่าการสลายตัวในดินโดยค่าครึ่งชีวิตของออกซีเตตราซัยคลินในดินที่อุณหภูมิ 30 °ซ เท่ากับ 29.50 ชม. ส่วนค่าครึ่งชีวิตของออกซีเตตราซัยคลินในน้ำที่อุณหภูมิ 28 °ซ เท่ากับ 329 ชม. ซึ่งอาจจะขึ้นกับอุณหภูมิและปริมาณแสง

นอกจากนี้ได้สรุปการศึกษาที่ผ่านมาในตารางที่ 2.2 แสดงการสลายตัวของออกซีเตตราซัยคลินในสิ่งแวดล้อมสำหรับการสลายตัวของออกซีเตตราซัยคลินในดินจะขึ้นกับปัจจัย ได้แก่ คุณสมบัติของดิน และความเป็นกรดด่าง ซึ่งจะแตกต่างกับการสลายตัวของยาปฏิชีวนะในสิ่งแวดล้อมตรงที่การสลายตัวในดินจะสามารถลดความเข้มข้นของออกยาซีเตตราซัยคลินได้เล็กน้อย (Schmitt, 2003)

ตารางที่ 2.2 ค่าครึ่งชีวิตของออกซีเตตราซัยคลินในสิ่งแวดล้อม

สิ่งแวดล้อม	ค่าครึ่งชีวิต	เอกสารอ้างอิง
ดินที่ผ่านการฆ่าเชื้อ	99-120 วัน	Yang et al. (2009)
ดินที่ไม่ผ่านการฆ่าเชื้อ	29-56 วัน	Yang et al. (2009)
ตะกอนดิน	9-141 วัน	Boxall et al. (2002)
ตะกอนดิน	70 วัน	Sithole and Guy (1987)
ดินที่อุณหภูมิ 30 °ซ	29.50 ชม.	Boonsaner and Hawker (2010)
น้ำจืด	58 ชม.	Choo (1994)
น้ำทะเล	298 ชม.	Choo (1994)
น้ำในดิน	2-270 ชม.	Halling-Sørensen et al., (2003)
น้ำผิวดิน	216 ชม.	Doi and Stoskopf (2000)
น้ำที่อุณหภูมิ 37 °ซ	336 ชม.	Wassef (1983)
น้ำที่อุณหภูมิ 28 °ซ	329 ชม.	Boonsaner and Hawker (2010)

<u>อัตราคงที่ของการสลายตัว</u> (Degradation rate constant, k_{deg})

โดยทั่วไปปริมาณสารในสิ่งแวดล้อมจะมีการเปลี่ยนแปลงตามเวลา ซึ่งการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นสารเกิดจากปฏิกิริยาต่างๆ เช่น กระบวนการสลายตัวโดยแสง กระบวนการสลายตัวโดยอุณหภูมิ เป็นต้น กระบวนการย่อยสลายสารทำให้ปริมาณสารในสิ่งแวดล้อมลดลงเมื่อเวลาผ่านไป และปริมาณที่ลดลงนั้นจะลดลงด้วยอัตราคงที่ของการสลายตัว (Degradation rate constant, k_{deg}) ซึ่งมีหน่วยเป็นต่อวัน การคำนวณ Rate constant หรือ ค่า k_{deg} ของสาร ได้จากค่าความชัน (Slope) ของความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่าง ln (C_t /C_o) กับเวลา (t) (มลิวรรณ, 2552) ดังนี้

$$C_t = C_0 e^{-K_{deg} t}$$

เมื่อ C_0 คือ ความเข้มข้นเริ่มต้น (มก./ล.)

C_t คือ ความเข้มข้นที่เวลา t (มก./ล.)

k_{deg} คือ อัตราคงที่การสลายตัว (วันหรือชม.)

t คือ เวลา (ชม.)

เนื่องจากการสลายตัวทำให้ความเข้มข้นของสารลดลงตามเวลา ดังนั้น k_t จึงมีค่าเป็นลบ ความเร็วที่สารสลายตัวมักแสดงเป็นค่าครึ่งชีวิต โดยค่าครึ่งชีวิต คือ ระยะเวลาที่ความเข้มข้นของสารลดลงเหลือครึ่งหนึ่งของความเข้มข้นเริ่มต้น สามารถคำนวณได้จาก

$t_{½}$ คือ ln2/ k หรือ 0.693/ k

เมื่อ $t_{1/2}$ คือ ค่าครึ่งชีวิต

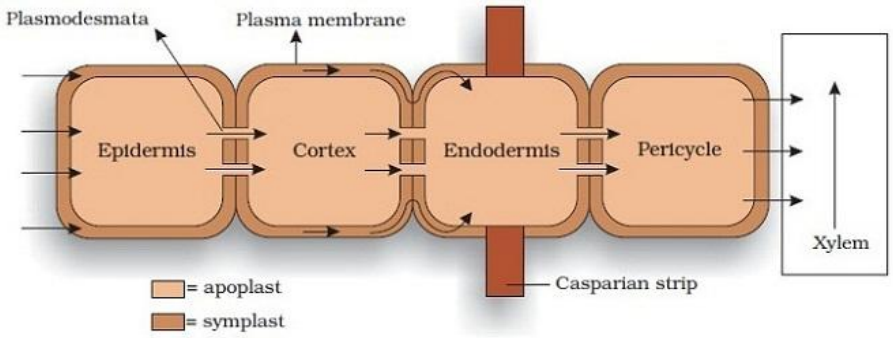
k_{deg} คือ อัตราคงที่การสลายตัว

2.5 การสะสมในสิ่งมีชีวิต

สารต่างๆจะสะสม (Bioconcentration) ในสิ่งมีชีวิต เกิดขึ้นเมื่อความเข้มข้นของสารที่รับเข้าไปในเซลสูงกว่าสารที่ขับออกมาทำให้เกิดการสะสม แต่ปริมาณการสะสมจะขึ้นกับสมบัติทางทางกายภาพและทางเคมีของสาร ชนิดของสิ่งมีชีวิต และองค์ประกอบของสิ่งแวดล้อม (Connell, 1990)

2.5.1 การรับสารในพืช (Plant uptake)

การสะสมสารในพืชพบได้ในทุกส่วนทั้งรากและลำต้น ส่วนใหญ่พืชรับสารผ่านทางรากโดยกระบวนการเคลื่อนย้ายซึ่งเกิดขึ้นได้ 3 ลักษณะ คือ การเคลื่อนที่ผ่านอะโพพลาส (Apoplast) การเคลื่อนที่ผ่านซิมพลาส (Symplast) และการเคลื่อนที่ผ่านเซลล์ในชั้นต่างๆเข้าไปโดยตรง (Transmembrane) (มลิวรรณ, 2552) ดังภาพที่ 2.4 การเคลื่อนที่ผ่านอะโพพลาส (Apoplast) คือ การเคลื่อนที่ของสารจากภายนอกผ่านผนังเซลล์เข้าสู่เซลล์เมมเบรนและเคลื่อนที่จากเซลล์หนึ่งไปอีกเซลล์หนึ่งโดยผ่านช่องพลาสโมเดสมาตา (Plasmodesmata) แล้วเข้าสู่ไซเลม (Xylem) ส่วนการเคลื่อนที่ผ่านซิมพลาส (Symplast) คือ การเคลื่อนที่ของสารที่อยู่ระหว่างช่องว่างของผนังเซลล์ในชั้นเอพิเดอร์มิส (Epidermis) และคอร์เทค (Cortex) จนถึงชั้นเอนโดเดอร์มิส (Epidodermis) ที่มีชั้นคาสปาเรียนสทริป (Casparian strip) ขวางอยู่ ทำให้สารต้องเคลื่อนย้ายเข้าไปในเซลล์เมมเบรนก่อนจะเข้าสู่ชั้นเพอริไซเคิล (Pericycle) และไซเลม (Xylem) กระบวนการที่พืชได้รับสารจากทางรากแล้วเคลื่อน ที่ไปยังส่วนต่างๆของลำต้น เรียกว่าการ Translocation จะอาศัยระบบลำเลียงน้ำและอาหารของพืชและอาศัยกระบวนการคายน้ำของพืช เรียกว่า Transpiration เป็นตัวช่วย (วงจันทร์, 2535) โดยทั่วไปสารปฏิชีวนะนั้นจะเคลื่อนที่ผ่านผนังเซลล์เข้าโดยตรงได้ดีกว่า ซึ่งการเคลื่อนที่ผ่านผนังเซลล์เกี่ยว ข้องกับสมบัติทางกายภาพและทางเคมีของสาร คือค่าสัมประสิทธิ์การแบ่งส่วนระหว่างออคตานอลกับน้ำ (Octanol/water partition coefficient, K_{ow}) ดังนั้นค่า K_{ow} สูงแสดงว่าสารนั้นสะสมในในดินและไขมันได้ดีและสารที่มีค่า K_{ow} จะถูกดูดซับได้ดีทั้งในดินและไขมัน (Boxall and Ericson, 2012) ทำให้สารเหล่านี้มีโอกาสสะสมในพืชได้



ภาพที่ 2.4 การเคลื่อนย้ายสารในราก
ที่มา: Pedersen (1993)

2.5.2 ค่าการสะสมสารในพืช

ค่าการสะสมสารในสิ่งมีชีวิต (Bioconcentration factor; BCF) ได้จากการคำนวณเทียบอัตราส่วนความเข้มข้นของสารที่พบในสิ่งมีชีวิต (C_B) เช่น พืชต่อความเข้มข้นที่พบในสิ่งแวดล้อม (C_M) ซึ่งอาจเป็นน้ำ (C_W) หรือดิน (C_S) ดังนี้

$$BCF \text{ หรือ } CF = C_B / C_M$$

สำหรับค่าการสะสมสารในรากพืช (Root concentration factor; RCF) คำนวณจากความเข้มข้นของสารที่พบในราก (C_R) หารด้วย ความเข้มข้นของสารในดิน (C_s) ดังนี้

$$RCF = C_R / C_S$$

ส่วนค่าการสะสมสารในลำต้นพืช (Shoot concentration factor; SCF) คำนวณจากความเข้มข้นของสารที่พบในลำต้น (C_{Sh}) หารด้วย ความเข้มข้นของสารในดิน (C_s) ดังนี้

$$RCF = C_{Sh} / C_S$$

2.6 ออกซีเตตราซัยคลินในสิ่งแวดล้อม

ออกซีเตตราซัยคลินเป็นสารปฏิชีวนะที่สามารถแพร่เข้าสู่สิ่งแวดล้อมและตกค้างอยู่ในน้ำหรือดิน ซึ่งแหล่งที่มาของออกซีเตตราซัยคลินส่วนใหญ่มาจากมูลสัตว์ที่ขับถ่ายออกมาและถูกนำมาใช้ทำปุ๋ยคอกเพื่อใช้ในการเพาะปลูก ทำให้ออกซีเตตราซัยคลินมีโอกาสแพร่กระจายเข้าสู่พืชโดยกระบวนการดูดน้ำและแร่ธาตุจากดิน ผลการตรวจวัดปริมาณออกซีเตตราซัยคลินในสิ่งแวดล้อม ได้แก่ ดิน ตะกอนดิน แหล่งน้ำ และพืช แสดงในตารางที่ 2.3

ตารางที่ 2.3 ปริมาณออกซีเตตราซัยคลินที่ตรวจพบในสิ่งแวดล้อม

สิ่งแวดล้อม	ปริมาณที่ตรวจพบ	เอกสารอ้างอิง
ดิน	29 มก./กก.	Martínez-Carballo et al. (2007)
ตะกอนดิน	0.10-4.90 มก./กก.น.น.แห้ง	Sithole and Gay (1987)
ตะกอนดิน	0.50-4.00 มก./กก.	Capone et al. (1996)
ตะกอนดินในทะเล	0.65-4.20 มก./กก.	Kerry et al. (1996)
น้ำผิวดิน	0.34 มก./ล.	Koplin et al. (2002)
มูลสุกร	33-2000 มก./ก.	Loke et al. (2002)
ไข่น้ำ	2.32-3.41 ล./กก.น.น.แห้ง	ชลธิชา (2556)
สาหร่ายบัว	1.94-3.09 ล./กก.น.น.แห้ง	ชลธิชา (2556)
รากผักบุ้ง	2.42-3.66 ล./กก.น.น.แห้ง	ชลธิชา (2556)

2.6.1 งานวิจัยที่เกี่ยวกับออกซีเตตราซัยคลินในดิน

การสะสมของออกซีเตตราซัยคลินมีผลกระทบต่อจุลินทรีย์ในดิน เนื่องจากจุลินทรีย์ในดินมีความสำคัญต่อระบบนิเวศ เช่น การย่อยสลายมลพิษที่อยู่ในดินและตะกอนดิน แม้ว่าความเข้มข้นของออกซีเตตราซัยคลินในดินและตะกอนดินที่พบส่วนใหญ่ยังอยู่ในระดับต่ำและอาจยับยั้งจุลินทรีย์ไม่รุนแรงแต่ก็อาจนำไปสู่การดื้อสารของจุลินทรีย์ในสิ่งแวดล้อม (Kochansky et al, 2000) พบว่าออกซีเตตราซัยคลินถูกดูดซึมในดินและตะกอนดินได้อย่างหนาแน่น

จากการศึกษาของ Sithole and Guy (1987) พบว่าออกซีเตตราซัยคลินที่ถูกปล่อยจากฟาร์มเลี้ยงสัตว์ในประเทศเดนมาร์กสามารถสะสมในตะกอนดินสูงถึง 0.10 - 4.90 มก. /กก.น.น. แห้ง และมีค่าครึ่งชีวิตประมาณ 70 วัน นอกจากนั้นยังพบว่าออกซีเตตราซัยคลินที่สะสมอยู่ในชั้นดินที่ลึกลงไปถูกย่อยสลายได้น้อยมากถึงแม้เวลาจะผ่านไป 180 วัน แสดงว่าออกซีเตตราซัยคลินมีความคงทนในธรรมชาตินานมาก

การศึกษาของ Alistair (2003) รายงานว่าการแพร่กระจายของสารนั้นขึ้นอยู่กับการดูดซับสารในดินและความคงทนของสาร จากนั้นสารส่วนใหญ่จะเคลื่อนที่ไปสู่น้ำผิวในดินและมีส่วนน้อยที่ซึมปนเปื้อนในน้ำใต้ดิน สำหรับยาที่เปลี่ยนรูปแล้วจะมีความคงทนและเคลื่อนที่ได้ดีกว่าสารเดิมที่ยังไม่เปลี่ยนรูป

การศึกษาของ Blackwell et al. (2007) พบการสะสมออกซีเตตราซัยลินในดินที่ผสมมูลสัตว์พบว่าออกซีเตตราซัยคลินสามารถคงตัวอยู่ในดินได้ มีการสะสมเฉลี่ยประมาณ 0.90 มก./กก.

2.6.2 งานวิจัยที่เกี่ยวกับออกซีเตตราซัยคลินในพืช

การแพร่กระจายของออกซีเตตราซัยคลินในดินส่วนใหญ่มาจากมูลสัตว์ที่ขับถ่ายออกมาแล้วนำไปใช้ทำปุ๋ยคอกเพื่อการเพาะปลูก ยาจึงมีโอกาสแพร่เข้าสู่พืชโดยกระบวนการดูดน้ำและอาหารของรากพืช ปริมาณของการสะสมของยาอาจไม่มากพอที่จะเป็นอันตรายต่อพืชโดยตรง แต่อาจมีผลกระทบต่อการเจริญเติบโตของพืชได้ เช่น การศึกษาของ Kong et al. (2007) ซึ่งทดลองการสะสมของออกซีเตตราซัยคลินในต้นอัลฟาฟ่า พบว่าออกซีเตตราซัยคลินสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของต้นอัลฟาฟ่าโดยทำให้ส่วนของลำต้นและรากมีการเจริญเติบโตช้าลง ถึง 65 และ 85 เปอร์เซ็นต์

การศึกษาของ Kumar et al. (2005) ทดลองปลูกหัวหอมใหญ่และกะหล่ำปลีในดินที่มีออกซีเตตราซัยคลินปนเปื้อน การทดลองพบว่ามีออกซีเตตราซัยคลินตกค้างในเนื้อเยื่อของพืชตั้งแต่ 2 - 17 นก./ก.น.น.เปียกและพบว่าความเข้มข้นนี้จะสูงขึ้นเมื่อปริมาณออกซีเตตราซัยคลินในปุ๋ยคอกมากขึ้น

สำหรับการศึกษาของ Boxall et al. (2002) ในแครอท พบว่าออกซีเตตราซัยคลินทำให้การเจริญเติบโตของแครอทลดลง และเมื่อเปรียบเทียบแครอทที่ปอกเปลือกและไม่ได้ปอกเปลือก พบว่าการสะสมออกซีเตตราซัยคลินเฉพาะในผิวชั้นนอกของแครอทเท่านั้น แสดงว่าการสะสมของออกซีเตตราซัยคลินมีในผิวชั้นนอกของแครอทเท่านั้น และการดูดซึมของสารทางระบบรากไม่มีความสัมพันธ์กับค่า K_{ow} แต่อาจเกี่ยวกับปัจจัยอื่น เช่น การแลกเปลี่ยนประจุบวกที่ผิวดิน

ส่วนการศึกษาของ Liu et al. (2009) ได้ศึกษาปฏิกิริยาของสารปฏิชีวนะทั้งหมด 6 ชนิด ได้แก่ Chrotetracycline, Tetracycline, Tylosin, Sulfamethoxazole, Sulfamethazine และ Trimethoprim ต่อการเจริญเติบโตของต้นข้าวและจุลินทรีย์ในดิน พบว่าสารปฏิชีวนะทั้ง 6 ชนิดมีความเป็นพิษต่อพืชแตกต่างกัน โดยต้นข้าวมีความไวต่อสารปฏิชีวนะทั้งสองชนิดคือ Sulfamethoxazole และ Sulfamethazine ส่วน Trimethoprim มีผลต่อกระบวนการหายใจของต้นข้าวอย่างมีนัยสำคัญ ในขณะที่ Tetracycline มีผลเพียงเล็กน้อย

การศึกษาของ Boonsaner and Hawker (2010) ได้ศึกษาการสะสมออกซีเตตราซัยคลินในพืช 3 ชนิด คือ ต้นถั่วเหลือง ธูปฤาษี และต้นเหงือกปลาหมอ พบว่าต้นถั่วเหลืองสะสมออกซิเตตราซัยคลินได้ดินกว่าธูปฤาษีและต้นเหงือกปลาหมอ โดยมีค่าการสะสมของออกซีเตตราซัยคลิน (BCF) สูงสุดเท่ากับ 3.32 กก.ดินแห้ง/กก.พืชแห้ง

2.7 การบำบัดดินด้วยพืช

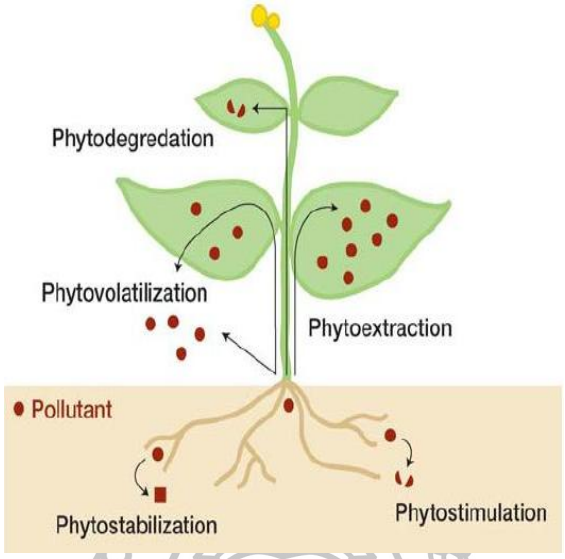
ในปี ค.ศ. 1967 นักวิทยาศาสตร์ได้ค้นพบความสามารถของพืชในการดูดซึม (Uptake) และสะสมสารเคมีทั้งสารประกอบอินทรีย์และสารประกอบอนินทรีย์ต่างๆจากสิ่งแวดล้อมเข้าสู่ต้นพืช จากผลการศึกษาวิจัยต่างๆนำไปสู่การพัฒนาเป็นกระบวนการเพื่อใช้พืชบำบัดสารมลพิษที่ปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อม ซึ่งกระบวนการนี้เรียกว่า Phytoremediation (อลิสา, 2550)

การใช้พืชช่วยบำบัดมลพิษ หรือ Phytoremediation เป็นกระบวนการใช้พืชเพื่อกำจัดความเป็นพิษของสารมลพิษที่ปนเปื้อน โดยพืชจะช่วยดูดซับหรือเปลี่ยนรูปมลพิษที่มีอยู่ในดิน น้ำ น้ำใต้ดิน หรือแม้แต่ในอากาศ และบางครั้งพืชยังปล่อยสารบางอย่างจากรากเพื่อกระตุ้นการทำงานของจุลินทรีย์ที่มีอยู่ในรากให้ช่วยย่อยสลายสารมลพิษ (EPA, 2000) สำหรับกลไกการกำจัดสารมลพิษของพืชอาจเกิดขึ้นทางตรงโดยการย่อยสลายของสารนั้นในต้นพืช หรือโดยทางอ้อมซึ่งได้แก่ การดูดซึม การเคลื่อนย้ายสารนั้นเข้าสู่พืชและสะสมสารไว้ในต้นพืช สำหรับวิธีทางอ้อมดังกล่าว สารมลพิษจะไม่ได้ถูกกำจัดโดยการย่อยสลายให้หมดไป เพียงแต่ช่วยลดปริมาณของสารที่ปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อม ทำให้ความเสี่ยงที่สารจะเป็นอันตรายต่อสิ่งมีชีวิตลดลง

2.7.1 เทคโนโลยี Phytoremediation

เทคโนโลยี Phytoremediation เป็นการเลือกใช้พืชในการบำบัดสารมลพิษในบริเวณที่มีการปนเปื้อนเพื่อลดอันตรายของสารมลพิษในสิ่งแวดล้อม ก่อนทำการศึกษาจะต้องมีความเข้าใจในเรื่องพื้นฐานของพฤติกรรมในสารมลพิษที่จะทำการบำบัด เพราะการใช้พืชนั้นมีข้อจำกัดที่จะใช้บำบัดกับพื้นที่ที่มีการปนเปื้อนเป็นบริเวณกว้าง ปริมาณหรือระดับความเข้มข้นของสารมลพิษที่ปนเปื้อนเป็นปัจจัยจำกัดปัจจัยหนึ่ง ซึ่งหากพื้นที่ที่ปนเปื้อนมีระดับการปนเปื้อนที่ค่อนข้างสูงอาจส่งผลกระทบต่อพืชได้ เช่น ทำให้พืชมีอัตราการเจริญเติบโตที่ลดลงหรือตายและอาจต้องใช้ระยะเวลาในการบำบัดที่นานขึ้น นอกจากนี้การเลือกชนิดพืชที่ใช้ในการบำบัดนั้นไม่ควรเลือกพืชที่ใช้ในการบริโภคหรือเป็นพืชที่อยู่ในห่วงโซ่อาหาร

Phytoremediation เป็นการบำบัดมลพิษโดยการพึ่งพาสิ่งที่มีอยู่แล้วในธรรมชาติ เป็นวิธีที่ประหยัดต้นทุนและไม่ทำลายธรรมชาติ ในการประยุกต์ใช้เทคโนโลยี Phytoremediation นั้นต้องคำนึงถึงปัจจัยต่างๆได้แก่ ชนิดพืช ลักษณะของพื้นที่ที่ปนเปื้อน และประเภทของสารที่ต้องการกำจัด กระบวนการที่เกี่ยวข้องกับ Phytoremediation แบ่งเป็น 5 กระบวนการหลัก (ภาพที่ 2.5) (อลิสา, 2550) ได้แก่



ภาพที่ 2.5 กระบวนการที่เกี่ยวข้องกับ Phytoremediation
ที่มา: Chen (2010)

1) การสกัดด้วยพืช (Phytoextraction หรือ Phytoaccumulation)

เป็นการกำจัดสารโดยการดูดซึมสารที่อยู่ในดินให้เคลื่อนย้ายเข้าสู่พืช โดยพืชจะดูดซึมสารนั้นผ่านทางรากแล้วไปเก็บสะสมในเนื้อเยื่อส่วนต่างๆ เช่น ลำต้น และใบ ซึ่งปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการบำบัดสารโดยวิธีนี้ได้แก่ อัตราการดูดซึมสารโดยราก สัดส่วนของสารที่ถูกดูดซึมโดยราก ความทนทานต่อสารของเซลล์พืช ดังนั้นพืชที่ใช้ในการบำบัดวิธีนี้จึงควรมีความสามารถในการสะสมสารโดยผ่านรากได้มาก และสามารถเคลื่อนย้ายสารไปสู่ส่วนของต้นพืชได้เป็นอย่างดี

2) การย่อยสลายโดยพืช (Phytodegradation หรือ Phytotransformation)

เป็นการดูดซึมสารจากสิ่งแวดล้อมเข้าสู่รากและสะสมในเนื้อเยื่อส่วนต่างๆ เช่น ลำต้น และใบ จากนั้นสารจะถูกเปลี่ยนรูปหรือสลายตัวด้วยกระบวนการหรือวิถีเมแทบอลิซึมต่างๆในพืชจนได้สารที่มีความเป็นพิษน้อยลงหรือไม่มีเลย

3) การตรึงด้วยพืช (Phytostabilization)

เป็นการเปลี่ยนรูปสารให้อยู่ในรูปที่มีการละลายน้ำได้น้อยลง โดยการใช้รากพืชเพื่อจำกัดการเคลื่อนที่และการดูดจับสารในดิน พืชที่ใช้ควรเป็นพืชที่ใช้น้ำมากจึงช่วยลดปริมาณการซึมผ่านของน้ำในโครงสร้างของดิน เป็นการลดปริมาณสารที่อาจปนเปื้อนลงไปสู่น้ำใต้ดินและลดการกระจายของสารไปยังบริเวณอื่นๆ ด้วย การบำบัดโดยวิธีนี้สามารถเกิดขึ้นโดยผ่านกระบวนการซับ (Sorption) การตกตะกอน (Precipitation) การเกิดสารเชิงซ้อน (Complexation) การรีดิวซ์เวเลนซีโลหะ (Metal valence reduction)

4) การทำให้ระเหย (Phytovolatilization)

เป็นการใช้พืชเปลี่ยนสถานะของสารให้เป็นก๊าซหรือระเหยออกไป พืชจะดูดจับสารไว้และด้วยกลไกลที่เกิดขึ้นในต้นพืชเองจะทำการแปลง (Tranformation) สารให้อยู่ในรูปที่ระเหยได้และมีความเป็นพิษลดลงจากเดิม

5) การกระตุ้นด้วยพืช (Phytostimulation)

เป็นการย่อยสลายสารมลพิษด้วยจุลินทรีย์ โดยรากพืชจะหลั่งสารบางอย่างออกมา สารที่ออกมาจะช่วยกระตุ้นการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์เพื่อเร่งการย่อยสลายสารมลพิษ วิธีนี้สามารถช่วยลดปริมาณกากมลพิษได้มาก (จันทนี, 2553)

2.7.2 ตัวอย่างการใช้พืชบำบัดสารพิษในดิน

การใช้พืชช่วยดูดซับสารพิษเริ่มเป็นที่นิยมเนื่องจากค่าใช้จ่ายไม่สูง และไม่ถูกต่อต้านจากสังคม งานวิจัยที่ยกเป็นตัวอย่างของการใช้พืชดูดซับสารพิษหรือสารปนเปื้อนในดินได้แก่

งานวิจัยของ Boonsaner et al. (2011) ได้ศึกษาการดูดซับสาร BTEX (Benzene, Toluene, Ethylbenzene และ Xylene) โดยใช้ต้นพุทธรักษา เพื่อใช้หาประสิทธิภาพของพืชในการบำบัดดินที่มีการปนเปื้อน BTEX ผลจากการใช้พุทธรักษาพบว่ามีสาร BTEX สะสมในส่วนของราก ลำต้น และเหง้า นอกจากนั้นปริมาณสารที่ต้นพุทธรักษาได้รับต่อวัน (Uptake rate) คือ Benzene (0.23 - 1.76 มก./วัน) > Toluene (0.06 - 0.22 มก./วัน) > Ethylbenzene (0.04 - 0.47 มก./วัน) > Xylene (0.02 - 0.30 มก./วัน) โดยต้นพุทธรักษามีประสิทธิภาพในการบำบัดสาร BTEX (Benzene, Toluene, Ethylbenzene และ Xylene) คือ 89 - 97 เปอร์เซ็นต์, 86 - 97 เปอร์เซ็นต์, 83 - 96 เปอร์เซ็นต์ และ 70 - 96 เปอร์เซ็นต์ จึงสรุปได้ว่า ต้นพุทธรักษาสามารถดูดซับสาร BTEX ที่ปนเปื้อนในดินได้ดี

งานวิจัยของบัญชาการ (2548) ได้ศึกษาการบำบัดดินที่ปนเปื้อนทองแดง โดยใช้ผักกาดเขียวปลี ต้อยติ่ง และไมยราบ โดยศึกษาความเข้มข้นของทองแดงในส่วนรากและลำต้น การทดลองทำโดยปลูกพืชในดินที่มีการเติมทองแดงที่ความเข้มข้น 0, 50, 100, 150 และ 200 มก./กก. แล้ววิเคราะห์ความเข้มข้นของทองแดงในราก และลำต้นที่ระยะเวลาเก็บเกี่ยว 40, 50 และ 60 วัน ผลการทดลองสรุปได้ว่าผักกาดเขียวมีความเข้มข้นของทองแดงในส่วนที่อยู่เหนือดินมากที่สุดตามระยะเวลาการเก็บเกี่ยว สำหรับต้อยติ่งและไมยราบมีความเข้มข้นของทองแดงในรากมากกว่าส่วนที่อยู่เหนือดินและระยะเก็บเกี่ยวไม่มีผลต่อการสะสมในพืชทั้ง 2 ชนิด

งานวิจัยของจีราจันทร์ (2554) ได้ศึกษาสมรรถนะการเจริญเติบโตของหญ้าแฝกในดินที่ปนเปื้อนสารไตรคลอโรเอทธิลีน (TCE) และทดสอบการเคลื่อนย้ายของสารTEC ที่เข้าสะสมส่วนต่างๆของพืช การทดลองทำโดยปลูกหญ้าแฝก 4 สายพันธุ์ได้แก่ สายพันธุ์สงขลา 3 ศรีลังกา กำแพงเพชร2 และสุราษฎร์ธานี ในดินที่เก็บจากบริเวณจังหวัดปทุมธานีที่มี TCE ปนเปื้อน 549 มก./กก. ผลการทดลองพบว่า หญ้าแฝกทั้ง 4 สายพันธุ์สามารถเจริญเติบโตได้ในดินที่ปนเปื้อน TCE โดยมีอัตราการอยู่รอด 100 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อปลูกหญ้าแฝกในวัสดุปลูกที่ประกอบด้วย ดินที่ปนเปื้อน TCE :

กาบมะพร้าวสับ : ปุ๋ยคอกในอัตราส่วน 2 : 3 : 1 พบว่าหญ้าแฝกสามารถเคลื่อนย้ายสาร TCE เข้าไปสะสมในพืชได้และสะสมในส่วนของใบมากที่สุด รองลงมาคือ ลำต้นและรากตามลำดับ

งานวิจัยของดวงกมลและชมพูนุท (2556) ได้ศึกษาการดูดซับสังกะสี ตะกั่ว และทองแดงของต้นทานตะวัน การทดลองใช้ทานตะวันสายพันธุ์แปซิฟิก 77 ปลูกในดินที่ปนเปื้อนด้วยสารตะกั่ว 550 มก./กก. สังกะสี 140 มก./กก. และทองแดง 350 มก./กก. นอกจากนี้ยังได้ศึกษาอิทธิพลของ $(NH_4)_2SO_4$, NH_4NO_3 และ EDTA ที่มีต่อการสะสมโลหะหนักของพืชด้วย โดยต้นทานตะวันมีลักษณะเด่นคือ มีระยะการเก็บเกี่ยวได้นานอยู่ที่ประมาณ 90 วัน ผลการวิจัยพบว่า เมื่อไม่เติมเกลือ ($(NH_4)_2SO_4$, NH_4NO_3 และ EDTA) ในดิน ต้นทานตะวันจะสะสมตะกั่ว, ทองแดง และสังกะสีได้เท่ากับ 29.91, 45.50 และ 100.70 มก./กก. ตามลำดับ และเมื่อเติม NH_4NO_3 และ $(NH_4)_2SO_4$ จะทำให้พืชสะสมโลหะหนักทุกชนิดได้มากขึ้น โดย NH_4NO_3 จะส่งผลต่อการสะสมโลหะหนักมากที่สุด เมื่อพิจารณาเฉพาะในเมล็ดพบว่า ปริมาณตะกั่วในทุกชุดการทดลองสูงเกินค่ามาตรฐานอาหารที่มีสารปนเปื้อน แต่ปริมาณทองแดงและสังกะสีไม่เกินค่ามาตรฐาน

2.8 ดาวเรือง

พืชที่ใช้ทดลองในงานวิจัยนี้คือต้นดาวเรือง (ภาพที่ 2.6) ต้นดาวเรืองเป็นไม้ล้มลุกที่สามารถพบได้ทั่วไปและมีลักษณะที่สำคัญดังนี้

ภาพที่ 2.6 ต้นดาวเรือง (*Tagetes erecta* L.)
ที่มา: Wikipedia (2010)

ดาวเรือง มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Tagetes erecta* L. และมีชื่อสามัญหลายชื่อได้แก่ Marigolds, African marigold, ดาวเรือง, คำปู้จู้ (ภาคเหนือ) ดาวเรืองมีถิ่นกำเนิดในประเทศเม็กซิโก ต่อมามีผู้นำเข้าไปปลูกในยุโรป เนื่องจากเป็นไม้ที่ปลูกง่ายเลี้ยงง่าย โตเร็ว อีกทั้งดอกมีความสวยงาม ปักแจกันได้นาน 1 - 2 สัปดาห์ และแข็งแรงไม่ค่อยมีโรคหรือแมลงรบกวน ให้ดอกเร็ว มีระยะเวลาสั้น ประมาณ 60 - 70 วัน จึงเป็นที่นิยมปลูกอย่างแพร่หลายเพราะสามารถปลูกได้ตลอดปี ดาวเรืองเป็นพืชที่ต้องการแสงแดด มีรากหนาแน่นจำนวนมาก สามารถเจริญเติบโตได้ในดินทุกชนิด

ลักษณะของต้นดาวเรืองเป็นไม้ล้มลุก สูงประมาณ 15 - 60 ซม. ลำต้นเป็นร่องสีเขียว แตกกิ่งก้านที่โคน ใบเป็นใบประกอบแบบขนนกปลายคี่ ออกเรียงตรงกันข้าม ใบย่อมมี 11 - 17 ใบ รูปรีกว้าง 0.50 - 1.50 ซม. ยาว 1.50 – 5.00 ซม. ปลายใบแหลม โคนใบสอบ ขอบใบจักเป็นซี่ฟัน แผ่นใบสีเขียว เนื้อใบนิ่ม ดอก ออกเป็นช่อที่ปลายยอด ดอกสีเหลืองเข้ม ริ้วประดับสีเขียวเชื่อมติดกันเป็นรูประฆัง หุ้มโคนช่อดอก ดอกแบ่งออกเป็น 2 วง คือ ดอกวงนอก เป็นรูปลิ้น บานแผ่ออกปลายม้วนลง เป็นดอกไม่สมบูรณ์ ดอกวงในเป็นหลอดเล็กอยู่ตรงกลาง ช่อดอกเป็นดอกสมบูรณ์เพศ ก้านช่อดอกยาว ผล เป็นผลแห้งๆไม้แตก สีดำ ดอกแห้งติดกับผล

ประโยชน์ของดาวเรืองใช้ปลูกเป็นไม้ดอกไม้ประดับที่มีสามารถทำรายได้ นอกจากปลูกเพื่อตัดดอกขาย ยังนิยมปลูกเพื่อประดับตกแต่งอาคารสถานที่ สีของดอกใช้เป็นสีย้อมผ้า และในปัจจุบันใช้ดอกดาวเรืองผสมในอาหารสัตว์เป็นอาหารเสริม เนื่องจากดาวเรืองเป็นพืชที่มีสารแซนโทฟิล (Xanthophyll) สูง จึงสามารถนำไปเป็นอาหารสัตว์ได้ดี นอกจากนั้นป้องกันแมลงได้ เนื่องจากดาวเรืองเป็นสารที่มีกลิ่นเหม็นแมลงไม่ชอบจึงสามารถใช้ป้องกันแมลงให้แก่พืชอื่น

งานวิจัยของ Chintakovid et al. (2007) ได้ทดลองใช้ต้นดาวเรืองเพื่อบำบัดสารหนูที่อำเภอร่อนพิบูลย์ จังหวัดนครศรีธรรมราช พบว่าต้นดาวเรืองดูดซับสารหนูได้โดยมีสะสมในส่วนของรากเท่ากับ 0.18 มก./ก. > ใบ 0.05 มก./ก. > ต้น 0.15 มก./ก. > ดอก 0.01 มก./ก. นอกจากนั้นดาวเรืองยังสามารถเติบโตได้ดีในบริเวณแปลงทดลองที่มีการปนเปื้อนสารหนู สำหรับกลไกการดูดซับสารพิษของดาวเรือง คือ Phytoextraction หรือ Phytoaccumulation การบำบัดโดยวิธีนี้มีข้อดีคือให้ความสะดวก ดำเนินการสามารถเก็บเกี่ยวหรือนำออกจากพื้นที่เพื่อกำจัดภายหลัง

บทที่ 3

การทดลอง

สำหรับการทดลองการสะสมออกซีเตตราซัยคลินในต้นดาวเรืองได้ศึกษาการสลายตัวของออกซีเตตราซัยคลินในดินด้วยเนื่องจากการสลายตัวของสารจากดินมีผลต่อความเข้มข้นของออกซีเตตราซัยคลินที่ต้นดาวเรืองได้รับ รวมทั้งการทดลองการดูดซับออกซีเตตราซัยคลินในดินซึ่งมีผลต่อความเข้มข้นของออกซีเตตราซัยคลินที่ต้นดาวเรืองได้รับเช่นเดียวกัน ดังนั้นการทดลองจึงแบ่งเป็น 3 ชุดทดลองดังนี้

การทดลองที่ 1 การทดลองการดูดซับออกซีเตตราซัยคลินในดิน
การทดลองที่ 2 การทดลองการสลายตัวของออกซีเตตราซัยคลินในดิน
การทดลองที่ 3 การทดลองการสะสมออกซีเตตราซัยคลินในต้นดาวเรือง
สำหรับรายละเอียดการทดลองมีดังนี้

3.1 การเตรียมการทดลอง

3.1.1 การเตรียมน้ำ

น้ำที่ใช้สำหรับทดลองเป็นน้ำปราศจากไอออน (Deionized water, DI) ที่ผ่านการฆ่าเชื้อ โดยนำน้ำปราศจากไอออนไปอบฆ่าเชื้อด้วยเครื่อง Autoclave ยี่ห้อ Hirayama รุ่น HVE-50 ที่อุณหภูมิ 121 °ซ ความดันที่ 15 บาร์ เป็นเวลา 15 นาที ก่อนนำไปใช้

3.1.2 การเตรียมพืช

ขั้นตอนการเตรียมพืชทดลองทำโดย

1) พืชที่ใช้ทดลอง คือต้นดาวเรือง ซื้อจากร้านขายต้นไม้ที่จังหวัดนครสวรรค์ โดยต้นที่ใช้ทดลองมีอายุประมาณ 30-45 วัน ซึ่งเป็นช่วงที่มีราก ใบเจริญสมบูรณ์ และยังไม่ออกดอก

2) การเตรียมต้นดาวเรืองทำโดยนำต้นดาวเรืองมาแช่น้ำสะอาดประมาณ 2-3 วัน เพื่อลดการปนเปื้อน แล้วนำไปปลูกในดินที่ไม่มีสารปนเปื้อนเป็นเวลา 15 วัน

3) มีการทดลองความเป็นพิษของออกซีเตตราซัยคลินในพืชทดลองทำโดยปลูกพืชในดินที่ปนเปื้อนออกซีเตตราซัยคลิน 3 ความเข้มข้น คือ 5 10 และ 15 มก./กก. เป็นเวลา 1 สัปดาห์ พบว่าการทดลองในความเข้มข้น 10 และ 15 มก./กก. ต้นดาวเรืองเหี่ยวเฉาและตาย แต่ในความเข้มข้นที่ 5 มก./กก. ต้นดาวเรืองเจริญเติบโตได้ปกติ ดังนั้นในการทดลองการสะสมออกซีเตตราซัยคลินในต้นดาวเรืองจึงเลือกที่ความเข้มข้น 5 มก./กก.

4) ก่อนทดลองนำต้นดาวเรืองไปทดสอบการปนเปื้อนของออกซีเตตราซัยคลิน บันทึกน้ำหนักและวัดความยาวรากของแต่ละต้น

3.1.3 การเตรียมดิน

ขั้นตอนการเตรียมดินทดลองทำโดยนำดินที่ได้จากสถานีวิจัยต้นน้ำยม กรมอุทยานสัตว์ป่าและพันธุ์พืช กระทรวงทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม จังหวัดแพร่ ไปล้างด้วยน้ำสะอาด จากนั้นนำดินไปตากให้แห้ง ร่อนเอากรวดที่ติดกับดินออก และนำดินไปอบฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ด้วยเครื่อง Autoclave ยี่ห้อ Hirayama รุ่น HVE-50 ที่อุณหภูมิ 121 °ซ ความดันที่ 15 บาร์ เป็นเวลา 30 นาที และก่อนนำไปทดลองได้ทดสอบการปนเปื้อนของออกซีเตตราซัยคลิน และวิเคราะห์คุณสมบัติทางกายภาพและเคมีของดิน

3.1.4 สารเคมี

1) Oxytetracycline HCl (Commercial grade บริษัท Dafeng Huasu Pharmaceutical CO., LTD, China

2) Acetone; Analytical reagent grade, Ajax Finechem, Australia

3) Oxalic acid ($H_2C_2O_4$); Ajax Finechem, Australia

4) Citric acid monohydrate ($C_6H_8O_7•H_2O$); Analytical reagent grade, Ajax Finechem, Australia

5) Di-sodium hydrogen orthophosphate anhydrous (Na_2PHO_4); Analytical reagent grade, Ajax Finechem, Australia

6) EDTA di-sodium salt ($C_{10}H1_4N_2Na_2O_8•2H_2O$); Analytical reagent grade, Ajax Finechem, Australia

7) Methanol; HPLC grade, Fisher Scientific, UK

8) Acetonitrile; HPLC grade, Fisher Scientific, UK

3.1.5 เครื่องมือและอุปกรณ์

1) เครื่อง HPLC (High performance liquid chromatography) ยี่ห้อ Water 600 photodiode array คอลัมน์ที่ใช้รุ่น HiQ Sil C18HS ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 4.60 มม. ยาว 150 มม.

2) เครื่อง Ultrasonic bath ยี่ห้อ Branson รุ่น 5210 ของบริษัท BRANSON

3) เครื่อง Homogenizer ยี่ห้อ Ultra turrax รุ่น T25 basic ของบริษัท IKA Labortechhik

4) ชุด Vacuum pump รุ่น 22AN88-IP20 ของบริษัท KNF Neuberger พร้อมชุดกรอง GF/C

5) เครื่อง Hot air oven ยี่ห้อ Binder รุ่น FD115

6) เครื่อง Autoclave ยี่ห้อ Hirayama รุ่น HVE-50

7) เครื่อง Orbital shaker ยี่ห้อ Gallenkamp รุ่น 3597

8) เครื่อง pH Meter ยี่ห้อ SCHOTT Instrument รุ่น Lab 850

9) เครื่องชั่ง 2 ตำแหน่ง ยี่ห้อ Mettler toledo รุ่น DB3002

10) เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง ยี่ห้อ Mettler toledo รุ่น AB204

11) Solid phase extraction (SPE) Strata-X33u 200 มก./6 มก. ของบริษัท Phenomenex, USA

12) Syringe filter nylon ขนาด 0.45 ไมครอน ยี่ห้อ Agela Technologies

13) Membrane filters (Nylon) ขนาด 0.45 ไมครอน ยี่ห้อ Agela Technologies.

14) กระดาษกรอง GF/C ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 47 มม. ยี่ห้อ Whatman

15) ขวดแก้วขนาด 100 มล.

3.2 วิธีการสกัดและการวิเคราะห์

3.2.1 การสกัดออกซีเตตราซัยคลินในตัวอย่างดินและพืช

การสกัดออกซีเตตราซัยคลิน ในตัวอย่างดิน และพืช ทำโดยวิธี Solid phase extraction ตามวิธีของ AOAC (1996) มีขั้นตอนดังต่อไปนี้

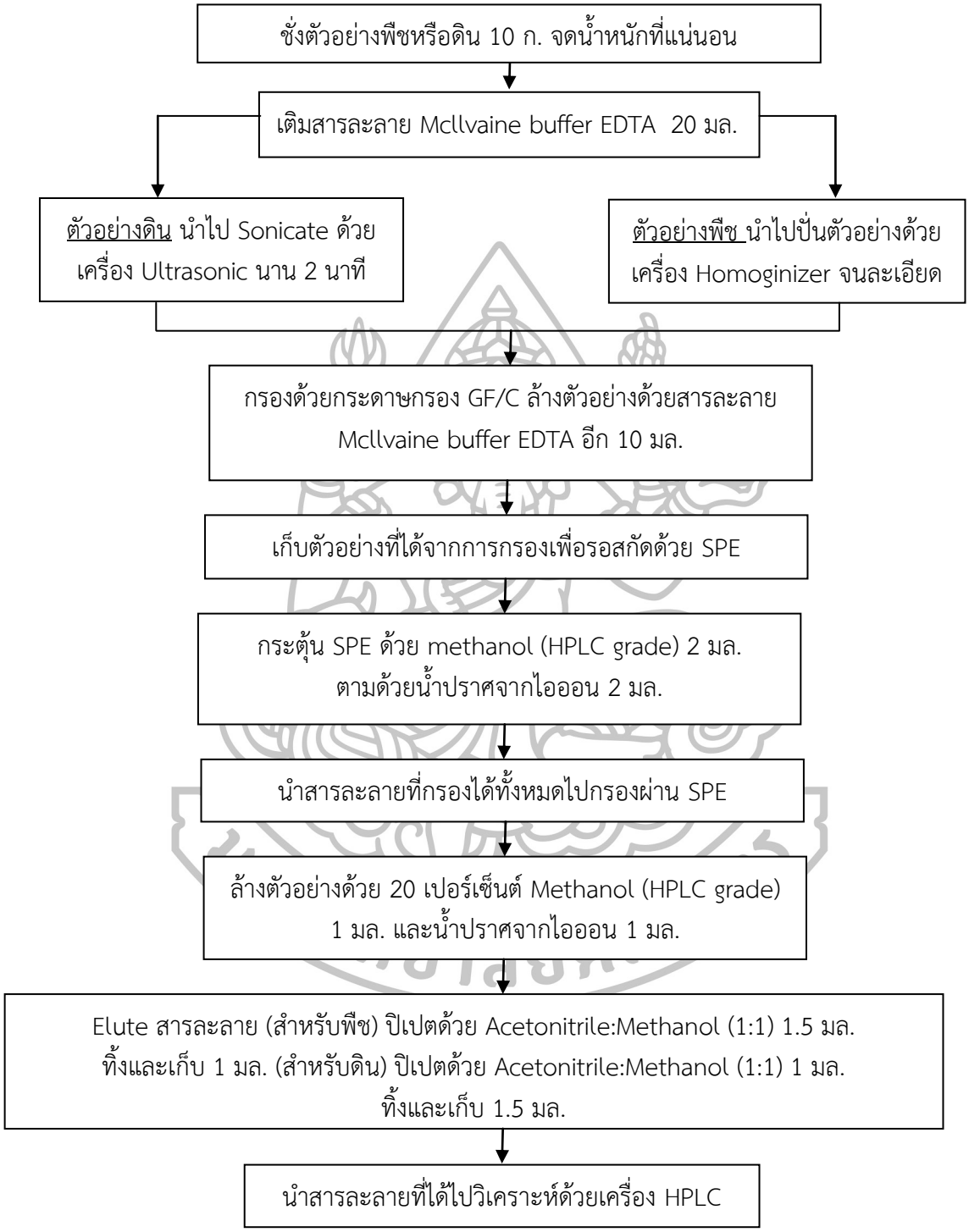
1) ตัวอย่างพืชที่ใช้คือต้นดาวเรืองจะแยกส่วนรากและลำต้นออกจากกันคนละตัวอย่าง แบ่งส่วนหนึ่งไปวิเคราะห์หาน้ำหนักแห้ง นำส่วนรากหรือลำต้นไปชั่งน้ำหนักประมาณ 10 ก. (จดน้ำหนักที่แน่นอน) ใส่ในบีกเกอร์ จากนั้นเติม Mcllvaine buffer EDTA 20 มล. ลงในพืช นำไปปั่นให้เข้ากันด้วยเครื่อง Homoginizer จนละเอียด แล้วเติม Mcllvaine buffer EDTA 10 มล. นำไปล้างหัวปั่นและเทใส่บีกเกอร์ที่มีตัวอย่างพืช นำตัวอย่างที่ได้จากการปั่นไปกรองแยกกากด้วยกระดาษกรอง GF/C

2) ตัวอย่างดิน แบ่งส่วนหนึ่งไปวิเคราะห์หาน้ำหนักแห้ง นำดินไปชั่งน้ำหนักประมาณ 10 ก. (จดน้ำหนักที่แน่นอน) ใส่ในบีกเกอร์ จากนั้นเติม Mcllvaine buffer EDTA 20 มล. ลงในดิน นำไป Sonicate ด้วยเครื่อง Ultrasonic นาน 2 นาที จากนั้นนำไปกรองด้วยกระดาษกรอง GF/C ล้างตัวอย่างดินที่ติดบีกเกอร์ด้วย Mcllvaine buffer EDTA 10 มล.

3) การเตรียม Solid phase extraction (SPE) (Strata X 33u 200 มก./6 มล.) ทำโดยกระตุ้น SPE ด้วย Methanol (HPLC grade) 2 มล. และน้ำปราศจากไอออน 2 มล. จากนำตัวอย่างที่ได้จากการกรองจาก ข้อ 1 หรือ ข้อ 2 ไปผ่าน SPE จากนั้นล้างตัวอย่างด้วย 20 เปอร์เซ็นต์ Methanol (HPLC grade) 1 มล. และน้ำปราศจากไอออน 1 มล. หลังจากผ่านตัวอย่างใน SPE แล้วซึ่งออกซีเตตราซัยคลินจะถูกจับโดยตัวดูดจับใน SPE จึงทำการ Elute สารตัวอย่าง สำหรับตัวอย่างพืชทำการ Elute สารออกโดยปิเปต Acetonitrile: Methanol (1:1) ลงใน SPE อีก 1.5 มล. จะเททิ้งไป จากนั้นปิเปต Acetonitrile: Methanol (1:1) อีก 1 มล. ลงใน SPE แล้วเก็บสารละลายที่ได้ใส่ในขวด Vial สำหรับตัวอย่างดินทำการ Elute สารออกโดยปิเปต Acetonitrile: Methanol (1:1) ลงใน SPE อีก 1 มล. จะเททิ้งไป จากนั้นปิเปต Acetonitrile: Methanol (1:1) อีก 1.5 มล. ลงใน SPE แล้วเก็บสารละลายที่ได้ใส่ในขวด Vial เพื่อรอเตรียมฉีดด้วย HPLC

4) สารละลายที่ได้ก่อนนำไปวิเคราะห์จะทำการกรองด้วย Syringe filter nylon ขนาด 0.45 ไมครอน แล้วนำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง High performance liquid chromatography (HPLC) ยี่ห้อ WATER 600 photodiode array คอลัมน์ที่ใช้รุ่น HiQ Sil C18HS ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 4.6 มม. ยาว 150 มม. เป็น Stationary phase และใช้ Acetonitrile : 0.01 M Oxalic acid in Methanol (10:90) เป็น Mobile phase ที่อัตราการไหล 1 มล./นาที สำหรับ Detector ใช้ Photodiode array detector ที่ความยาวคลื่น 360 นาโนเมตร ปริมาตรสารละลายที่ฉีด 20 ไมโครลิตร

แผนภูมิการสกัดออกซีเตตราซัยคลินในดิน และพืช เป็นดังนี้



ภาพที่ 3.1 ขั้นตอนการสกัดออกซีเตตราซัยคลินในดิน และพืช

3.2.2 การสกัดออกซีเตตราซัยคลินในตัวอย่างน้ำ

1) เก็บตัวอย่างน้ำมากรองผ่านด้วยกระดาษกรอง GF/C เพื่อกรองเอาเศษดินออก

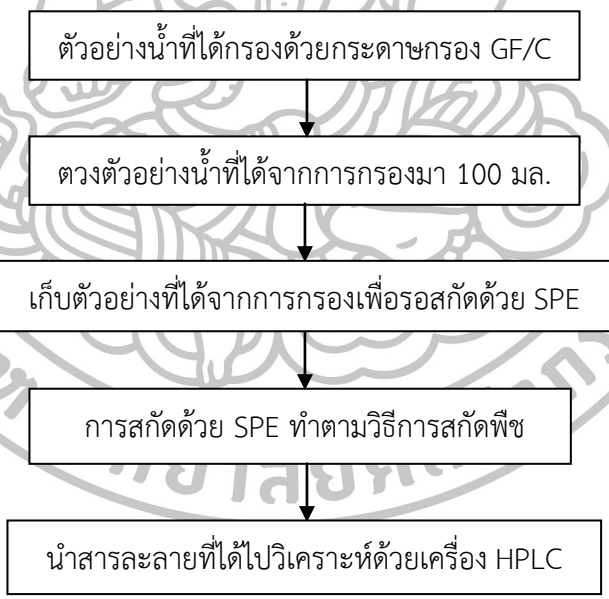
2) ตวงตัวอย่างน้ำที่ได้จากการกรองมา 100 มล

3) การเตรียม Solid phase extraction (SPE) (Strata X 33u 200 มก./6 มล.) ทำโดยกระตุ้น SPE ด้วย Methanol (HPLC grade) 2 มล. และน้ำปราศจากไอออน 2 มล. จากนำตัวอย่างน้ำที่ได้จากการกรองมาผ่าน SPE จากนั้นล้างตัวอย่างด้วย 20 เปอร์เซ็นต์ Methanol (HPLC grade) 1 มล. และน้ำปราศจากไอออน 1 มล.

4) หลังจากผ่านตัวอย่างใน SPE แล้ว จากนั้นทำการ Elute สารตัวอย่าง โดยปิเปต Acetonitrile: Methanol (1:1) ลงใน SPE อีก 1.5 มล. จะเททิ้งไป จากนั้นปิเปต Acetonitrile: Methanol (1:1) อีก 1 มล. ลงใน SPE แล้วเก็บสารละลายที่ได้ใส่ในขวด vial

5) สารละลายที่ได้ก่อนนำไปวิเคราะห์จะทำการกรองด้วย Syringe filter nylon ขนาด 0.45 ไมครอน แล้วนำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง High performance liquid chromatography (HPLC)

แผนภูมิการสกัดออกซีเตตราซัยคลินในน้ำ เป็นดังนี้



ภาพที่ 3.2 ขั้นตอนการสกัดออกซีเตตราซัยคลินในน้ำ

3.2.3 ค่า Instrument detection limit, Method detection limit และ % Recovery

การหาค่า Instrument detection limit (IDL) ทำโดยการฉีดสารละลายออกซีเตตราซัยคลินที่ความเข้มข้น 10, 20, 30, 50, 100 มก./ล. ซึ่งแต่ละความเข้มข้นจะฉีด 5 ซ้ำ เพื่อหาค่าเบี่ยงเบน (S.D.) โดย IDL จะมีค่าเท่ากับ ± 3SD หรือ 0.37 มก./ล.

สำหรับการหาค่า Method detection limit (MDL) ทำโดยการ Spike สารละลายออกซีเตตราซัยคลินที่ความเข้มข้น 100 มก./ล. ลงในตัวอย่างดิน พืช และน้ำ แต่ละตัวอย่างจะฉีด 3 ซ้ำ เพื่อหาค่าเบี่ยงเบน (S.D.) โดย MDL ของการสกัดและวิเคราะห์ออกซีเตตราซัยคลินในตัวอย่างดินมีค่าเท่ากับ 0.42 มก./ก. ตัวอย่างพืช มีค่าเท่ากับ 0.98. มก./ก. และน้ำ มีค่าเท่ากับ 0.31 มก./ก.

ส่วนค่า % Recovery คำนวณจาก

$$\% \text{ Recovery} = \frac{\text{ปริมาณที่วิเคราะห์ได้ในตัวอย่าง}}{\text{ปริมาณที่เติมลงไป}} \times 100$$

% Recovery ที่ได้จากการสกัดตัวอย่างดิน มีค่าเท่ากับ 55.94 เปอร์เซ็นต์ ตัวอย่างพืช 75.44 เปอร์เซ็นต์ มีค่าเท่ากับ และน้ำมีค่าเท่ากับ 80.55 เปอร์เซ็นต์

3.2.4 การวิเคราะห์คุณสมบัติทั่วไปของดินและพืชทดลอง

1) วิเคราะห์ลักษณะทางกายภาพของดินทดลอง ได้แก่ องค์ประกอบของดิน ปริมาณคาร์บอนอินทรีย์ ปริมาณไนโตรเจน ปริมาณฟอสฟอรัส ปริมาณน้ำในดิน และความเป็นกรดเป็นด่างของดิน สรุปวิธีการวิเคราะห์ในตารางที่ 3.1 ดังนี้

ตารางที่ 3.1 สรุปวิธีวิเคราะห์สมบัติทางกายภาพของดิน

สมบัติของดิน	วิธีการวิเคราะห์
องค์ประกอบของดิน	วิธี Hydrometer method *
ปริมาณคาร์บอนอินทรีย์ในดิน	วิธี Walkley-balck method *
ปริมาณไนโตรเจนในดิน	วิธี Kjeldahl method *
ปริมาณฟอสฟอรัสในดิน	วิธี Perchloric acid digestion *
ปริมาณน้ำในดิน	อบแห้งที่ 105 °ซ **
ความเป็นกรดเป็นด่างของดิน	ใช้ pH Meter *

หมายเหตุ : อ้างอิงวิธีการจาก * Tan (1995) และ ** AOAC (1984)

2) วิเคราะห์ลักษณะทางเคมีของต้นดาวเรือง โดยการวิเคราะห์ปริมาณไขมันในพืช

3.3 วิธีการทดลอง

3.3.1 <u>การทดลองที่ 1</u> การทดลองการดูดซับออกซีเตตราซัยคลินในดิน แบ่งเป็น

- วิเคราะห์หา Equilibrium time ของออกซีเตตราซัยคลินในดิน ทำโดย

1) เตรียมสารละลายออกซีเตตราซัยคลินที่มีความเข้มข้น 1000 มก./ล. ใน Acetone

2) ชั่งดินหนัก 30 ก. ใส่ในขวดแก้วปากกว้างขนาด 500 มล. จำนวน 8 ขวด

3) ปิเปตสารละลายออกซีเตตราซัยคลินมา 3 มล. ใส่ลงในดินแต่ละขวด และทำการระเหย Acetone จนแห้งทำให้ดินมีออกซีเตตราซัยคลินปนเปื้อน 100 มก./กก.

4) เติมน้ำปราศจากไอออน 200 มล. ปิดฝาแล้วห่อขวดด้วยอลูมิเนียมฟอล์ย

5) นำไปเขย่าด้วยเครื่อง Orbital shaker ยี่ห้อ Gallenkamp รุ่น 3597 ที่อุณหภูมิ 25 ± 2 °ซ

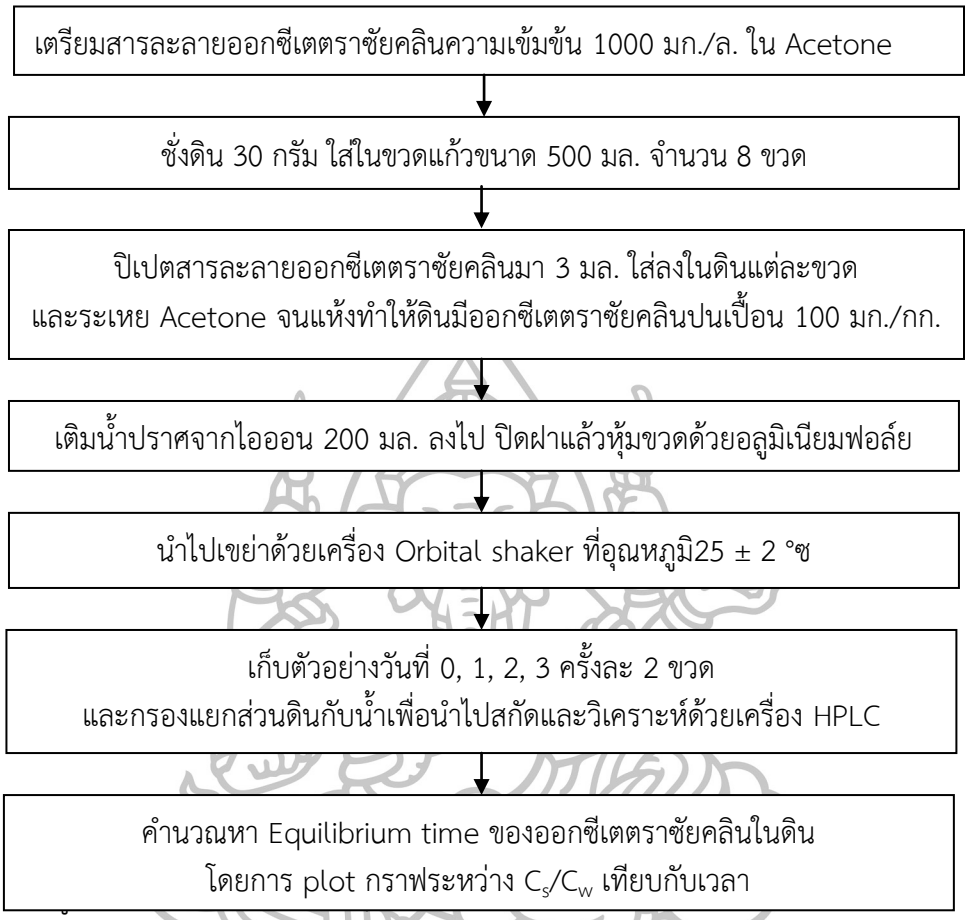
6) เก็บตัวอย่างในวันที่ 0, 1, 2, 3 หลังจากเริ่มทดลอง เก็บตัวอย่างครั้งละสองขวด

7) แยกส่วนดินกับน้ำ โดยรอให้ดินตกตะกอนก่อน จากนั้นกรองน้ำออกด้วยด้วยกระดาษกรอง GF/C แล้วนำแต่ละตัวอย่างไปสกัดและวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC ดังรายละเอียดในข้อ 3.2

8) คำนวณหา Equilibrium time ของออกซีเตตราซัยคลินในดิน โดยการ Plot กราฟระหว่าง C_s/C_w เทียบกับเวลา

มหาวิทยาลัยศิลปากร

แผนภูมิการหา Equilibrium time ของออกซีเตตราซัยคลินในดิน เป็นดังนี้



ภาพที่ 3.3 การหา Equilibrium time ของออกซีเตตราซัยคลินในดิน

- ทดลองการดูดซับออกซีเตตราซัยคลินในดิน ทำโดย

1) เตรียมสารละลายออกซีเตตราซัยคลินที่มีความเข้มข้น 1000 มก./ล. ใน acetone

2) ชั่งดินหนัก 30 ก. ใส่ในขวดแก้วปากกว้างขนาด 500 มล. จำนวน 6 ขวด

3) ปิเปตสารละลายออกซีเตตราซัยคลินมา 1.5, 3, 4.5 มล. ใส่ลงในดินความเข้มข้นละ 2 ขวด และระเหย Acetone จนแห้ง ทำให้ตัวอย่างดินมีออกซีเตตราซัยคลินปนเปื้อน 50, 100, 150 มก./กก.

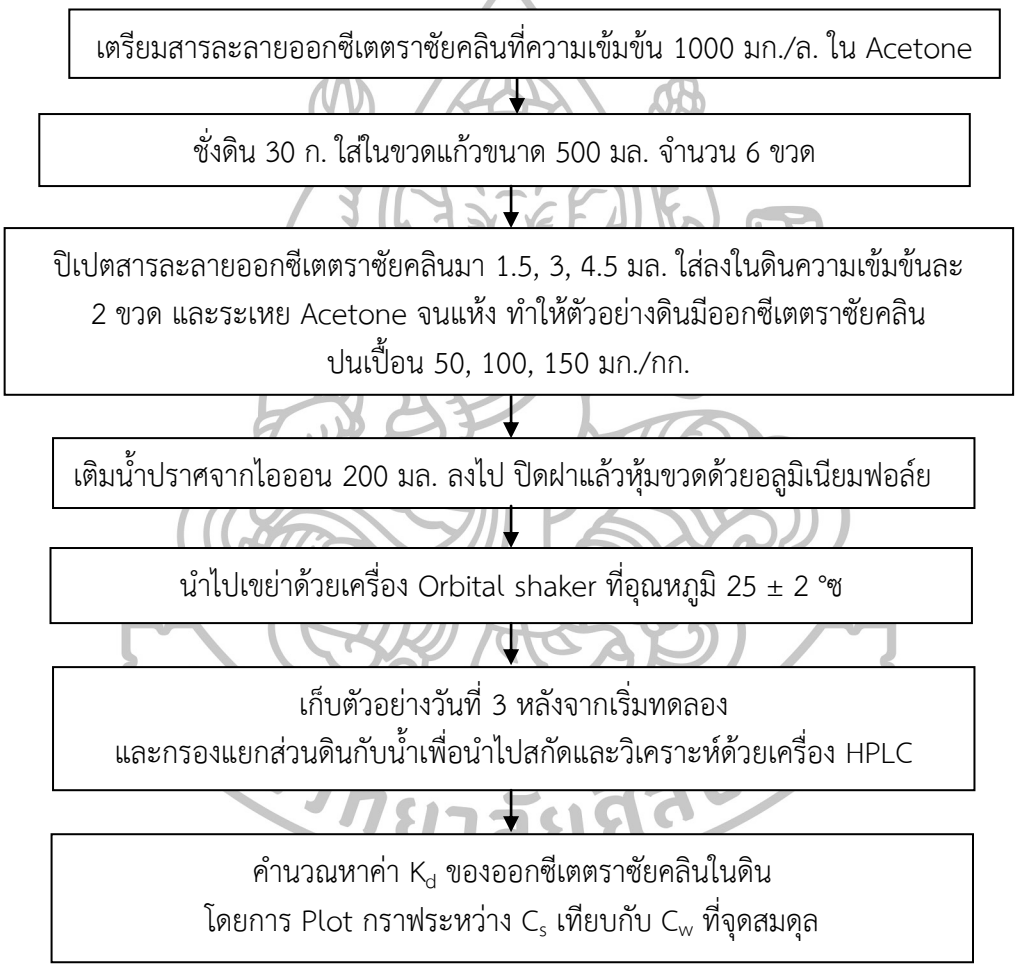
4) เติมน้ำปราศจากไอออน 200 มล. ปิดฝาแล้วห่อขวดด้วยอลูมิเนียมฟอล์ย

5) นำไปเขย่าด้วยเครื่อง Orbital shaker ยี่ห้อ Gallenkamp รุ่น 3597 ที่อุณหภูมิ 25 ± 2 °ซ เป็นเวลา 3 วัน

6) แยกส่วนดินกับน้ำเพื่อนำไปสกัดและวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC ดังรายละเอียดในข้อ 3.2

7) คำนวณหาค่า K_d ของออกซีเตตราซัยคลินในดิน โดยการ Plot กราฟระหว่าง C_s เทียบกับ C_w ที่เวลา Equilibrium time

แผนภูมิการวิเคราะห์หา K_d เป็นดังนี้



ภาพที่ 3.4 ขั้นตอนการวิเคราะห์หา K_d

3.3.2 <u>การทดลองที่ 2</u> ทดลองการสลายตัวของออกซีเตตราซัยคลินในดิน

1) เตรียมสารละลายออกซีเตตราซัยคลินที่มีความเข้มข้น 1000 มก./ล.ใน Acetone

2) ชั่งดินหนัก 10 ก. ใส่ในขวดแก้วปากกว้างขนาด 100 มล. จำนวน 10 ขวด

3) ปิเปตสารสารละลายออกซีเตตราซัยคลินมา 3 มล. ใส่ลงในดินแต่ละขวด และระเหย Acetone จนแห้งทำให้ดินมีออกซีเตตราซัยคลินปนเปื้อน 100 มก./กก. ปิดฝาแล้วห่อขวดด้วยอลูมิเนียมฟอล์ย

4) นำขวดทั้งหมดวางไว้ที่อุณหภูมิ 25 ± 2 °ซ

5) เก็บตัวอย่างที่เวลา 0, 15, 30, 45, 60 ชม. หลังจากเริ่มทดลอง โดยเก็บตัวอย่างดินครั้งละสองขวดเพื่อนำไปสกัดและวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC ดังรายละเอียดในข้อ 3.2

6) คำนวณการสลายตัวออกซีเตตราซัยคลินในดิน จากสูตร

$$C_t = C_o e^{-k_{deg} t}$$

เมื่อ C_t คือ ความเข้มข้นของออกซีเตตราซัยคลินในดิน เมื่อเวลาผ่านไป t

C_o คือ ความเข้มข้นของออกซีเตตราซัยคลินในดิน เมื่อเริ่มต้นทดลอง

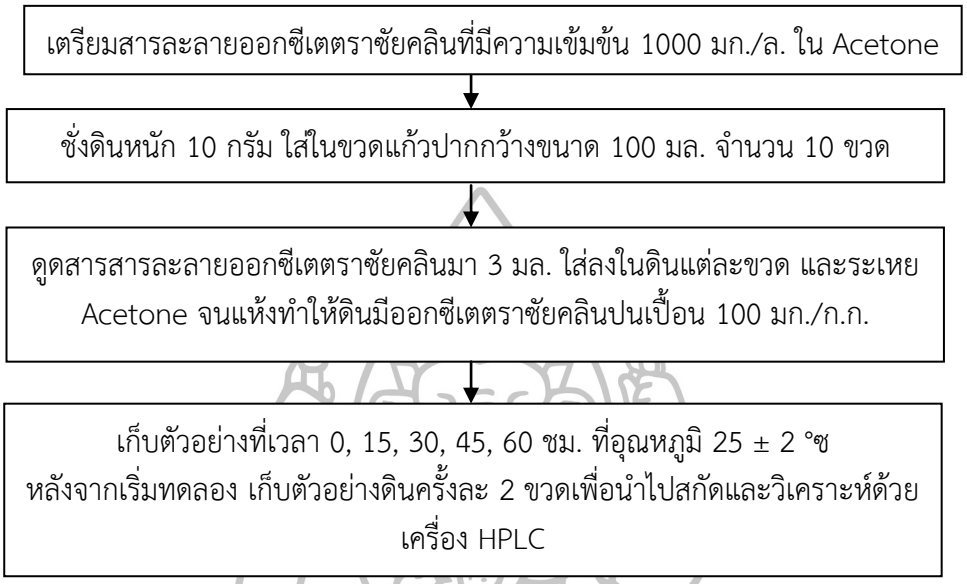
k_{deg} คือ อัตราคงที่ของการสลายตัว

t คือ เวลา

ค่า k_{deg} ที่ได้จากการ Plot กราฟความสัมพันธ์ระหว่าง ln (C_t/C_o) กับ t ความชันจากความสัมพันธ์เชิงเส้นคือค่า k_{deg} และค่าครึ่งชีวิต คำนวณโดย

$$t½ = \ln 2 / k_{deg}$$

แผนภูมิทดลองการสลายตัวออกซีเตตราซัยคลินในดิน เป็นดังนี้



ภาพที่ 3.5 ขั้นตอนวิเคราะห์การสลายตัวออกซีเตตราซัยคลินในดิน

3.3.3 <u>การทดลองที่ 3</u> ทดลองการสะสมออกซีเตตราซัยคลินในต้นดาวเรือง

ก่อนการทดลองได้ทดลองความเป็นพิษของออกซีเตตราซัยคลินในพืชโดยปลูกต้นดาวเรืองในดินที่ปนเปื้อนออกซีเตตราซัยคลินที่ความเข้มข้น 5, 10 และ 15 มก./กก. เป็นเวลา 1 สัปดาห์ พบว่าการทดลองในความเข้มข้น 5 มก./กก. ต้นดาวเรืองสามารถเจริญเติบโตได้ตามปกติ แต่ความเข้มข้นที่สูงกว่า 5 มก./กก. ต้นดาวเรืองมีอาการเหี่ยวเฉา ดังนั้นในการทดลองการสะสมออกซีเตตราซัยคลินในต้นดาวเรืองจึงใช้ที่ความเข้มข้น 5 มก./กก. มีขั้นตอนดังต่อไปนี้

1) นำดินที่เตรียมไว้ในข้อ 3.1.3 มา 2 กก. มาผสมกับสารละลายออกซีเตตราซัยคลินให้ดินมีความเข้มข้นของออกซีเตตราซัยคลิน 5 มก./กก. คลุกดินให้เข้ากัน

2) ชั่งดินที่มีออกซีเตตราซัยคลินปนเปื้อน 25 มก./กก. มา 80 ก. ใส่ลงในขวดแก้วใสปากกกว้างขนาด 100 มล. จำนวนทั้งหมด 14 ขวด ส่วนชุดควบคุมใช้ดินที่ไม่มีออกซีเตตราซัยคลินปนเปื้อน 80 ก. จำนวน 1 ขวด

3) นำต้นดาวเรืองที่เตรียมไว้ในข้อ 3.1.2 มาปลูกลงในดินแต่ละขวดๆละ 1 ต้น

4) ห่อขวดด้วยอลูมิเนียมฟอล์ยเพื่อลดการสลายตัวของออกซีเตตราซัยคลินเนื่องจากแสง และวางไว้ที่อุณหภูมิ 25 ± 2 °ซ

5) ให้น้ำกับพืชทุกวันโดยวัดปริมาณน้ำในดินไว้ที่ประมาณ 24 ± 2 เปอร์เซ็นต์ ด้วยเครื่อง Soil moisture

6) เก็บตัวอย่างพืชและดินที่ปลูกวันที่ 0, 1, 4, 12, 16, 21, 25 หลังจากเริ่มทดลอง

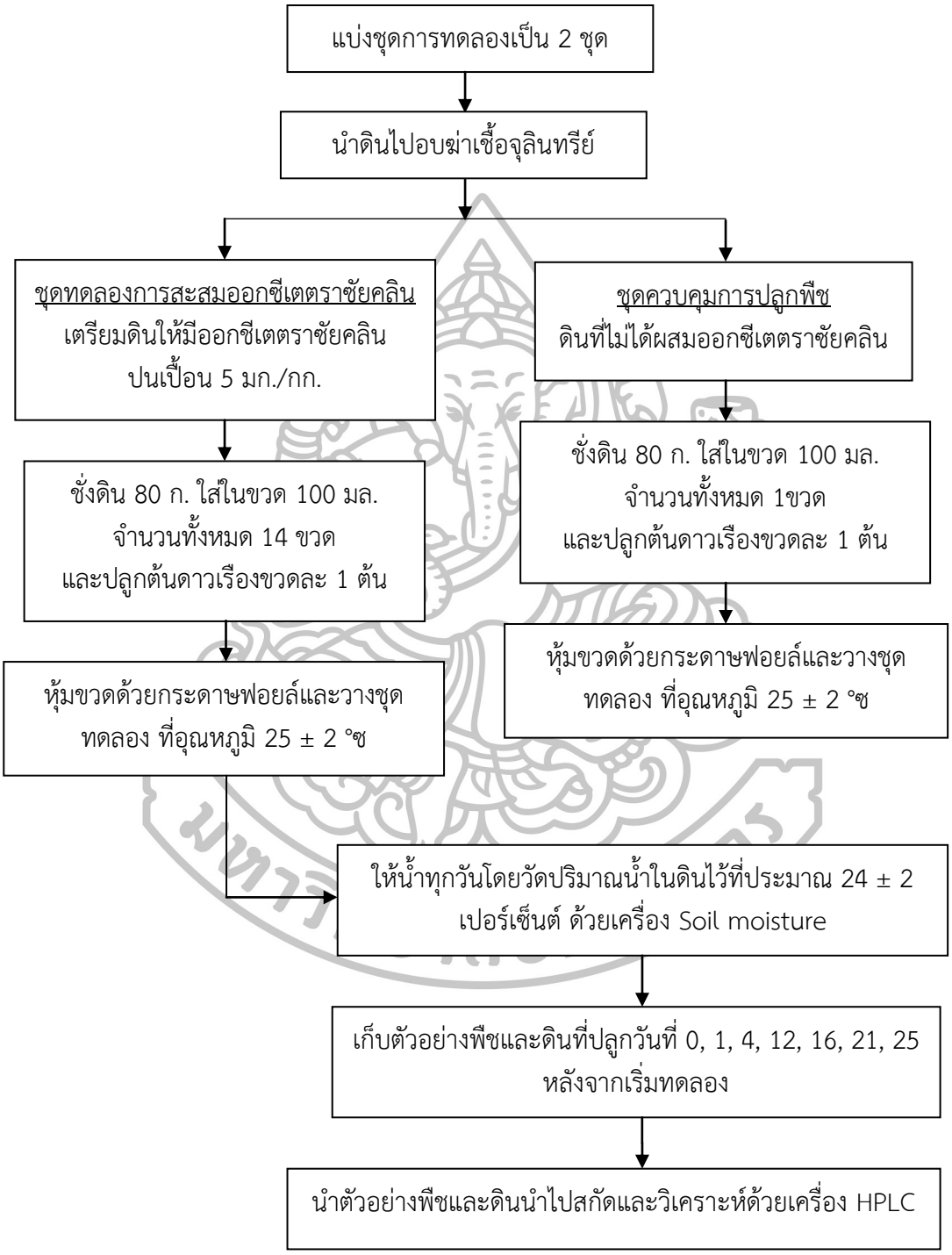
7) นำตัวอย่างพืชและดินนำไปสกัดและวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC ดังรายละเอียดในข้อ 3.2 โดยต้นดาวเรืองจะถูกแยกรากและลำต้นก่อนวิเคราะห์เพื่อวิเคราะห์การเคลื่อนย้ายของสารจากในรากสู่ในลำต้น

สำหรับการวิเคราะห์ตัวอย่างทุกการทดลองทั้งตัวอย่างพืชและดิน เป็นการวิเคราะห์ตัวอย่าง 2 ซ้ำ และรายงานผลเป็นปริมาณออกซีเตตราซัยคลินต่อน้ำหนักแห้งของพืชและปริมาณออกซีเตตราซัยคลินต่อน้ำหนักแห้งของดิน

ในการทดลองนี้ได้ปลูกต้นดาวเรืองในดินที่ไม่มีออกซีเตตราซัยคลินปนเปื้อนไว้ในบริเวณที่วางพืชทดลองด้วย และทำการบันทึกขนาดลำต้นและราก รวมทั้งน้ำหนักของต้นดาวเรืองเพื่อเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของต้นดาวเรืองเมื่อได้รับและไม่ได้รับออกซีเตตราซัยคลิน และเมื่อสิ้นสุดการทดลองได้ทำการวิเคราะห์ปริมาณออกซีเตตราซัยคลินในรากและลำต้นเพื่อทดสอบการปนเปื้อนระหว่างการทดลอง

มหาวิทยาลัยศิลปากร

แผนภูมิทดลองการสะสมออกซีเตตราซัยคลินในต้นดาวเรือง เป็นดังนี้



ภาพที่ 3.6 ขั้นตอนวิเคราะห์การสะสมออกซีเตตราซัยคลินในต้นดาวเรือง

3.3.4 การคำนวณสะสมออกซีเตตราซัยคลินในต้นดาวเรือง

1) การคำนวณค่าการสะสมในพืช (Bioconcentration factor หรือ BCF) คำนวณจากความเข้มข้นของสารที่พบในพืช (C_B) หารด้วยความเข้มข้นของสารในดิน จากสูตร

$$BCF = C_B / C_s$$

เมื่อ C_B คือ ความเข้มข้นของสารที่พบในพืช

C_s คือ ความเข้มข้นของสารในดิน

2) การคำนวณค่าการสะสมในราก (Root concentration factor หรือ RCF) จากสูตร

$$RCF = C_{Root} / C_S$$

เมื่อ C_{Root} คือ ความเข้มข้นของสารที่พบในราก

C_S คือ ความเข้มข้นของสารในดิน

3) การคำนวณค่าการสะสมในลำต้น (Shoot concentration factor หรือ SCF) จากสูตร

$$SCF = C_{Shoot} / C_S$$

เมื่อ C_{Shoot} คือ ความเข้มข้นของสารที่พบในส่วนต้นของพืช

C_S คือ ความเข้มข้นของสารในดิน

3.3.3.2 การคำนวณประสิทธิภาพในการบำบัดดินของพืช จากสูตร

$$\% \text{ Removal} = \frac{\text{ความเข้มข้นของสารในดินที่หายไปหลังจากปลูกพืช}}{\text{ความเข้มข้นของสารที่ใส่ในดินเมื่อเริ่มต้น}} \times 100$$

บทที่ 4

ผลการทดลองและการอภิปรายผลการทดลอง

4.1 การศึกษาสมบัติทั่วไปของดินและพืชทดลอง

4.1.1 ลักษณะทางกายภาพและเคมีของดินทดลอง

ก่อนทดลองมีการนำดินไปวิเคราะห์คุณสมบัติทางกายภาพและเคมีของของดินและได้ผลการวิเคราะห์ดังแสดงในตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 สมบัติเบื้องต้นของดินที่ใช้ทดลอง

คุณสมบัติของดิน	ผลการวิเคราะห์
ปริมาณ Sand : Silt : Clay	76 : 17 : 7
ชนิดของดิน	ดินร่วนปนทราย
ปริมาณไนโตรเจน (ก.ไนโตรเจน/กก.น.น. ดินแห้ง)	4.10
ปริมาณฟอสฟอรัส (มก.ฟอสฟอรัส/กก.นน. ดินแห้ง)	107
ปริมาณคาร์บอนอินทรีย์ (เปอร์เซ็นต์)	0.47
ความเป็นกรดเป็นด่าง (pH)	7.40
น้ำในดิน (เปอร์เซ็นต์)	24 ± 2
การปนเปื้อนออกซีเตตราซัยคลิน	ไม่พบ

คุณสมบัติทางกายภาพและเคมีของดินเป็นปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของพืช รวมทั้งการดูดซับอนุภาคมลสารต่างๆเอาไว้ในดิน เช่น ปริมาณธาตุอาหารของพืช ได้แก่ ปริมาณไนโตรเจนและปริมาณฟอสฟอรัส โดยที่ในดินที่ใช้ทดลองมีปริมาณไนโตรเจนเท่ากับ 4.10 ก.ไนโตรเจน/กก.น.น. ดินแห้งและปริมาณฟอสฟอรัสเท่ากับ 107 มก.ฟอสฟอรัส/กก.น.น. ดินแห้งทำให้มีปริมาณที่เพียงพอต่อความต้องการของพืชและปริมาณที่พบนี้ไม่อยู่ในระดับที่อาจเป็นพิษต่อพืช (ชัยฤกษ์, 2536) การที่พืชสามารถเจริญเติบโตของพืชได้ตามปกติจะทำให้พืชทนต่อสารพิษต่างๆได้มากขึ้น (กรมพัฒนาที่ดิน, 2533)

ค่า pH ในดินเกี่ยวข้องกับรูปของสาร (Form) ที่พืชจะดูดซึมได้ เช่น ที่ pH ระหว่าง 6.5 - 7.5 ฟอสฟอรัสจะอยู่ในรูปที่ละลายน้ำและพืชเอาไปใช้ได้ สำหรับดินที่ใช้ทดลองมีค่า pH อยู่ที่ประมาณ 7.0 ทำให้พืชดูดซึมฟอสฟอรัสเพื่อการเจริญเติบโตได้ง่าย นอกจากนี้ค่า pH ในดินยังมีผลต่อการดูดซึมออกซีเตตราซัยคลินในพืชด้วย เนื่องจากที่ pH ประมาณ 4.0-7.0 ออกซีเตตราซัยคลินจะอยู่ในรูปที่เป็น Zwitterion คือมีทั้งขั้วบวกและลบอยู่ในโมเลกุลเดียวกัน (Figueroa et al., 2004)

แต่เมื่อออกซีเตตราซัยคลินไปอยู่ในตัวกลางที่เป็นกลาง สารจะอยู่ในรูป Non-ionized form มากขึ้น ทำให้ถูกพืชดูดซึมได้ง่ายขึ้น (Xu and Li, 2010)

ปริมาณคาร์บอนอินทรีย์ในดินมีความสำคัญต่อการดูดซับสารในดิน โดยดินที่มีปริมาณคาร์บอนอินทรีย์สูงจะมีค่า K_d (Soil sorption capacity) สูง ทำให้สารถูกดูดซับไว้กับอนุภาคของดินได้ดี และอาจถูกดูดซึมเข้าสู่พืชได้น้อยกว่าที่ควร (Anderson, 1998) แต่สำหรับดินที่ใช้ในการทดลองนี้พบว่ามีปริมาณคาร์บอนอินทรีย์เท่ากับ 0.47 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีปริมาณคาร์บอนอินทรีย์ไม่สูงและอาจทำให้ออกซีเตตราซัยคลินถูกดูดซับไว้ในอนุภาคดินได้น้อยและถูกดูดซึมในพืชได้มากขึ้น

ปริมาณน้ำในดิน พืชต้องการน้ำไปใช้ในการสังเคราะห์และปริมาณน้ำในดินยังมีบทบาทในการดูดซึมสารในพืช (กรมพัฒนาที่ดิน, 2556) ในการทดลองนี้ผลการตรวจวัดปริมาณน้ำในดินจะถูกควบคุมไว้ที่ประมาณ 24 ± 2 เปอร์เซ็นต์ เพื่อให้พอเพียงกับความต้องการของต้นดาวเรือง การควบคุมปริมาณน้ำในดินทำโดยการรดน้ำอย่างสม่ำเสมอและวัดความชื้นในดินด้วยเครื่อง Soil moisture

4.1.2 ลักษณะสมบัติของต้นดาวเรือง

ผลการตรวจออกซีเตตราซัยคลินในต้นดาวเรืองไม่พบการปนเปื้อน

การศึกษาการเจริญเติบโตของต้นดาวเรืองที่ใช้ทดลองพบว่า ก่อนการทดลองต้นดาวเรืองทั้งหมดมีน้ำหนักโดยเฉลี่ยประมาณ 70.69 ก./ต้น มีความสูงของลำต้นโดยเฉลี่ยประมาณ 20.01 ซม. ความยาวของรากโดยเฉลี่ยประมาณ 27.43 ซม. หลังทดลองต้นดาวเรืองมีน้ำหนักเพิ่มขึ้น 70.72 ก./ต้น ความสูงลำต้น 20.03 ซม. โดยเฉลี่ยต้นดาวเรืองมีน้ำหนักเพิ่มขึ้นโดยเฉลี่ย 0.03 ก./วัน/ต้น ซึ่งน้ำหนักเฉลี่ยที่เพิ่มขึ้นนี้ไม่ต่างจากที่ได้จากชุดควบคุม (ตารางภาคผนวกที่ ง.1)

ต้นดาวเรืองมีปริมาณไขมันในรากเท่ากับ 1.17 เปอร์เซ็นต์ และลำต้นเท่ากับ 1.18 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 4.2) สำหรับปริมาณไขมันในพืชมีความสำคัญต่อการดูดซึมและการสะสมสารในพืช เนื่องจากรากพืชที่ทำหน้าที่ดูดซึมสารต่างๆประกอบด้วยเซลล์เมมเบรนและผนังเซลล์ที่มีองค์ประกอบเป็นชั้นไขมัน ดังนั้นปัจจัยหนึ่งที่ควบคุมการเคลื่อนย้ายสารจากภายนอกเซลล์เข้าสู่ภายในเซลล์ก็คือปริมาณไขมันในส่วนต่างๆของพืช โดยที่สารที่มีการละลายในไขมันได้ดีสามารถซึมผ่านชั้นต่างๆของเซลล์พืชเข้าสู่ภายในรากและต้นได้ง่ายกว่าพวกที่ละลายในไขมันน้อย (Connell, 1990)

สำหรับงานวิจัยนี้ออกซีเตตราซัยคลินเป็นสารประกอบอินทรีย์ที่แตกตัวได้ (Ionizable organic compound) ซึ่งค่าการแตกตัวของสาร (pK_a) จะขึ้นกับค่า pH ของดิน ในเมื่อ pH ของดินที่ทดลองมีค่าประมาณ 7.0 ออกซีเตตราซัยคลินจะอยู่ในรูป Nonionized form มากกว่า Ioinized form ทำให้ออกซีเตตราซัยคลินสามารถเคลื่อนย้ายผ่านเมมเบรนของรากดาวเรืองได้ง่ายขึ้น สำหรับปริมาณไขมันในรากและส่วนลำต้นของต้นดาวเรืองมีค่าใกล้เคียงกันนั้น อาจทำให้สารมีโอกาสสะสมในรากและลำต้นได้ในปริมาณใกล้เคียงกัน

ตารางที่ 4.2 ปริมาณไขมันในส่วนรากและในส่วนต้นของต้นดาวเรือง

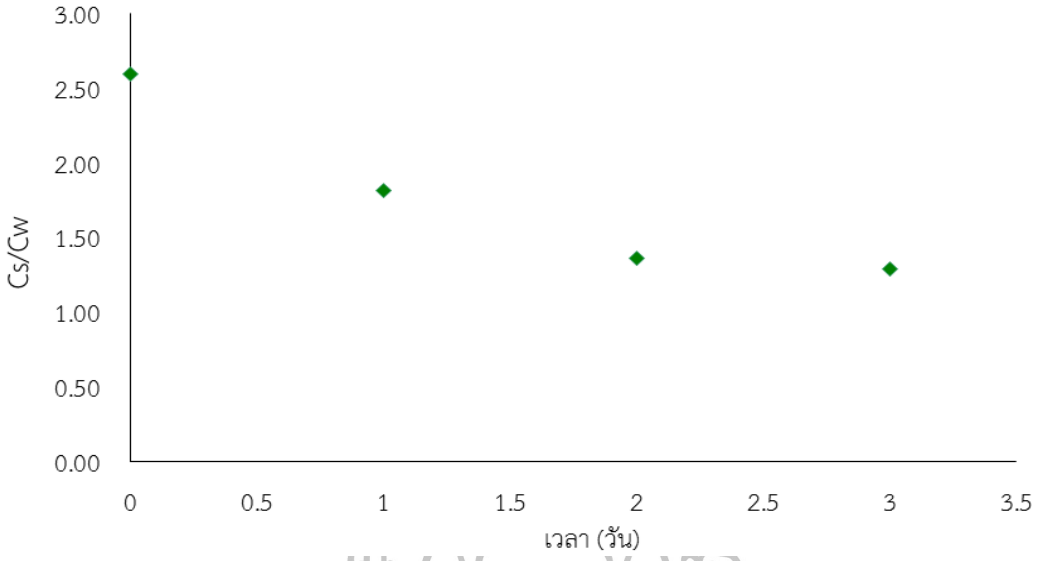
ตัวอย่าง	ปริมาณไขมัน (เปอร์เซ็นต์)
ราก	1.17
ลำต้น	1.18

4.2 การดูดซับออกซีเตตราซัยคลินในดิน

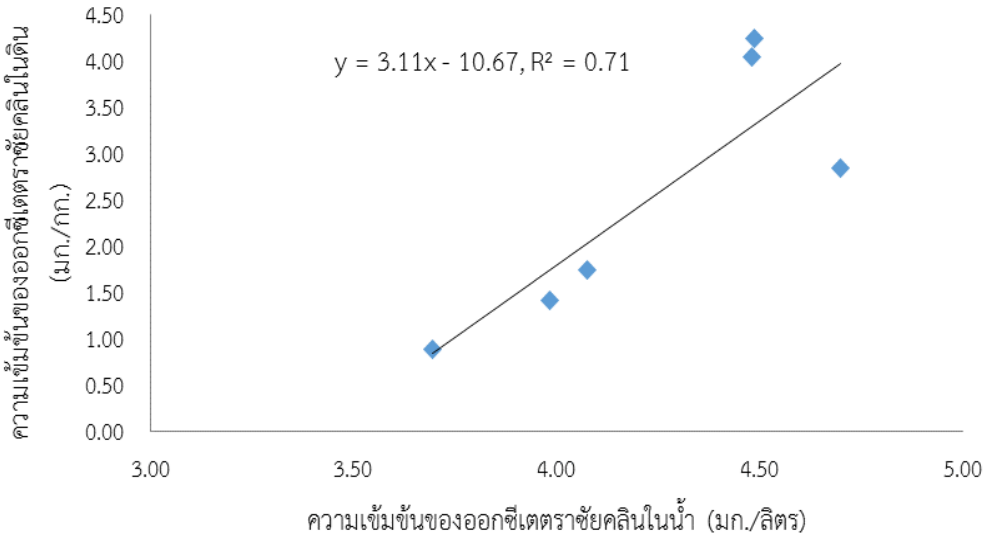
ค่าสัมประสิทธิ์การแบ่งส่วนระหว่างดินกับน้ำในดิน (Soil-water partition coefficient, K_d) เป็นค่าที่ใช้ประเมินการเกิดการดูดซับของสารกับอนุภาคดิน (Soil sorption capacity) ถ้าค่า K_d ต่ำ สารจะถูกดินดูดซับได้น้อยแต่จะอยู่ในน้ำในดิน ทำให้รากของพืชสามารถดูดซึมสารได้ง่ายขึ้น

ผลการทดลองหา Equilibrium time ที่ออกซีเตตราซัยคลินเข้าสู่สภาวะสมดุลในดินและน้ำ (ใช้ดินที่มีออกซีเตตราซัยคลินปนเปื้อนที่ความเข้มข้น 100 มก./กก.) พบว่า Equilibrium time ของออกซีเตตราซัยคลินระหว่างดินและน้ำ มีค่าค่อนข้างคงที่ตั้งแต่วันที่ 3 หลังเริ่มทดลอง (รูปที่ 4.1) แสดงว่ากระบวนการแบ่งส่วนของออกซีเตตราซัยคลินระหว่างดินกับน้ำเข้าสู่ภาวะสมดุลแล้วหลังจากเริ่มทดลอง 3 วัน ดังนั้นในการทดลองการดูดซับออกซีเตตราซัยคลินในดินจึงทำการทดลองเป็นเวลา 3 วัน ที่อุณหภูมิ 25 ± 2 °ซ และใช้ดินที่มีออกซีเตตราซัยคลินปนเปื้อน 3 ความเข้มข้นคือ ความเข้มข้น 50, 100 และ 150 มก./กก. ผลการวิเคราะห์ตัวอย่างน้ำและดินที่จุดสมดุลนำไปหาความชันของความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่างความเข้มข้นในดิน (C_s, มก./กก.) และความเข้มข้นในน้ำ (C_w, มก./ล.) ได้ค่าความชันของความสัมพันธ์เชิงเส้นคือ ค่า K_d ของออกซีเตตราซัยคลินในดินเท่ากับ 3.11 ล./กก. (รูปที่ 4.2) ค่า K_d ที่ได้ค่อนข้างต่ำแสดงว่าออกซีเตตราซัยคลินถูกดูดซับในอนุภาคดินได้น้อย โดยการศึกษาของ Anderson (1998) ที่กล่าวว่า ค่า K_d สามารถนำไปประเมินการเคลื่อนที่และความเป็นไปของสารได้ โดยถ้าค่า K_d อยู่ในช่วง $50 > K_d > 1$ แสดงว่าสารส่วนมากจะเคลื่อนที่ไปกับน้ำ ดังนั้นจึงสรุปว่าดินที่ใช้ในการทดลองนี้สามารถดูดซับออกซีเตตราซัยคลินได้น้อย และสามารถละลายในน้ำในดินก่อนถูกดูดซึมเข้าไปในพืช

เมื่อนำค่า K_d เปรียบเทียบกับค่า K_d ที่ได้จากการศึกษาของ Loke et al. (2002) ซึ่งศึกษาการดูดซับออกซีเตตราซัยคลินในดินที่ผสมมูลสัตว์ พบว่าค่า K_d อยู่ระหว่าง 2.60-3.00 ล./กก. และการศึกษาของ Gong et al. (2012) พบว่าการดูดซับออกซีเตตราซัยคลินในดินที่ใช้เพาะปลูกที่มีค่า K_d อยู่ระหว่าง 4.29-2.75 ล./กก. ซึ่งค่าที่ได้จากการศึกษาเหล่านี้ใกล้เคียงกับค่าที่ได้จากการทดลองในงานวิจัยนี้ เพราะดินที่ใช้ในการศึกษาต่างก็เป็นดินร่วนปนทรายเหมือนกัน แต่เมื่อเปรียบเทียบกับค่า K_dที่ได้จากการศึกษาของ Xu and Li (2010) ที่ศึกษาการดูดซับออกซีเตตราซัยคลินในตะกอนดินแม่น้ำ พบว่าค่า K_d จากการศึกษาของ Xu and Li (2010) ได้เท่ากับ 0.97 ล./กก. แสดงว่าชนิดของดินเป็นปัจจัยสำคัญในการดูดซับออกซีเตตราซัยคลินในดิน



ภาพที่ 4.1 Equilibrium time ของออกซีเตตราซัยคลินในดินและน้ำ



ภาพที่ 4.2 ความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่างความเข้มข้นของออกซีเตตราซัยคลินในดินและในน้ำ สภาวะสมดุลที่อุณหภูมิ 25 ± 2 °ซ

4.3 การทดลองการสลายตัวของออกซีเตตราซัยคลินในดิน

การสลายตัวของออกซีเตตราซัยคลิน (Degradation rate constant, K_{deg}) เกิดจากหลายปัจจัย เช่น อุณหภูมิทำให้เกิดการสลายตัวจากปฏิกิริยา Thermal degradation (Wang and Yates, 2008) แสงทำให้เกิดการสลายตัวจากกระบวนการ Photolysis (Xuan et al., 2010) และจุลินทรีย์ทำให้เกิด Microbial degradation (Yang et al., 2009) เป็นต้น การสลายตัวจะมีผลต่อการทดลองการสะสมออกซีเตตราซัยคลินในต้นดาวเรืองเนื่องจากสารอาจหายไปจากดินโดยการสลายตัวในสิ่งแวดล้อมก่อนถูกพืชดูดซึม ดังนั้นในการทดลองการสะสมออกซีเตตราซัยคลินในต้นดาวเรืองจึงต้องศึกษาการสลายตัวของออกซีเตตราซัยคลินในดินด้วย

ก่อนการทดลองได้นำดินไปอบฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 °ซ ความดันที่ 15 บาร์ เป็นเวลา 30 นาที (Steven institute of technology, 2006) เพื่อฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ เนื่องจากเชื้อจุลินทรีย์บางชนิดในดินสามารถย่อยสลายออกซีเตตราซัยคลินได้ (Yang et al, 2009) และในการทดลองใช้ดินที่มีออกซีเตตราซัยคลินความเข้มข้น 100 มก./กก.บรรจุในขวดที่หุ้มด้วยอลูมิเนียมฟอลย์เพื่อลดการสลายตัวของสารเนื่องจากแสงและใช้เวลาในการทดลองทั้งหมด 60 ช.ม. ที่อุณหภูมิ 25 ± 2 °ซ

ผลการทดลองการสลายตัวของออกซีเตตราซัยคลินในดินพบว่า ความเข้มข้นของออกซีเตตราซัยคลินในดิน [C] ลดลงตามเวลา โดยพบว่าการสลายตัวของสารเป็นไปอย่างรวดเร็วในช่วง 15 ชั่วโมงแรกของการทดลอง จากนั้นความเข้มข้นของออกซีเตตราซัยคลินค่อนข้างช้า (รูปที่ 4.3) การที่ลักษณะการสลายตัวของสารเป็นเช่นนี้เนื่องจากอัตราการสลายตัวของสารจากปฏิกิริยาต่างๆ (Rate) ทำให้สารเปลี่ยนแปลงตามเวลาและความเข้มข้นของสารที่เปลี่ยนแปลงไปนั้นจะถูกควบคุมโดยอัตราคงที่ หรือ Rate constant (k_{deg}) ซึ่งสามารถแทนด้วยสมการที่ 1 ดังนี้

$$Rate = d[C]/dt = -k_{deg}[C] \quad \text{.....1}$$

เมื่อ Rate คือ อัตราเร็วของปฏิกิริยาการสลายตัว
d[C] / dt คือ อัตราที่ความเข้มข้น [C] ลดลงตามเวลา (t)
[C] คือ ความเข้มข้นของสาร

เมื่อทดลองโดยการเก็บตัวอย่างที่เวลาต่างๆ ความเข้มข้นของสารในเวลาหนึ่งๆ เริ่มจาก 0 ไป t นั่นคือสมการที่ 1 ถูก intregrate ตั้งแต่เวลา 0 – t ได้สมการใหม่เป็น

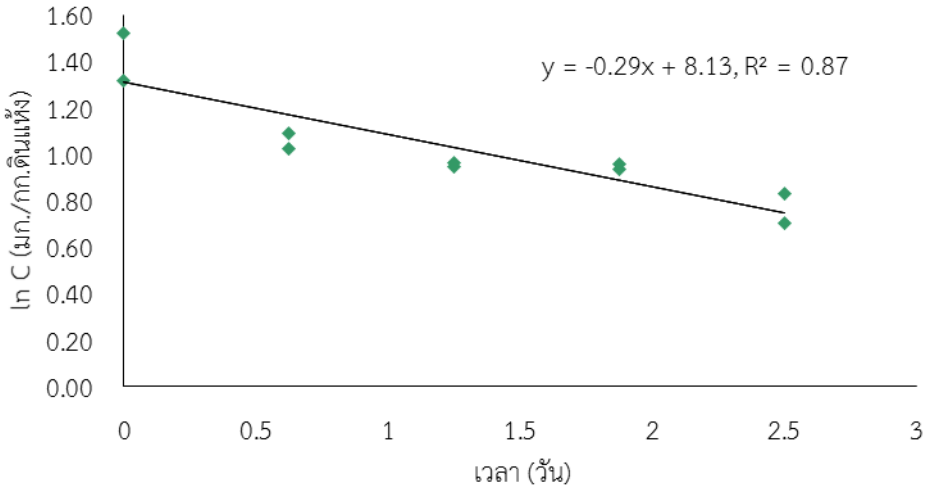
$$C_t = Co\, e^{-K_{deg}t} \quad \text{.....2}$$

เมื่อ C_t คือ ความเข้มข้นของออกซีเตตราซัยคลินเมื่อเวลา t (มก./ล.)
C_o คือ ความเข้มข้นของออกซีเตตราซัยคลินเริ่มต้น (มก./ล.)
e คือ exponential ของ k และ t
t คือ เวลา (ช.ม.)
k_{deg} คือ อัตราคงที่ของการสลายตัว (วันหรือช.ม.)

จากความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารและเวลาที่อยู่ในรูปของสมการ Exponential (สมการที่ 2) จึงทำให้พบว่าความเข้มข้นของสารลดลงอย่างรวดเร็วในระยะแรกและช้าลงในเวลาต่อมา

สำหรับข้อมูลที่ได้จากการทดลองนี้ นำมาหาความสัมพันธ์ระหว่าง ln C และ เวลา (t) ได้ค่าความชันซึ่งก็คือ ค่า k_{deg} หรือ อัตราคงที่ของการสลายตัวของออกซีเตตราซัยคลินในดิน เท่ากับ 0.29 ต่อวัน (รูปที่ 4.3) ส่วนค่าครึ่งชีวิต ($t_{1/2}$) ของสารเท่ากับ 2.4 วัน ผลที่ได้นี้แสดงว่าภายใต้สภาวะที่ทดลองคือที่อุณหภูมิ 25 ± 2 °ซ และไม่มีแสง ออกซีเตตราซัยคลินในดินสามารถสลายตัวได้ค่อนข้างเร็ว

สำหรับอัตราคงที่ของการสลายตัวและค่าครึ่งชีวิตที่ได้จากการทดลองนี้ เปรียบเทียบกับการศึกษาของ Boonsaner and Hawker (2010) ที่พบว่าการสลายตัวของออกซีเตตราซัยคลินในดินที่อุณหภูมิ 30 °ซ ได้ค่า k เท่ากับ 0.08 ต่อช.ม. และการศึกษาของ Wang and Yates (2008) พบว่าการสลายตัวของออกซีเตตราซัยคลินในมูลสัตว์ ที่อุณหภูมิ 25 ± 2 °ซ ได้ค่า k_{deg} เท่ากับ 0.10 ต่อวัน แสดงให้เห็นว่าการสลายตัวของออกซีเตตราซัยคลินในดินค่อนข้างเร็วและการสลายตัวยังขึ้นกับปัจจัยทางกายภาพของสิ่งแวดล้อม เช่น ปริมาณแสง อุณหภูมิและค่า pH ของดิน เป็นต้น



ภาพที่ 4.3 ความสัมพันธ์ระหว่าง ln C กับเวลา

4.4 การสะสมออกซีเตตราซัยคลินในต้นดาวเรือง

การทดลองการสะสมออกซีเตตราซัยคลินในต้นดาวเรืองจึงใช้ที่ความเข้มข้น 5 มก./กก. สำหรับความเข้มข้นของออกซีเตตราซัยคลินในดินที่ใช้ในการทดลองนี้มีค่าสูงกว่าที่พบในรายงานต่างๆ (Martiinez-carballo et al., 2007 และ Loke et al., 2002) ดังนั้นผลการศึกษานี้จึงสามารถเอาไปประยุกต์ใช้สำหรับดินที่มีความเข้มข้นต่ำกว่าโดยไม่เป็นอันตรายต่อต้นดาวเรือง

ในการทดลองการสะสมออกซีเตตราซัยคลินจากดินโดยต้นดาวเรืองใช้เวลา 25 วันโดยความเข้มข้นของออกซีเตตราซัยคลินในดินที่ใช้คือ 5 มก./กก.ดินแห้งไม่เป็นอันตรายต่อต้นดาวเรือง และตลอดการทดลองมีการรดน้ำให้ต้นดาวเรืองทุกวันโดยปริมาตรน้ำใช้เท่ากับ 3.92 มล./วัน เพื่อควบคุมความชื้นในดินให้เฉลี่ยอยู่ที่ 24 ± 2 เปอร์เซ็นต์ ผลการศึกษาการเจริญเติบโตของต้นดาวเรืองในดินที่ปนเปื้อนออกซีเตตราซัยคลินพบว่าต้นดาวเรืองมีน้ำหนักเพิ่มขึ้นโดยเฉลี่ย 0.03 ก./วัน/ต้น ซึ่งน้ำหนักเฉลี่ยที่เพิ่มขึ้นนี้ไม่ต่างจากที่ได้จากพืชชุดควบคุม

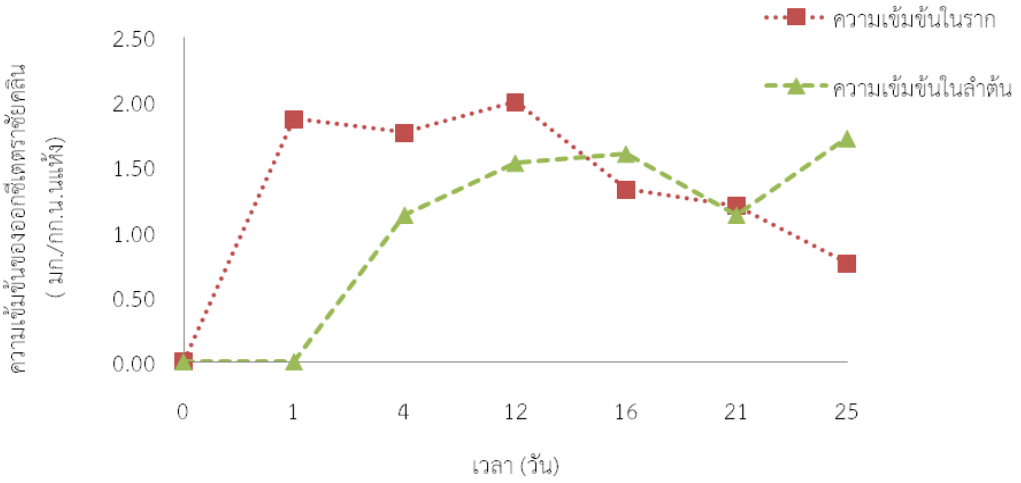
ผลการทดลองการสะสมออกซีเตตราซัยคลินในต้นดาวเรืองในสภาวะที่อุณหภูมิ 25 ± 2 °ซ และไม่มีแสง พบว่ามีออกซีเตตราซัยคลินสะสมอยู่ทั้งในรากและในลำต้นของต้นดาวเรือง โดยที่พบออกซีเตตราซัยคลินสะสมในทั้งสองส่วนนี้แสดงว่าออกซีเตตราซัยคลินสามารถเคลื่อนย้ายจากรากไปที่ลำต้น (Translocation) ได้โดยทางท่อลำเลียงอาหารของพืช สำหรับผลการทดลองการสะสมออกซีเตตราซัยคลินในต้นดาวเรืองแบ่งเป็นผลการสะสมในราก และในลำต้นดังนี้

4.4.1 ความเข้มข้นของออกซีเตตราซัยคลินในราก

ความเข้มข้นของสารเพิ่มขึ้นตามเวลาโดยสูงขึ้นอย่างรวดเร็วในวันแรกของการทดลอง จากนั้นความเข้มข้นของออกซีเตตราซัยคลินในรากค่อยๆสูงขึ้นจนถึงค่าสูงสุดในวันที่ 12 ของการทดลองที่ความเข้มข้นเท่ากับ 2.00 มก./กก.น้ำหนักแห้ง แต่หลังจากนั้นความเข้มข้นของออกซีเตตราซัยคลินในรากมีแนวโน้มลดลง (รูปที่ 4.4, ตารางผนวกที่ ง.5)

4.4.2 ความเข้มข้นของออกซีเตตราซัยคลินในลำต้น

การสะสมออกซีเตตราซัยคลินในระดับตรวจพบได้หลังจากการทดลองผ่านไปแล้ว 4 วัน (รูปที่ 4.4, ตารางผนวกที่ ง.6) จากนั้นความเข้มข้นของออกซีเตตราซัยคลินในลำต้นจะเพิ่มขึ้นอย่างช้าๆตามเวลา จนมีค่าสูงสุดเท่ากับ 1.72 มก./กก.น้ำหนักแห้ง ในวันที่ 25 ของการทดลอง



รูปที่ 4.4 ความเข้มข้นของออกซีเตตราซัยคลินในรากและในลำต้นของต้นดาวเรือง

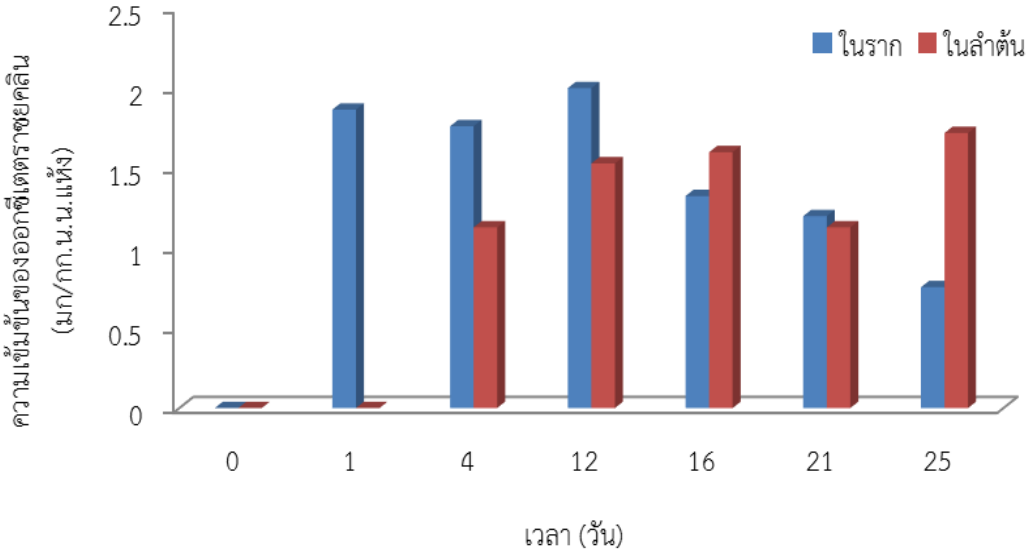
4.4.3 กระบวนการเคลื่อนย้ายออกซีเตตราซัยคลินในต้นดาวเรือง

ออกซีเตตราซัยคลินสามารถเคลื่อนย้าย (Translocation) จากกรากสู่ลำต้น แต่การเคลื่อนย้ายเกิดขึ้นอย่างช้าๆจึงทำให้การความเข้มข้นของสารในส่วนลำต้นพบได้หลังจากการทดลองผ่านไปแล้วถึง 4 วัน ส่วนความเข้มข้นของออกซีเตตราซัยคลินในรากซึ่งค่อนข้างคงที่ในช่วงหลังของการทดลองอาจเนื่องจากออกซีเตตราซัยคลินที่ดูดซึมจากดินเข้าสู่รากนั้นถูกเคลื่อนย้ายไปสู่ลำต้นอย่างช้าๆตลอดเวลา

เมื่อเปรียบเทียบความเข้มข้นของออกซีเตตราซัยคลินในรากและลำต้นของต้นดาวเรือง พบว่าในระยะแรกความเข้มข้นของออกซีเตตราซัยคลินที่พบในรากสูงกว่าที่พบในลำต้น (รูปที่ 4.5) ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของสมศรี และอรุณี (2535) ที่พบว่าความเข้มข้นของสารในรากสูงกว่าที่พบในลำต้น อย่างไรก็ดีการที่เป็นเช่นนี้เพราะว่าออกซีเตตราซัยคลินเป็นสารที่ละลายน้ำได้ดี จึงเคลื่อนย้ายไปเข้าไปในรากพร้อมกับสารอาหารและน้ำ เนื่องจากมวลหรือน้ำหนักของรากน้อย จึงทำให้ค่าความเข้มข้นของออกซีเตตราซัยคลินในรากที่คำนวณจากมวลของออกซีเตตราซัยคลินในรากหารด้วยมวลของรากที่ได้มีค่าสูง

ส่วนการสะสมในลำต้นเกิดจากเคลื่อนย้ายจากในรากเข้าสู่ลำต้นโดยต้องเคลื่อนที่ผ่านคาสปาเรียน สตริป (Casparian strip) เข้าสู่ไซเล็ม ซึ่งเป็นท่อลำเลียงน้ำจากรากสู่ลำต้น (นิพนธ์, 2533) การที่สารจะสามารถเคลื่อนที่ผ่านชั้นคาสปาเรียน สตริปจะต้องมีค่า log K_{ow} อยู่ระหว่าง 0.50 - 3.00 ส่วนสารมีค่า log K_{ow} ต่ำกว่า 0.50 มักพบสะสมอยู่ในรากเท่านั้นเนื่องจากเคลื่อนย้ายผ่านชั้นคาสปาเรียน สตริป ทำได้ช้าและบางครั้งไม่สามารถผ่านได้ (มลิวรรณ, 2552) สำหรับออกซีเตตราซัยคลินนั้นมีค่า log K_{ow} เท่ากับ – 0.90 ซึ่งค่อนข้างต่ำ (Herbert and Dorsey, 1995) จึงทำให้สารเคลื่อนย้ายจากรากเข้าสู่ลำต้นได้ช้ามากและต้องใช้เวลา เป็นเหตุให้สามารถตรวจพบออกซีเตตรา

ซัยคลินในลำต้นหลังจากการทดลองผ่านไปแล้วถึง 4 วัน อย่างไรก็ดีเมื่อออกซีเตตราซัยคลินสามารถสะสมในลำต้นได้แล้วความเข้มข้นของสารในลำต้นเปลี่ยนแปลงไม่มากนัก ขณะที่ความเข้มข้นของออกซีเตตราซัยคลินในรากกลับลดลง การที่ความเข้มข้นของออกซีเตตราซัยคลินในรากลดลงอาจมาจากการที่ความเข้มข้นของสารในดินลดลงรวมทั้งสารบางส่วนถูกเคลื่อนย้ายไปอยู่ในลำต้น



ภาพที่ 4.5 เปรียบเทียบความเข้มข้นของออกซีเตตราซัยคลินในรากและในลำต้นของต้นดาวเรือง

4.4.4 ความเข้มข้นของออกซีเตตราซัยคลินในดิน

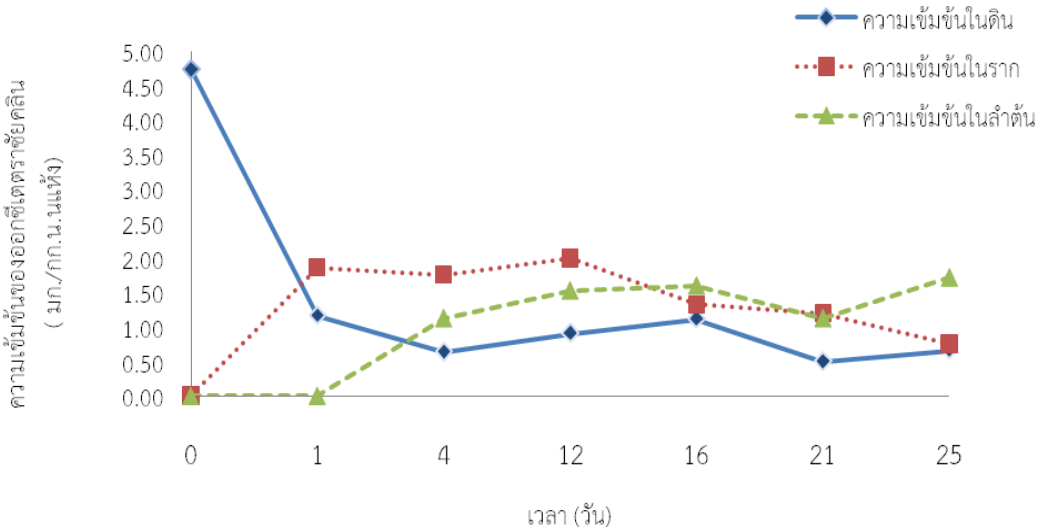
ความเข้มข้นของออกซีเตตราซัยคลินในดินมีผลต่อการสะสมออกซีเตตราซัยคลินในต้นดาวเรืองโดยตรง ความเข้มข้นของออกซีเตตราซัยคลินในดินลดลงได้จากการสลายตัวของสารในสภาวะที่ทดลองและจากการดูดซึมของต้นดาวเรือง

ผลจากการวิเคราะห์ความเข้มข้นของออกซีเตตราซัยคลินในดินที่ปลูกต้นดาวเรือง พบว่าความเข้มข้นของสารลดลงตามเวลา โดยลดลงอย่างรวดเร็วในวันแรกของการทดลองและหลังจากนั้นจะลดลงอย่างช้าๆในช่วงหลังการทดลอง (รูปที่ 4.7, ตารางผนวกที่ ง.4) เช่นเดียวกับที่พบในการศึกษาการสลายตัวในข้อ 4.3 และเมื่อคำนวณอัตราคงที่ของออกซีเตตราซัยคลินที่หายไปจากดิน (Depuration rate constant, k_{dep}) ในการทดลองการสะสมของออกซีเตตราซัยคลินในต้นดาวเรือง พบว่า k_{dep} เท่ากับ 0.42 ต่อวัน หรือคำนวณเป็นค่าครึ่งชีวิต (จาก $t_{1/2}$ = ln 2/k) เท่ากับ 6.1 วัน เมื่อเปรียบเทียบกับการทดลองการสลายตัวของสารซึ่งพบว่าอัตราคงที่ของสลายตัว ที่อุณหภูมิ 25 ± 2 °ซ และไม่มีแสง ค่า k_{deg} เท่ากับ 0.29 ต่อวัน หรือเป็นค่าครึ่งชีวิตเท่ากับ 2.7 วัน แสดงให้เห็นว่า ค่า k_{dep} มีค่ามากกว่า k_{deg} จากตารางที่ 4.3 จึงสรุปว่าการที่ความเข้มข้นของออกซีเตตราซัยคลินในดินจากการทดลองการสะสมหายไปเกิดจากการดูดซึมของต้นดาวเรืองและต้นดาวเรืองช่วยลดความเข้มข้น

ของสารในดินได้ โดยถ้าพิจารณาจากค่าครึ่งชีวิตต้นดาวเรืองจะช่วยร่นเวลาที่ความเข้มข้นของสารจะลดเหลือครึ่งหนึ่งได้ประมาณ 1.7 วัน (16.8 ช.ม.) จากการสลายตัวจากสภาวะแวดล้อมที่ 2.4 วัน (57.6 ช.ม.)

ตารางที่ 4.3 อัตราคงที่ของการหายไป การสลายตัวและค่าครึ่งชีวิตของออกซีเตตราซัยคลิน

การทดลอง	อัตราคงที่ที่สารลดลง (rate constant, k)	ค่าครึ่งชีวิต (วัน)
การสะสมในพืช (k_{dep})	0.42	1.7
การสลายตัว (k_{deg})	0.29	2.4



รูปที่ 4.6 เปรียบเทียบปริมาณออกซีเตตราซัยคลินในดิน และในราก ลำต้นของต้นดาวเรือง

4.4.5 ค่าการสะสมออกซีเตตราซัยคลินในต้นดาวเรือง

การคำนวณค่าการสะสมของสารในพืช (Bioconcentration factor หรือ BCF) ได้จากความเข้มข้นของสารที่พบในพืช (C_B) หารด้วยความเข้มข้นของสารที่พบในดิน (C_S) ในการทดลองนี้มีการคำนวณค่าการสะสมที่แบ่งเป็นค่าการสะสมในราก (Root concentration factor, RCF) ค่าการสะสมในลำต้น (Shoot concentration factor, SCF) และค่าการสะสมออกซีเตตราซัยคลินในต้นดาวเรืองทั้งต้น (Bioconcentration factor, BCF) โดยความเข้มข้นของสารในราก (C_{root}) ในลำต้น (C_{shoot}) และทั้งต้น (C_B) และความเข้มข้นของสารในดิน (C_S) ในเวลาต่างๆนั้นได้แสดงอยู่ใน (ภาคผนวก ง) ส่วนค่า RCF SCF และ BCF แสดงในตารางที่ 4.4

ค่าการสะสมของสารในราก (Root concentration factor, RCF) คำนวณได้จากความเข้มข้นของสารที่พบในราก (C_{root}) หารด้วยความเข้มข้นของสารที่พบในดิน (C_S) ผลของการสะสมออกซีเตตราซัยคลินในรากของต้นดาวเรืองค่า (RCF) ระยะเวลา 25 วันของการทดลองมีค่าอยู่ในช่วง 1.20 - 2.80 กก.ดินแห้ง/กก.รากแห้ง (ตารางที่ 4.4) และค่าการสะสมสูงสุดในวันที่ 4 เท่ากับ 2.78 กก.ดินแห้ง/กก.รากแห้ง (รูปที่ 4.8) โดยค่าการสะสมในรากเพิ่มขึ้นสูงสุดในวันที่ 4 ของการทดลอง

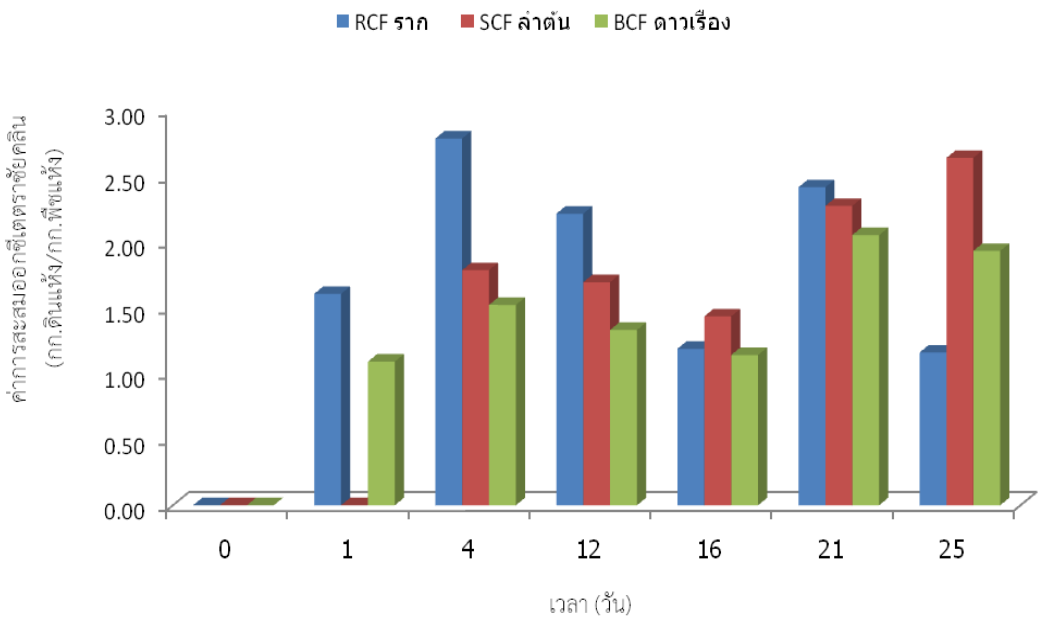
ผลการคำนวณค่าการสะสมของสารในลำต้น (Shoot concentration factor, SCF) ได้จากความเข้มข้นของสารที่พบในลำต้น (C_{shoot}) หารด้วย ความเข้มข้นของสารที่พบในดิน (C_S) พบว่าค่า SCF ของออกซีเตตราซัยคลินในลำต้นมีค่าระหว่าง 1.40 - 2.70 กก.ดินแห้ง/กก.ลำต้นแห้ง (ตารางที่ 4.4) และค่าการสะสมสูงสุดในวันสุดท้ายของการทดลองเท่ากับ 2.64 กก.ดินแห้ง/กก.ลำต้นแห้ง (รูปที่ 4.8) สำหรับค่าSCF นี้มีแนวโน้มสูงขึ้นตลอดเวลา

เมื่อเปรียบเทียบค่า RCF กับ ค่า SCF ในเวลาต่างๆ พบว่า ในช่วง 4 วันแรกของการทดลองค่าการสะสมในราก (ค่า RCF) จะสูงขึ้นอย่างรวดเร็วแล้วเปลี่ยนแปลงน้อยมากหลังจากนั้น ในขณะที่ค่าการสะสมในลำต้น (ค่า SCF) เริ่มพบในวันที่ 4 ของการทดลองและสูงขึ้นเรื่อยๆอย่างช้าๆ แสดงว่าออกซีเตตราซัยคลินที่สะสมในลำต้นเกิดจากการเคลื่อนย้ายจากรากและการเคลื่อนย้ายยังไม่สิ้นสุดเมื่อเสร็จสิ้นการทดลอง สำหรับค่า RCF ที่สูงกว่า ค่า SCF ในบางช่วงเวลาก็เนื่องจากรากรับออกซีเตตราซัยคลินจากดินโดยตรง อย่างไรก็ตามค่า RCF และค่า SCF ไม่ต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $p > 0.05$ ทั้งนี้อาจเป็นเพราะปริมาณไขมันในรากและในลำต้นไม่ต่างกันมากนักดังที่แสดงในข้อ 4.1.2

ผลการคำนวณค่า BCF ในต้นดาวเรืองพบว่า อยู่ในช่วงระหว่าง 1.00 - 2.10 กก.ดินแห้ง/กก.พืชแห้ง และสูงสุดเท่ากับ 2.05 กก.ดินแห้ง/กก.พืชแห้ง ในวันที่ 21 ของการทดลอง (ตารางที่ 4.4) โดยค่าการสะสมเพิ่มขึ้นอย่างคงที่ (รูปที่ 4.7) โดยมีการเปลี่ยนแปลงไม่มาก สำหรับค่าการสะสมออกซีเตตราซัยคลินในต้นดาวเรืองนี้มีค่าใกล้เคียงกับค่าที่ได้จากการทดลองของ Boonsaner and Hawker (2010) พบว่าการสะสมออกซีเตตราซัยคลินในต้นถั่วเหลืองสูงสุด 3.32 กก.ดินแห้ง/กก.พืชแห้ง

ตารางที่ 4.4 ค่าการสะสมของออกซีเตตราซัยคลินในราก (RCF) ลำต้น (SCF) และ ทั้งต้น (BCF)

วันที่ทดลอง	ออกซีเตตราซัยคลิน		
	ค่า RCF (กก.ดินแห้ง/กก. รากแห้ง)	ค่า SCF (กก.ดินแห้ง/กก. ลำต้นแห้ง)	ค่า BCF (กก.ดินแห้ง/กก. พืชแห้ง)
0	0	0	0
1	1.60	0	1.09
4	2.78	1.78	1.52
12	2.21	1.69	1.33
16	1.19	1.43	1.14
21	2.41	2.27	2.05
25	1.16	2.64	1.93



ภาพที่ 4.7 แสดงการเปรียบเทียบการสะสม RCF SCF และ BCF ของต้นดาวเรือง

4.4.6 ประสิทธิภาพในการบำบัดออกซีเตตราซัยคลินในดินโดยต้นดาวเรือง

การคำนวณประสิทธิภาพในการบำบัดสารที่ปนเปื้อนในดินทำโดยการคำนวณความเข้มข้นสารที่หายไปกับความเข้มข้นของสารที่มีเมื่อเริ่มต้น ดังนี้
ประสิทธิภาพในการบำบัด หรือ

$$\% \text{ Removal} = \frac{\text{ความเข้มข้นของสารในดินที่หายไป}}{\text{ความเข้มข้นของสารเมื่อเริ่มต้น}} \times 100$$

การทดลองนี้ความเข้มข้นของออกซีเตตราซัยคลินในดินเมื่อเริ่มทดลองเท่ากับ 4.65 มก./กก.ดินแห้ง และเมื่อสิ้นสุดการทดลองในเวลา 25 วันความเข้มข้นของออกซีเตตราซัยคลินในดินเหลืออยู่ 0.65 มก./กก.ดินแห้ง ดังนั้นประสิทธิภาพในการบำบัดดินของต้นดาวเรืองจึงเท่ากับ [(4.65-0.65)]/4.65] x 100 = 86 เปอร์เซ็นต์

ผลการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่าความเข้มข้นของออกซีเตตราซัยคลินในดินที่ 5 มก./กก. ดินแห้ง ไม่เป็นพิษต่อต้นดาวเรือง และต้นดาวเรืองยังมีประสิทธิภาพในการบำบัดออกซีเตตราซัยคลินในดินได้สูงถึง 86 เปอร์เซ็นต์ ในระยะเวลา 25 วัน ดังนั้นจึงสรุปว่าต้นดาวเรืองใช้เป็นพืชบำบัดดินที่มีออกซีเตตราซัยคลินปนเปื้อนได้ดี (Phytoremediation) ในความเข้มข้นออกซีเตตราซัยคลินในดินไม่ควรเกิน 5 มก./กก.ดินแห้ง

แต่เมื่อศึกษาประสิทธิภาพของดาวเรืองในการบำบัดดินที่ปนเปื้อนออกซีเตตราซัยคลินพบว่ามีประสิทธิภาพเท่ากับ 86 เปอร์เซ็นต์ ในระยะเวลา 25 วัน ซึ่งมีค่าค่อนข้างสูงนั้น ดังนั้นจึงอาจสรุปว่าต้นดาวเรืองสามารถนำไปใช้เพื่อบำบัดดินที่มีออกซีเตตราซัยคลินปนเปื้อนได้

มหาวิทยาลัยศิลปากร

บทที่ 5

สรุปผลการทดลอง

การทดลองการบำบัดดินที่ปนเปื้อนออกซีเตตราซัยคลินโดยต้นดาวเรืองได้ทำการทดลองการดูดซับและการสลายตัวของออกซีเตตราซัยคลินในดินเนื่องจากความเข้มข้นของออกซีเตตราซัยคลินที่ต้นดาวเรืองดูดซึมได้จะขึ้นกับความเข้มข้นของออกซีเตตราซัยคลินในดิน ผลการทดลองการดูดซับออกซีเตตราซัยคลินในดิน พบว่าค่า K_d ของออกซีเตตราซัยคลินในดินมีค่าเท่ากับ 3.11 ล./กก. ซึ่งค่อนข้างต่ำแสดงว่าออกซีเตตราซัยคลินอาจจะจับกับดินได้น้อย ทำให้ Bioavailability ของสารต่อต้นดาวเรืองมีค่าสูงขึ้น ส่วนการทดลองการสลายตัวของออกซีเตตราซัยคลินในดิน พบว่าอัตราคงที่ของการสลายตัวของออกซีเตตราซัยคลิน (k_{deg}) ในดิน มีค่าเท่ากับ 0.29 ต่อวัน ส่วนค่าครึ่งชีวิต ($t_{1/2}$) ของสาร เท่ากับ 2.4 วัน ซึ่งค่อนข้างเร็วและอาจเป็นการช่วยให้ประสิทธิภาพในการบำบัดดินที่ปนเปื้อนออกซีเตตราซัยคลินโดยต้นดาวเรืองสูงขึ้น

สำหรับการทดลองการสะสมออกซีเตตราซัยคลินของต้นดาวเรืองโดยการปลูกต้นดาวเรืองในดินที่มีออกซีเตตราซัยคลินปนเปื้อน 5 มก./กก.ดินแห้งเป็นเวลา 25 วันพบว่า สารไม่เป็นอันตรายต่อต้นดาวเรืองทั้งยังสามารถสะสมได้ในส่วนต่างๆของพืช ผลการวิเคราะห์ความเข้มข้นออกซีเตตราซัยคลินในรากพบว่าความเข้มข้นเพิ่มขึ้นในช่วงแรกของการทดลองและหลังจากนั้นความเข้มข้นมีแนวโน้มลดลง ขณะที่ความเข้มข้นของออกซีเตตราซัยคลินในลำต้นเริ่มตรวจพบในวันที่ 4 ของการทดลองและเพิ่มขึ้นอย่างช้าๆตามเวลาการทดลอง ผลการทดลองนี้แสดงว่าออกซีเตตราซัยคลินสามารถเคลื่อนย้าย (Translocation) จากกรากสู่ลำต้น แต่การเคลื่อนย้ายเกิดขึ้นอย่างช้าๆจึงทำให้การความเข้มข้นของสารในลำต้นพบได้หลังจากการทดลองผ่านไปแล้วถึง 4 วัน ส่วนความเข้มข้นของออกซีเตตราซัยคลินในรากมีแนวโน้มลดลงในช่วงหลังของการทดลอง อาจเนื่องจากสารที่ดูดซึมจากดินเข้าสู่รากนั้นถูกเคลื่อนย้ายไปสู่ลำต้น

ผลการคำนวณค่าการสะสมออกซีเตตราซัยคลินในรากและลำต้นพบว่า ค่า RCF และ SCF มีค่าสูงสุดเท่ากับ 2.78 และ 2.64 กก.ดินแห้ง/กก.พืชแห้งตามลำดับ ทั้งค่า RCF และ SCF ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ $p > 0.05$ อาจเนื่องจากปริมาณไขมันที่ไม่ต่างกัน ส่วนการสะสมออกซีเตตราซัยคลินในต้นดาวเรืองมีค่า BCF อยู่ระหว่าง 1.0-2.1 กก.ดินแห้ง/กก.พืชแห้ง และสะสมสูงสุดที่ 2.05 กก.ดินแห้ง/กก.พืชแห้ง แสดงว่าต้นดาวเรืองสามารถสะสมออกซีเตตราซัยคลินได้ไม่สูงมากนัก

ข้อเสนอแนะในการทดลองต่อไป

- อาจเลือกพืชชนิดอื่นมาศึกษาเปรียบเทียบเพื่อเป็นข้อมูลเพิ่มเติมในด้านการบำบัดดินที่ปนเปื้อนออกซีเตราซัยคลิน

- ในการศึกษาต่อไปอาจศึกษาในสภาวะแวดล้อมปลูกจริง

บรรณานุกรม

กรมพัฒนาที่ดิน. 2556. **คุณสมบัติของดิน**. สำนักงานสำรวจและวิจัยทรัพยากรดิน. แหล่งที่มา: http://oss101.ldd.go.th/web_soils_for_ youth/s_property_ im2.htm., 13 กันยายน 2557.

คณาจารย์ภาควิชาปฐพีวิทยา. 2526. **ปฐพีวิทยาเบื้องต้น**. ภาควิชาปฐพีวิทยา. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ

คนาวรรณ พจนาคม และ ปนัดดา ใยภักดี. 2547. โครงสร้างกับความคงสภาพทางเคมีของยา (Structures and Chemical Stability of Drugs). **วารสารศรีนครินทร์วิโรฒเภสัชสาร** 9(1) : 81-92.

จันทนี แจ่มแสงทอง. 2553. **การบำบัดสารมลพิษโดยใช้เทคโนโลยี Phyremediation**. แหล่งที่มา: http://www.tint.or.th/nkc/nkc51/nkc5104/nkc5104v.htm., 20 สิงหาคม 2556.

จีราจันทร์ จันทร์งาม. 2554. **การฟื้นฟูดินที่ปนเปื้อนสารอินทรีย์ไตรคลอโรเอทธีลีนโดยใช้หญ้าแฝก**. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ชัยฤกษ์ สุวรรณรัตน์. 2535. **การศึกษาเกี่ยวกับดินและปุ๋ยเพื่อการผลิตถั่วลิสง**. คณะเกษตร. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ชลธิชา เทพรักษ์. 2556. **การสะสมยาปฏิชีวนะออกซีเตตราซัยคลินจากน้ำของพืชน้ำ 3 ชนิด**. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยศิลปากร.

ดวงกมล คำสอน และ ชมพูนุท ไชยรักษ์. 2556. การดึงดูดโลหะหนักของทานตะวันที่ปลูกในดินปนเปื้อน สังกะสี ตะกั่ว และทองแดง. **วารสารวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น**, 41(2) : 467-475.

นงคราญ กาญจนประเสริฐ. 2549. **ทรัพยากรดิน**. โรงพิมพ์ แม็ค จำกัด, กรุงเทพฯ.

บัญชาการ วินัยพานิช. 2548. **การบำบัดดินที่ปนเปื้อนทองแดง โดยใช้ผักกาดเขียวปลีต้อยติ่งและไมยราบ**. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยจุฬาลงกรณ์.

มลิวรรณ บุญเสนอ. 2552. **นิเวศพิษวิทยา**. โรงพิมพ์มหาวิทยาลัยศิลปากร, นครปฐม.

วงจันทร์ วงศ์แก้ว. 2535. **หลักสรีรวิทยาของพืช**. โรงพิมพ์ห้างหุ้นส่วนจำกัดฟันนี่พับบลิชชิ่ง, กรุงเทพฯ.

สมศรี อรุณินท์ และ อรุณี ยูวะนิยม 2535. **กลไกความทนเค็มของพืชชอบเกลือ**. แหล่งที่มา: http://www.idd.go.th/ddwebside/web_ord/Research/Full_Research_pdf/Research_Grup03.html., 4 กรกฎาคม 2557.

อลิสา วังใน. 2550. **การบำบัดสารมลพิษทางชีวภาพ (Bioremediation)**. โรงพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์วิทยาลัย, กรุงเทพฯ.

Alistair, B.A. 2003. **The Fate of Antibiotics Applied to Soils**. Availble Source: http:// gsa.confex.com.gsa/2003AM/finalprogram/abstract_64869.htm, October 22, 2013.

Alkorta, I. and Garbisu, C. 2001. Phytoremediation of Organic Contaminants in Soils. **Bioresource Technology** 79: 273-276.

Anderson, C.E. 1998. **Chemical Fate Processes**. Availble Source: www.abe.iastate. edu/ AST324/Lesson13WQchemicalfate.ppt, February 6, 2013.

Arikan, O.A., L.J. Sikora., W. Mulbry., S.U. Khan., G.D. Foster. 2007. Compositing Rapidly Reduces Levels of Extractable Oxytetracycline in Manure from Therapeutically Treated Beef Calves. **Bioresource Technology**. 98: 169-176.

Association of Official Analytical Chemists (AOAC), 1984. Chloride in Plants. In Williams (ED). **Official Method of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists**, The William Byrd Press, Inc., Virginia. 47-48.

Association of Official Analytical Chemists (AOAC), 1996. Florisil Soild-phase Extraction Cartridges. In Williams (ED). **Official Method of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists**, The William Byrd Press, Inc., Virginia. 79: 1454-1458.

Blackwell, P.A., P. Kay and A.B. Boxall. 2007. The Dissipation and Transport of Veterinary Antibiotics in a Sandy Loam Soil. **Chemosphere**. 67: 292-299.

Boonsaner, M. and D.W. Hawker. 2010. Accumulation of Oxytetracycline and Norflox acin from Saline Soil by Soybean. **Science of the Total Environment**. 408 (1): 1731-1737.

Boonsaner, M., S. Borrirukwisitsak and A. Boonsaner. 2011. Phytoremediation of BTEX Contaminated Soil by *Canna x generalis*. **Ecotoxicology and Environmental Safety**. 74(6): 1700-1707.

Boonsaner, M. and D.W. Hawker. 2012. Investigation of the Mechanism of the Uptake and Accumulation of Zwitterionic Antibiotics by Rice (*Oryza sativa* L.). **Ecotoxicology and Environmental Safety**. 78(1): 142-147.

Boonsaner, M. and D.W. Hawker. 2013. Evaluation of Food Chain Transfer of the Anti biotic Oxytetracycline and Human Risk Assessment. **Chemosphere**. 93(6): 1009-1014

Boxall, A.B.A., P.A. Blackwell., R. Cavallo., P. Kay and J. Tolls. 2002. The Sorption and Transport of a Sulphonamide Antibiotic in Soil System. **Toxicology Letters**. 131: 19-28.

Boxall, A.B.A. and J.F. Ericson. 2012. Environmental Fate of Human Pharmaceuticals. **Human Pharmaceuticals in the Eivironment**. 4(1): 63-83.

Capone, D.G., D.P. Weston., V. Miller and C. Shoemaker. 1996. Antbacterial Residues in Marine Sediments and Invertebrates following Chemotherapy in Aquaculture. **Aquaculture**. 145: 55-75.

Chee-Sanford, J., R.I. Mackie., S. Koike., I.G. Krapac., Y.F. Lin., A.a. Yannarell., S. Maxwell., R.I. Aminov. 2009. Fate and Transport of Antibiotic Residues and Antibiotic Resistance Genes following Land Application Manure Waste. **Journal of Environmental Quality**. 38: 1086-1108.

Chen, J. 2010. **Phytoremdiation and Phytosensing Technologies**. Availble Source: http://systemsbiology.usm.edu/PhytoTech/WRKY07012011/Phytoremediation.html, April 17, 2012.

Chintakovid, W., P. Visoottiviseth., S. Khokiattiwong., S. Lauengsucholkul., 2007. Potential of the Hybrid Marigold for Arsenic Phytoremediation and Income generation of Remediator in Ron Phibun District, Thailand. **Chemosphere**. 70 (8): 1532-1537.

Chiou, C.T., P.E. Porter and D.W. Schmedding 1983. Partition Equilibria of Nonionic organic Compoundd between Soil Organic Matter and Water. **Environmental Science and Technology**. 17: 227-231

Choo P.S. 1994. Degradation of Oxytetracycline Hydrochrolide in Fresh and Seawater. **Asian Fisheries Science**. 7: 195-200.

Connell, D.W. 1990. **Bioaccumulation of Xenobiotic Compounds**. CRC Press Inc., New York.

Doi, A.M. and M.K. Stoskopf. 2000. The Kinetics of Oxytetracycline Degradation in Deionized Water under Varying Temperature, pH, Light, Substrate and Organic Matter. **Journal of Aquatic Animal Health**. 12: 246 - 253.

Environmental Protection Agency (EPA). 2000. **Introduction to Phytoremediation. National Risk Management Research Laboratory**. Environmental Protection Agency Cincinnati., U.S.A.

Ferrante, C.S.C., B.A. Nunes, J. Henriques-Almeida and L. Guilhermino. 2007. Acute toxicity of Oxytetracycline and Florfenicol to the Microalgae *Tetraselmis chuii* and to the Crustacean *Artemia parthenogetica*. **Ecotoxicology and Environmental Safety**. 67: 452 - 458

Figueroa, R., A. Leonard and A.A. Mackay. 2004. Modeling Tetracycline Antibiotic Sorption to Clays. **Environmental Science and Technology**. 38: 476-483

Gong, W., X. Liu., H. He., L. Wang and G. Dai. 2012. Quantitatively Modeling Soil-water Distribution Coefficients of Three Antibiotics using Soil Physicochemical Properties, **Chemosphere**. 89: 825-831

Halling-Sørensen, B., A. Lykkeberg., F. Ingerslew., P. Blackwell and J. Tirrnelund. 2003. Characterisation of the Antibiotic Degradation Pathways of the Oxytetracy clines in Soil Interstitial Water Using LC-MS-MS, **Chemosphere**. 50: 1331-1342.

Herbert, B.J. and J.G. Dorsey. 1995. *n*-Octanol-water Partition Coefficient Estimation by Micellar Electrokinetic Capillary Chromatography. **Analytical Chemistry**. 67: 744-749.

Kerry, J., R. Coyne., D. Gilroy., M. Hiney and P. Smith. (1996). Spatial Distribution of Oxytetracycline and Elevated Frequencies of Oxytetracycline Resistance in Sediments Beneath a Marine Salmon Farm following Oxytetracycline Therepy. **Aquaculture**. 145: 31-39.

Kochansky, S.W., D.S. Brown and T.A. Scott. 2000. Sorption of Hyphobic Pollutants on Natural Sediments. **Water Research**. 13: 241-248.

Kolpin, D.W., E.T. Forlong., M.T. Meyer., E.M. Thurman., S.D.Zaugg., L.B. Barber and H.T. Buxton. 2002. Pharmaceuticals, Hormones, and other Organic Wastewater Contaminants in U.S. Streams 1999-2000. A National Reconnaissance. **Environmental Science and Technology**. 36: 1202-1211.

Kong, W.D., Y.G. Zhu., Y.C. Liang., J. Zhang., F.A. Smith and M. Yang. 2007. Uptake of Oxytetracycline and its Phytotoxicity to Alfalfa (*Medicago sativa* L.). **Environmental Pollution**. 147: 187-193.

Kumar, K., S.C. Gupta, Baidoo, Y. Chander and C.J Rosen. 2005. Antibiotic Uptake by Plants from Soil Fertilized with Animals Manure. **Journal of Environmental Quality**. 34: 2082-2085.

Lindberg, R. 2006. **Determination of Antibiotics in the Swedish Environment with Emphasis on Sewage Treatment Plants**. UMEA University, Department of Chemistry, Environmental Chemistry. Printed by VMC, KBC, UMEA University, Sweden.

Liu, F., G. Ying., R. Tao., J. Zhao., J. Yang and L. Zhao. 2009. Effects of Six Selected Antibiotics on Plant Growth and Soil Microbial and Enzymatic Activities**.** **Environmental Pollution**. 157: 1636-1642.

Loke, M.L., J. Tirrnelund and B. Halling-Sørensen. 2002. Determination of the Dis tribution Coefficient (log K_d) of Oxytetracycline, Tylosine A, Olaquindox and Metronidazole in Manure. **Chemosphere**. 48: 351-361.

Lüers, F. and Th.E.M. ten Hulscher. 1996. Temperature Effect on the Partitioning of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons between Natural Organic Carbon and Water. **Chemosphere**. 33(4): 643-657.

Martínez-Carballo E., C. Gonza' lez-Barreiro., S. Scharf and O. Gans. 2007. Environ mental Monitoring Study of Selected Veterinary Antibiotics in Animal Manure and Soils in Austria. **Environmental Pollution**. 148: 570-579.

Pedersen, O. 1993. Long-Distance Water Transport in Aquatic Plants. **Journal of Plant Physiology**. 103(4): 1369–1375.

Schmitt, H. 2003. **The Sorption of Veterinary Pharmaceuticals to 11 Different Field Soils**. Proceedings on the European Conference on Pharmaceuticals in the Environment 14-16 April 2003, Lyon, France.

Sithole, B.B. and D. Guy. 1987. Models for Tetracycline in Aquatic Environment. Interaction with Bentonite Clay System. **Water Air and Soil Pollution**. 32: 303 -314.

Stevens Institute of Technology. 2006. **Method of soil sterilization**. Available Source: http://www.chem.stevens.edu/Microbiology_Lab/Research/anti-Bioterrorism/ Review_ Sterilization.doc, May 27, 2013

Tan, K.H. 1995. **Soil Sampling Preparation and Analysis**. Marcel Dekker Inc., Hong Kong.

Toll, J. 2001. Sorption of Veterinary Pharmaceuticals in Soils: A Review, **Environmental Science and Technology**. 35(17): 3397-3406

Walter, G., A.C. Alder., E.M. Golet., P.E. Kohler., C.S. McArdell., E. Molnar., H. Siegrist And M.J-F Suter. 2003. Occurrence and Fate of Antibiotics as Trace Contaminants in Wastewaters, Sewage Sludges, and Surface Waters. **Chimia**. 57: 485-498.

Wang, Q. and S.R. Yates. 2008. Laboratory Study of Oxytetracycline Degration Kinetics in Animal Manure and Soil. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. 56: 1683-1688.

Wassef, M. K. 1983. **Environmental Assessment: Finalization for Oxytetracycline Water Soluble and Premix Formulations for Food Producing Animals**. Environmental Impact Staff, Bureau of Veterinary Medicine. U.S. Food and drug Administratin. October 1983.

Wikipedia. 2010. **ดาวเรือง**. Available Source: http://en.wikpedis.org/wiki/Star_Trek, January 09, 2015

Xu, X.R. and X.Y. Li. 2010. Sorption and Desorption of Antibiotic Tetracycline on Marine Sediments. **Chemosphere**. 78: 430-436.

Yang, J., G. Ying., L. Zhoun., S. Liu and J. Zhao. 2009. Dissipation of Oxytetracycline in Soil under Different Redox Conditions. **Environment Pollution**. 157(2009): 2704-2709.

Yuan, S., Q. Wang., S.R. Yates and N.G. Peterson. 2010. Development of an Efficient Extraction Method for Oxytetracycline in Animal Manure for High Performance Liquid Chromatography Analysis. **Environmental Science and Health, Part A**. 45(1): 612-620.

มหาวิทยาลัยศิลปากร

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

วิธีการเตรียมสารเคมี

ภาคผนวก ก

การเตรียมสารเคมี

1. สกัดตัวอย่างดินและพืช เตรียมโดย

สายละลาย Buffer (McIlvaine buffer EDTA) เตรียมดังนี้

1) ชั่ง Anhydrous dibasic sodium phosphate (Na2HPO4) จำนวน 28.4 ก. นำมาละลายด้วยน้ำปราศจากไอออน และปรับปริมาตรเป็น 1000 มล.

2) ชั่ง Citric acid monohydrate (C6H8O7.H2O) จำนวน 21.0 ก. นำมาละลายด้วยน้ำปราศจากไอออน และปรับปริมาตรเป็น 1000 มล.

3) นำสารละลายที่ได้จากข้อ 1 (Anhydrous dibasic sodium phosphate) จำนวน 625 มล. ผสมกับสารละลายที่ได้จากข้อ 2 (Citric acid mono.) จำนวน 1000 มล. เขย่าให้เข้ากัน นำไปปรับพีเอชให้เป็น 1.0 + โดยการเติม 0.1 M HCl

4) ชั่ง EDTA-di-sodium salt (C10H14N2Na2O8.2H2O) จำนวน 60.5 ก. ผสมกับสารละลายในข้อ 3 ที่เตรียมไว้ 1.625 ล.

2. สารละลาย Mobile phase ในเครื่อง HPLC เตรียมโดย

สารละลาย Oxalic acid 0.01 M ใน Methanol เตรียมดังนี้

1) ชั่ง Oxalic acid จำนวน 1.26 ก. นำมาละลายใน Methanol HPLC grade ปรับปริมาตรให้ได้ 1000 มล.

มหาวิทยาลัยศิลปากร

ภาคผนวก ข

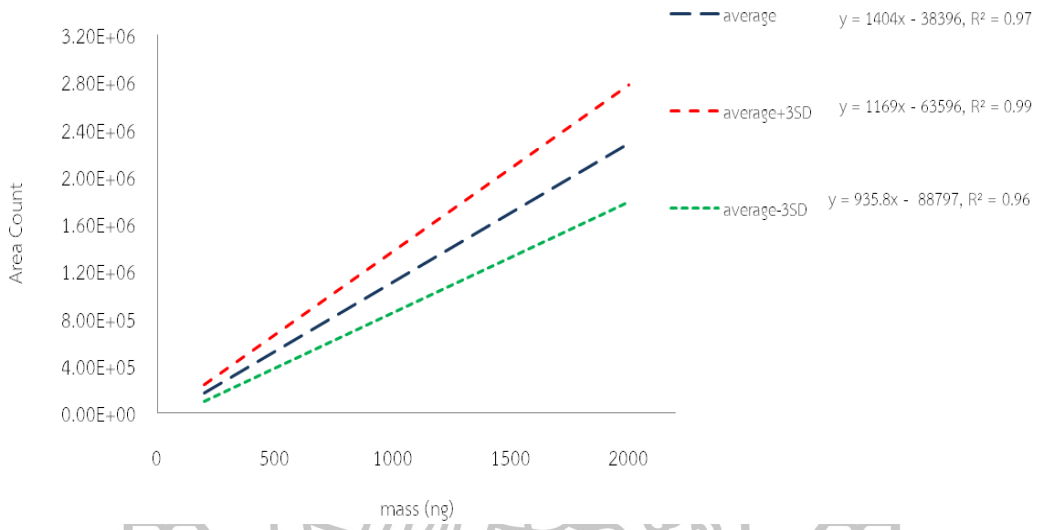
วิธีการหา ค่า Instrument detection limit (IDL), Method detection limit (MDL) และ % Recovery

ภาคผนวก ข

1. วิธีการหา Instrument detection limit (IDL)

การหา Instrument detection limit (IDL) คำนวณจาก 3 เท่าของค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (S.D.) ที่ได้จากการฉีดสารละลายออกซีเตตราซัยคลินที่มีปริมาณสาร ดังนี้ 200, 400, 600, 1000 และ 2000 น.ก. ซึ่งแต่ละความเข้มข้นจะทำการฉีดซ้ำ 5 ครั้งแล้วทำการหาค่าเฉลี่ยและความเบี่ยงเบนมาตรฐานของออกซีเตตราซัยคลิน จากนั้นนำมาคำนวณได้จากสูตร

Instrument detection limit =± 3SD



ภาพผนวกที่ ข.1 กราฟมาตรฐานของออกซีเตตราซัยคลิน

2. วิธีการหา Method detection limit (MDL)

การหา Method detection limit (MDL) ของวิธีการสกัดออกซีเตตราซัยคลินในดิน พืช และน้ำ คำนวณจาก 3 เท่าของค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ทำโดย Spike ออกซีเตตราซัยคลินที่ความเข้มข้น 100 มก./ล. ลงในดิน พืช และน้ำ และนำไปสกัดและวิเคราะห์เช่นเดียวกับที่วิเคราะห์ตัวอย่าง ซึ่งทำซ้ำทั้งหมด 3 ครั้ง จากนั้นนำมาหาค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานแล้วคำนวณตามสูตร

Method detection limit =± 3SD

3. วิธีการหา % Recovery

การหา % Recovery ของวิธีการสกัดดิน พืช และน้ำ ทำโดย Spike ออกซีเตตราซัยคลินที่ความเข้มข้น 100 มก./ล. ลงในตัวอย่าง จากนั้นนำไปสกัดและวิเคราะห์เช่นเดียวกับที่วิเคราะห์ตัวอย่าง ได้ความเข้มข้นของออกซีแต่ละตัวแล้วจึงนำไปคำนวณ % Recovery โดยเทียบกับความเข้มข้นของสารที่เติมลงไปดังนี้

ภาคผนวก ค

ขั้นตอนการทดลอง

ภาคผนวก ค

ขั้นตอนการเตรียมพืช

- นำต้นดาวเรืองมาแช่น้ำสะอาดเป็นเวลา 1-2 วัน เพื่อลดการปนเปื้อน

ภาพผนวกที่ ค.1 เตรียมพืชก่อนเริ่มทดลอง

ขั้นตอนการทดลองการสะสมออกซีเตตราซัยคลินโดยต้นดาวเรือง

ภาพผนวกที่ ค.2 ผสมดินกับสารละลายออกซีเตตราซัยคลินให้ดินมีความเข้มข้นของออกซีเตตราซัยคลิน 5 มก./กก.

ภาพผนวกที่ ค.3 ทดลองการสะสมออกซีเตตราซัยคลินโดยต้นดาวเรือง ในวันที่ 16

ขั้นตอนการหาปริมาณไขมันในพืช

ภาพผนวกที่ ค.4 การวิเคราะห์หาไขมันในต้นดาวเรือง

ขั้นตอนการสกัดออกซีเตตราซัยคลิน โดยวิธี Solid Phase Extraction

ภาพผนวกที่ ค.5 การสกัดออกซีเตตราซัยคลินในตัวอย่างดินและพืช

ภาคผนวก ง

รายละเอียดผลการทดลอง

ตารางผนวกที่ ง.1 น้ำหนักพืชก่อน - หลังการทดลอง การเจริญเติบโต

วันที่เก็บ	dup	น้ำหนักพืช (ก.)		ความยาวลำต้น (ซ.ม.)		ความยาวราก (ซ.ม.)
		ก่อน	หลัง	ก่อน	หลัง	ก่อน
ชุดควบคุม		75.64	75.68	18.00	18.04	25.80
1	1	69.43	69.43	20.20	20.20	27.50
	2	71.75	71.75	18.40	18.40	28.30
4	1	66.52	66.54	21.30	21.32	25.00
	2	84.98	85.00	19.00	19.01	25.60
12	1	69.80	69.85	22.70	22.72	29.00
	2	75.50	75.54	17.90	17.93	22.80
16	1	69.07	69.10	17.50	17.54	29.10
	2	84.78	84.82	19.30	19.33	30.00
21	1	65.07	65.11	21.40	21.44	24.70
	2	73.23	73.26	22.10	22.15	30.10
25	1	56.08	56.10	19.50	19.53	29.30
	2	62.07	62.09	20.80	20.83	27.70
เฉลี่ย		**70.69**	**70.72**	**20.01**	**20.03**	**27.43**

จากตารางแสดงการเจริญเติบโตของชุดควบคุมและชุดทดลองของต้นดาวเรือง ซึ่งทั้งชุดควบคุมและชุดทดลองไม่ต่างกันแสดงว่าออกซีเตตราซัยคลินไม่มีผลต่อการเจริญเติบโต ส่วนความยาวรากหลังการทดลองไม่ได้วัดความยาว

ตารางผนวกที่ ง.2 ปริมาณการใช้น้ำของต้นดาวเรืองโดยเฉลี่ยต่อวัน

วันที่ทดลอง	ปริมาณน้ำ (มล.)	วันที่ทดลอง	ปริมาณน้ำ (มล.)
1	5.0	13	4.3
2	3.0	14	4.0
3	3.0	15	3.5
4	5.0	16	4.0
5	4.0	17	3.8
6	3.8	18	4.5
7	4.4	19	3.0
8	3.3	20	4.0
9	3.9	21	4.0
10	3.8	22	4.5
11	4.1	23	4.0
12	4.3	24	4.0
อัตราเฉลี่ยการใช้น้ำต่อวัน = 4 มล./วัน			

ตารางผนวกที่ ง.3 ความเข้มข้นของออกซีเตตราซัยคลินในดินระหว่างการทดลองการสลายตัว

วันทดลอง (ช.ม.)	ความเข้มข้นในดิน (มก./กก.ดินแห้ง)
0	4.15
15	2.87
30	2.59
45	2.57
60	2.16

ตารางผนวกที่ ง.4 ความเข้มข้นของออกซีเตตราซัยคลินในดิน

วันที่ทดลอง	ความเข้มข้นของออกซีเตตราซัยคลินในดิน (มก./กก.ดินแห้ง)		
	การทดลองที่ 1	การทดลองที่ 2	เฉลี่ย
0	4.95	4.52	4.74
1	1.35	0.98	1.16
4	0.63	0.63	0.63
12	0.92	0.89	0.90
16	1.16	1.07	1.12
21	0.47	0.52	0.50
25	0.71	0.60	0.65

ตารางผนวกที่ ง.5 ความเข้มข้นของออกซีเตตราซัยคลินในรากของต้นดาวเรือง

วันที่ทดลอง	ความเข้มข้นของออกซีเตตราซัยคลินในราก (มก./กก.พืชแห้ง)		
	การทดลองที่ 1	การทดลองที่ 2	เฉลี่ย
0	0	0	0
1	1.93	1.80	1.87
4	1.85	1.67	1.76
12	1.89	2.11	2.00
16	1.34	1.31	1.33
21	1.20	1.21	1.20
25	0.82	0.69	0.76

ตารางผนวกที่ ง.6 ความเข้มข้นของออกซีเตตราซัยคลินในลำต้นของต้นดาวเรือง

วันที่ทดลอง	ความเข้มข้นของออกซีเตตราซัยคลินในลำต้น (มก./กก.พืชแห้ง)		
	การทดลองที่ 1	การทดลองที่ 2	เฉลี่ย
0	0	0	0
1	0	0	0
4	1.01	1.26	1.13
12	1.70	1.37	1.53
16	1.59	1.62	1.60
21	1.18	1.08	1.13
25	1.80	1.64	1.72

มหาวิทยาลัยศิลปากร

ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ – สกุล นางสาววรินทิพย์ สิทธิชัย
ที่อยู่ 196/466 หมู่ 1 ตำบลนครสวรรค์ตก อำเภอเมือง จังหวัดนครสวรรค์ 60000
โทรศัพท์ 082-1735397
E-mail address ka_tark6867@hotmail.com

ประวัติการศึกษา

พ.ศ. 2552 สำเร็จการศึกษาปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์ชีวภาพ มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

พ.ศ. 2555 ศึกษาต่อระดับปริญญามหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

ผลงานวิจัยที่ตีพิมพ์เผยแพร่

วรินทิพย์ สิทธิชัย และ มลิวรรณ บุญเสนอ. 2558. การบำบัดดินที่ปนเปื้อนออกซีเตตราซัยคลินโดยต้นดาวเรือง, 3733-3743. *ใน* **รายงานการประชุมวิชาการบัณฑิตศึกษาและนานาชาติ ครั้งที่ 5 เรื่อง “การศึกษาเชิงสร้างสรรค์ ทุนปัญญาสู่อาเซียน**. มหาวิทยาลัยศิลปากร, กรุงเทพฯ.