

Research Article

การเปรียบเทียบประสิทธิภาพและความเป็นพิษของถ่านกัมมันต์ และเปลือกไข่ในการกำจัดสีย้อมเมทิลีนบลู

Comparison of the efficiency and cytotoxicity of activated carbon and eggshell adsorbent in removal of methylene blue dye

ประกายเพชร ปานแก้ว¹ ภาสวิญญ์ ทรงจิตสมบุญ² และ วรณีย์ จีรังกูรสกุล^{3*}

Prakaipet Pankaew¹, Passavitch Songjitsomboon² and Wannee Jiraungkoorskul^{3*}

¹สาขาเทคนิคการสัตวแพทย์ คณะเทคนิคการสัตวแพทย์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ เขตจตุจักร กรุงเทพฯ 10900

¹Veterinary Technology Program, Faculty of Veterinary Technology, Kasetsart University, Chatuchak, Bangkok 10900, Thailand

²สาขาวิทยาศาสตร์ชีวภาพ วิทยาลัยนานาชาติ มหาวิทยาลัยมหิดล อำเภอพุทธมณฑล นครปฐม 73170

²Biological Science Program, Mahidol University International College, Mahidol University, Phutthamonthon District, Nakhonpathom 73170, Thailand

³ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล เขตราชเทวี กรุงเทพฯ 10400

³Department of Pathobiology, Faculty of Science, Mahidol University, Ratchathewi, Bangkok 10400, Thailand

*E-mail: wannee.jir@mahidol.ac.th

Received: 14/02/2019; Revised: 29/08/2019; Accepted: 16/09/2019

บทคัดย่อ

ปัจจุบันมีการใช้สีย้อมกันอย่างมากเนื่องจากมีประโยชน์หลายอย่าง แต่ทุกสิ่งย่อมมีทั้งข้อดีและข้อเสีย สีย้อมเหล่านี้ก็มีความอันตรายอยู่ เช่น มีสารก่อมะเร็ง สามารถทำให้เกิดอันตรายร้ายแรงต่อสิ่งมีชีวิตในน้ำและผู้ใช้สีย้อมลงในแหล่งน้ำโดยไม่มีการบำบัดก่อนทำให้สีย้อมเหล่านี้เกิดการตกค้างในแหล่งน้ำ มีผลต่อสัตว์รวมถึงมนุษย์ที่มีการใช้น้ำหรือมีการบริโภคสัตว์จากแหล่งน้ำ ส่งผลเสียต่อสิ่งแวดล้อม จึงจำเป็นที่จะต้องหาวิธีบำบัดน้ำที่มีสีย้อมปนเปื้อนอยู่ก่อนที่จะปล่อยลงในแหล่งน้ำ การใช้วัสดุเหลือใช้ทางการเกษตรมาเป็นตัวดูดซับ เช่น เปลือกไข่คือทางเลือกที่ดีเนื่องจากมีต้นทุนต่ำ หาได้ง่าย ใช้ในครัวเรือนและเป็นวัสดุเหลือใช้ที่มีมาก สามารถกำจัด

ได้โดยการฝังกลบ มีรายงานการวิจัยหลายงานที่ใช้เปลือกไข่เป็นตัวดูดซับเนื่องจากคุณสมบัติที่เป็นรูพรุน โดยงานวิจัยนี้ต้องการทดสอบเปรียบเทียบการดูดซับสีซีย้อมเมทิลีนบลูกับถ่านกัมมันต์ซึ่งเป็นวัสดุที่มีการดูดซับสีได้ดี แต่กระบวนการผลิตถ่านนั้นส่งผลให้เกิดมลพิษ ทำให้เกิดภาวะโลกร้อนเนื่องจากการปลดปล่อยก๊าซเรือนกระจก โดยทำการวัดปริมาณสีซีย้อมเมทิลีนบลูที่ถูกดูดซับด้วยเครื่องยูวี-วิสิเบิล สเปกโตรโฟโตมิเตอร์เปรียบเทียบกันและนำไปทดสอบความเป็นพิษโดยใช้ไรทะเลเป็นสัตว์ทดลองเนื่องจากเป็นสัตว์ที่มีร่างกายไม่ซับซ้อน มีขนาดเล็ก หาได้ง่าย และสามารถมองเห็นโครงสร้างทั้งหมดได้ จากนั้นนำเนื้อเยื่อของไรทะเลมาทำพาราฟินบล็อกและซีย้อมสี ศึกษาการเกิดพยาธิสภาพด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงเพื่อดูลักษณะความผิดปกติที่เกิดขึ้น พบว่าเปลือกไข่สามารถนำมาใช้เป็นตัวดูดซับสีซีย้อมเมทิลีนบลูที่ปนเปื้อนอยู่ในน้ำได้เช่นเดียวกับถ่านกัมมันต์ แต่จะต้องใช้ในปริมาณที่มากกว่า การใช้เปลือกไข่เป็นตัวดูดซับสีซีย้อมเมทิลีนบลูไม่ได้ก่อให้เกิดความเป็นพิษต่อเซลล์มากกว่าถ่านกัมมันต์ ดังนั้นเปลือกไข่นับเป็นอีกทางเลือกที่ดีสำหรับการบำบัดน้ำที่มีการปนเปื้อนของสีซีย้อมเมทิลีนบลู

คำสำคัญ: คาร์บอน, ความเป็นพิษต่อเซลล์, สีซีย้อม, เปลือกไข่, จุลพยาธิวิทยา

Abstract

Currently, the dye is used worldwide due to its benefits. But everything has both advantages and disadvantages. The chemicals in each dye are dangerous, such as carcinogens, and can cause serious harm to aquatic organisms and consumers. The emission of dyes into water resources without treatment, can affect human and animals, and also the environment. Therefore, it needs to treat the contaminated water before releasing into the environment. The agro-waste such as eggshell, is a good choice for a water treatment because of its low cost, easy to find, household use and waste material that can be eliminated by landfill. Many researches have chosen to use egg shells due to porosity. This research would like to compare the adsorption of methylene blue dye with the activated carbon, which is the best absorbent, but the process of production resulting in pollution, and causing global warming. To compare the efficiency of eggshell and activated carbon in reducing the amount of methylene blue dye, UV-Visible spectrophotometer was employed, and the toxicity was analysed by using brine shrimp bioassay. We used brine shrimp as experimental animal because this animal is not complicated, small, easy to obtain and able to see the whole structure. It was found that the eggshell can be used as an adsorbent for methylene blue dye as well as activated carbon, but must be used in greater quantities. The use of eggshell as a dye absorbing does not cause cytotoxicity than activated carbon. Thus, eggshell is another alternative choice for water treatment.

Keywords: carbon, cytotoxicity, dye, eggshell, histopathology

บทนำ

ในปัจจุบันมีการใช้สีย้อมกันอย่างมากทั้งในวงการแพทย์ วิทยาศาสตร์ อุตสาหกรรม ใช้สำหรับการวิจัย การผลิตสินค้า การตรวจวินิจฉัยโรค จึงถือว่าสีย้อมเป็นสิ่งที่มีความจำเป็นมากในปัจจุบัน แต่ในทางตรงกันข้ามสีย้อมเหล่านี้ก็มีความอันตรายอยู่เช่นกัน เช่น สีย้อมมีสารก่อมะเร็ง สามารถทำให้เกิดอันตรายร้ายแรงต่อสิ่งมีชีวิตในน้ำ และผู้ใช้น้ำ (Ngadi et al., 2013) ซึ่งอันตรายเหล่านี้สามารถเกิดขึ้นได้จากการทิ้งสีย้อมลงในแหล่งน้ำโดยไม่มีการบำบัดก่อน จึงทำให้สีย้อมเหล่านี้เกิดการตกค้างในแหล่งน้ำ ส่งผลต่อสัตว์ รวมถึงมนุษย์ที่มีการใช้น้ำหรือมีการบริโภคสัตว์จากแหล่งน้ำ ส่งผลเสียต่อสิ่งแวดล้อม (Hassaan & El Nemr, 2017) ด้วยเหตุนี้จึงจำเป็นต้องหาวิธีบำบัดน้ำที่มีสีย้อมปนเปื้อนอยู่ก่อนที่จะปล่อยลงในแหล่งน้ำ ยกตัวอย่างเช่น การตกตะกอนทางเคมี การกรอง การใช้ไฟฟ้า และการดูดซับ (Li et al., 2013) ในปัจจุบันมีการใช้วัสดุเหลือใช้ทางการเกษตรมาเป็นตัวดูดซับ (Adegoke & Bello, 2015) เช่น กาบมะพร้าว (Jibril et al., 2013) แกลบข้าวสาลี (Banerjee et al., 2014) เมล็ดทุเรียน (Azmi et al., 2015) และซังข้าวโพด (Berber-Villamar et al., 2018) เป็นต้น

ผู้วิจัยได้สังเกตเห็นวัสดุเหลือใช้ในครัวเรือนที่อาจนำมาใช้ประโยชน์ในการบำบัดน้ำได้ โดยมีต้นทุนต่ำ หาได้ง่าย ใช้ในครัวเรือน เป็นวัสดุเหลือใช้ที่มีมาก เช่น เปลือกไข่ซึ่งมีรายงานว่าองค์ประกอบโดยน้ำหนักเป็นแคลเซียมคาร์บอเนต (94%) แมกนีเซียมคาร์บอเนต (1%) แคลเซียมฟอสเฟต (1%) และอินทรีย์วัตถุ (4%) เป็นวัสดุชีวภาพที่มีรูพรุน การที่เป็นรูพรุนก่อให้เกิดการเคลื่อนที่ของก๊าซผ่านเปลือกไข่ มีการใช้เทคนิคการทดลองหลายอย่างเพื่อศึกษาความเป็นรูพรุนของเปลือกไข่ไก่ซึ่งรวมถึงการส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด ดังนั้นในช่วงไม่กี่ปีที่ผ่านมาจึงมีการศึกษาจำนวนมาก เกี่ยวกับการนำเปลือกไข่มาใช้ประโยชน์จากองค์ประกอบและลักษณะทางกายภาพ ตัวอย่างของการใช้งานเปลือกไข่ เช่น การใช้เป็นตัวดูดซับสารปนเปื้อนในการบำบัดน้ำและดิน (Arzate-Vázquez et al., 2019) เปลือกไข่เป็นผลพลอยได้จากสัตว์ที่อาจสามารถใช้งานได้หลากหลาย รวมถึงมีคุณสมบัติที่ดีในการเป็นตัวดูดซับ มีการคาดการณ์ว่าเปลือกไข่อาจมีรูพรุนประมาณ 7,000 - 17,000 รูซึ่งทำให้กลายเป็นวัสดุที่น่าสนใจสำหรับการใช้ดูดซับ ในช่วงไม่กี่ปีที่ผ่านมาตลาดไข่มีการเติบโตเนื่องจากความต้องการของผู้บริโภคที่เพิ่มขึ้น ในปี พ.ศ. 2560 ทุกประเทศในสหภาพยุโรป (EU-28) ผลิตเปลือกไข่ประมาณ 700 กิโลตัน (Santos et al., 2019) FAO รายงานว่าในปี พ.ศ. 2547 สหรัฐอเมริกาผลิตเปลือกไข่ประมาณ 600,000 ตัน และยังพบว่าการผลิตไข่ทั่วโลกในปี 2551 มีจำนวนเกือบ 62 ล้านตัน โดยจีนมีผลผลิตมากที่สุด เปลือกไข่มีองค์ประกอบแร่คล้ายกับปะการังจึงเป็นวัสดุที่มีแนวโน้มสำหรับการนำมาสังเคราะห์เป็นเซรามิกแคลเซียมฟอสเฟต ผงเปลือกไข่มีรายงานว่าปลอดภัยต่อการนำมาใช้งานในสัตว์หลายชนิดและรวมถึงมนุษย์ที่ยุโรปและเอเชีย ซึ่งในปัจจุบันมีผลิตภัณฑ์เสริมอาหารที่ผสมเปลือกไข่จำหน่ายเพื่อเสริมสร้างสุขภาพของกระดูก (Salama et al., 2019)

ดังนั้นผู้วิจัยจึงต้องการทำการทดสอบเปรียบเทียบกับถ่านกัมมันต์ซึ่งเป็นวัสดุที่มีการดูดซับสีย้อมได้ดี (Lu et al., 2011) แต่กระบวนการผลิตถ่านนั้นส่งผลให้เกิดมลพิษ ทำให้เกิดภาวะโลกร้อนเนื่องจากการปลดปล่อยก๊าซเรือนกระจก (Chidumayo & Gumbo, 2013) ซึ่งทางผู้วิจัยได้เลือกสีย้อมเมทิลีนบลูมาใช้ในการศึกษาเพราะเป็นสีที่มี

การใช้มาก พบได้ในงานหลายด้าน โดยจะทำการทดสอบทางพิษวิทยาในสัตว์ทดลองคือ ไรทะเล (Hlywka et al., 1997; Hartl & Humpf, 2000; Hazra & Chatterjee, 2008; Apu et al., 2010; Ullah et al., 2013) ที่เลี้ยงด้วยน้ำผสมสี ย้อมซึ่งผ่านการบำบัดด้วยวัสดุดังกล่าว และนำมาทำการตรวจวิเคราะห์ทางจุลพิษวิทยาเพื่อศึกษาลักษณะความผิดปกติของที่เกิดขึ้นในเนื้อเยื่อ ซึ่งถ้าผลการทดสอบที่ได้ออกมาว่าเปลือกไข่มิมีประสิทธิภาพใกล้เคียงหรือมากกว่า ถ่านกัมมันต์ จะช่วยเพิ่มทางเลือกในการบำบัดที่มีต้นทุนต่ำ มีประโยชน์ในหลาย ๆ ด้านซึ่งสามารถทำการกำจัดตัว ดูดซับโดยการฝังกลบ

วิธีการทดลอง

1. การเตรียมตัวดูดซับ

นำไข่มก้ามกุ้งล้างด้วยน้ำประปาให้สะอาด ต้มให้สุกในน้ำเดือด 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที หลังจากนั้นปอกเปลือกแล้วตากเปลือกไข่มให้แห้ง ชั่งน้ำหนักและนำเปลือกไข่มไปอบให้แห้งในตู้อบที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส แล้วนำเปลือกไข่มออกมาชั่งน้ำหนักตามระยะเวลาที่อบ คือ 1, 2, 3, 4, 5, 6 และ 24 ชั่วโมง เพื่อหาค่า ร้อยละของความชื้นหรือความชื้นเปลือกไข่ม จากนั้นนำมาปั่นให้เป็นผงด้วยเครื่องปั่นไฟฟ้าแล้วร่อนคัดขนาดด้วย ตะแกรงร่อนให้ได้ขนาดเล็กลงกว่า 1 มิลลิเมตร เก็บตัวดูดซับเปลือกไข่มที่ได้ในภาชนะที่ป้องกันความชื้น เพื่อใช้ในการ ทดลองต่อไป ในกรณีของถ่านกัมมันต์ให้นำมาปั่นให้เป็นผงแล้วร่อนคัดขนาดเช่นเดียวกับเปลือกไข่ม

2. การเตรียมสีย้อมเมทิลินบลู

ใช้สีย้อมเมทิลินบลูที่เป็นเกรดวิเคราะห์ นำมาละลายในน้ำกลั่นที่ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร แล้ว นำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องยูวี-วิสิเบิล สเปกโตรโฟโตมิเตอร์ รุ่น 340 (Sequoia Turner, ใต้หวัน) ตั้งแต่ ความยาวคลื่น 400 -800 นาโนเมตร เพื่อหาความยาวคลื่นที่ให้ค่าการดูดกลืนแสงสูงสุด (λ_{max}) จากนั้นเตรียมสีย้อม เมทิลินบลูโดยละลายในน้ำกลั่นให้มีความเข้มข้นตั้งแต่ 0, 2, 4, 6, 8, และ 10 มิลลิกรัมต่อลิตร นำมาวัดค่าการ ดูดกลืนแสงด้วยเครื่องยูวี-วิสิเบิล สเปกโตรโฟโตมิเตอร์ที่ค่าความยาวคลื่นที่ให้ค่าการดูดกลืนแสงสูงสุด (λ_{max}) จาก ผลการทดลองข้อ 1 เพื่อนำมาสร้างกราฟมาตรฐาน

3. การศึกษาการกำจัดสีย้อมเมทิลินบลูโดยการดูดซับด้วยเปลือกไข่มและถ่านกัมมันต์

ชั่งตัวดูดซับเปลือกไข่มน้ำหนัก 1, 5, และ 10 กรัม ใส่ในขวดรูปชมพู่ ดูดสารละลายสีย้อมเมทิลินบลูที่ความ เข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ใส่ลงไปในแต่ละขวด นำไปเขย่าที่ความเร็ว 140 รอบต่อนาที เก็บ ตัวอย่างสารละลายสีย้อมเมทิลินบลูที่ผ่านการเขย่าเป็นเวลา 30, 60, 90, และ 120 นาที นำไปปั่นตกตะกอนเพื่อนำมา วัดค่าการดูดกลืนแสงในแต่ละช่วงเวลาด้วยเครื่องยูวี-วิสิเบิล สเปกโตรโฟโตมิเตอร์ เพื่อวิเคราะห์หาปริมาณสีย้อม เมทิลินบลูที่เหลือโดยการเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน ในกรณีของถ่านกัมมันต์ให้ดำเนินการทดลองแบบเดียวกัน เพื่อเป็นการเปรียบเทียบประสิทธิภาพ ทำการทดลองนี้ซ้ำสามครั้ง

4. การศึกษาความเป็นพิษของเปลือกไข่และถ่านกัมมันต์ที่ผ่านการดูดซับแล้วโดยใช้ไรทะเล

ชั่งตัวดูดซับเปลือกไข่และถ่านกัมมันต์อย่างละ 10 กรัม หลังจากนั้นดูดสารละลายสีข้อมเมทิลีนบลูที่ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาตร 100 มิลลิกรัมใส่ลงไปในแก้วขวด นำไปเขย่าที่ความเร็ว 140 รอบต่อนาที เก็บตัวอย่างสารละลายสีข้อมเมทิลีนบลูที่ผ่านการเขย่าเป็นเวลา 30 นาที นำไปปั่นตกตะกอนและนำมาทดสอบความเป็นพิษโดยใช้ไรทะเลเป็นสัตว์ทดลอง โดยแบ่งการทดลองออกเป็น 4 กลุ่ม ดังนี้

กลุ่มที่ 1 น้ำทะเล (3.5% NaCl) เป็นกลุ่มควบคุมลบ (negative control)

กลุ่มที่ 2 สีข้อมเมทิลีนบลูที่ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นกลุ่มควบคุมบวก (positive control)

กลุ่มที่ 3 สีข้อมเมทิลีนบลูที่ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่ผ่านตัวดูดซับเปลือกไข่

กลุ่มที่ 4 สีข้อมเมทิลีนบลูที่ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่ผ่านถ่านกัมมันต์

หมายเหตุ : กลุ่มที่ 2, 3 และ 4 จะต้องทำการปรับให้มีความเค็มอยู่ที่ระดับ 3.5%

นำสารละลายแต่ละกลุ่ม ปริมาตร 30 มิลลิกรัมใส่ในบีกเกอร์และคัดเลือกไรทะเลระยะโตเต็มวัยจำนวนเพศผู้ 5 ตัว และเพศเมีย 5 ตัว (Meyer et al., 1982; Sahgal et al., 2010; Sasidharan, 2014) ใส่ลงไปในบีกเกอร์นี้ 5 ชุด วางบีกเกอร์ในอุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 24 ชั่วโมง บันทึกจำนวนการตายของไรทะเล จากนั้นเก็บไรทะเลในแต่ละกลุ่มการทดลองใส่ในน้ำยาสภาพเนื้อเยื่อ ตัวอย่างเนื้อเยื่อจะดำเนินการตามวิธีของ Presnell & Schreiber (1997) โดยนำเนื้อเยื่อมาแช่ในแอลกอฮอล์ความเข้มข้นตั้งแต่ 70%, 80%, 95% และ 100% เพื่อกำจัดน้ำออกจากเนื้อเยื่อ หลังจากนั้นนำเนื้อเยื่อมาแช่ในไซลิน ต่อด้วยพาราฟินเหลว แล้วฝังเนื้อเยื่อในบล็อก ทำให้เนื้อเยื่อมีความแข็งพอที่จะตัดออกเป็นชิ้นบาง ๆ (paraffin section) ขนาด 4-5 ไมครอน ย้อมเนื้อเยื่อด้วยสีฮีมาท็อกซิดินและอีโอซิน นำมาตรวจวิเคราะห์ด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง Olympus CX31 และถ่ายภาพด้วย Canon EOS 1100D digital camera

ผลการทดลอง

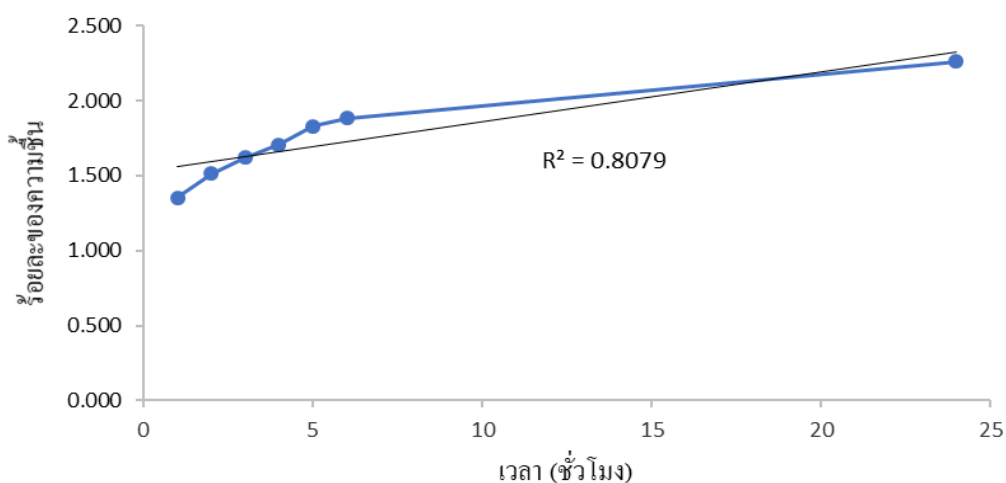
1. ผลการศึกษาคุณสมบัติของเปลือกไข่

หลังจากชั่งน้ำหนักและนำเปลือกไข่ไปอบให้แห้งในตู้อบที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส แล้วนำเปลือกไข่ออกมาชั่งน้ำหนักตามระยะเวลาคือ 1, 2, 3, 4, 5, 6 และ 24 ชั่วโมง เพื่อหาค่าร้อยละของความชื้นเปลือกไข่ ได้ผลตามรูปที่ 1 คือ พบความชื้นหลังจากอบแห้ง 24 ชั่วโมงเฉลี่ยร้อยละ 2.26

2. ผลการศึกษาประสิทธิภาพการกำจัดสี (efficiency of dye removal)

จากการเก็บตัวอย่างสารละลายสีข้อมเมทิลีนบลูที่ผ่านการเขย่าเป็นเวลา 30, 60, 90, และ 120 นาที นำไปปั่นตกตะกอนเพื่อนำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงในแต่ละช่วงเวลาด้วยเครื่องยูวี-วิสิเบิล สเปกโตรโฟโตมิเตอร์ เพื่อวิเคราะห์หาปริมาณสีข้อมเมทิลีนบลูที่ค่าความยาวคลื่น 667 นาโนเมตร ได้ผลดังตารางที่ 1 โดยพบว่าความเข้มข้นของสีข้อมเมทิลีนบลูที่ผ่านการดูดซับโดยเปลือกไข่และถ่านกัมมันต์ มีค่าลดลงอย่างมาก เมื่อเปรียบเทียบกับกราฟ

มาตรฐานความเข้มข้นของเมทิลีนบลูที่เวลา 30 นาที ซึ่งเป็นการวัดค่าเป็นเวลาแรก แต่เมื่อวัดค่าในเวลาหลังจากนั้นค่าที่ได้มีการเปลี่ยนแปลงแบบไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ จึงสรุปได้ว่าใช้เวลาไม่เกิน 30 นาทีก็เพียงพอต่อการดูดซับสีของตัวดูดซับที่จะใช้ในการทดลองครั้งนี้ จากผลการศึกษาพบว่า ถ่านกัมมันต์มีประสิทธิภาพในการดูดซับสีของเมทิลีนบลูสูงกว่าเปลือกไข่ (ทุกช่วงเวลาและปริมาณตัวดูดซับที่เท่ากัน) อย่างไรก็ตามในการแยกถ่านกัมมันต์จากสารละลายสีของเมทิลีนบลูที่ใช้ในการศึกษาพบว่าทำได้ยากและไม่สามารถแยกออกได้ทั้งหมด ซึ่งแตกต่างจากการแยกเปลือกไข่ที่ผ่านการดูดซับออกจากสารละลายสีของเมทิลีนบลูอย่างชัดเจน



รูปที่ 1. ร้อยละของความชื้นที่หายไปหลังจากอบแห้ง

ตารางที่ 1. ประสิทธิภาพการกำจัดสีเมทิลีนบลู (ร้อยละ) โดยการดูดซับด้วยเปลือกไข่และถ่านกัมมันต์

	เวลาที่เขย่า (นาที)							
	เปลือกไข่				ถ่านกัมมันต์			
น้ำหนัก (กรัม)	30	60	90	120	30	60	90	120
1	38.34	35.64	33.84	28.62	97.57	97.30	98.27	98.11
5	61.88	55.89	52.97	51.51	95.57	96.33	97.35	96.65
10	70.30	67.39	66.47	65.39	97.52	96.33	98.43	98.49

3. ผลการทดสอบความเป็นพิษโดยใช้ไรทะเล (brine shrimp cytotoxicity bioassay)

จากการทดลองพบว่ากลุ่มที่ 1 มีการตายของไรทะเล 1 ตัวจาก 50 ตัว (2%) กลุ่มที่ 2 มีการตายของไรทะเล 3 ตัวจาก 50 ตัว (6%) กลุ่มที่ 3 มีการตายของไรทะเล 2 ตัวจาก 50 ตัว (4%) กลุ่มที่ 4 มีการตายของไรทะเล 2 ตัวจาก 50 ตัว (4%)

4. ผลการวิเคราะห์เนื้อเยื่อในพาราฟินบล็อก (paraffin block technique)

กลุ่มที่ 1 น้ำทะเล (3.5% NaCl) เป็นกลุ่มควบคุม พบว่าเซลล์เยื่อในในระบบทางเดินอาหาร (enterocyte) ส่วนใหญ่อยู่ในสภาพที่ปกติคือ columnar cell มีนิวเคลียสอยู่ฐานของเซลล์ ส่วนบนมี cilia ปกติ (รูปที่ 4A)

กลุ่มที่ 2 สีย้อมเมทิลีนบลูที่ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นกลุ่มควบคุม พบว่าเซลล์ในระบบทางเดินอาหารส่วนใหญ่มีความผิดปกติเกิดขึ้น ได้แก่ เซลล์มีการยื่นตัวเข้าสู่ช่องทางเดินอาหาร (protruding cell) มีการเพิ่มจำนวนของเซลล์เยื่อทางเดินอาหาร (hyperplasia) เยื่อเมือกมีการหนาตัวขึ้น (mucus hyper secretion) พบตะกอนสีและเซลล์ตาย (necrosis) (รูปที่ 4B)

กลุ่มที่ 3 สีย้อมเมทิลีนบลูที่ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่ผ่านตัวดูดซับเปลือกไข่ พบว่าเซลล์ในระบบทางเดินอาหารบางส่วนมีความผิดปกติเกิดขึ้นและยังสามารถพบตะกอนสีย้อมเมทิลีนบลูในระบบทางเดินอาหารได้ในระดับหนึ่ง ได้แก่ เกิดช่องว่างในเซลล์ เยื่อเมือกมีการหนาตัวขึ้นและเซลล์มีการยื่นตัวเข้าสู่ช่องทางเดินอาหาร (รูปที่ 4C)

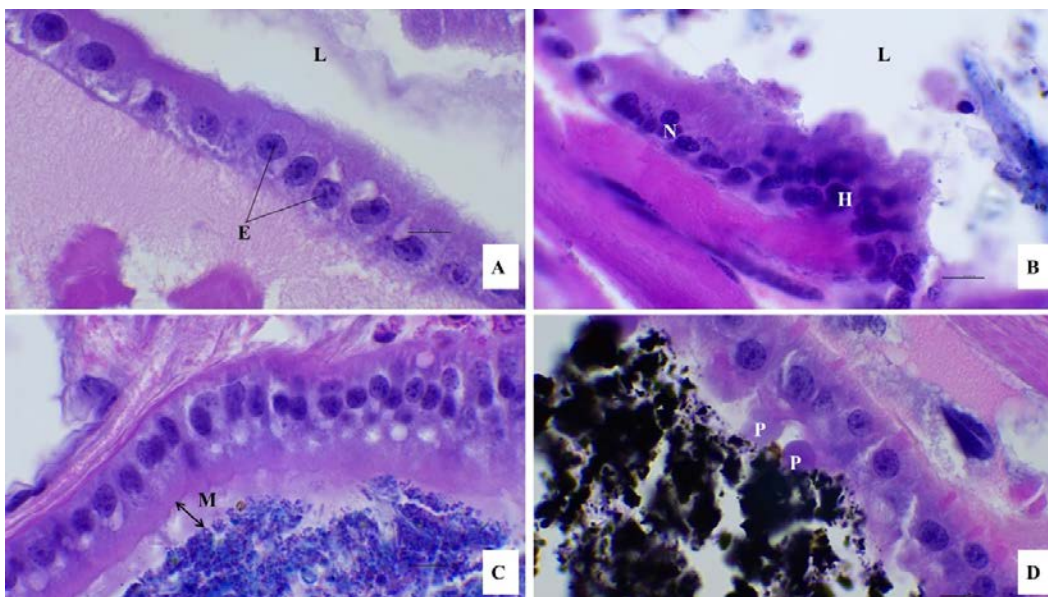
กลุ่มที่ 4 สีย้อมเมทิลีนบลูที่ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่ผ่านถ่านกัมมันต์ พบว่าเซลล์ในระบบทางเดินอาหารบางส่วนมีความผิดปกติเกิดขึ้น ได้แก่ เซลล์มีการยื่นตัวเข้าสู่ช่องทางเดินอาหาร มีการเพิ่มจำนวนของเซลล์เยื่อทางเดินอาหารและยังสามารถพบผงถ่านที่ดูดซับสีย้อมเมทิลีนบลูในระบบทางเดินอาหารจำนวนมาก (รูปที่ 4D)

วิจารณ์ผลการทดลอง

จากผลการทดลองที่ได้พบว่าความยาวคลื่นที่ให้ค่าการดูดกลืนแสงสูงสุด (λ_{max}) ของสีย้อมเมทิลีนบลู คือ 667 นาโนเมตร ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองที่ผ่านมา (Medidi et al., 2018) ส่วนค่าร้อยละของความขึ้นในเปลือกไข่โดยมีค่าเฉลี่ยคือ ร้อยละ 3.28 ซึ่ง Ajala et al. (2018) ได้รายงานว่าไข่ไก่มีความขึ้นไม่เกินร้อยละ 1.84 และ Al-Awwal & Lodo (2013) ได้ทำการทดลองที่ไนจีเรียรายงานว่าไข่ไก่มีความขึ้นไม่เกินร้อยละ 1.007 ดังนั้นความขึ้นในเปลือกไข่จึงมีความแปรผันได้ด้วยปัจจัยรอบข้าง เช่น สิ่งแวดล้อมหรือภูมิประเทศ จึงควรรอบแหย่งอย่างน้อยเป็นเวลา 24 ชั่วโมง (Ipeaiyeda et al 2014; Borhade & Kale, 2017)

นอกจากนี้ยังพบว่าตัวดูดซับสามารถใช้เวลาไม่เกิน 30 นาทีในการดูดซับสีย้อม ประสิทธิภาพการกำจัดสีเมทิลีนบลูที่มีการลดลงเมื่อทำการเพิ่มเวลาในการดูดซับทำให้เห็นว่าเปลือกไข่มีการคายซับซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Ipeaiyeda et al. (2014) โดยสีของสีย้อมเมทิลีนบลูที่ผ่านการดูดซับโดยเปลือกไข่ จะยังคงมีสีฟ้า

มากกว่าสีย้อมเมทิลีนบลูที่ผ่านการดูดซับโดยถ่านกัมมันต์ซึ่งมีลักษณะใสไม่มีสี แต่ปัญหาที่เกิดขึ้นพบว่าไม่สามารถปั่นตกตะกอนเพื่อกำจัดผงถ่านกัมมันต์ออกไปได้หมดเนื่องจากขนาดที่เล็กมากของผงถ่านกัมมันต์ จึงทำให้มีน้ำหนักเบาและไม่ตกตะกอนลงไปถึงแม้จะใช้การปั่นตกตะกอนที่ความเร็วรอบที่ 8,000 รอบต่อนาทีก็ตาม และเนื่องจากขนาดที่เล็กมากซึ่งอาจเล็กกว่า 2.5 ไมครอน จึงอาจทำให้เป็นอันตรายกับผู้ใช้ได้ (Wang et al., 2016; Ma et al., 2017) แต่ด้วยการทดลองใช้เปลือกไข่ที่ปริมาณต่าง ๆ พบว่ายังทำการเพิ่มปริมาณเปลือกไข่ยังทำให้สีย้อมถูกดูดซับออกไปได้มากขึ้น ซึ่งเห็นได้จากค่าการดูดกลืนแสงที่ลดลงในระยะเวลาที่เท่ากัน ทั้งนี้เป็นผลมาจากการเพิ่มปริมาณตัวดูดซับ เป็นการเพิ่มพื้นที่ผิวในการดูดซับ จึงทำให้ประสิทธิภาพการดูดซับสีย้อมเมทิลีนบลูมีค่าสูงขึ้น (Sivashankar et al., 2014) แต่อย่างไรก็ตามประสิทธิภาพของเปลือกไข่ยังน้อยกว่าผงถ่านกัมมันต์เมื่อใช้ในปริมาณที่เท่ากัน จึงจำเป็นต้องใช้เปลือกไข่จำนวนมากว่าในการบำบัดน้ำที่มีการปนเปื้อนของสีย้อมเมทิลีนบลู แต่เนื่องจากเปลือกไข่เป็นวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตรที่มีมาก หาได้ง่าย จึงทำให้เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อมมากกว่าถ่านกัมมันต์ที่จำเป็นต้องมีการผลิตซึ่งก่อให้เกิดมลพิษกับสิ่งแวดล้อม (Hjaila et al., 2013; Kim et al., 2018)



รูปที่ 4. ภาพเนื้อเยื่อทางเดินอาหารของไทรทะเล (A) กลุ่มที่ 1 (B) กลุ่ม 2 (C) กลุ่ม 3 (D) กลุ่มที่ 4

หมายเหตุ: E = enterocyte, H = hyperplasia, L = lumen, M = mucus, N = necrosis, P = protruding cell

จากการทดสอบความเป็นพิษกับสัตว์ทดลองคือไทรทะเล พบว่าสีย้อมก่อให้เกิดการตายที่น้อย อาจเป็นผลมาจากเมทิลีนบลูเป็นสีย้อมที่มีความเป็นพิษค่อนข้างต่ำ (Oz et al., 2011) จึงทำให้เกิดการตายของสัตว์ทดลองที่น้อย เนื่องจากระยะเวลาในการเลี้ยงที่สั้น แต่อย่างไรก็ตามจากการนำเนื้อเยื่อของสัตว์ทดลองมาส่องดูเซลล์ในระบบ

ทางเดินอาหาร พบว่าเซลล์มีการเปลี่ยนแปลงไปในทางที่แย่ง จึงสามารถบอกได้ว่าสีของเมทิลีนบลูมีผลเสียต่อสุขภาพในระยะยาวเมื่อได้รับในปริมาณมาก ๆ จากการทดลองพบว่าเปลือกไข่สามารถนำมาช่วยในการลดปริมาณของสีของเมทิลีนบลูลงได้โดยที่มีการก่อให้เกิดพยาธิสภาพคือ เซลล์มีการขึ้นตัวเข้าสู่ช่องทางเดินอาหาร เมื่อเทียบกับถ่านกัมมันต์ที่มีการก่อให้เกิดพยาธิสภาพคือ เซลล์มีการขึ้นตัวเข้าสู่ช่องทางเดินอาหารเดียวกัน แต่มีความผิดปกติที่รุนแรงกว่าคือการเพิ่มจำนวนของเซลล์เชื้อจุลินทรีย์ทางเดินอาหาร และในท้ายที่สุดพบการตายของเซลล์ ฉะนั้นการใช้เปลือกไข่จึงมีความปลอดภัยมากกว่าการใช้ถ่านกัมมันต์

สรุปผลการทดลอง

เปลือกไข่สามารถนำมาใช้เป็นตัวดูดซับสีของเมทิลีนบลูที่ปนเปื้อนอยู่ในน้ำได้เช่นเดียวกับถ่านกัมมันต์แต่จะต้องใช้ในปริมาณที่มากกว่า แต่อย่างไรก็ตามเปลือกไข่สามารถหาได้ง่ายและขบวนการผลิตไม่ได้ก่อให้เกิดผลกระทบหรือมลพิษต่อสิ่งแวดล้อมเท่ากับการผลิตถ่านกัมมันต์ การใช้เปลือกไข่เป็นตัวดูดซับสีของเมทิลีนบลูไม่ได้ก่อให้เกิดความเป็นพิษต่อเซลล์มากกว่าถ่านกัมมันต์ที่ทำให้เกิดการเพิ่มจำนวนของเซลล์เชื้อจุลินทรีย์ทางเดินอาหาร ถ้าต้องการวัสดุที่จะนำมาใช้ในการบำบัดน้ำได้ โดยที่มีต้นทุนต่ำ หาได้ง่าย ใช้ในครัวเรือน เป็นวัสดุเหลือใช้ที่มีมาก เปลือกไข่ นับเป็นอีกทางเลือกที่ดีอีกทางเลือกหนึ่งซึ่งสามารถนำไปต่อยอดเพื่อให้เกิดประสิทธิภาพในการดูดซับสำหรับการบำบัดน้ำต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณหน่วยปฏิบัติการพิษวิทยาสัตว์น้ำ ภาควิชาพยาธิชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล รวมทั้งนายปิยะ โคสัย และ นายสมนึก กู่ทะ ที่ให้การสนับสนุนและอำนวยความสะดวกในการทำการทดลองจนงานวิจัยนี้สำเร็จลงได้ด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

- Adegoke, K. A. & Bello, O. S. (2015). Dye sequestration using agricultural wastes as adsorbents. *Water Resources and Industry*, 12, 8-24. <https://doi.org/10.1016/j.wri.2015.09.002>
- Ajala, E. O., Eletta, O. A. A., Ajala, M. A. & Oyeniyi, S. (2018). Characterization and evaluation of chicken eggshell for use as a bio-resource. *Arid Zone Journal of Engineering, Technology and Environment*, 14(1), 26-40.
- Al-Awwal, N. & Lado, U. (2013). Proximate analyses of different samples of egg shells obtained from sokoto market in Nigeria. *International Journal of Science and Research*, 4, 564-566. doi: 10.21275/SUB152011

- Apu, A. S., Muhit, M. A., Tareq, S. M., Pathan, A. H., Jamaluddin, A. T. M. & Ahmed, M. (2010). Antimicrobial activity and brine shrimp lethality bioassay of the leaves extract of *Dillenia indica* Linn. *Journal of Young Pharmacists*, 2(1), 50-53. <https://doi.org/10.4103/0975-1483.62213>
- Arzate-Vázquez, I., Méndez-Méndez, J. V., Flores-Johnson, E. A., Nicolás-Bermúdez, J., Chanona-Pérez, J. J. & Santiago-Cortés, E. (2019). Study of the porosity of calcified chicken eggshell using atomic force microscopy and image processing. *Micron*, 118, 50-57. <https://doi.org/10.1016/j.micron.2018.12.008>
- Azmier, M., Ahmad, N. & Bello, O. (2015). Modified durian seed as adsorbent for the removal of methyl red dye from aqueous solutions. *Applied Water Science*, 5, 407-423. <https://doi.org/10.1007/s13201-014-0208-4>
- Banerjee, S., Chattopadhyaya, M., Sharma, U. & Sharma, Y. C. (2014). Adsorption characteristics of modified wheat husk for the removal of a toxic dye, methylene blue, from aqueous solutions. *Journal of Hazardous, Toxic, and Radioactive Waste*, 18, 56-63. [https://doi.org/10.1061/\(ASCE\)HZ.2153-5515.0000191](https://doi.org/10.1061/(ASCE)HZ.2153-5515.0000191)
- Berber-Villamar, N. K., Netzahuatl-Muñoz, A. R., Morales-Barrera, L., Chávez-Camarillo, G. M., Flores-Ortiz, C. M. & Cristiani-Urbina, E. (2018). Corn cob as an effective, eco-friendly, and economic biosorbent for removing the azo dye direct yellow 27 from aqueous solutions. *PLoS One*, 13(4), e0196428. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0196428>
- Borhade, A. V. & Kale, A. S. (2017). Calcined eggshell as a cost effective material for removal of dyes from aqueous solution. *Applied Water Science*, 7(8), 4255-4268. doi: 10.1007/s13201-017-0558-9
- Chidumayo, E. N. & Gumbo, D. J. (2013). The environmental impacts of activated carbon production in tropical ecosystems of the world: A synthesis. *Energy for Sustainable Development*, 17(2), 86-94. doi: 10.1016/j.esd.2012.07.004
- Hartl, M. & Humpf, H. U. (2000). Toxicity assessment of fumonisins using the brine shrimp (*Artemia salina*) bioassay. *Food and Chemical Toxicology*, 38(12), 1097-1102. [https://doi.org/10.1016/S0278-6915\(00\)00112-5](https://doi.org/10.1016/S0278-6915(00)00112-5)
- Hassaan, M. & El Nemr, A. (2017). Health and environmental impacts of dyes: Mini review. *American Journal of Environmental Science and Engineering*, 1, 64-67. doi: 10.11648/j.ajese.20170103.11
- Hazra, A. G. & Chatterjee, P. (2008). A nontoxic antitumour compound from the leaves of *Bauhinia scandens* characterized as 1-O-alkyl glycerol by gas-liquid chromatography and evaluation of its antitumour property by brine shrimp bioassay. *Industrial Crops and Products*, 27(1), 39-43. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2007.07.005>

- Hjaila, K., Baccar, R., Sarrà, M., Gasol, C. M. & Blázquez, P. (2013). Environmental impact associated with activated carbon preparation from olive-waste cake via life cycle assessment. *Journal of Environmental Management*, 130, 242-247. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2013.08.061>
- Hlywka, J. J., Beck, M. M. & Bullerman, L. B. (1997). The use of the chicken embryo screening test and brine shrimp (*Artemia salina*) bioassays to assess the toxicity of fumonisin B1 mycotoxin. *Food and Chemical Toxicology*, 35(10), 991-999. [https://doi.org/10.1016/S0278-6915\(97\)87268-7](https://doi.org/10.1016/S0278-6915(97)87268-7)
- Ipeaiyeda, A., Ebere, G. & Tesi, O. (2014). Sorption and desorption studies on toxic metals from brewery effluent using eggshell as adsorbent. *Advances in Natural Science*, 7, 15-24. doi:10.3968/5394
- Jibril, M., Noraini, J., Poh, L. S. & Evuti, A. M. (2013). Removal of colour from waste water using coconut shell activated carbon (CSAC) and commercial activated carbon (CAC). *Jurnal Teknologi*, 60, 15-19. <https://doi.org/10.11113/jt.v60.1435>
- Kim, M. H., Tae Jeong, I., Park, S. B. & Kim, J. W. (2018). Analysis of environmental impact of activated carbon production from wood waste. *Environmental Engineering Research*, 24(1), 117-126. <https://doi.org/10.4491/eer.2018.104>
- Li, S., Yang, W., Cao, C., Wang, Y. & Yang, S. (2013). Research progress of the physical and chemical treatment of dye wastewater. *International Journal of Scientific and Engineering Research*, 4, 2010-2012.
- Lu, P. J., Lin, H. C., Yu, W. T. & Chern, J. M. (2011). Chemical regeneration of activated carbon used for dye adsorption. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*, 42(2), 305-311. <https://doi.org/10.1016/j.jtice.2010.06.001>
- Ma, Q., Cai, S., Wang, S., Zhao, B., Martin, R., Brauer, M., et al. (2017). Impacts of coal burning on ambient PM_{2.5} pollution in China. *Atmospheric Chemistry and Physics*, 17, 4477-4491. <https://doi.org/10.5194/acp-17-4477-2017>
- Medidi, S., Markapurapu, S., Kotupalli, M. R., Chinnam, R. K. R., Susarla, V. M., Gandham, H. B. & Sanasi, P. D. (2018). Visible light photocatalytic degradation of methylene blue and malachite green dyes with cuwo4-go nano composite. *Modern Research in Catalysis*, 7, 17-34. doi: 10.4236/mrc.2018.72002
- Meyer, B. N., Ferrigni, N. R., Putnam, J. E., Jacobsen, L. B., Nichols, D., Nicols, L. & McLaughlin, J. (1982). Brine shrimp: A convenient general bioassay for active plant constituents. *Planta Medica*, 45, 31-34. doi: 10.1055/s-2007-971236
- Ngadi, N., Ee, C. C. & Yusoff, N. A. (2013). Removal of methylene blue dye by using eggshell powder. *Jurnal Teknologi*, 65, 63-71. <https://doi.org/10.11113/jt.v65.1648>

- Oz, M., Lorke, D. E., Hasan, M. & Petroianu, G. A. (2011). Cellular and molecular actions of methylene blue in the nervous system. *Medicinal Research Reviews*, 31(1), 93-117. doi: 10.1002/med.20177
- Presnell, J. K. & Schreibman, M. P. (1997). *Humason's Animal Tissue Techniques* (5th ed.). Maryland, United States: Johns Hopkins University Press.
- Sahgal, G., Ramanathan, S., Sasidharan, S., Mordi, M. N., Ismail, S. & Mansor, S. M. (2010). Brine shrimp lethality and acute oral toxicity studies on *Swietenia mahagoni* (Linn.) Jacq. seed methanolic extract. *Pharmacognosy Research*, 2(4), 215-220. doi: 10.4103/0974-8490.69107
- Salama, R., Khashaba, M. & El Roubi, D. (2019). Histomorphometric evaluation of a nano-sized eggshell-containing supplement as a natural alloplast: An animal study. *Saudi Dental Journal*. <https://doi.org/10.1016/j.sdentj.2019.03.011>
- Santos, A. F., Arim, A. L., Lopes, D. V., Gando-Ferreira, L. M. & Quina, M. J. (2019). Recovery of phosphate from aqueous solutions using calcined eggshell as an eco-friendly adsorbent. *Journal of Environmental Management*, 238, 451-459. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2019.03.015>
- Sasidharan, S. (2014). Acute oral toxicity and brine shrimp lethality of methanol extract of mentha spicata l (lamiaceae). *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 13, 101-107. <http://dx.doi.org/10.4314/tjpr.v13i1.15>
- Sivashankar, R., Sathya, A. B., Vasantharaj, K. & Sivasubramanian, V. (2014). Magnetic composite an environmental super adsorbent for dye sequestration – A review. *Environmental Nanotechnology, Monitoring and Management*, 1-2, 36-49. <https://doi.org/10.1016/j.enmm.2014.06.001>
- Ullah, M. O., Haque, M., Urmi, K. F., Md. Zulfiker, A. H., Anita, E. S., Begum, M. & Hamid, K. (2013). Anti-bacterial activity and brine shrimp lethality bioassay of methanolic extracts of fourteen different edible vegetables from Bangladesh. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 3(1), 1-7. [https://doi.org/10.1016/S2221-1691\(13\)60015-5](https://doi.org/10.1016/S2221-1691(13)60015-5)
- Wang, F. F., Geng, C. M., Hao, W. D., Zhao, Y. D., Li, Q., Wang, H. M. & Qian, Y. (2016). The cellular toxicity of pm2.5 emitted from coal combustion in human umbilical vein endothelial cells. *Biomedical and Environmental Sciences*, 29(2), 107-116. doi: 10.3967/bes2016.012