

การศึกษาคุณสมบัติการเป็นพืชบำบัดสารหนูในดินน้ำขังของต้นพุทธรักษา Arsenic Phytoremediation of Submerged Soil Using *Canna glauca* (L.)

จอมจันทร์ นทีวัฒน์^{1*} ศิริเพ็ญ ตรีชัยยาพร² ประศักดิ์ ถาวรยติการณ³ และ สมพร ชุนห์ลือชานนท์⁴
Jomjun Nateewattana^{1*} Siripen Trichaiyaporn² Prasak Thavornyutikarn³ and Somporn Choonluchanon⁴

¹สาขาวิชาการจัดการสิ่งแวดล้อม (นานาชาติ) จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เขตปทุมวัน กรุงเทพมหานคร 10330

¹Hazardous Substance and Environmental Management, Chulalongkorn University, Bangkok 10330, Thailand 10330

²ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ อำเภอเมือง จังหวัดเชียงใหม่ 50200

²Department of Biology, The Faculty of Science, Chiang Mai University, Amphur Muang, Chiang Mai 50200

³ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ อำเภอเมือง จังหวัดเชียงใหม่ 50200

³Department of Chemistry, Faculty of Science, Chiang Mai University, Amphur Muang, Chiang Mai 50200

⁴ภาควิชาปฐพีศาสตร์และอนุรักษศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ อำเภอเมืองจังหวัดเชียงใหม่ 50200

⁴Division of Soil Science and Conservation, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University, Amphur Muang, Chiang Mai 50200

*Email: jomjun_102@hotmail.com

Received: Feb 13, 2018

Revised: May 10, 2018

Accepted: May 18, 2018

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลกระทบต่อการสะสมสารหนูอนินทรีย์ชนิดอาร์เซนิตและอาร์เซนเตของต้นพุทธรักษาที่ปลูกในดินน้ำขังโดยวัดจากน้ำหนักแห้งที่ลดลง และศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการดูดสะสมปริมาณสารหนูทั้งหมดของต้นพุทธรักษาและส่วนต่าง ๆ รวมทั้งคุณสมบัติการเป็นพืชบำบัดของพุทธรักษา โดยศึกษาปัจจัยการเคลื่อนย้ายสารหนูขึ้นสู่ส่วนเหนือดิน และความเข้มข้นทางชีวภาพ รูปแบบการทดลองเป็นแบบแฟคทอเรียล 3×4 ในแบบแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ โดยมีทรีตเมนต์คอมบินันชันเท่ากับ 12 ทำการทดลอง 3 ซ้ำ ปัจจัยทั้ง 2 ได้แก่ ชนิดของสารหนู 2 ชนิดคือ อาร์เซนิตอาร์เซนเต และชุดควบคุม ระยะเวลาเพาะปลูกได้แก่ 15, 30, 45 และ 60 วัน ผลการศึกษาพบว่า สารหนูอนินทรีย์ชนิดอาร์เซนิตมีผลต่อการลดลงของน้ำหนักแห้งของพุทธรักษาสูงกว่าอาร์เซนเตอย่างมีนัยสำคัญ (P -value = 0.000) โดยมีค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การลดลงของน้ำหนักแห้งเท่ากับ 54.30% และ 34.27% ตามลำดับ ปัจจัยที่มีผลต่อการดูดสะสมปริมาณสารหนูทั้งหมดของต้นพุทธรักษาอย่างมีนัยสำคัญ (P -value = 0.000) คือ ชนิดของสารหนูในดิน และจำนวนวันที่เพาะปลูก เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยตามวิธีของต้นเนตต์พบว่า อาร์เซนเต>อาร์เซนิต>ชุดควบคุม และ $60 > 45 > 30 > 15$ วัน โดยทั้ง 2 ปัจจัยยังมีอิทธิพลร่วมกันอย่างมีนัยสำคัญ (P -value = 0.000) ปัจจัยที่มีผลต่อการดูดสะสมโทเทิลอาร์เซนิกในส่วนต่าง ๆ อย่างมีนัยสำคัญ (P -value = 0.000) ของพุทธรักษา รูปแบบการทดลองแฟคทอเรียล $3 \times 4 \times 4$ ในแบบแผน การทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ ได้แก่ ชนิดของสารหนู จำนวนวันที่เพาะปลูก และส่วนต่าง ๆ ของพุทธรักษา อีกทั้งปัจจัย 2 ปัจจัยที่มีอิทธิพลร่วมกันอย่างมีนัยสำคัญ (P -value = 0.000) ได้แก่ ชนิดของสารหนูกับจำนวนวันที่เพาะปลูกชนิดของสารหนูกับส่วนต่าง ๆ ของพุทธรักษาและจำนวนวันที่เพาะปลูกกับส่วนต่าง ๆ ของพุทธรักษา และปัจจัยทั้ง 3 มีอิทธิพลร่วมกันอย่างมีนัยสำคัญ (P -value = 0.000) เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยแต่ละกลุ่มของปัจจัยที่มีอิทธิพลพบว่า อาร์เซนเต>อาร์เซนิต>ชุดควบคุม, $60 > 45 > 30 > 15$ วัน และ เหง้า >ราก >ลำต้น >ใบ คุณสมบัติการเคลื่อนย้ายสารหนูขึ้นสู่ส่วนเหนือดินพบว่า อาร์เซนิตมีการเคลื่อนย้ายสู่ส่วนเหนือดินมากกว่าอาร์เซนเต ในวันที่ 15, 30 และ 45 ความเข้มข้นทางชีวภาพพบว่า พุทธรักษาที่ปลูกในดินที่ใส่ As(V) มีค่ามากกว่า 1 ในวันที่ 45 และ 60 พุทธรักษาจึงมีคุณสมบัติเป็นพืชไฮเปอร์แอคคิวมิเลเตอร์

คำสำคัญ: พุทธรักษา สารหนู อาร์เซนิตอาร์เซนเต ดินน้ำขัง

Abstract

This research aimed to investigate the accumulation of inorganic arsenic including arsenite [As(III)] and arsenate [As(V)] on *Canna glauca*(L.) grown in submerged soil. It was measured by percentage of dry weight reduction. The other was to study influential factors on the total arsenic accumulation of *C.glauca* and their organs, and their phytoremediation properties consisted of arsenic accumulation translocation factor and bioconcentration factor. The experimental design was 3 × 4 factorial in the CRD plan with 12 treatment combinations and 3 replications, and the 2 speciation comprised As (III) and As (V) treated in soil, and control group, as well as growing periods being 15, 30, 45 and 60 days. According to the result, the percentage of *C.glauca* dry weight planted in As (III) treated soil significantly (P -value = 0.000) decreased more than As (V) being their mean 54.30% and 34.27%. The influential factors of total arsenic accumulation on *C.glauca* were significant (P -value = 0.000) arsenic speciation and growing periods, and then multiple comparison of means by Dunnett's T3 found that As (V) > As (III) > Control and 60 > 45 > 30 > 15 days. Both factors had significant influence each other (P -value = 0.000). The effect factors of total arsenic accumulation in various organs of *C.glauca* by 3 × 4 × 4 factorial experiment in the CRD plan comprised significantly arsenic speciation, growing period, and organs of *C.glauca* (P -value = 0.000). In addition the two impact factors had significant influences (P -value = 0.000) including arsenic speciation * growing period, arsenic speciation * organs of *C.glauca*, and growing period * organs of *C.glauca*, and then three factors had a significant influence (P -value = 0.000). The multiple comparison of these mean factors found that As (V) > As (III) > Control, 60 > 45 > 30 > 15 days, and rhizome > root > pseudostem > leaf. Arsenic accumulation translocation factor of *C.glauca* in As (III) treated soil was higher than As (V) on 15, 30 and 45 days, and bioconcentration of *C.glauca* in As (V) treated soil were greater than 1 on 45 and 60 days; Therefore *C.glauca* was classified as hyperaccumulator plants.

Keywords: *Canna glauca*(L.), arsenic, arsenite [As(III)], arsenate [As(V)], submerged soil

บทนำ

ปัญหาสารหนูมีความเข้มข้นสูงในแหล่งน้ำธรรมชาติ ซึ่งเป็นแหล่งน้ำที่ใช้ในการอุปโภคบริโภคมีมากกว่า 70 ประเทศ ส่งผลให้เกิดพิษภัยร้ายแรงต่อคนจำนวน 150 ล้านคนทั่วโลก [1] น้ำที่ปนเปื้อนยังถูกนำมาใช้ในการชลประทาน เพื่อเพาะปลูกพืช ส่งผลให้มีการสะสมในดินและพืชเป็นอันตรายร้ายแรงต่อคนที่บริโภคและอาศัยในบริเวณดังกล่าว [2] ปัจจุบันปัญหาการปนเปื้อนสารหนูในแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้มีความรุนแรงมากขึ้น เช่น ในประเทศเวียดนาม ไทย และกัมพูชา พืชที่เจริญในพื้นที่ปนเปื้อนหรือแหล่งน้ำ พืชจะสะสมสารหนูผ่านทางรากและเคลื่อนย้ายไปสู่เหง้า ลำต้น และใบ ขณะที่พืชบางชนิดได้รับสารหนูแสดงอาการพิษที่ชัดเจน แต่บางชนิดมีความทนทานต่อสารหนู สามารถสะสมได้ในปริมาณมาก นับได้ว่าเป็นพืชไฮเปอร์แอคคิวมิวเลเตอร์ [3 - 4] เทคนิคพืชบำบัดเป็นเทคโนโลยีที่ไม่ซับซ้อน พืชหลายชนิดถูกนำมาทดสอบ เพื่อบำบัดสารหนู ได้แก่ พืชน้ำทั้ง 3 ระบบได้แก่ พืชใต้น้ำ พืชที่โผล่เหนือน้ำ และพืชลอยน้ำ ยกตัวอย่างเช่น ผักตบชวา (*Eichhornia crassipes*), แหนเล็ก (*Lemna minor*), จอกหูหนู (*Salvinia natans*), แหนเป็ดใหญ่ (*Spirodela polyrrhiza*), สาหร่ายหางกระรอก (*Hydrilla verticillata*), ผำ (*Wolffia globosa*), บอน (*Colocasia esculenta*), ฐปลาชี (*Typha angustifolia*) และกกอียิปต์ (*Cyperus papyrus*) วิธีพืชบำบัดจึงเป็นเทคโนโลยีในการ

เคลื่อนย้ายสารหนูจากน้ำและตะกอนท้องน้ำที่ปนเปื้อนสารหนูได้รับความสนใจจากนักวิจัยเป็นอย่างมาก [4 - 8]

พืชน้ำหรือพรรณไม้น้ำหมายถึง พืชที่เจริญอยู่ในน้ำ หรือมีช่วงชีวิตหนึ่งที่เจริญอยู่ในน้ำ การจัดจำแนกตามลักษณะและรูปแบบการเจริญเติบโตในแหล่งน้ำตามธรรมชาติ จัดได้เป็น 3 ประเภทได้แก่ พืชใต้น้ำ (Submerged plant) พืชโผล่เหนือน้ำ (Emergent plant) และพืชลอยน้ำ (Floating plant) โดยพืชใต้น้ำ (Submerged plant) เป็นพืชที่มีการเจริญเติบโตโดยใต้น้ำทั้งหมดทั้งราก ลำต้น และใบ จมอยู่ใต้น้ำ พืชที่โผล่เหนือน้ำ (Emergent plant) เป็นพืชชนิดที่มีการเจริญเติบโตในน้ำบางส่วน มีรากและลำต้นเจริญเติบโตใต้ดิน บางส่วนโผล่เหนือน้ำ พืชลอยน้ำ (Floating plant) เป็นพืชที่เจริญเติบโตอยู่ที่ผิวน้ำ และรากเจริญอยู่ในน้ำ [9] เนื่องจากพื้นที่ชุ่มน้ำที่ปนเปื้อนสารหนูเป็นพื้นที่ที่บำบัดได้ยาก และเป็นปัญหาสิ่งแวดล้อมที่สำคัญ เพราะสามารถแพร่กระจายได้ในบริเวณกว้างสารหนูจะปนเปื้อนไปยังแหล่งน้ำ ตะกอนดิน น้ำใต้ดิน และส่งผลกระทบต่อสิ่งมีชีวิตโดยรอบ พืชน้ำชนิดโผล่เหนือน้ำ พื้นที่ที่มีความทนทาน เหมาะสมในการบำบัดกำจัด พบได้ตามสภาพธรรมชาติทั่วไป ได้ถูกนำมาทดสอบในการเป็นพืชบำบัดสารหนูในการศึกษาค้นคว้าครั้งนี้ได้แก่ พุทธรักษา มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Canna glauca* (L.) โดยมีชื่อสามัญว่า Indian shot หรือ *C.glauca* อยู่ในวงศ์ Cannaceae ลักษณะทาง

พฤกษศาสตร์เป็นพืชล้มลุก ลำต้นเหนือดินสูง 80 – 100 เซนติเมตร เป็นกลุ่มก้านใบแผ่เป็นกาบหุ้มประกบกัน ลำต้นใต้ดินมีลักษณะเป็นเหง้า ใบเป็นใบเดี่ยวเรียงสลับสองแถวรูปรีใหญ่หรือรูปไข่ ปลายใบเรียวแหลม ขอบใบเรียบ มีสีเขียว สีสแดงหรือสีเขียวขลิบแดง มีนวลสีขาวปกคลุม กว้าง 10 – 15 เซนติเมตร ยาว 30 – 50 เซนติเมตร ดอกออกช่อที่ปลายยอด มีดอกย่อยเรียงอยู่บนก้านช่อดอกใหญ่ ดอกย่อยมีก้านดอกสั้น เป็นดอกสมบูรณ์เพศ ประกอบด้วยกลีบเลี้ยงสีเขียวอ่อนและกลีบดอกอย่างละ 3 กลีบ สีส้มปนเหลืองเรียวยาว ผลแห้งกลมและแตกเมื่อแก่ ภายในมีเมล็ดขนาดใหญ่หลายเม็ด [10]

วิธีการทดลอง

รูปแบบการทดลองเป็นแบบแฟคทอเรียล 3 × 4 ในแบบแผน CRD ประกอบด้วย 2 ปัจจัยคือ ชนิดของสารหนู ได้แก่ อาร์เซนไนต์ As(III) และอาร์เซนเต As(V) เข้มข้น 175 mg kg⁻¹ และชุดควบคุม และจำนวนวันที่เพาะปลูกได้แก่ 15, 30, 45 และ 60 วัน ทำการทดลอง 3 ซ้ำ ในการทดลองใช้ดินตะกอนท้องน้ำ (submerged soil) จากเขตอำเภอดงจังหวัดเชียงใหม่ นำมาตามลมให้แห้ง (air dry) นำมาบดและร่อนผ่านตะแกรงขนาด 2 mm แล้วจึงนำมาบ่มกับสารหนูทั้งสองชนิดที่ความเข้มข้น 175 mg kg⁻¹ ดินพุทธรักษาเก็บจากธรรมชาติในพื้นที่ที่ไม่มีการปนเปื้อนในเขตอำเภอดงจังหวัดเชียงใหม่ นำมาอนุบาลเป็นระยะเวลา 2 เดือน ทำการวิเคราะห์สารหนูในดินและพืชตัวอย่างก่อนนำไปทดลอง นำพืชที่เตรียมไว้ปลูกในกระถางขนาด 12 × 12 นิ้ว ใส่ดินที่บ่มสารหนูไว้แล้วจำนวน 5 กิโลกรัมต่อกระถาง ระดับน้ำในกระถางให้คงที่ไว้ที่ระดับ 2 เซนติเมตรเหนือผิวดิน

การเก็บและวิเคราะห์ตัวอย่าง

ตัวอย่างดินเก็บต่ำกว่าระดับผิวดิน 15 เซนติเมตรตามเวลาที่กำหนด นำไปอบแห้งที่ 70 °C เมื่อแห้งมาบดและร่อนผ่านตะแกรงขนาด 2 mm และเก็บในถุงพลาสติกที่แห้งสนิทตัวอย่างพืชเมื่อครบเวลาทำการเก็บมาทั้งต้น ล้างด้วยน้ำสะอาด นำมาชั่งให้แห้ง แล้วชั่งน้ำหนักทั้งต้น และทำการตัดแยกแต่ละส่วนของพืชได้แก่ ใบ (leaf) ลำต้น (pseudostem) ราก (root) และเหง้า (rhizome) และทำการชั่งน้ำหนักอีกครั้ง จากนั้นนำไปอบที่อุณหภูมิ 85 °C จนน้ำหนักคงที่ เก็บตัวอย่างในถุงพลาสติกที่แห้งสนิทและปิดสนิททำการชั่งดินที่บดและร่อนแล้ว 0.500 g ใส่ในขวดรูปชมพู่ขนาด 50 ml เติมนกรดไนตริกเข้มข้น (HNO₃) 7 ml และไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (30% H₂O₂) 2 ml ทิ้งไว้ 6 ชั่วโมง นำไปย่อยที่ 85 °C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง แล้วจึงปรับปริมาตรสุดท้ายเป็น 25 ml ด้วยน้ำปราศจากไอออน (De-ionized water) เก็บในขวดเฮกซีทีอี (HDPE; High density polyethylene) การย่อยพืชโดยชั่งพืชที่บดแล้ว 0.500 g ใส่ในขวดรูปชมพู่ขนาด 50 ml เติมนกรดไนตริกเข้มข้น (HNO₃) 7 ml ทิ้งไว้ 3 ชั่วโมง และเติมไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (30% H₂O₂) 2 ml ทิ้งให้เกิดปฏิกิริยาเป็นเวลา 6 ชั่วโมง นำไปย่อยที่ 85 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำมาปรับ

วัตถุประสงค์ในการศึกษา เพื่อศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของพุทธรักษา โดยปัจจัยที่ศึกษาได้แก่ ชนิดของสารหนูในดิน จำนวน 2 ชนิดคือ As(III) และ As(V) และปัจจัยจำนวนวันที่เพาะปลูก เพื่อศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการดูดสะสมปริมาณสารหนูทั้งหมดของต้นพุทธรักษาและส่วนต่าง ๆ และเพื่อศึกษาคุณสมบัติการเป็นพืชบำบัดของพุทธรักษาได้แก่ คุณสมบัติด้านการเคลื่อนย้ายสารหนูขึ้นสู่ส่วนเหนือดิน และความเข้มข้นทางชีวภาพ

ปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนให้มีปริมาตร 25 ml เก็บในขวดพลาสติกชนิดเฮกซีทีอี

การตรวจวัดสารหนูแบบ Total arsenic [11] ทำการเตรียมสารมาตรฐานหรือตัวอย่างจำนวน 10 ml จากนั้นเติม 6 ml ของ HCl : H₂O₂ (1:1) และเติม 1 ml ของ 10% KI analytical reagent grade, ผสมให้เข้ากัน และทิ้งให้เกิดปฏิกิริยา 1 ชั่วโมง นำมาตรวจวัดด้วยวิธี Hydride - Atomic Absorption Spectrophotometer (AAS) ทำการตรวจสอบความเที่ยงตรงและแม่นยำโดยใช้ Reagent blanks และ Internal Standards โดย Detection limit ของวิธีนี้คือ 1 µg kg⁻¹ หรือ µg l⁻¹

การคำนวณและวิธีการวิเคราะห์ทางสถิติ

การเคลื่อนย้ายสารหนูขึ้นสู่ส่วนเหนือดิน (Arsenic accumulation translocation factor, ATF) เป็นสัดส่วนระหว่างปริมาณสารหนูในส่วนเหนือดินต่อปริมาณสารหนูในส่วนใต้ดิน การคำนวณ ความเข้มข้นทางชีวภาพ (Bioconcentration factor, BCF) เป็นสัดส่วนระหว่างปริมาณสารหนูในพืชต่อปริมาณสารหนูในดิน สถิติที่ใช้ในการวิเคราะห์ข้อมูลได้แก่ การวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) และการเปรียบเทียบพหุคูณของแต่ละปัจจัยโดยวิธีของดินเนตต์ (Dunnett's T3)

ผลการทดลองและอภิปรายผล

ส่วนที่ 1 การลดลงของน้ำแห้งของพุทธรักษา

จากรูปที่ 1 และ 2 ดินในชุดควบคุมมีค่า pH ระหว่าง 6.3 – 7.1 ดินที่ใส่ As(III) และ As(V) มีค่า pH ระหว่าง 6.8 – 7.9 และ 6.9 – 7.9 ดินมีสภาพเป็นกรดเล็กน้อยถึงด่างปานกลาง สำหรับค่า Eh ของชุดควบคุมมีค่า -133 ถึง -30 mV ส่วนดินที่ใส่ As(III) และ As(V) มีค่า Eh ระหว่าง -175 ถึง -90 และ -130 ถึง -98 mV ซึ่งอยู่ในสภาวะรีดักชันเนื่องจากเป็นดินน้ำขัง โดย As(III) ก่อให้เกิดสภาพรีดักชันสูงกว่า As(V)

ความเป็นกรดต่าง (pH) มีผลต่อการเคลื่อนย้ายสารหนูในดิน pH เป็นตัวกำหนดสารหนูสามารถเคลื่อนย้ายได้ดี เพราะการเพิ่ม pH ในดินทำให้เกิดการปล่อย anion จากดิน ทำให้ As(III) และ As(V) ถูกปลดปล่อยออกมา โดย As(V) จะเป็นรูปหลักที่ปรากฏในดินเมื่อค่า pH มากกว่า 10 และ As(III) จะ

ปรากฏในดินเป็นรูปหลักเมื่อ pH น้อยกว่า 6 นอกจากนี้สารหนูอนินทรีย์ในดินสามารถเปลี่ยนวาเลนซ์โดยเกิดจากการเปลี่ยนศักย์ภาพการเกิดออกซิเดชันรีดักชัน (Oxidation reduction potential; Eh) และกลไกของสิ่งมีชีวิตในดิน โดย As(III) จะปรากฏในสภาวะรีดักชัน และ As(V) จะปรากฏในสภาวะออกซิเดชัน ซึ่ง As(III) มีพิษต่อสิ่งมีชีวิตมากกว่า As(V) 10 เท่า [12 – 13] จากการศึกษาของ Huyutet *et al.*, (2012) [14] พบว่า pH มีผลต่อการดูดสะสมปริมาณสารหนูทั้งหมด ซึ่ง *Ceratophyllum demersum* (L.) จะมีการสะสมสารหนูสูงสุดเมื่อ pH เท่ากับ 5 และการสะสมจะลดลงเมื่อ pH สูงขึ้น และทำให้น้ำหนักแห้งลดลง เกิดปลายใบและขอบใบเหี่ยวไหม้ (plant necrosis) มวลชีวภาพลดลง เพื่อลดปริมาณการสะสมสารหนู

รูปที่ 3 กราฟแท่งแสดงค่าเฉลี่ยน้ำหนักของ พุทธรักษาจะพบว่า ชุดควบคุม >As(V) > As(III) ในทุกช่วงเวลาการปลูก กราฟเส้นแสดงเปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้งที่ลดลง โดย As(III) จะมีเปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้งที่ลดลงมากกว่า As(V) ในทุก

ช่วงเวลาการปลูก เมื่อทดสอบความแปรปรวน (ANOVA) พบว่าปัจจัยที่มีผลต่อเปอร์เซ็นต์การลดลงของน้ำหนักแห้งอย่างมีนัยสำคัญ ($P\text{-value} = 0.000$) คือ ชนิดของสารหนูในดิน แสดงดังตารางที่ 1 และเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยแต่ละกลุ่ม (multiple comparison) โดยวิธีของดันเนตต์ (Dunnett's T3) ดังรูปที่ 4 พบว่า กลุ่มที่ปลูกในดินที่ใส่ As(III) มีค่าเปอร์เซ็นต์การลดลงของน้ำหนักแห้งมากกว่าดินที่ใส่ As(V) ซึ่งทั้งสองกลุ่มมีค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การลดลงของน้ำหนักแห้งเท่ากับ 54.30% และ 34.27%

สารหนูไม่ใช่ธาตุอาหารที่จำเป็นและโดยทั่วไปไม่มีพิษต่อพืช พืชที่เจริญเติบโตในบริเวณที่มีความเข้มข้นของสารหนูสูงรากจะถูกยับยั้งการแผ่ขยายและเพิ่มจำนวน มีผลต่อการเจริญเติบโต อีกทั้งส่งผลต่อการขยายพันธุ์ สารหนูจะถูกดูดสะสมผ่านทางราก แล้วจึงส่งผ่านไปยังอวัยวะส่วนอื่นๆ ของพืช โดยสารหนูจะเข้าไปแทรกแซงกระบวนการเมตาบอลิซึม ลดการสังเคราะห์ด้วยแสง และลดการสะสมธาตุอาหาร ทำให้พืชตายในที่สุด [15 – 16]

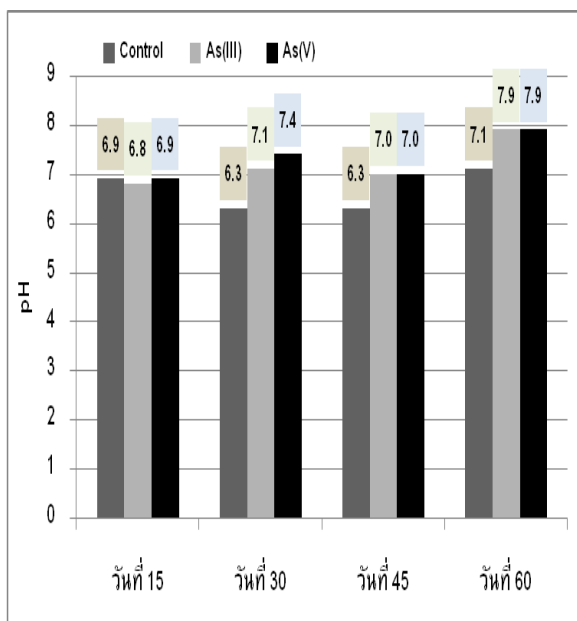


Figure 1 pH in treated soil

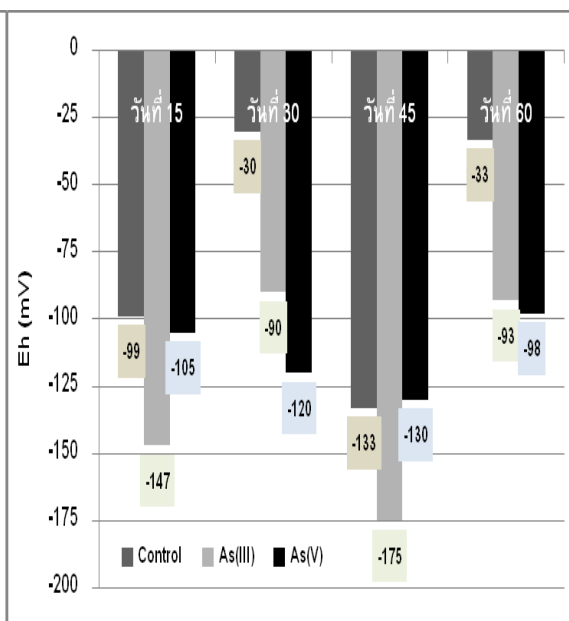


Figure 2 Eh in treated soil

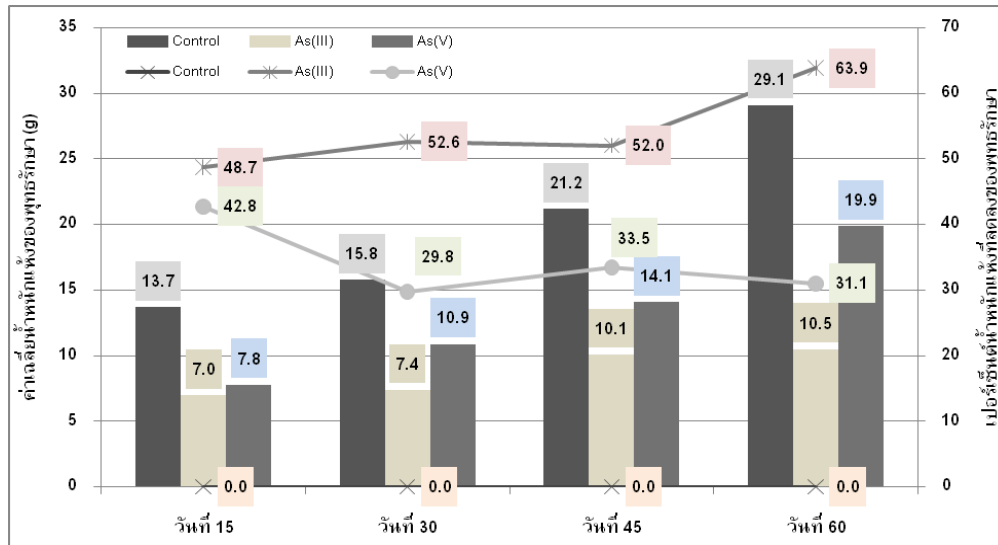


Figure 3 Mean of dry weight and Dry weight decrease (%) of *C. glauca* (L.)

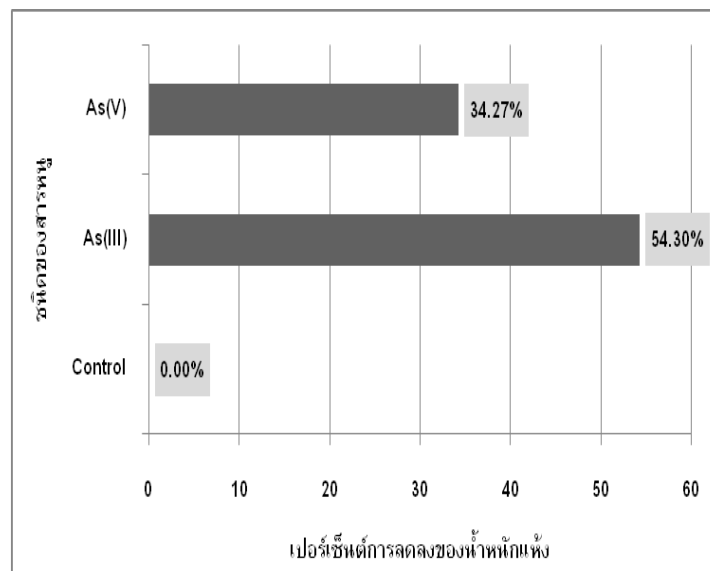


Figure 4 Multiple comparison of dry weight decrease (%): Arsenic speciation comparisons

Table 1 Variable analysis (ANOVA) of Dry weight decrease (%)

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	18798.98	11	1709.00	29.31	0.000
Intercept	31376.22	1	31376.22	538.16	0.000
Day	96.79	3	32.26	0.55	0.651
Speciation	18096.12	2	9048.06	155.19	0.000
Day * Speciation	606.08	6	101.01	1.73	0.157
Error	1399.26	24	58.30		
Total	51574.46	36			
Corrected Total	20198.24	35			

a * R Squared = .931 (Adjusted R Squared = .899)

ส่วนที่ 2 การดูดสะสมปริมาณสารหนูทั้งหมดของต้นพุทธรักษา

รูปที่ 5 กราฟแท่งแสดงปริมาณการสะสมสารหนูทั้งหมดของต้นพุทธรักษา และกราฟเส้นแสดงปริมาณสารหนูทั้งหมดในดิน (mg kg^{-1}) พบว่า ปริมาณสารหนูทั้งหมดของต้นพุทธรักษาที่ปลูกในดินที่ใส่ As(V) มีการดูดสะสมมากกว่า As(III) ในทุกช่วงเวลาการปลูก เมื่อทำการทดสอบความแปรปรวน (ANOVA) พบว่า ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการดูดสะสมปริมาณสารหนูทั้งหมดของต้นพุทธรักษาอย่างมีนัยสำคัญ ($P\text{-value} = 0.000$) คือ ชนิดของสารหนูในดิน และจำนวนวันที่เพาะปลูก นอกจากนี้ทั้งสองปัจจัยมีอิทธิพลร่วมกันต่อการดูดสะสมปริมาณสารหนูทั้งหมดของต้นพุทธรักษาอย่างมีนัยสำคัญ ($P\text{-value} = 0.000$) แสดงดังตารางที่ 2 เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยแต่ละกลุ่ม (Multiple comparison) ของปัจจัยที่มีอิทธิพลโดยวิธีของดันเนตต์ (Dunnett's T3) พบว่า ต้นที่ปลูกในดินที่ใส่ As(V) มีการดูดสะสมปริมาณสารหนูทั้งหมดมากกว่าดินที่ใส่ As(III) โดยมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 159.08 และ 122.17 mg kg^{-1} ตามลำดับ และปัจจัยจำนวนวันที่เพาะปลูกเมื่อเรียงตามลำดับวันที่มีการสะสมมากไปน้อยพบว่า 60 > 45 > 30 > 15 วัน โดยมีค่าเฉลี่ยการสะสมเท่ากับ

112.44, 102, 97.67 และ 64.56 mg kg^{-1} ตามรูปที่ 6a และ 6b

As(V) เป็นสารเคมีที่มีแบบแผนเดียวกันฟอสเฟตในกระบวนการเคลื่อนย้ายในดินและการดูดสะสมในพืช และ As(III) จะถูกดูดสะสมผ่าน Aquaglyceroporin จากกระบวนการเข้าสู่พืชที่ต่างกัน ส่งผลให้การดูดสะสมและการลำเลียงในพืชแตกต่างกัน [6] การศึกษาของ Kevin *et al.* (2002) [17] พบว่า สารหนูที่พบในพืชเป็นชนิดอนินทรีย์เป็นส่วนใหญ่ โดยจะพบ As(III) และ As(V) เป็นรูปแบบหลักในเนื้อเยื่อพืช Claes and Marin. (2012) [18] พบว่า พืชน้ำมีการสะสมสารหนูมากกว่าพืชบก โดยพืชน้ำจะพบ As(V) เป็นหลักแตกต่างจากพืชบกที่พบ As(III) เป็นหลัก เช่น ข้าวมีการดูดสะสม As(V) มากกว่า As(III) [19] อีกทั้งยังพบว่าพืชน้ำมีการสะสมสารหนูในปริมาณมากกว่าพืชบกโดยทำการสำรวจจากสภาพธรรมชาติในพื้นที่ที่มีการปนเปื้อนในประเทศสวีเดนและสโลวาเกียพบว่า พืชน้ำได้แก่ *Equisetum fluviatile* และ *Sparganium sp.* มีการสะสมสารหนูถึง 531 และ 303 mg kg^{-1} ขณะที่พืชบกได้แก่ *Empetrum nigrum* และ *Pinus sylvestris* มีการสะสมสารหนู 2.97 และ 34.4 mg kg^{-1} [18]

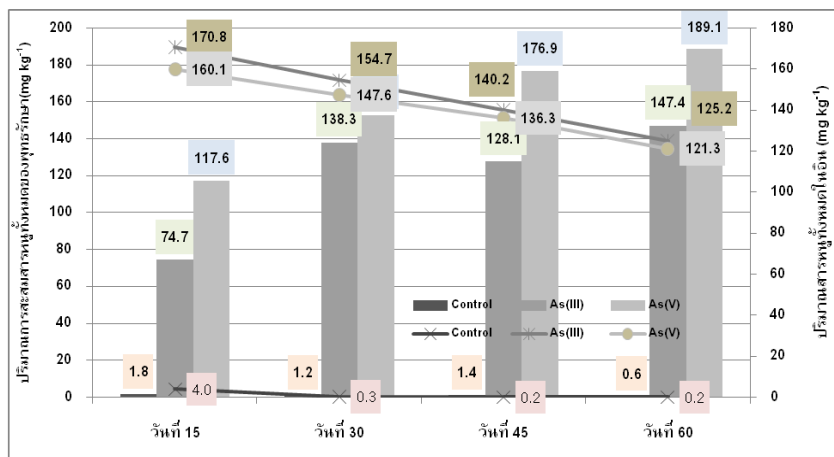


Figure 5 Total arsenic accumulations (mg kg^{-1}) of *C. glauca* (L.) and soil

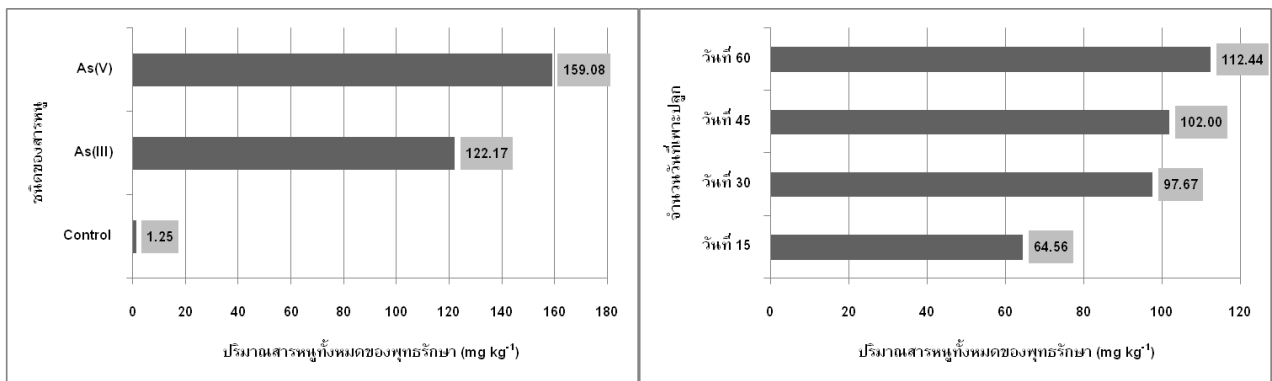


Figure 6a Arsenic speciation comparisons

Figure 6b Growing period comparisons

Figure 6 Multiple comparison of total arsenic accumulation (mg kg^{-1})

ส่วนที่ 3 การสะสมปริมาณสารหนูทั้งหมดในส่วนต่าง ๆ ของพุทธรักษา

รูปที่ 7 แสดงปริมาณสารหนูทั้งหมดสะสมในส่วนต่าง ๆ ของพุทธรักษา โดยพบว่า เหง้าเป็นส่วนที่มีการสะสมสูงที่สุดทุกระยะเวลาการเพาะปลูกในดินที่ใส่ As(V) เมื่อทดสอบความแปรปรวน (ANOVA) พบว่า ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการดูดสะสมปริมาณสารหนูทั้งหมดของแต่ละส่วนของพุทธรักษาอย่างมีนัยสำคัญ (P -value = 0.000) ได้แก่ ชนิดของสารหนูในดิน จำนวนวันที่เพาะปลูก และส่วนต่าง ๆ ของพุทธรักษา โดยปัจจัย 2 ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อกันอย่างมีนัยสำคัญได้แก่ ชนิดของสารหนูในดินกับจำนวนวันที่เพาะปลูก ชนิดของสารหนูในดินกับส่วนต่าง ๆ ของพุทธรักษา และจำนวนวันที่เพาะปลูกกับส่วนต่าง ๆ ของพุทธรักษา รวมทั้ง 3 ปัจจัยมีอิทธิพลต่อกันอย่างมีนัยสำคัญ (P -value = 0.000) คือ ชนิดของสารหนูในดินกับจำนวนวันที่เพาะปลูกกับส่วนต่าง ๆ ของพุทธรักษา แสดงดังตารางที่ 3 เมื่อทำการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยแต่ละกลุ่ม

(Multiple comparison) โดยวิธีของดันเนตต์(Dunnett's T3) พบว่า As(V) > As(III) > ชุดควบคุม โดยค่าเฉลี่ยการสะสมสารหนูทั้งหมดเท่ากับ 134.74, 114.37 และ 1.31 mg kg^{-1} ปัจจัยจำนวนวันที่เพาะปลูกพบว่า 60 > 45 > 30 > 15 วัน โดยมีค่าเฉลี่ยการสะสมสารหนูทั้งหมดเท่ากับ 97.71, 89.16, 88.61 และ 58.04 mg kg^{-1} และปัจจัยการสะสมของแต่ละส่วนพบว่า เหง้า > ราก > ลำต้น > ใบ โดยมีค่าเฉลี่ยการสะสมสารหนูทั้งหมดเท่ากับ 129.57, 105.46, 56.06 และ 42.79 mg kg^{-1} ตามรูปที่ 8a, 8b และ 8c

จากการศึกษาของ Sylwia et al., 2017 [20] เมื่อทดสอบปลูกพืชใน As(III) พบว่า มีการสะสมในรากเป็นอวัยวะหลักได้แก่ *Betula pendula* Roth., *Quercus robur* (L.) และ *Ulmus laevis* Pall. ขณะที่บางชนิดมีการส่งผ่านสารหนูจากรากไปสะสมที่ลำต้นและใบได้แก่ *Acer platanoides* (L.) สำหรับในกลุ่มเฟิร์นพบว่า มีการสะสมที่ใบมากกว่าราก เมื่อปลูกใน As(V) [3]

Table 2 Variable analysis (ANOVA) of Total arsenic accumulation (mg kg^{-1})

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	182218.33	11	16565.30	1153.48	0.000
Intercept	319225.00	1	319225.00	22228.43	0.000
Day	11560.56	3	3853.52	268.33	0.000
Speciation	163580.17	2	81790.08	5695.25	0.000
Day * Speciation	7077.61	6	1179.60	82.14	0.000
Error	344.67	24	14.36		
Total	501788.00	36			
Corrected Total	182563.00	35			

a * R Squared = .998 (Adjusted R Squared = .997)

ส่วนที่ 4 ปัจจัยการเคลื่อนย้ายสารหนูขึ้นสู่ส่วนเหนือดิน (Arsenic accumulation translocation factor, AFT) และปัจจัยความเข้มข้นชีวภาพ (Bioconcentration factor, BCF)

รูปที่ 9 แสดงปัจจัยการเคลื่อนย้ายสารหนูขึ้นสู่ส่วนเหนือดิน(AFT)คำนวณได้จากสัดส่วนระหว่างปริมาณสารหนูที่สะสมในส่วนเหนือดินกับส่วนใต้ดิน โดยพบว่า ต้นพุทธรักษา มีการเคลื่อนย้ายปริมาณสารหนูทั้งหมดสู่ส่วนเหนือดินของต้นที่ปลูกในดินที่ใส่ As(III) มากกว่า As(V) ในวันที่ 15, 30 และ 45 สำหรับวันที่ 60 พบว่า ต้นที่ปลูกในดินที่ใส่ As(V) มากกว่า As(III)

จากการศึกษาของ Nandita et al., 2010 [3] ทดสอบในเฟิร์น 12 ชนิดพบว่า มีค่า AFT อยู่ระหว่าง 2 - 6 เนื่องจากมีการส่งผ่านสารหนูจากรากไปสะสมที่ใบเป็นส่วนใหญ่ ขณะที่พืชบก

ส่วนใหญ่จะมีการสะสมที่รากเป็นหลักจึงมีค่า AFT น้อยกว่า 1 เช่น *Betula pendula* Roth., *Quercus robur* (L.) และ *Ulmus laevis* Pall. มีค่า AFT เท่ากับ 0.09, 0.10 และ 0.98 ตามลำดับ [20]

รูปที่ 10 แสดงค่าปัจจัยความเข้มข้นชีวภาพ (BCF) ซึ่งความเข้มข้นทางชีวภาพคือ อัตราส่วนระหว่างความเข้มข้นของสารหนูที่สะสมในพืชต่อสารหนูในดิน พบว่า ต้นพุทธรักษาที่ปลูกในดินที่ใส่ As(V) มีค่าปัจจัยความเข้มข้นชีวภาพมากกว่าดินที่ใส่ As(III) โดยในวันที่ 45 และ 60 มีค่า BCF มากกว่า 1 สำหรับต้นพุทธรักษาที่ปลูกในดินที่ใส่ As(V) มีค่า BCF เท่ากับ 1.011 และ 1.081 จึงนับได้ว่าเป็นพืชไฮเปอร์แอคคิวมิเลเตอร์ (Hyperaccumulator) จึงมีความเหมาะสมต่อการเป็นพืชบำบัดสารหนู

จากการศึกษาของ [3] พบว่า ค่า BCF ของเฟิร์น ซึ่งเป็นพืชไฮเปอร์แอคคิวมิเลเตอร์ มีค่า BCF สูง โดยมีค่าอยู่ระหว่าง 4 – 14 ขณะที่พืชบกมีค่า BCF น้อย เช่น *Betula pendula* Roth. และ *Ulmus laevis* Pall. โดยมีค่า

BCF เท่ากับ 0.62 และ 0.77 แต่พืชบกบางชนิดมีสมบัติเป็น Hyperaccumulator ได้แก่ *Acer platanoides* (L.) และ *Quercus robur* (L.) มีค่า BCF เท่ากับ 2.19 และ 2.69 [20]

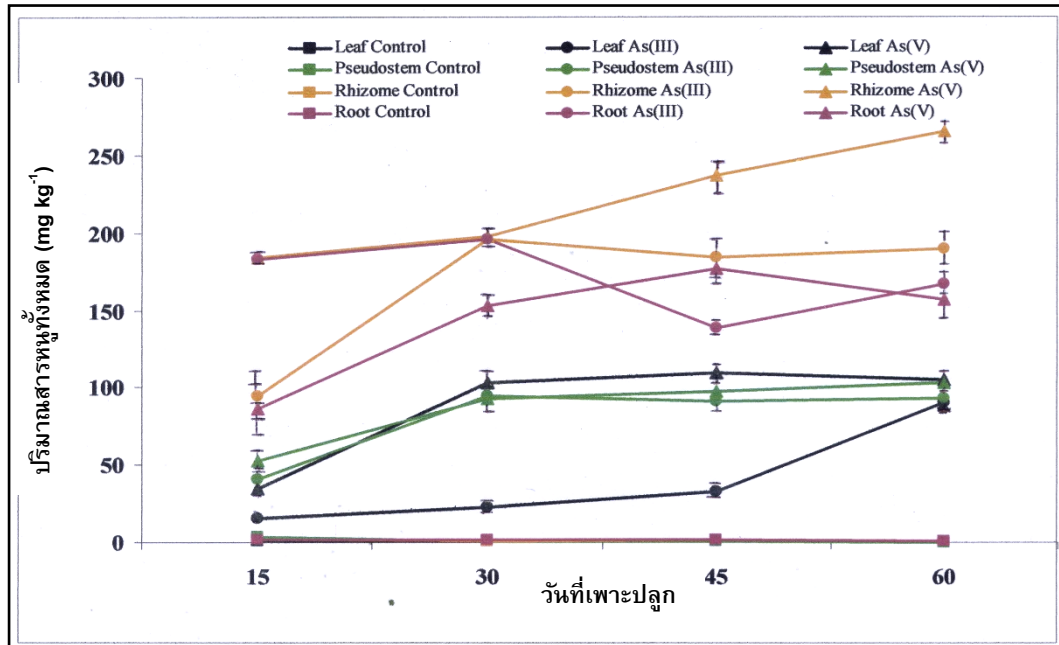


Figure 7 Arsenic accumulations (mg kg⁻¹) in leaf, pseudostem, rhizome, and root of *C. glauca*

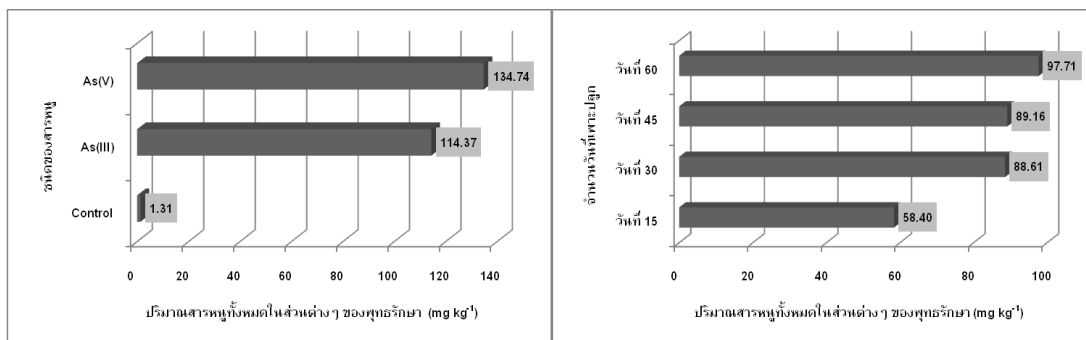


Figure 8a Arsenic speciation comparisons

Figure 8b Growing period comparisons

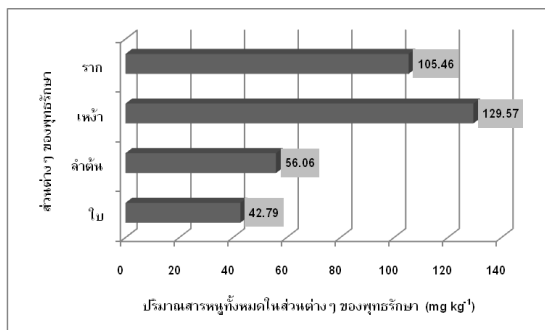


Figure 8 Multiple comparison of Total arsenic accumulation in organs of *C. glauca* (L.) (mg kg⁻¹)

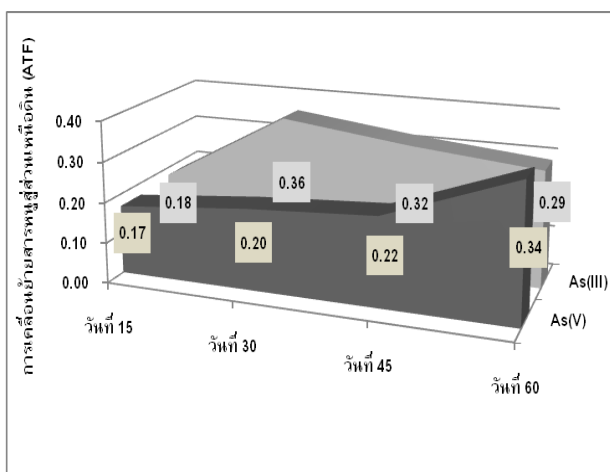


Figure 9 Arsenic accumulation translocation factor

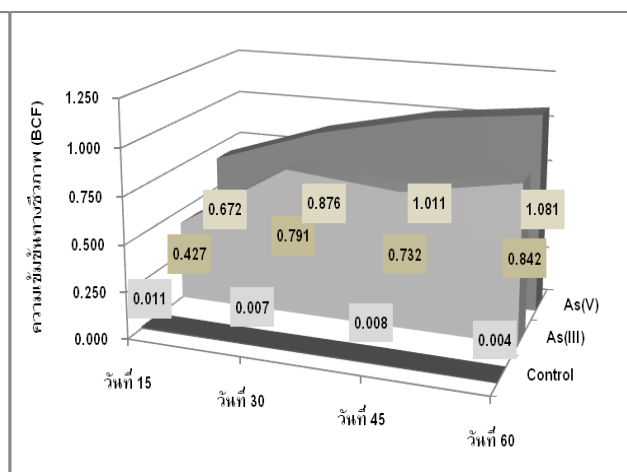


Figure 10 Bioconcentration factor (BF)

Table 3 Variable analysis (ANOVA) of Total arsenic accumulation (mg kg^{-1}) in organs of *C. glauca* (L.)

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	878206.40	47	18685.24	406.92	0.000
Intercept	1003296.04	1	1003296.04	21849.55	0.000
Speciation	496047.82	2	248023.91	5401.41	0.000
Day	32035.74	3	10678.58	232.56	0.000
Organ	180532.99	3	60177.66	1310.54	0.000
Speciation * Day	22246.88	6	3707.81	80.75	0.000
Speciation* Organ	116773.93	6	19462.32	423.85	0.000
Day * Organ	5885.98	9	654.00	14.24	0.000
Speciation * Day* Organ	24683.06	18	1371.28	29.86	0.000
Error	4408.16	96	45.92		
Total	1885910.61	144			
Corrected Total	882614.57	143			

a * R Squared = .995 (Adjusted R Squared = .993)

สรุปผลการศึกษาและข้อเสนอแนะ

ชนิดของสารหนูมีผลต่อการลดลงของน้ำหนักแห้งของพุทธรักษาอย่างมีนัยสำคัญ โดยสารหนูในดินชนิดAs(III) มีผลต่อการลดน้ำหนักแห้งมากกว่าชนิดAs(V) ปัจจัยที่มีผลต่อการสะสมปริมาณสารหนูทั้งหมดของต้นพุทธรักษาได้แก่ ชนิดของสารหนูในดิน และจำนวนวันที่เพาะปลูกโดยต้นพุทธรักษา มีการดูดสะสมปริมาณสารหนูทั้งหมดจากดินที่ใส่ As(V) มากกว่า As(III) และลำดับการดูดสะสมสารหนูทั้งหมด โดยต้นพุทธรักษา มีการดูดสะสมมากในช่วง 30 วันแรกจากนั้นปริมาณการดูดสะสมเพิ่มขึ้นเล็กน้อยจนถึงวันที่ 60 สำหรับการสะสมสารหนูในส่วนต่าง ๆ ของพุทธรักษา ปัจจัยที่มีผลได้แก่ ชนิดของสารหนู

ในดิน จำนวนวันที่เพาะปลูก และส่วนต่าง ๆ ของพุทธรักษา โดยอวัยวะแต่ละส่วนมีการดูดสะสมสารหนูทั้งหมดจากดินที่ใส่ As(V) มากกว่า As(III) และจำนวนวันที่เพาะปลูกมีการสะสมมากในช่วง 30 วันแรก แล้วเริ่มลดลงอย่างมากในวันที่ 45 และแนวโน้มการสะสมเพิ่มขึ้นเล็กน้อยจนถึงวันที่ 60 โดยส่วนที่มีการสะสมปริมาณสารหนูทั้งหมดในส่วนใต้ดินมีมากกว่าได้แก่ เหง้าและราก ส่วนเหนือดินมีการสะสมน้อยกว่าได้แก่ ลำต้นและใบ การเคลื่อนย้ายสารหนูขึ้นสู่ส่วนเหนือดินพบว่า ต้นพุทธรักษาที่ปลูกในดินที่ใส่ As(III) มีการเคลื่อนย้ายดีกว่า As(V) ในวันที่ 15, 30 และ 45 วัน สำหรับในวันที่ 60 พบว่าต้นที่ปลูกในดินที่ใส่ As(III) เคลื่อนย้ายดีกว่า As(V) ความ

เข้มข้นชีวภาพพบว่า As(V) มีค่ามากกว่า 1 ในวันที่ 45 และ 60 ต้นพุทธรักษาจึงมีสมบัติเป็นพืชไฮเปอร์แอคคิวมิวเลเตอร์ ซึ่งมีความเหมาะสมในการเป็นพืชบำบัด ในการทดลองลำดับถัดไปจะได้ทดสอบคุณสมบัติทางเคมีของดินที่มีผลต่อการสะสมสารหนูของพืชเช่น สมบัติทางเคมีกายภาพของดินและสมบัติทางเคมีดิน รวมทั้งการสะสมเปลี่ยนรูปสารหนูในดินและพืชที่ส่งผลต่อการดูดสะสมสารหนูของพืชในน้ำในพื้นที่ชุ่มน้ำ

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้เป็นส่วนหนึ่งของวิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรดุษฎีบัณฑิต โดยได้รับทุนสนับสนุนจากหลักสูตรสาขาการจัดการสิ่งแวดล้อม (นานาชาติ) จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย และบัณฑิตวิทยาลัยแห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ขอขอบคุณคณะวิทยาศาสตร์และคณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ รวมไปถึงผู้ที่เกี่ยวข้องทุกฝ่ายที่ร่วมในงานวิจัยและสนับสนุนการทำการทดลองจนสำเร็จด้วยดี รวมทั้งศ.ดร.นพ.วิชัย เทียนถาวร และคณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยพะเยามา ณ ที่นี้

Reference

[1] Brammer, H., and Revenscoft, P. 2009. "Arsenic in groundwater: a threat to sustainable agriculture in South and South-east Asia". **Environment International**. 35: 647 – 654.

[2] Heikens, A. 2006. **Arsenic contamination of irrigation water, soil and crops in Bangladesh: Risk implications for sustainable agriculture and food safety in Asia**. <http://www.fao.org>. Accessed 5 July 2017.

[3] Nandita, S., and *et al.* 2010. "Arsenic accumulation pattern in 12 Indian ferns and assessing the potential of *Adiantum capillus – veneris*, in comparison to *Pteris vittata*, as arsenic hyperaccumulator". **Bioresource technology**. 101: 8960 – 8968.

[4] Jomjun, N. 2014. "Arsenic phytoremediation in soil and sediment: mechanism and management". **KKU science journal**. 42(4): 730 – 747. (in Thai)

[5] Alvarado, S., and *et al.* 2008. "Arsenic removal from waters by bioremediation with the aquatic plants Water Hyacinth (*Eichhornia crassipes*) and Lesser Duckweed (*Lemna minor*)". **Bioresource Technology**. 99: 8436 – 8440.

[6] Rahman, M. A., and Hasegawa, H. 2011. "Aquatic arsenic: Phytoremediation using floating macrophytes". **Chemosphere**. 83: 633 – 646.

[7] Srivastava, S., and *et al.* 2007. "Phytochelatin stress and antioxidant systems respond differentially during arsenite and arsenate stress in *Hydrilla verticillata* (L.F.) Royle". **Environmental Science and Technology**. 41: 2930 – 2936.

[8] Zhang, X., and *et al.* 2009. "Arsenic uptake and speciation in the rootless duckweed *Wolffia globosa*". **New Phytologist**. 182: 421 – 428.

[9] Puechkaset. 2017. **Aquatic plant/ water plant and list**. <http://puechkaset.com>. Accessed 5 July 2017. (in Thai)

[10] Medthai. 2017. **34 properties and benefits of Canna**. <https://medthai.com>. Accessed 5 July 2017. (in Thai)

[11] 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.

[12] Jason, M. M. 2002. **Vertical and seasonal distribution and relationships of arsenic in Presque Isle sediments**. M.Sc. Thesis, Gannon University.

[13] Singh, R., and *et al.* 2015. "Arsenic contamination, consequences and remediation techniques: a review". **Ecotoxicology and Environmental Safety Journal**. 112: 247 – 270.

[14] Huynh, V. K., Masayoshi, H., and Chihiro, I. 2012. "Arsenic accumulation by aquatic macrophyte coontail (*Ceratophyllum demersum* L.) exposed to arsenite, and the effect of iron on the uptake of arsenite and arsenate". **Environmental and Experimental Botany**. 83: 47 – 52.

[15] Garg, N., and Singla, P. 2011. "Arsenic toxicity in crop plants: physiological effects and tolerance mechanisms". **Environmental chemical letters**. 9: 303 – 321.

- [16] Enrique, M. N., Luis, A. M., and Susana, R. G. 2012. "Tolerance to and accumulation of arsenic in the cordgrass *Spartina densiflora* Brongn". **Bioresource technology**. 104: 187 – 194.
- [17] Kevin, F., and *et al.* 2002. "Arsenic species in an arsenic hyperaccumulating fern, *Pityrogramma calomelanos*: a potential phytoremediator of arsenic – contaminated soils". **The science and the total environment**. 284: 27 – 35.
- [18] Claes, B., and Marin, G. 2012. "Arsenic accumulation and speciation in plants from different habitats". **Applied geochemistry**. 27: 615 – 622.
- [19] 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.
- [20] Sylwia, B., and *et al.* 2017. "Arsenite phytoremediation and its influences on selected nutritional elements in one-year-old tree species". **Microchemical Journal**. 133: 530 – 538.