



การบำบัดสารหนูชนิดอาร์เซไนต์ As(III) และอาร์เซเนต As(V) ในดินน้ำขังโดยใช้ธูปฤาษี Arsenic Remediation in Speciation of Arsenite As(III) and Arsenate As(V) in Submerged Soil by *Typha angustifolia* L.

จอมจันทร์ นทีวัฒนา^{1*} ศิริเพ็ญ ตรีโยชัยพร² จินตพัฒน์ นทีวัฒนา³ มะลิวัลย์ แซ่ฮ้อย⁴

ประสงค์ดี ถาวรฤติการณ⁵ และ สมพร ชุนห์ลือชานนท์⁴

¹สาขาวิชาการจัดการสิ่งแวดล้อม (นานาชาติ) จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพมหานคร 10330

²ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จังหวัดเชียงใหม่ 50200

³โครงการบัณฑิตศึกษาพิษวิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล กรุงเทพมหานคร 10400

⁴ภาควิชาปฐพีศาสตร์และอนุรักษศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จังหวัดเชียงใหม่ 50200

⁵ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จังหวัดเชียงใหม่ 50200

*Corresponding Author, E-mail: jomjun_102@hotmail.com

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการดูดสะสมปริมาณสารหนูทั้งหมด (Total arsenic) ที่อยู่ในรูปของ As(III) และ As(V) ในดินน้ำขังโดยใช้ธูปฤาษี และเปรียบเทียบประสิทธิภาพการดูดสะสมในอวัยวะส่วนต่างๆ ของธูปฤาษี ซึ่งเปรียบเทียบตามระยะเวลา เพาะปลูกที่แตกต่างกันคือ 15, 30, 45, และ 60 วัน รูปแบบการทดลองแฟคทอเรียล 3×4 ในแบบแผน CRD จากการวิเคราะห์ความแปรปรวน (Two way ANOVA) พบว่า ปัจจัยที่ส่งผลต่อการสะสมปริมาณสารหนูทั้งหมดของธูปฤาษีทั้งต้นอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.01$) ได้แก่ ระยะเวลาที่เพาะปลูก ชนิดของสารหนู และมีอิทธิพลร่วมระหว่าง 2 ปัจจัย และเมื่อเปรียบเทียบพหุคูณของค่าเฉลี่ยแต่ละปัจจัย (Multiple comparison) โดยวิธีดันทันเนตต์ (Dunnett's T3) พบว่า $As(III) > As(V) >$ ชุดควบคุม และ $45 > 60 > 30 > 15$ วัน ตามลำดับ สำหรับการสะสมปริมาณสารหนูทั้งหมดในอวัยวะส่วนต่างๆ ของธูปฤาษีรูปแบบการทดลองแฟคทอเรียล $3 \times 3 \times 4$ ในแบบแผน CRD จากการวิเคราะห์ความแปรปรวน (Three way ANOVA) พบว่า ปัจจัยที่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.01$) ได้แก่ ระยะเวลาที่เพาะปลูก ชนิดของสารหนู และอวัยวะที่แตกต่างกันของธูปฤาษี และมีอิทธิพลร่วมระหว่าง 2 ปัจจัยได้แก่ ชนิดของสารหนู * ระยะเวลาที่เพาะปลูก, ชนิดของสารหนู * อวัยวะที่แตกต่างกันของธูปฤาษี, ระยะเวลาที่เพาะปลูก * อวัยวะที่แตกต่างกันของธูปฤาษี และมีอิทธิพลร่วมระหว่าง 3 ปัจจัยได้แก่ ชนิดของสารหนู * ระยะเวลาที่เพาะปลูก * อวัยวะที่แตกต่างกันของธูปฤาษี ผลการเปรียบเทียบพหุคูณของค่าเฉลี่ยแต่ละปัจจัย โดยวิธีดันทันเนตต์ (Dunnett's T3) พบว่า $As(III) > As(V) >$ ชุดควบคุม และ $45 > 60 > 30 > 15$ อีกทั้งไหล > ราก > ใบ ตามลำดับ จากค่าปัจจัยการเคลื่อนย้ายสารหนูขึ้นสู่ส่วนเหนือดินพบว่า As(III) มีค่า $0.14 - 0.28$ และ As(V) มีค่า $0.43 - 0.55$ และค่าปัจจัยความเข้มข้นทางชีวภาพสำหรับ As(III) มีค่า $0.93 - 1.15$ แสดงว่าธูปฤาษีมีคุณสมบัติเป็นพืชไฮเปอร์แอคคูมูเลชัน ขณะที่ As(V) มีค่า $0.57 - 0.85$

ABSTRACT

This study aimed to study total arsenic accumulation of Arsenite [As(III)] and Arsenate [As(V)] forms by *T. angustifolia* in submerged soil and to compare accumulation efficiency by various organs of *T. angustifolia* with 15, 30, 45 and 60 days. Experimental design is factorial 3×4 in CRD plan. According to analysis of variance (Two way ANOVA) found that the factors affected significantly total arsenic accumulation of *T. angustifolia* were growing period, arsenic speciation, and co-influence of these two factors (P -value < 0.01). The result of multiple comparison by Dunnett's T3 showed that As (III) > As (V) > Control and 45 > 60 > 30 > 15 days, respectively. The accumulation in various organs of *T. angustifolia* by factorial $3 \times 3 \times 4$ in CRD plan (Three way ANOVA) found that the factors were significant differences (P - value < 0.01) as follow growing period, arsenic speciation, and various organs, as well as co-influence of these two factors including arsenic speciation * growing period, arsenic speciation * various organs, growing period * various organs, and the other had co-influence of these three factors. Multiple comparison result by Dunnett's T3 showed that As (III) > As (V) > control, 45 > 60 > 30 > 15, and rhizome > root > leaf. Arsenic accumulation translocation factors (AFT) of As (III) treatment were 0.14 - 0.28 and As (V) treatment were 0.43 - 0.55, and Bioconcentration factors (BCF) of As(III) treatment were 0.93 - 1.15. Therefore *T. angustifolia* was a hyperaccumulation plant for As(III), whereas BCF of As(V) treatment was 0.57 - 0.85.

คำสำคัญ: ธูปฤาษี สารหนู อาร์เซไนต์ อาร์เซเนต ดินชุ่มน้ำ

Keyword: *Typha angustifolia* L., Arsenic, Arsenite, Arsenate, Submerged soil

บทนำ

สารหนูเป็นธาตุกึ่งโลหะ จัดอยู่ในคาบ 4 หมู่ 5A มีหลายวาเลนซ์ ทำให้พฤติกรรมทางเคมีมีความหลากหลาย สารหนูโดยทั่วไปแพร่กระจายในสิ่งแวดล้อม โดยทั่วไปทั้งในดินและน้ำ และยังสามารถพบในเนื้อเยื่อพืชและสัตว์ เนื่องมาจากสารหนูสามารถก่อพันธะกับสารประกอบอินทรีย์และอนินทรีย์ที่หลากหลาย ส่งผลให้ระดับความเป็นพิษแตกต่างกันต่อพืชและสัตว์ที่อาศัยในตะกอนดินและน้ำที่ปนเปื้อน สารหนูสามารถเปลี่ยนแปลงอิเล็กตรอนจากประจุ +5 ถึง -3 และสร้างสารหนูที่มีวาเลนซ์ +5, +3, 0, -3 ในระบบน้ำ As(III) ถูกพบในสภาวะรีดักชัน (low Eh value) ขณะที่ As(V) มีความเสถียร ณ Eh สูง โดยเติมออกซิเจนในน้ำ โดยทั่วไปแล้วสารหนูจะปรากฏในรูปที่เสถียรคือ As(III) [Arsenite As(+3)] และ As(V) [Arsenate, As(+5)] ซึ่ง As(III) มีความเป็นพิษร้ายแรงต่อสิ่งมีชีวิตมากกว่า As(V) (Federation Remediation Technologies Round-table., 2007) สำหรับการปนเปื้อนของสารหนูในสิ่งแวดล้อมนั้นพบว่า สารหนูเป็นธาตุที่พบตามธรรมชาติเป็นอันดับที่ 20 และการแพร่กระจายสามารถเกิดขึ้นตามธรรมชาติและจากการใช้ประโยชน์ของมนุษย์ในภาคเกษตรและอุตสาหกรรม โดยพบการ

ใช้สารหนูเป็นส่วนประกอบในยาฆ่าแมลง เช่น เลดอาร์เซเนต (Lead arsenate) เพื่อควบคุมมอด หนอน และแมลงที่ทำลายผักและผลไม้ แคลเซียมอาร์เซเนต (Calcium arsenate) เพื่อกำจัดและควบคุมด้วงในไร่นา ยากำจัดสัตว์ฟันแทะ ยาฆ่าวัชพืชบริเวณรอบรางรถไฟและเสาโทรศัพท์ ยาฆ่าเชื้อรา และน้ำยารักษาเนื้อไม้ ภาคอุตสาหกรรม เมทอลลิก อาร์เซนิค (Metallic arsenic) ใช้ในการผลิตแบตเตอรี่รถยนต์ อุตสาหกรรมผลิตเครื่องแก้ว อิเล็กทรอนิกส์ สีย้อมผ้า ยารักษาโรค อาหารสัตว์ สารชักฟอก ซีเมนต์ รวมไปถึงการปล่อยออกมาจากการทำเหมืองถ่านหิน การเผาไหม้ถ่านหินและปิโตรเลียม กระบวนการเคลื่อนย้ายสารหนูจากดินสู่น้ำและบรรยากาศเกิดจากกระบวนการตามธรรมชาติเช่น การระเบิดของภูเขาไฟ การชะล้าง กัดกร่อนตามธรรมชาติ (จอมจันทร์, 2557; Smedley and Kinniburgh, 2002)

พืชบกและพืชน้ำหลายชนิดถูกนำมาใช้ในการบำบัดสารหนู กลไกการดูดและสะสม As(V) ผ่านตัวขนส่งเดียวกับฟอสฟอรัส และการดูดและสะสม As(III) ผ่านอะควาไกลิเซอโรพอริน (Aquaglyceroporin) การสะสมและเคลื่อนย้ายสารหนูจะขึ้นกับความเข้มข้น ชนิดของสารหนู และสภาวะแวดล้อม

การบำบัดโดยใช้พืชถูกพัฒนาขึ้นจากความรู้หลายสาขาวิชา เพื่อลดปัญหาการปนเปื้อนสารพิษและโลหะหนักในสิ่งแวดล้อมโดยอาศัยธรรมชาติ มักใช้ในการเคลื่อนย้ายมลสารผสมผสานกับการใช้วิธีทางเคมีและฟิสิกส์ ซึ่งพืชบำบัดมีต้นทุนต่ำและปลอดภัย การเลือกพืชที่จะนำมาบำบัดควรเป็นพืชท้องถิ่น เติบโตเร็ว มีมวลชีวภาพมาก มีประสิทธิภาพดีในการบำบัด สามารถดูดสะสมและเคลื่อนย้ายสารพิษมาสู่ส่วนเหนือดินได้มาก เก็บเกี่ยวง่าย และไม่ควรเป็นพืชอาหาร เทคนิคพืชบำบัดมีหลากหลายวิธี แต่ในการศึกษาครั้งนี้ใช้วิธีไฟโตแอคคิวมูเลชัน (Phytoaccumulation) (จอมจันทร์, 2557; Zhang et al., 2002; Yen and Saibeh, 2013)

ธูปฤาษีมีชื่อวิทยาศาสตร์ *Typha angustifolia* Linn. อันดับ Poales วงศ์ Typhaceae มีถิ่นกำเนิดในทวีปยุโรปและอเมริกา สามารถพบการแพร่พันธุ์ไปทั่วโลก และพบกระจายพันธุ์ทั่วทุกภาคของประเทศไทย มักพบบริเวณน้ำขัง ลักษณะทั่วไปเป็นไม้ล้มลุกวงชีวิต 2 ปี มีเหง้าแข็งกลม ใบเดี่ยวสลับสองแถว ใบมีลักษณะแบนยาว 1 – 2 เมตร กว้าง 1.2 – 1.8 เซนติเมตร ดอกคล้ายธูปใหญ่เป็นแบบช่อเชิงลด ก้านแข็ง แยกเพศ โดยกลุ่มดอกเพศผู้อยู่ปลายก้าน กลุ่มดอกเพศเมียอยู่ด้านล่าง มีดอกย่อยอัดแน่น ยาวประมาณ 28 เซนติเมตร เส้นผ่านศูนย์กลาง 2 เซนติเมตร รังไข่มีก้านยาวและขนสีขาวจำนวนมาก ผลเมื่อแก่แตกตามยาว มีขนาดเล็กมาก (Ghaly et al., 2008; Demirezen and Aksoy, 2004) ธูปฤาษีบำบัดน้ำเสียได้อย่างมีประสิทธิภาพ โดยมีการทดลองบำบัดยาฆ่าแมลง ธาตุอาหารพืช และโลหะหนักหลายชนิด ซึ่งการบำบัดในโตรเจน ฟอสฟอรัส โพแทสเซียม แคลเซียม และแมกนีเซียในน้ำเสียเขตชุมชนเมืองเพชรบุรี พบว่า มีการสะสมธาตุอาหารส่วนใหญ่ในลำต้นและรากของพืชทดลอง (จันทวรรณ, 2539) นอกจากนี้ธูปฤาษียังมีประสิทธิภาพในการบำบัดของแข็งแขวนลอยและความต้องการออกซิเจนทางชีวเคมี (BOD) และทางเคมี (COD) น้ำเสียชุมชนได้ดี (อังษณา, 2540; ภาวสุระ, 2545; ปวีณา, 2552) อีกทั้งมีการนำไปดูดซับโลหะหนักเช่น โปรท ตะกั่ว ทองแดง แคดเมียม นิเกิล เหล็ก แมกนีเซีย สังกะสี โครเมียม (Demirezen and Aksoy, 2004; Chandra and Yadav, 2010; Muhammad et al., 2009) การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการดูดและสะสมสารหนูชนิด As(III) และ As(V) ในดินน้ำขังของธูปฤาษีในรูปปริมาณสารหนูทั้งหมด (Total arsenic) และเปรียบเทียบ

ปริมาณการดูดสะสมในอวัยวะส่วนต่างๆ ของธูปฤาษีซึ่งเปรียบเทียบตามระยะการเพาะปลูกที่แตกต่างกันคือ 15, 30, 45, และ 60 วัน

วิธีการทดลอง

การทดลองครั้งนี้เป็นการทดลองแบบแฟคทอเรียล 3×4 และ $3 \times 3 \times 4$ ในแบบแผน CRD ประกอบด้วย 2 ปัจจัยคือ ชนิดของสารหนูได้แก่ As(III) และ As(V) โดยใช้ความเข้มข้น 175 mg kg^{-1} จำนวนวันที่เพาะปลูกได้แก่ 15, 30, 45 และ 60 วัน ทำการทดลอง 3 ซ้ำ วิเคราะห์การดูดสะสมทั้งต้นและอวัยวะส่วนต่างๆ ของธูปฤาษีได้แก่ ใบ ราก และไหล

การเตรียมดินและพืช

ในการทดลองใช้ดินตะกอนท้องน้ำ (Submerged soil) จากเขตอำเภอหางดง จังหวัดเชียงใหม่ นำมาตากลมให้แห้ง (Air dry) นำมาบดและร่อนผ่านตะแกรงขนาด 2 mm แล้วจึงนำมาบ่มกับสารหนูทั้งสองชนิดที่ความเข้มข้น 175 mg kg^{-1} ดินธูปฤาษีเก็บจากธรรมชาติในพื้นที่ที่ไม่มีการปนเปื้อนในเขตอำเภอหางดง จังหวัดเชียงใหม่ นำมาอนุบาลเป็นระยะเวลา 2 เดือน โดยทำการวิเคราะห์สารหนูดินและพืชตัวอย่างก่อนนำไปทดลอง นำพืชที่เตรียมไว้ปลูกในกระถางขนาด 12×12 นิ้ว ใส่ดินที่บ่มสารหนูไว้แล้วจำนวน 5 กิโลกรัมต่อกระถาง ระดับน้ำในกระถางให้คงที่ไว้ที่ระดับ 2 เซนติเมตรเหนือผิวดิน

การเก็บตัวอย่าง

ทำการการเก็บตัวอย่างดินจากทุกกระถางตามเวลาที่กำหนด โดยเก็บต่ำกว่าระดับผิวดิน 15 เซนติเมตร นำดินตัวอย่างไปอบแห้งที่ 70°C เมื่อแห้งมาบดและร่อนผ่านตะแกรงขนาด 2 mm และเก็บในถุงพลาสติกที่แห้งสนิท ตัวอย่างพืชเมื่อครบเวลาทำการเก็บมาทั้งต้น ล้างด้วยน้ำสะอาด นำมาแช่ดให้แห้งแล้วชั่งน้ำหนักทั้งต้น และทำการตัดแยกแต่ละส่วนของพืชได้แก่ ใบ (Leaf) ราก (Root) และไหล (Rhizome) และทำการชั่งน้ำหนักอีกครั้ง จากนั้นนำไปอบที่อุณหภูมิ 85°C จนน้ำหนักคงที่เก็บตัวอย่างในถุงพลาสติกที่แห้งและปิดสนิท

การวิเคราะห์ตัวอย่าง

การตรวจวัดเบื้องต้นในดินทำการวัดค่าความเป็นกรดด่าง (pH) และศักย์ภาพการเกิดออกซิเดชัน รีดักชัน Eh (Oxidation reduction potential) ด้วยเครื่องวัดแบบ *in situ* บันทึกผลการทดลอง

การย่อยดิน ชั่งดินที่บดแล้ว 0.500 g ผ่านตะแกรง 2 mm ใส่ในขวดรูปชมพู่ขนาด 50 ml เติมกรดไนตริกเข้มข้น (HNO_3) 7 ml เติมไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (3% H_2O_2) 2 ml ทั้งให้เกิดปฏิกิริยาเป็นเวลา 6 ชั่วโมง นำไปย่อยที่ 85 °C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง แล้วจึงนำตัวอย่างที่ย่อยแล้วมาปรับปริมาตรสุดท้ายเป็น 25 ml ด้วยน้ำปราศจากไอออน (De-ionized water) เก็บในขวดพลาสติกชนิดเฮชดีพีอี (HDPE; High density polyethylene)

การย่อยพืช ชั่งพืชที่บดแล้ว 0.500 g ใส่ในขวดรูปชมพู่ขนาด 50 ml เติมกรดไนตริกเข้มข้น (HNO_3) 7 ml ทั้งไว้ 3 ชั่วโมง และเติมไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (3% H_2O_2) 2 ml ทั้งให้เกิดปฏิกิริยาเป็นเวลา 6 ชั่วโมง นำไปย่อยที่ 85 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เมื่อครบเวลานำมาปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออน (De-ionized water) ปรับปริมาตรสุดท้ายเป็น 25 ml เก็บในขวดพลาสติกชนิดเฮชดีพีอี (HDPE; High density polyethylene)

การตรวจวัดปริมาณสารหนูทั้งหมด (America water work association water environment federation, 1998) ทำการเตรียมสารมาตรฐานหรือตัวอย่างจำนวน 10 ml จากนั้นเติม 6 ml ของกรดไฮโดรคลอริก:ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ในสัดส่วน 1:1 ($\text{HCl}:\text{H}_2\text{O}_2$) และเติม 1 ml ของ 10% โพแทสเซียมไอโอไดด์ (KI) ผสมให้เข้ากันและทิ้งให้เกิดปฏิกิริยา 1 ชั่วโมง นำมาตรวจวัดด้วยวิธีไฮไดรด์ อะตอมมิคแอบซอร์พชัน สเปกโตรโฟโตเมตรี (AAS: Hydride Atomic Absorption Spectrophotometer) ทำการตรวจสอบความเที่ยงตรงและแม่นยำโดยใช้รีเอเจนต์ แบลงค์ (Reagent blanks) และสารมาตรฐานภายใน (Internal Standards) ใช้สาร Disodium hydrogen arsenate ($\text{Na}_2\text{HAsO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) AR grade, Fluka และ Sodium arsenite (NaAsO_2) AR grade, Sigma เครื่องมือตรวจวัด Atomic absorption spectrophotometer; 2380 Perkin – Elmer โดยขีดจำกัดการตรวจหา (Detection limit) ของวิธีนี้ในการวิเคราะห์ปริมาณสารหนูทั้งหมด คือ $1 \mu\text{g As Kg}^{-1}$ หรือ $\mu\text{g As L}^{-1}$

การคำนวณและวิธีการวิเคราะห์ทางสถิติ

การเคลื่อนย้ายสารหนูขึ้นสู่ส่วนเหนือดิน (Arsenic accumulation translocation factor, ATF) เป็นสัดส่วนระหว่างปริมาณสารหนูในส่วนเหนือดินต่อปริมาณสารหนูในส่วน

ใต้ดิน การคำนวณความเข้มข้นทางชีวภาพ (Bioconcentration factor, BCF) เป็นสัดส่วนระหว่างปริมาณสารหนูในพืชต่อปริมาณสารหนูในดิน สถิติที่ใช้ในการวิเคราะห์ข้อมูลได้แก่ การวิเคราะห์ความแปรปรวนพหุนาม (ANOVA) และการเปรียบเทียบพหุคูณของแต่ละปัจจัยโดยวิธีของดันเนตต์ (Dunnett's T3)

ผลการศึกษา

1. ผลของ As(III) และ As(V) ต่อน้ำหนักแห้งที่ลดลง

จากรูปที่ 1 ความเป็นกรดต่าง (pH) และศักยภาพการเกิดออกซิเดชันรีดักชัน (Oxidation reduction potential; Eh) เป็นปัจจัยหลักในการควบคุมชนิดของสารหนู (Arsenic speciation) ในระบบน้ำขัง ภายใต้สภาวะออกซิเดชัน H_2AsO_4^- จะเป็นชนิดที่ปรากฏเป็นหลักเมื่อค่า pH กว่า 6.9 ขณะที่เมื่อค่า pH สูงขึ้นจะพบสารหนูชนิด HAsO_4^{2-} ภายใต้สภาวะรีดักชันที่มีค่า pH น้อยกว่า 9.2 ชนิดของสารหนูที่ปรากฏเป็นหลักได้แก่ $\text{H}_3\text{As}_3\text{O}_3^0$ (Smedley and Kinniburgh, 2002) As(III) มีพิษต่อสิ่งมีชีวิตมากกว่า As(V) ประมาณ 10 เท่า (Mass et al., 2001; Rachana et al., 2015) จากรูปที่ 1 ดินในชุดควบคุมมีค่า pH ระหว่าง 6.8 – 7.5 ดินที่ใส่ As(III) และ As(V) มีค่า 6.7 – 7.9 และ 6.7 – 8.1 สำหรับค่า Eh ของชุดควบคุมมีค่า -147 ถึง -42 mV ส่วนดินที่ใส่ As(III) และ As(V) มีค่า -145 ถึง -97 และ -163 ถึง -45 mV

รูปที่ 2 กราฟแท่งแสดงน้ำหนักแห้งและกราฟเส้นแสดงเปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้งที่ลดลงของธูปฤาษีที่ปลูกในดินที่ผสม As(III) และ As(V) ในเวลา 15, 30, 45, และ 60 วัน จากการวิเคราะห์ความแปรปรวน (Two way ANOVA) ปัจจัยที่ส่งผลต่อเปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้งที่ลดลงได้แก่ ชนิดของสารหนูที่เติมลงไป ในดิน (P-value < 0.01) แสดงผลตามตารางที่ 1 เมื่อทำการเปรียบเทียบพหุคูณของค่าเฉลี่ยปัจจัยชนิดของสารหนู (Multiple Comparison) โดยวิธีของดันเนตต์ (Dunnett's T3) พบว่า ค่าเฉลี่ยน้ำหนักแห้งของต้นที่ปลูกในดินที่ใส่ As(III) มีเปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้งที่ลดลงมากกว่าดินที่ใส่ As(V) แสดงผลดังรูปที่ 3 สอดคล้องกับผลการทดลองของ Wei et al. (2006) และ Meharg and Hartley – Whitake (2002)

2. ผลของ As(III) และ As(V) ต่อการสะสมปริมาณ สารหนูทั้งหมดของรูกุญ

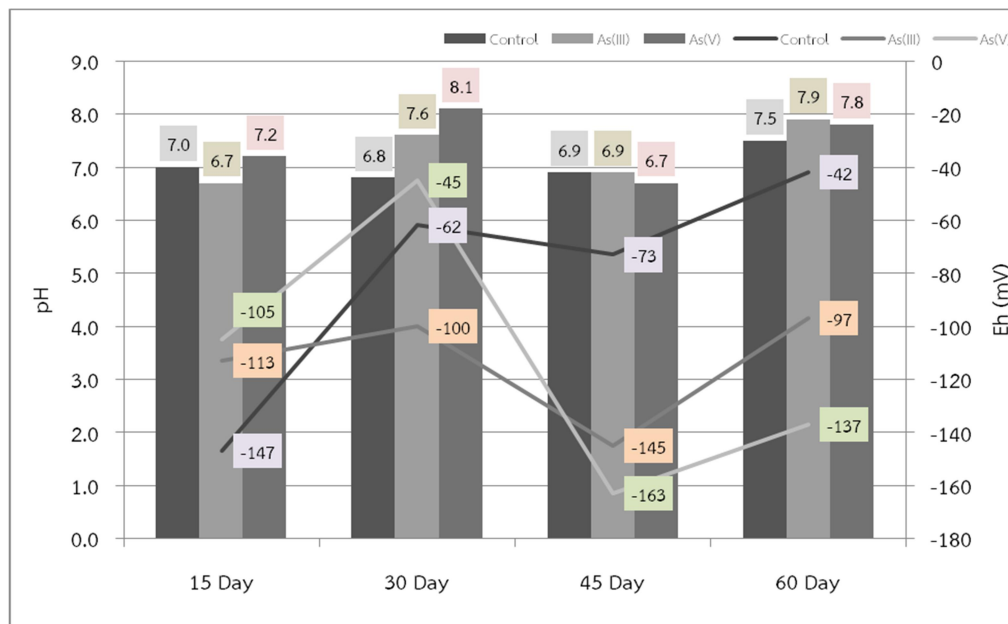
2.1 ผลการสะสมปริมาณสารหนูทั้งหมดของต้นรูกุญ

รูปที่ 4 กราฟแท่งแสดงปริมาณสารหนูทั้งหมดในดินและกราฟเส้นแสดงปริมาณสารหนูทั้งหมดของต้นรูกุญที่ปลูกในดินที่ใส่ As(III) และ As(V) ในเวลา 15, 30, 45, และ 60 วัน จากการวิเคราะห์ความแปรปรวน (Two way ANOVA) แสดงในตารางที่ 2 ปัจจัยที่ส่งผลต่อการดูดสะสมปริมาณสารหนูทั้งหมดของรูกุญที่ต้นได้แก่ จำนวนวันที่ปลูก และชนิดของสารหนูที่เติมลงไป (P-value < 0.01) นั่นคือ จำนวนวันที่เพาะปลูกแตกต่างกันจะส่งผลต่อการสะสมปริมาณสารหนูทั้งหมดของต้นรูกุญแตกต่างกัน แต่จะแตกต่างกันเล็กน้อยขึ้นกับชนิดของสารหนูที่เติมลงไป ในดิน นอกจากนี้พบว่า มีอิทธิพลร่วมกันระหว่างปัจจัยจำนวนวันที่ปลูกกับชนิดของสารหนูที่เติมลงไป ในดิน เมื่อทำการทดลองเปรียบเทียบพหุคูณของค่าเฉลี่ยแต่ละปัจจัยที่มีอิทธิพล (Multiple Comparison) โดยวิธีของดันเนตต์ (Dunnett's T3) พบว่า ต้นของรูกุญมีการสะสมสารหนูในดินที่ปลูกใน As(III) มากกว่า As(V) และชุดควบคุม ปัจจัยจำนวนวันที่เพาะปลูกเรียงตามลำดับปริมาณการดูดสะสมสารหนูทั้งหมดของรูกุญที่ต้นคือ 45, 60, 30, 15 แสดงผลตามรูปที่ 5 และ 6 ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองของ Quaghebeur and Rengel (2005) ที่พบว่า ชนิดของสารหนูในดินมีผลต่อการดูดสะสมของพืช และการศึกษาของ Tu and Ma (2002) พบว่าเวลาที่ปลูกและความเข้มข้นของสารหนูในดินมีผลต่อการดูดสะสมของพืช นอกจากนี้สารหนูอนินทรีย์ทั้งรูป As(III) และ As(V) ดูดสะสมได้ง่ายโดยเซลล์รากพืช แต่สารหนูทั้งสองรูปมีความเป็นพิษมากต่อพืช โดยเข้าไปทำลายกระบวนการเมแทบอลิซึมของพืชผ่านกลไกที่แตกต่างกัน As(V) ผ่านทางช่องทางเดียวกับฟอสเฟต ขณะที่ As(III) ผ่านเข้าสู่เซลล์รากผ่าน nodulin26-like intrinsic proteins (NIPs) ในกลุ่ม aquaporin ดังนั้นพืชจึงมีการสะสมสารหนูทั้งสองชนิดแตกต่างกัน ซึ่งปริมาณการสะสม

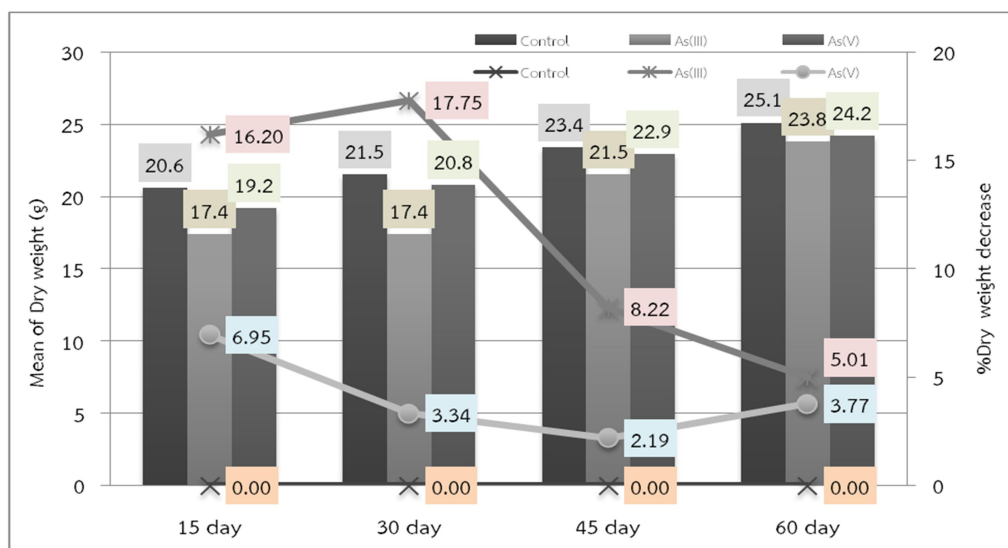
จะขึ้นกับชนิดของพืช ชนิดของสารหนู ระยะเวลาที่เพาะปลูก และความเข้มข้นของสารหนูในดิน รวมทั้งการตอบสนองต่อพิษของสารหนูของพืชแต่ละชนิด (Patrick and Weihua, 2012)

2.2 ผลการดูดสะสมสารหนูทั้งหมดในอวัยวะที่แตกต่างกัน (Organs) ของรูกุญ

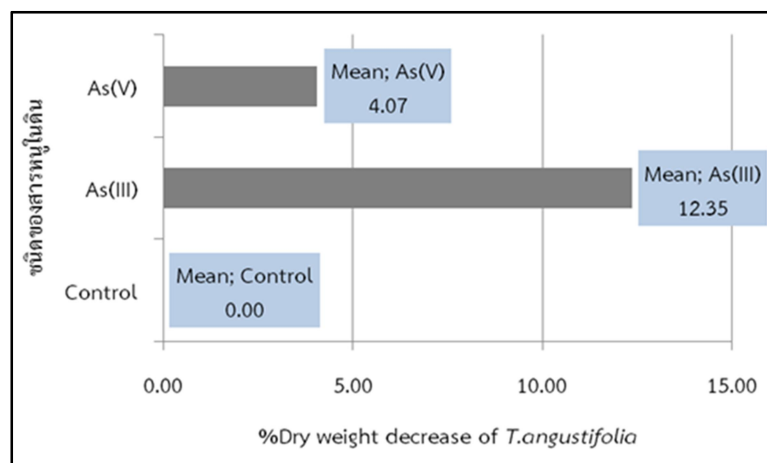
รูปที่ 7 แสดงการสะสมสารหนูทั้งหมดในแต่ละอวัยวะของรูกุญ การวิเคราะห์ความแปรปรวน (Three way ANOVA) แสดงในตารางที่ 3 ปัจจัยที่ส่งผลต่อการสะสมปริมาณสารหนูทั้งหมดในอวัยวะแต่ละส่วนของรูกุญคือ จำนวนวันที่ปลูก ชนิดของสารหนูที่เติมลงไป ในดิน และอวัยวะที่แตกต่างกันของต้นรูกุญ (P-value < 0.01) นอกจากนี้พบว่า มีอิทธิพลร่วมกันระหว่าง 2 ปัจจัยดังนี้ 1. ชนิดของสารหนูที่เติมลงไป ในดิน * จำนวนวันที่ปลูก 2. ชนิดของสารหนูที่เติมลงไป ในดิน * อวัยวะแต่ละส่วนของต้นรูกุญ 3. จำนวนวันที่ปลูก * อวัยวะแต่ละส่วนของต้นรูกุญ (P-value < 0.01) และมีอิทธิพลร่วมกันระหว่าง 3 ปัจจัยดังนี้ ชนิดของสารหนูที่เติมลงไป ในดิน * จำนวนวันที่ปลูก * อวัยวะแต่ละส่วนของต้นรูกุญ (P-value < 0.01) เมื่อทำการทดลองเปรียบเทียบพหุคูณของค่าเฉลี่ยแต่ละปัจจัยที่มีอิทธิพล (Multiple Comparison) โดยวิธีของดันเนตต์ (Dunnett's T3) พบว่า As(III) มีการดูดสะสมสารหนูทั้งหมดในแต่ละอวัยวะของรูกุญมากกว่า As(V) ปัจจัยจำนวนวันที่เพาะปลูกพบว่า 45 วันมีการดูดสะสมมากที่สุด รองลงมาได้แก่ 60, 30, และ 15 วัน ตามลำดับ สำหรับปัจจัยด้านอวัยวะส่วนต่างๆ ของรูกุญที่ดูดสะสมสารหนูทั้งหมด เมื่อเรียงตามลำดับได้แก่ ไหล (Rhizome) ราก (Root) และใบ (Leaf) ตามลำดับ แสดงผลตามรูปที่ 8 ถึง 10 จากการทดลองของ Eapen and D'Souza (2005) และ Marin et al. (1992) ที่พบว่า พืชมีการสะสมสารหนูในอวัยวะส่วนเหนือดินและใต้ดินแตกต่างกัน รวมทั้งการศึกษาของ Zhao et al. (2009) และ Rahman et al. (2008) ที่พบว่า กลไกการดูด As(III) และ As(V) ของพืชมีกลไกแตกต่างกัน



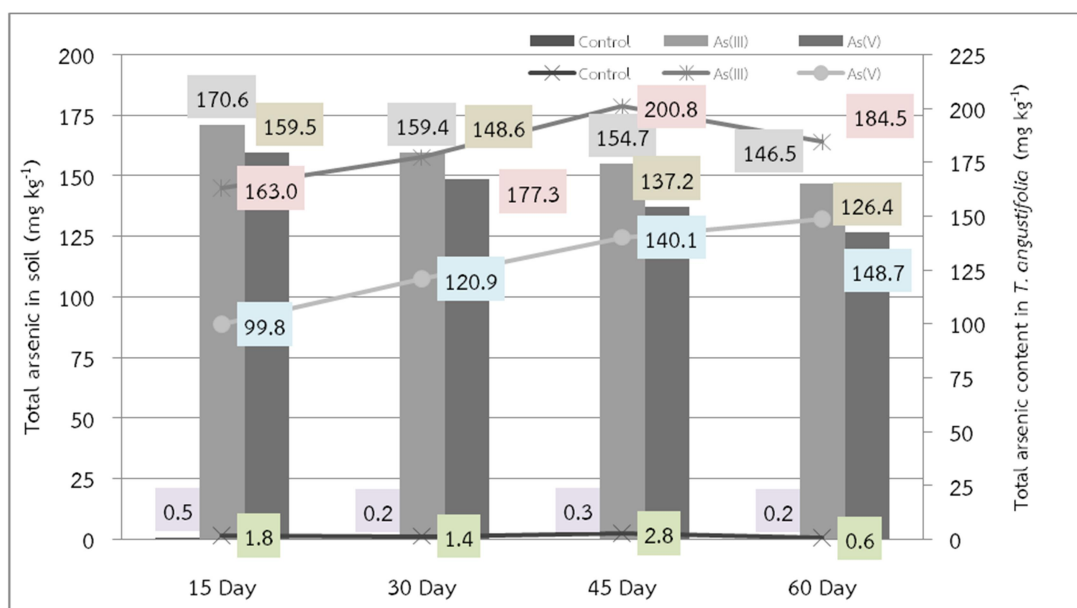
รูปที่ 1 แสดงความเป็นกรดต่างและศักยภาพการเกิดออกซิเดชันและรีดักชัน



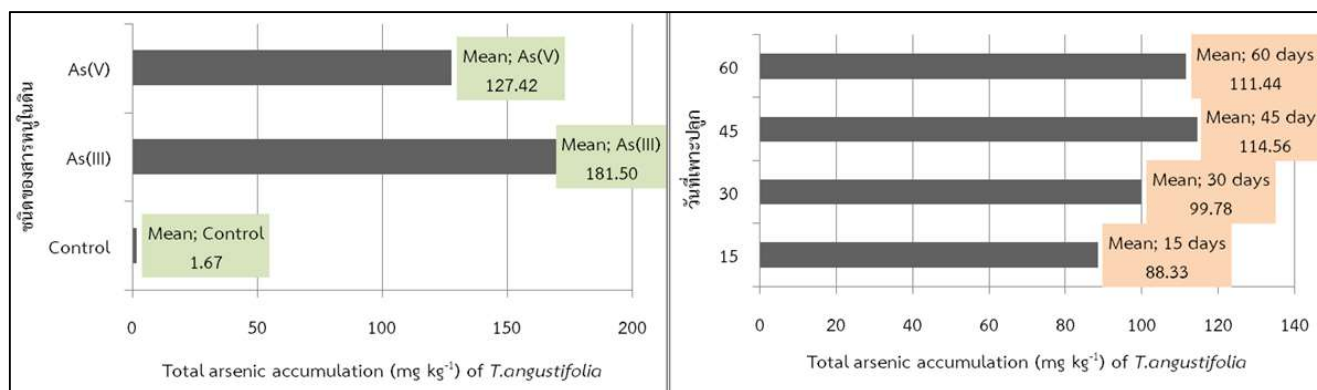
รูปที่ 2 แสดงค่าเฉลี่ยน้ำหนักแห้งและเปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้งที่ลดลงของรูปธาตุซี



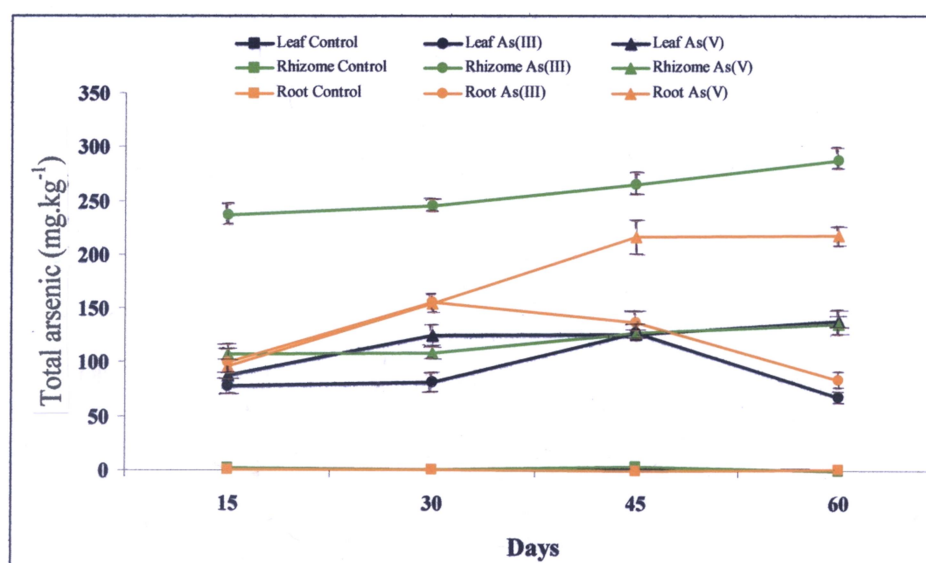
รูปที่ 3 แสดงการเปรียบเทียบพหุคูณเปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้งที่ลดลงของรูปธาตุซี : ชนิดสารหนูที่แตกต่างกัน



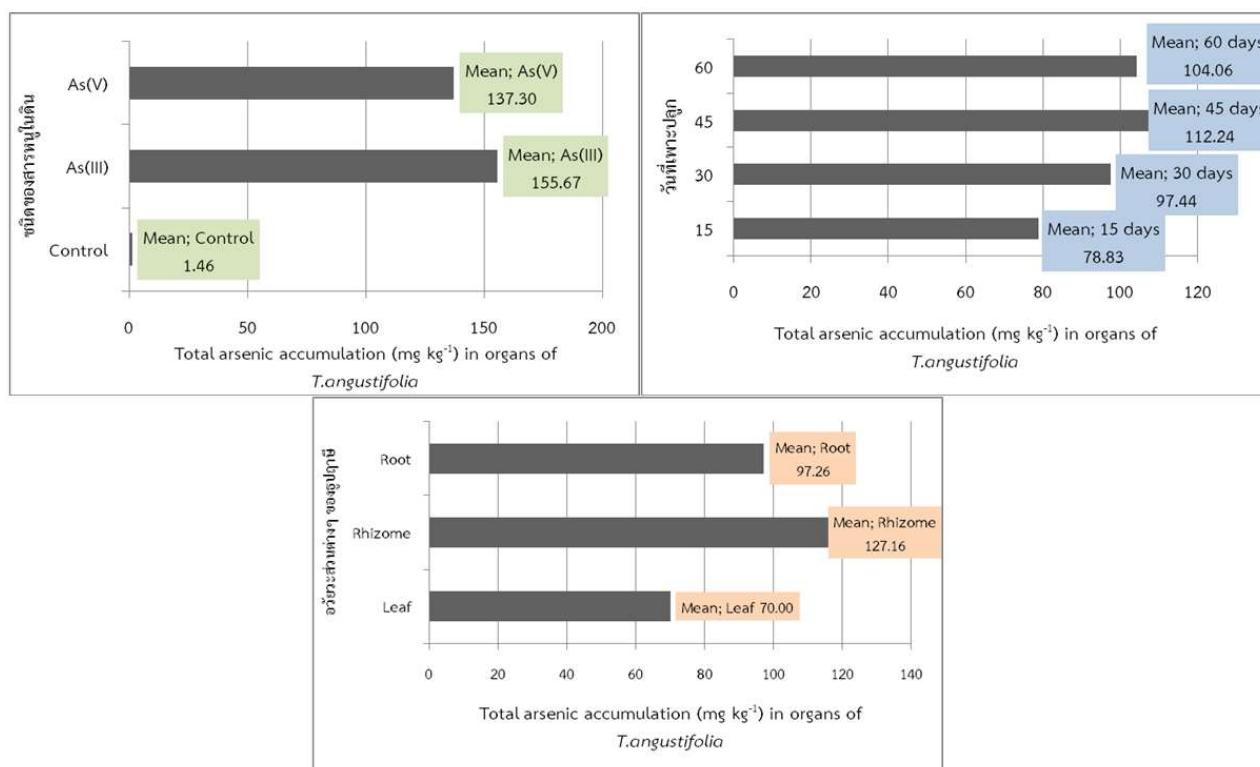
รูปที่ 4 แสดงปริมาณสารหนูสะสมในรูปธาตุและปริมาณสารหนูในดิน (mg kg^{-1})



รูปที่ 5 - 6 แสดงการเปรียบเทียบพหุคูณของปริมาณสารหนูสะสมในรูปธาตุ (mg kg^{-1}): ชนิดสารหนูที่ต่างกันและวันที่เพาะปลูก



รูปที่ 7 แสดงการสะสมสารหนูทั้งหมดในอวัยวะส่วนต่างๆ ของรูปธาตุ

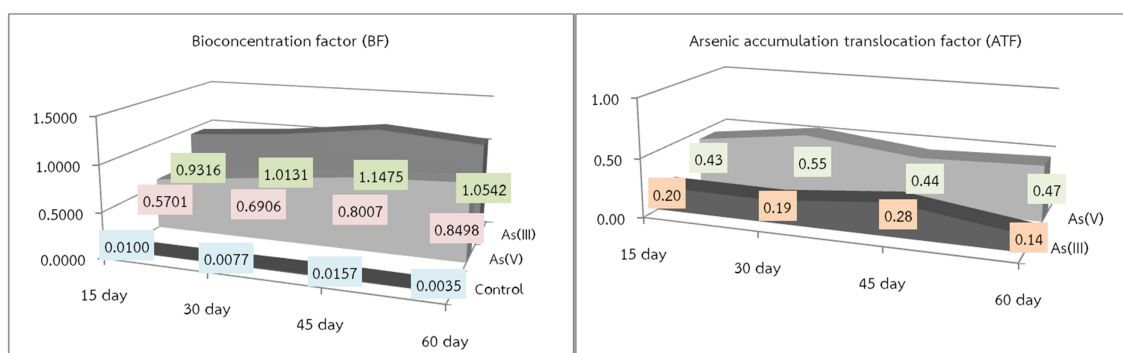


รูปที่ 8 – 10 แสดงการเปรียบเทียบพหุคูณของปริมาณสารหนูที่สะสมในอวัยวะส่วนต่างๆ ของธูปฤาษี (mg kg⁻¹) : ชนิดของสารหนู ระยะเวลาที่เพาะปลูก และอวัยวะส่วนต่างๆ ของธูปฤาษี

3. ผลความเข้มข้นทางชีวภาพ (Bioconcentration factor, BCF) และการเคลื่อนย้ายสารหนูขึ้นสู่ส่วนเหนือดิน (Arsenic accumulation translocation factor, ATF)

พืชที่มีปัจจัยความเข้มข้นทางชีวภาพสูงกว่า 1 จัดเป็นพืชไฮเปอร์แอคคูมิวเลชัน (Hyperaccumulation plant) สำหรับปัจจัยความเข้มข้นทางชีวภาพดังแสดงในรูปที่ 11 สำหรับ As(III) มีค่าระหว่าง 0.9316 – 1.1475 จากผลการทดสอบแสดงว่า ธูปฤาษีมีคุณสมบัติเป็นพืชไฮเปอร์แอคคูมิวเลชัน สำหรับการดูดสะสม As(III) แต่สำหรับ As(V) มีค่า 0.5701 – 0.8498 ซึ่งมีค่าน้อยกว่าหนึ่ง จึงไม่มีคุณสมบัติดังกล่าว สำหรับการดูดสะสม As(V) พืชที่มีการเคลื่อนย้ายสารพิษขึ้นสู่ส่วนเหนือดินได้มากจะมี

ความเหมาะสมต่อการนำมาบำบัดสารพิษ จากผลการทดลองรูปที่ 12 พบว่า ธูปฤาษีมีการเคลื่อนย้าย As(V) ขึ้นสู่ส่วนเหนือดินดีกว่า As(III) โดยค่า ATF ของ As(III) มีค่า 0.14 – 0.28 และ As(V) มีค่า 0.43 – 0.55 เมื่อทำการเปรียบเทียบกับการศึกษาการบำบัดสารหนูในน้ำจากเหมือง Kirka (Eskişehir) ประเทศตุรกี ที่มีความเข้มข้นระหว่าง 21 – 62 µg L⁻¹ เป็นระยะเวลา 84 วัน พบว่า ค่า ATF อยู่ระหว่าง 0.29 – 0.66 และมีค่า BCF ประมาณ 5.3 ซึ่งมีค่าการสะสมสารหนูสูง เนื่องมาจากวิธีการบำบัด ความเข้มข้นของสารหนู และระยะเวลาที่ทำการบำบัด (Onur, 2016)



รูปที่ 11 – 12 แสดงความเข้มข้นทางชีวภาพ (BCF) และการเคลื่อนย้ายสารหนูสู่ส่วนเหนือดิน (ATF)

ตารางที่ 1 แสดงการวิเคราะห์ความแปรปรวนของเปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่ลดลง

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	1249.17	11	113.56	3.72	0.00
Intercept	1078.03	1	1078.03	35.34	0.00
Day	132.23	3	44.08	1.44	0.25
Speciation	950.70	2	475.35	15.58	0.00
Day * Speciation	166.25	6	27.71	0.91	0.51
Error	732.18	24	30.51		
Total	3059.38	36			
Corrected Total	1981.35	35			

R Squared = .630 (Adjusted R Squared = .461)

ตารางที่ 2 แสดงการวิเคราะห์ความแปรปรวนปริมาณการสะสมสารหนูของต้นธูปฤาษี (mg kg^{-1})

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	210776.31	11	19161.48	1571.33	0.00
Intercept	385848.03	1	385848.03	31641.30	0.00
Day	3862.97	3	1287.66	105.59	0.00
Speciation	204312.39	2	102156.19	8377.27	0.00
Day * Speciation	2600.94	6	433.49	35.55	0.00
Error	292.67	24	12.19		
Total	596917.00	36			
Corrected Total	211068.97	35			

R Squared = .999 (Adjusted R Squared = .998)

ตารางที่ 3 แสดงการวิเคราะห์ความแปรปรวนการสะสมสารหนูในอวัยวะส่วนต่างๆ ของธูปฤาษี (mg kg^{-1})

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	787997.6	35	22514.22	692.87	0.00
Intercept	1040197.6	1	1040197.64	32011.88	0.00
Speciation	510867.1	2	255433.56	7860.92	0.00
Day	16394.3	3	5464.77	168.18	0.00
Organ	58841.4	2	29420.72	905.42	0.00
Speciation * Day	16810.6	6	2801.77	86.22	0.00
Speciation * Organ	160272.1	4	40068.03	1233.09	0.00
Day * Organ	5629.9	6	938.32	28.88	0.00
Speciation * Day* Organ	19182.0	12	1598.50	49.19	0.00
Error	2339.6	72	32.49		
Total	1830534.8	108			
Corrected Total	790337.2	107			

R Squared = .997 (Adjusted R Squared = .996)

สรุปผลศึกษา

รูดฤกษ์เป็นพืชที่มีประสิทธิภาพในการดูดสะสมสารหนูทั้งในรูป As(III) และ As(V) ในดินน้ำขัง โดยน้ำหนักแห้งพืชตัวอย่างลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่ง As(III) มีผลต่อน้ำหนักที่ลดลงมากกว่า As(V) สำหรับการสะสมปริมาณสารหนูทั้งหมดของรูดฤกษ์ทั้งต้นพบว่า As(III) มีการสะสมปริมาณสารหนูทั้งหมดมากกว่า As(V) และการสะสมปริมาณสารหนูทั้งหมดของอวัยวะส่วนต่างๆ ของรูดฤกษ์พบว่า As(III) สะสมปริมาณสารหนูทั้งหมดได้ดีกว่า As(V) อวัยวะที่สะสมดีที่สุดคือ ไหล ร่องลงมาได้แก่ รากและใบ ตามลำดับ และสะสมเพิ่มขึ้นจนสูงสุดในวันที่ 45 แล้วจึงค่อยๆ ลดลง ค่าความเข้มข้นทางชีวภาพของ As(III) มากกว่า 1 จึงนับได้ว่า รูดฤกษ์มีสมบัติเป็นพืชไฮเปอร์แอคคูมูเลชัน (Hyper-accumulation plant) ซึ่งสามารถสะสมสารหนูได้มาก จึงมีความเหมาะสมในการนำมาเป็นพืชบำบัดสารหนูในรูป As(III) และการเคลื่อนย้ายสารหนูขึ้นสู่ส่วนเหนือดินของรูดฤกษ์พบว่า As(III) และ As(V) ถูกเคลื่อนย้ายสูงที่สุดในวันที่ 45 และ 30 การเคลื่อนย้ายสารหนูสู่ส่วนบนของลำต้น ซึ่งเป็นคุณสมบัติสำคัญประการหนึ่งของพืชบำบัดที่ดี รูดฤกษ์มีความเหมาะสมในการเป็นพืชบำบัด เนื่องจากเป็นพืชไฮเปอร์แอคคูมูเลชัน ทนทาน มีมวลชีวภาพสูง และดูดสะสม As(III) ได้ดี ซึ่งเป็นชนิดของสารหนูอนินทรีย์ที่มีพิษร้ายแรงและยังเป็นชนิดที่พบมากในพื้นที่ขุมน้ำที่ยากแก่การบำบัด

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากหลักสูตรสาขาการจัดการสิ่งแวดล้อม (นานาชาติ) จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย และบัณฑิตวิทยาลัยแห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย โดยเป็นส่วนหนึ่งของวิทยานิพนธ์ดุษฎีบัณฑิต และขอขอบคุณคณะวิทยาศาสตร์และคณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ที่ให้การสนับสนุนการทำการทดลองจนสำเร็จด้วยดี และผู้ที่เกี่ยวข้องทุกฝ่ายที่ร่วมในงานวิจัยนี้ รวมทั้งขอขอบคุณดร.นพ.วิชัย เทียนถาวร และคณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยพะเยามา ณ ที่นี้

เอกสารอ้างอิง

จอมจันทร์ นทีวัฒนา. (2557). การบำบัดสารหนูโดยวิธีพืชบำบัดในดินและตะกอนดิน: กลไกและการจัดการ. วารสารวิทยาศาสตร์ มข. 42(4): 730 – 747.

จันทวรรณ วรธนะพงษ์. (2539). การบำบัดไนโตรเจน ฟอสฟอรัส โพแทสเซียม แคลเซียม และแมกนีเซียมในน้ำเสียชุมชนเมืองเพชรบุรี โดยใช้ดินในสภาพน้ำขังสลับแห้งร่วมกับพืช. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพมหานคร.

ปริมา สังข์ศรีอินทร์. (2552). การบำบัดน้ำเสียจากโรงฆ่าสัตว์เทศบาลเมืองสุพรรณบุรี จังหวัดสุพรรณด้วยรูดฤกษ์ ในระบบดินสภาพน้ำขังสลับแห้งร่วมกับพืช. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพมหานคร.

ภาวสุระ ลิ้มปิยสวัสดิ์. (2545). ประสิทธิภาพและคุณภาพน้ำได้ผิวดินในแปลงทดลองบำบัดน้ำเสียชุมชนโดยใช้หญ้ากรอง บริเวณแหลมผักเบี้ย จังหวัดเพชรบุรี. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพมหานคร.

อังษณา ตั้งใจครองบุญ. (2540). การศึกษาคุณสมบัติบางประการของน้ำเสียชุมชนภายหลังการบำบัดโดยใช้ระบบดินในสภาพน้ำขังสลับแห้ง. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพมหานคร.

American Water Work Association Water Environment Federation. (1998). Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 20th. New York. Publication office: American Public Health Association.

Chandra, R. and Yadav, S. (2010). Potential of *Typha angustifolia* for phytoremediation of heavy metals from aqueous solution of phenol and melanoidin. Ecological engineering 30(10): 1277 – 1284.

Demirezen, D. and Aksoy, A. (2004). Accumulation of heavy metals in *Typha angustifolia* L. and *Potamogeton pectinatus* L. Living in Siltan Marsh (Kayseri, Turkey). Chemosphere 56: 685 – 696.

Eapen, S. and D'Souza, S. F. (2005). Prospects of genetic engineering of plants for phytoremediation of toxic metals. Biotechnology Advances 23: 97 – 114.

Federation Remediation Technologies Roundtable. (2007). Remediation technologies screening matrix and reference guide. แหล่งข้อมูล: http://www.frtr.gov/matrix2/top_page.html. ค้นเมื่อวันที่ 12 เมษายน 2550.

Gualy, A.E., Snow, A., and Kamal, M. (2008). Manganese Uptake by Facultative and Obligate Wetland Plants Under Laboratory Conditions. American Journal of Applied Sciences 5(4): 392 – 404.

Marin, A. R., Masscheleyn, P. H., and Patrick, W. H. (1992). The influence of chemical form and concentration of

- arsenic on rice growth and tissue arsenic concentration. *Plant and Soil* 139: 175 - 183.
- Mass, M. J., Tennant, A., Roop, B. C., Cullen, W. R., Styblo, M., Thomas, D. J., Kligerman, A. D. (2001). Methylated trivalent arsenic species are genotoxic. *Chemical Research in Toxicology* 14: 355 – 361.
- Meharg, A. A., and Hartley-Whitake, J. (2002). Arsenic uptake and metabolism in arsenic resistant and nonresistant plant species. *New Phytologist* 154: 29-43.
- Muhammad, D., Chen, F., Zhao, J., Zhang, G., and Wu, F. (2009). Comparison of EDTA – and citric acid – enhanced phytoextraction of heavy metals in artificially metal contaminated soil by *Typha angustifolia*. *International Journal of phytoremediation* 11(6): 558 – 574.
- Onur, C. T. (2016). Bioremediation of arsenic (As) from mine effluent by a horizontal flow constructed wetland: a case study in largest borax reserve area in over the world, Kirka/Eskişehir. *Anadolu University Journal of Science and Technology A – Applied Sciences and Engineering* 17(5): 963 – 973.
- Patrick, M. F., and Weihua, C. (2012). Arsenic toxicity: the effects on plant metabolism. *Frontiers in Physiology* 3(182): 1 – 18.
- Quaghebeur, M. and Rengel, Z. (2005). Arsenic speciation governs arsenic uptake and transport in terrestrial plants. *Microchim acta* 151: 141 - 152.
- Rachana, S., Samiksha, S., Parul, P., Vijay, P. S., and Sheo, M. P. (2015). Arsenic contamination, consequences and remediation techniques: A review. *Ecotoxicology and environmental safety* 112: 247 – 270.
- Rahman, M. A., Hasegawa, H., Rahman, M. M., Miah, M. A. M., Tasim, A. (2008). Straighthead disease of rice (*Oryza sativa* L.) induced by arsenic toxicity. *Environmental and Experimental Botany* 62(1): 54 – 59.
- Smedley, P.L. and Kinniburgh, D.G. (2002). A review of the source, behaviour and distribution of arsenic in natural waters. *Applied Geochemistry* 17: 517 – 568
- Tu, C., and Ma, L. Q. (2002). Effects of arsenic concentrations and forms on arsenic uptake the hyperaccumulator Ladder Brake. *J. Environ. Qual.* 31: 641 - 647.
- Wei, C. Y., Sun, X., Wang, C. and Wang, W. Y. (2006). Factors influencing arsenic accumulation by *Pteris vittata*: A comparative field study at two sites. *Environmental Pollution* 141: 488 - 493.
- Yen. L.V. and Saiben, K. (2013). Phytoremediation using *Typha angustifolia* L. for mine water effluence treatment: Case study of EX-MAMUT copper mine, Ranau Sabah. *Borneo Science* 33: 16 – 22.
- Zhang, W., Yong, C., Cong, T., and Lena, Q.M. (2002). Arsenic speciation and distribution in an arsenic hyperaccumulating plant. *The Science of the Total Environment* 300: 167 - 177.
- Zhao, F. J., Ma, J. F., Meharg, A. A., McGrath, S. P. (2009). Arsenic uptake and metabolism in plants. *New Phytologist* 181: 777 – 794.

