



## รายงานการวิจัย

การใช้ผักตบชวาในการกำจัดและเปลี่ยนแปลงอโลหะหนักที่ปนเปื้อนในน้ำเป็น  
อนุภาคนาโนที่มีมูลค่าเชิงพาณิชย์  
(The Use of Water Hyacinth to Remove and Transform Heavy Metal  
Ions from Contaminated Water to Commercially Valuable  
Nanoparticles)

คณะผู้วิจัย

หัวหน้าโครงการ

รองศาสตราจารย์ ดร.สินีนานู ศิริ  
สาขาวิชาชีววิทยา สำนักวิชาวิทยาศาสตร์  
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ผู้ร่วมวิจัย

นางสาวจิราพร ชุมพล

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ปีงบประมาณ พ.ศ. 2559 – 2560  
ผลงานวิจัยเป็นความรับผิดชอบของหัวหน้าโครงการวิจัยแต่เพียงผู้เดียว

กรกฎาคม 2562

## กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยเรื่อง "การใช้ผักตบชวาในการกำจัดและเปลี่ยนแปลงไอออนโลหะหนักที่ปนเปื้อนในน้ำเป็นอนุภาคนาโนที่มีมูลค่าเชิงพาณิชย์" โดยครั้งนี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ปีงบประมาณ 2559 คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ที่เอื้อเฟื้ออุปกรณ์และเครื่องมือในการทำงานวิจัยให้สำเร็จลุล่วงด้วยดี

คณะผู้วิจัย

กรกฎาคม 2562



## บทคัดย่อภาษาไทย

การสังเคราะห์อนุภาคนาโนโลหะด้วยวิธีสังเคราะห์ที่ได้รับความสนใจในการวิจัยอย่างมากเนื่องจากมีกระบวนการที่เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม ทั้งนี้รายงานวิจัยส่วนใหญ่เป็นการใช้สารสกัดจากพืชและแบคทีเรียเป็นสารให้อิเล็กตรอนและสารให้ความคงตัวในการสังเคราะห์อนุภาคนาโนโลหะ แต่อย่างไรก็ดียังไม่มีการศึกษาถึงการสังเคราะห์อนุภาคนาโนโลหะภายในเซลล์พืช ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงสนใจศึกษาการผลิตอนุภาคนาโนโลหะจำนวน 5 ชนิดจากการดูดซึมสารละลาย  $\text{AgNO}_3$ ,  $\text{Cu(NO}_3)_2$ ,  $\text{Fe(NO}_3)_3$ ,  $\text{Ni(NO}_3)_2$  และ  $\text{Pb(NO}_3)_2$  ของผักตบชวา (*Eichhornia crassipes*) จากการศึกษาความเป็นพิษของสารละลายโลหะหนักทั้ง 5 ชนิด ต่อพืชด้วยการวัดการเปลี่ยนแปลงเชิงสัณฐานวิทยาของใบผักตบชวา (เหี่ยวและเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล) เมื่อได้รับสารละลายโลหะหนักที่ความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นเวลา 12 ชั่วโมง ผลการศึกษาพบว่าความเป็นพิษของสารละลายดังกล่าวต่อพืชเป็นการตอบสนองแบบแปรผันตามความเข้มข้น (dose-dependent) โดยสารละลาย  $\text{AgNO}_3$  มีความเป็นพิษต่อพืชสูงที่สุด การดูดซึมไอออนโลหะของพืชสามารถสังเกตได้จากรากพืชที่มีสีเข้มขึ้นและจากการพบอนุภาคสีดำในภาพตัดขวางของรากที่สังเกตภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง ยกเว้นในพืชที่แช่ในสารละลาย  $\text{Ni(NO}_3)_2$  ที่ไม่พบการเปลี่ยนแปลงในภาพตัดขวาง การดูดซึมของไอออนโลหะแต่ละชนิดได้ถูกยืนยันอีกครั้งด้วยผลการวิเคราะห์ Energy dispersive X-ray fluorescence นอกจากนี้ยังพบการเปลี่ยนแปลงของปริมาณ  $^{15}\text{P}$ ,  $^{16}\text{S}$ ,  $^{19}\text{K}$  และ  $^{20}\text{Ca}$  อันเนื่องมาจากการตอบสนองของพืชต่อการได้รับสารละลายโลหะข้างต้น ผลการวิเคราะห์ฟูเรียร์ทรานส์ฟอร์มอินฟราเรดสเปกโตรสโคปีพบการเกิดพีคสเปคตรัมใหม่ในช่วง 1800–1630, 1500–1395 และ 1000–800 ต่อเซนติเมตร ซึ่งชี้ว่าเกิดการชักนำของการแสดงออกของยีนและการสร้างโปรตีนที่ตอบสนองต่อการได้รับไอออนของทองแดง เหล็ก นิกเกิล ตะกั่ว และซิลเวอร์ ทั้งนี้เป็นที่น่าสนใจว่าจากภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน (Transmission electron microscope, TEM) พบว่ามีการสร้างและสะสมอนุภาคนาโนทองแดง เหล็ก ตะกั่ว และซิลเวอร์ ที่มีรูปร่างกลมในรากบริเวณเยื่อหุ้มเซลล์ของอีพิเดอร์มิส คอร์เทกซ์ และกลุ่มมัดท่อลำเลียง แต่ไม่พบการสร้างอนุภาคนาโน

โนนิกิล โดยเอกลักษณ์ของอนุภาคนาโนโลหะแต่ละชนิดได้ถูกยืนยันด้วยผลการวิเคราะห์โครงสร้างอนุภาคด้วยเทคนิค high resolution TEM เทคนิค selected area electron diffraction TEM และเทคนิค electron diffraction EDX งานวิจัยนี้นับเป็นการรายงานครั้งแรกถึงความสามารถของผักตบชวาในการเปลี่ยนไอออนของทองแดง เหล็ก ตะกั่ว และซิลเวอร์ ที่รากดูดซึม เป็นอนุภาคนาโนโลหะภายในเซลล์ นอกจากนี้ยังได้ชี้ให้เห็นว่าความสามารถในการสังเคราะห์อนุภาคนาโนโลหะในพืชขึ้นกับชนิดของไอออนโลหะ โดยในการศึกษานี้พบว่าผักตบชวาไม่สามารถผลิตอนุภาคนาโนนิกิลจากไอออนนิกิลที่รากดูดซึมได้ งานวิจัยนี้นับเป็นรายงานฉบับแรกที่แสดงถึงความสามารถของผักตบชวาที่สามารถใช้เป็นพืชบำบัดโลหะหนักและพืชที่สามารถชีวสังเคราะห์ผลิตอนุภาคนาโนโลหะได้

**คำสำคัญ:** อนุภาคนาโน โลหะหนัก ผักตบชวา เทคโนโลยีเขียว

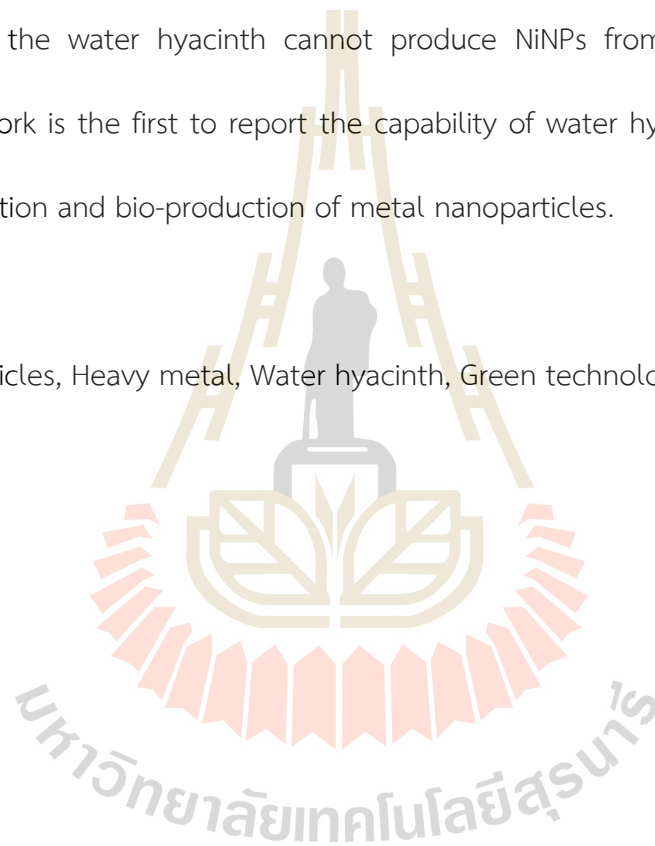


## บทคัดย่อภาษาอังกฤษ

The production of metal nanoparticles by biological synthesis has received many research interests due to its environmentally friendly process. Most works reported on the uses of the plant and microbial extracts as reducing and stabilizing agents for the production of metal nanoparticles. However, the use of plants to facilitate the directed changes of metal ions to nanoparticles inside the cells is still lacking. Therefore, this work is interested to study the production of five metal nanoparticles from the uptake ions by the water hyacinth (*Eichhornia crassipes*);  $\text{AgNO}_3$ ,  $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ ,  $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$ ,  $\text{Ni}(\text{NO}_3)_2$  and  $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ . The toxicity test of these metal ions on water hyacinth was determined by the morphology changes of the plant leaves (withered and brown) as they were treated with various concentrations of metal solutions for 12 h. The toxicity of these metal solutions was dose-dependent, which  $\text{AgNO}_3$  showed the highest toxicity to the plant. The uptake metal ions were detected as the dark colors of the plant roots and the presence of black particles in the cross-section roots observed under the bright field microscope, except  $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$  treatment. The uptake of each metal was confirmed by the energy dispersive X-ray fluorescence analysis. Also, the mass contents of  $^{15}\text{P}$ ,  $^{16}\text{S}$ ,  $^{19}\text{K}$ ,  $^{20}\text{Ca}$  were changed in response to each metal treatment. The Fourier transform infrared spectroscopy analysis revealed the presence of novel spectral peaks at 1800–1630 1500–1395 และ 1000–800  $\text{cm}^{-1}$ , suggesting the induction of gene expression and protein synthesis in response to Cu-, Fe-, Ni-, Pb- and Ag-treatments. Interestingly, transmission electron microscope (TEM) images showed the production and accumulation of spherical

CuNPs, FeNPs, PbNPs and AgNPs, but not NiNPs, in the plasma membrane of epidermis, cortex and vascular bundle tissues. The characterization of each produced metal nanoparticle was confirmed by high resolution TEM, selected area electron diffraction TEM, and electron diffraction TEM. This work is the first report on the capacity of water hyacinth to transform the uptake Cu, Fe, Pb and Ag ions to nanoparticles in the plant cells. It also indicated that the formation of metal nanoparticles depends on the capability of the plant to certain metal ions, which in this work the water hyacinth cannot produce NiNPs from the uptake Ni ion. Nevertheless, this work is the first to report the capability of water hyacinth as both heavy metal phytoremediation and bio-production of metal nanoparticles.

**Keywords:** Nanoparticles, Heavy metal, Water hyacinth, Green technology.



## สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ.....	ก
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ข
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	ค
สารบัญ.....	ง
สารบัญตาราง.....	จ
สารบัญภาพ.....	ฉ
บทที่ 1 บทนำ.....	1
1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหาการวิจัย.....	1
1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย.....	3
1.3 ขอบเขตของโครงการวิจัย.....	3
1.4 ทฤษฎี สมมุติฐาน และกรอบแนวความคิดของโครงการวิจัย.....	4
บทที่ 2 การทบทวนวรรณกรรม/สารสนเทศที่เกี่ยวข้อง.....	5
2.1 โลหะหนักที่มีการปนเปื้อนในประเทศไทย.....	5
2.1.1 ทองแดง (Cu).....	5
2.1.2 ตะกั่ว (Pb).....	7
2.1.3 นิกเกิล (Ni).....	8
2.1.4 ซิลเวอร์ (Ag).....	9
2.1.5 เหล็ก (Fe).....	10
2.2 วิธีการกำจัดโลหะหนัก.....	11

2.2.1 การสกัดด้วยพืช (phytoextraction).....	11
2.2.2 การกรองด้วยรากพืช (rhizofiltration).....	13
2.2.3 การตรึงด้วยพืช (phytostabilization).....	13
2.2.4 การทำให้ระเหยด้วยพืช (phytovolatilization).....	14
2.2.5 การย่อยสลายด้วยพืช (phytodegradation).....	15
2.2.6 การกระตุ้นด้วยพืช (phytostimulation).....	15
2.3 พืชน้ำและพืชลอยน้ำบางชนิดที่ใช้ในการบำบัดน้ำปนเปื้อนโลหะ.....	16
2.3.1 พืชลอยน้ำ (Floating plant).....	16
2.3.2 พืชชายน้ำ (Marginal plant).....	16
2.3.3 พืชใต้น้ำ (Submerged plant).....	16
2.4 ผักตบชวา.....	18
2.5 การดูดซึมอื้ออนของโลหะหนักและการสร้างอนุภาคนาโนด้วยพืช.....	20
บทที่ 3 วิธีการดำเนินการวิจัย.....	22
3.1 การศึกษาความเป็นพิษของสารละลายโลหะหนักที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ต่อผักตบชวา.....	22
3.2 การศึกษาการดูดซึมสารละลายโลหะหนักของผักตบชวา.....	22
3.3 การศึกษาผลการเปลี่ยนแปลงหมู่ฟังก์ชันของสารชีวโมเลกุลภายในเซลล์พืช.....	23
3.4 การศึกษาการสะสมของอนุภาคนาโนของโลหะหนักออกไซด์ในผักตบชวา.....	23
บทที่ 4 ผลการทดลองและอภิปรายผลการทดลอง.....	24
4.1 การวัดความเป็นพิษของสารละลายโลหะหนักต่อพืช.....	24
4.2 การศึกษาการดูดซึมสารละลายโลหะหนักของพืช.....	28
4.3 การศึกษาผลของโลหะต่อการเปลี่ยนแปลงหมู่ฟังก์ชันของสารชีวโมเลกุล.....	31



4.3.1 ผลของโลหะทองแดง.....	31
4.3.2 ผลของโลหะเหล็ก.....	32
4.3.3 ผลของโลหะตะกั่ว.....	33
4.3.4 ผลของโลหะนิกเกิล.....	34
4.3.5 ผลของโลหะเงิน.....	35
4.4 การศึกษาการสะสมอนุภาคนาโนของโลหะในพืช.....	37
4.4.1 การศึกษาการสะสมอนุภาคนาโนทองแดง.....	37
4.4.2 การศึกษาการสะสมของอนุภาคนาโนเหล็ก.....	40
4.4.3 การศึกษาการสะสมอนุภาคนาโนตะกั่ว.....	44
4.4.4 การศึกษาการสะสมของอนุภาคนาโนซิลเวอร์.....	48
บทที่ 5 สรุปผลการทดลอง.....	52
บรรณานุกรม.....	53
ภาคผนวก.....	67
ภาคผนวก ก วัสดุสารเคมี.....	68
ภาคผนวก ข Output of the research.....	70
ประวัตินักวิจัย.....	72

สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 2.1 ชนิดของพีชน้ำที่สามารถดูดซับโลหะหนักในปริมาณที่แตกต่างกัน.....	18
ตารางที่ 4.1 ความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละความเป็นพิษ (TC10 TC20 TC50 และ TC80) ของสารละลาย $AgNO_3$ $Cu(NO_3)_2$ $Fe(NO_3)_3$ $Ni(NO_3)_2$ และ $Pb(NO_3)_2$ ต่อการเปลี่ยนแปลงเชิงสัณฐานวิทยาของผักตบชวา.....	25
ตารางที่ 4.2 ปริมาณแร่ธาตุที่พบในรากผักตบชวาที่แช่ในสารละลาย $AgNO_3$ $Cu(NO_3)_2$ $Fe(NO_3)_3$ $Ni(NO_3)_2$ และ $Pb(NO_3)_2$ .....	30
ตารางที่ 4.3 สรุปผลการเปลี่ยนแปลงหมู่ฟังก์ชันของสารชีวโมเลกุลในรากผักตบชวา.....	37



สารบัญภาพ

	หน้า
ภาพที่ 2.1 กลไกการเกิดปฏิกิริยาของทองแดงต่อเมลสสินในเซลล์.....	6
ภาพที่ 2.2 การเกิดพิษจากการสะสมโลหะตะกั่วที่มีผลต่อสมอง.....	8
ภาพที่ 2.3 อาการ Loeffler syndrome ที่เกิดจากการได้รับโลหะนิกเกิลเป็นเวลานาน.....	9
ภาพที่ 2.4 กระบวนการกำจัดโลหะหนักด้วยวิธีสกัดด้วยพืช (phytoextraction).....	12
ภาพที่ 2.5 กระบวนการกำจัดโลหะหนักด้วยวิธีการกรองด้วยรากพืช (rhizofiltration).....	13
ภาพที่ 2.6 กระบวนการกำจัดโลหะหนักด้วยวิธีการตรึงด้วยพืช (phytostabilization).....	14
ภาพที่ 2.7 กระบวนการกำจัดโลหะหนักด้วยวิธีการทำให้ระเหยด้วยพืช (phytovolatilization)	14
ภาพที่ 2.8 กระบวนการกำจัดโลหะหนักด้วยวิธีการย่อยสลายด้วยพืช (phytodegradation)....	15
ภาพที่ 2.9 กระบวนการกำจัดโลหะหนักด้วยวิธีการกระตุ้นด้วยพืช (phytostimulation).....	16
ภาพที่ 2.10 พืชน้ำและพืชลอยน้ำบางชนิดที่ใช้ในการบำบัดน้ำปนเปื้อนโลหะหนัก.....	17
ภาพที่ 2.11 ผักตบชวา.....	20
ภาพที่ 4.1 ภาพตัดขวางของรากผักตบชวาที่แช่ในสารละลาย $Cu(NO_3)_2$ ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ แบบใช้แสง.....	26
ภาพที่ 4.2 ภาพตัดขวางของรากผักตบชวาที่แช่ในสารละลาย $Fe(NO_3)_3$ ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ แบบใช้แสง.....	26
ภาพที่ 4.3 ภาพตัดขวางของรากผักตบชวาที่แช่ในสารละลาย $Pb(NO_3)_2$ ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ แบบใช้แสง.....	26
ภาพที่ 4.4 ภาพตัดขวางของรากผักตบชวาที่แช่ในสารละลาย $Ni(NO_3)_2$ ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ แบบใช้แสง.....	27

ภาพที่ 4.5 ภาพตัดขวางของรากผักตบชวาที่แช่ในสารละลาย $\text{AgNO}_3$ ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ แบบใช้แสง.....	27
ภาพที่ 4.6 EDXRF mapping ของรากผักตบชวาที่แช่ในสารละลาย $\text{AgNO}_3$ $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$ $\text{Ni}(\text{NO}_3)_2$ และ $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ .....	29
ภาพที่ 4.7 FTIR สเปกตรัมของรากผักตบชวาที่มีการดูดซึมไอออนของโลหะทองแดงเปรียบเทียบกับ กับชุดควบคุม.....	32
ภาพที่ 4.8 FTIR สเปกตรัมของรากผักตบชวาที่มีการดูดซึมไอออนของโลหะเหล็กเปรียบเทียบกับ ชุดควบคุม.....	33
ภาพที่ 4.9 FTIR สเปกตรัมของรากผักตบชวาที่มีการดูดซึมไอออนของโลหะตะกั่วเปรียบเทียบกับ ชุดควบคุม.....	34
ภาพที่ 4.10 FTIR สเปกตรัมของรากผักตบชวาที่มีการดูดซึมไอออนของโลหะนิกเกิลเปรียบเทียบกับ กับชุดควบคุม.....	35
ภาพที่ 4.11 FTIR สเปกตรัมของรากผักตบชวาที่มีการดูดซึมไอออนของโลหะซิลเวอร์เปรียบเทียบกับ กับชุดควบคุม.....	36
ภาพที่ 4.12 ภาพถ่าย TEM แสดงการสะสมของอนุภาคนาโนทองแดง.....	39
ภาพที่ 4.14 ภาพถ่าย TEM แสดงการสะสมของอนุภาคนาโนเหล็ก.....	42
ภาพที่ 4.15 เอกลักษณ์ของอนุภาคนาโนเหล็ก.....	44
ภาพที่ 4.16 ภาพถ่าย TEM แสดงการสะสมของอนุภาคนาโนของตะกั่ว.....	46
ภาพที่ 4.17 เอกลักษณ์ของอนุภาคนาโนตะกั่ว.....	48
ภาพที่ 4.18 ภาพถ่าย TEM แสดงการสะสมของอนุภาคนาโนซิลเวอร์.....	49
ภาพที่ 4.19 เอกลักษณ์ของอนุภาคนาโนซิลเวอร์.....	51

## บทที่ 1

### บทนำ

#### 1. ความสำคัญและที่มาของปัญหาการวิจัย

โลหะหนัก (heavy metal) หลายชนิดได้ถูกนำมาใช้ในภาคอุตสาหกรรม เช่น แคดเมียม ทองแดง เหล็ก นิกเกิล ตะกั่ว ซิลเวอร์ และสังกะสี ซึ่งการขุดโลหะหนักดังกล่าวเพื่อนำมาใช้ประโยชน์และแปรรูปในโรงงานอุตสาหกรรมนั้น มักมีของเสียจากโลหะหนักปนเปื้อนเกิดขึ้นจากกระบวนการดังกล่าวจำนวนมาก (Yang et al., 2018) แม้ว่าจะมีการควบคุมปริมาณโลหะหนักปนเปื้อนในภาคอุตสาหกรรมโดยการจำกัดพื้นที่ที่จำเพาะ แต่หลายครั้งพบว่าโลหะหนักเหล่านี้ปนเปื้อนไปสู่แหล่งน้ำอุปโภคและบริโภคทั้งบนดินและใต้ดิน (Kobielska et al., 2018) ตัวอย่างปัญหาการปนเปื้อนโลหะหนักที่เกิดขึ้น เช่น ปัญหาการปนเปื้อนของสารตะกั่วในลำห้วยคลิตี้ จังหวัดกาญจนบุรี ปัญหาการปนเปื้อนของแคดเมียม อำเภอแม่สอด จังหวัดตาก เป็นต้น โลหะหนักปนเปื้อนเหล่านี้ก่อให้เกิดปัญหามลพิษที่มีผลกระทบทั้งทางตรงและทางอ้อมต่อมนุษย์และสิ่งมีชีวิตต่าง ๆ ในระบบนิเวศ (สำนักกระบาดวิทยา, 2548) เมื่อโลหะหนักเข้าสู่ร่างกายของสิ่งมีชีวิต จะมีผลรบกวนปฏิกิริยาของระบบต่าง ๆ ในร่างกายให้หยุดชะงัก ทำให้เกิดความผิดปกติในการแบ่งเซลล์และการพัฒนาการของทารก ก่อให้เกิดอนุมูลอิสระ เป็นพิษต่อระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย ขัดขวางการผลิตและการทำงานของฮอร์โมน มีผลต่อระบบประสาท และทำให้เกิดการเสื่อมสภาพของอวัยวะต่าง ๆ (พนาปวุฒิกุล, 2557) จากผลกระทบข้างต้นชี้ให้เห็นถึงความสำคัญในการกำจัดโลหะหนักปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อม เพื่อไม่ให้เกิดผลกระทบต่อมนุษย์และสิ่งมีชีวิตอื่น ๆ ในระบบนิเวศ

ในการกำจัดโลหะหนักปนเปื้อนในแหล่งน้ำมีหลายวิธี ได้แก่ วิธีทางกายภาพ เคมี และชีวภาพ ตัวอย่างของวิธีทางกายภาพและวิธีทางเคมี ได้แก่ วิธีออสโมซิสย้อนกลับ (reverse osmosis) (Abdullah et al., 2019) การตกตะกอนโดยใช้สารเคมี (chemical precipitation) (Chen et al., 2018) การแยกโดยใช้

กระแสไฟฟ้า (electrolytic process) (Tran et al., 2017) การแยกด้วยแผ่นกรอง (membrane separation) (Zeng et al., 2019) การใช้สารดูดซับ (adsorption) (Hong et al., 2019) และการแลกเปลี่ยนประจุ (ion-exchange) (Dong et al., 2018) วิธีเหล่านี้เป็นวิธีที่ได้รับความนิยมเนื่องจากทำได้ง่าย รวดเร็ว และใช้ได้กับตัวอย่างปริมาณมาก แต่อย่างไรก็ตามวิธีเหล่านี้มีข้อจำกัดคือ ต้องใช้ค่าใช้จ่ายสูง และไม่สามารถกำจัดโลหะหนักออกได้อย่างสมบูรณ์ ดังนั้นวิธีทางชีวภาพในการกำจัดโลหะหนักปนเปื้อนจึงได้รับความสนใจ เนื่องจากมีค่าใช้จ่ายต่ำและสามารถกำจัดโลหะหนักปนเปื้อนได้ดี

เทคโนโลยีการฟื้นฟูทางชีวภาพ (bioremediation technology) เป็นการใช้วิธีทางชีวภาพในการกำจัดสารปนเปื้อน โดยใช้สิ่งมีชีวิต เช่น จุลินทรีย์และพืช (Liu et al., 2018) เทคโนโลยีนี้จึงเป็นทางเลือกหนึ่งที่ถูกนำมาใช้ในการบำบัดน้ำเสียที่เกิดจากการปนเปื้อนของโลหะหนัก โดยอาศัยหลักการที่ใช้จุลชีพและพืชที่สามารถดูดซับโลหะหนักได้ทั้งทางตรงโดยการสะสมสารพิษในสิ่งมีชีวิต (bioaccumulation) และทางอ้อมโดยการดูดซับทางชีวภาพ (biosorption) (Castro et al., 2019) เทคโนโลยีการฟื้นฟูสภาพสิ่งแวดล้อมด้วยพืช (phytoremediation technology) หรือการบำบัดสารพิษโดยใช้พืชในบริเวณที่มีการปนเปื้อน ซึ่งพืชและจุลินทรีย์ในรากพืชสามารถกำจัด สลาย หรือดูดซับสารปนเปื้อนในดิน น้ำใต้ดิน และน้ำผิวดิน เพื่อเคลื่อนย้ายเก็บ หรือทำให้สารมลพิษในสิ่งแวดล้อมเป็นอันตรายต่อสิ่งมีชีวิตอื่นน้อยลง (Abou-Elwafa et al., 2019) พืชอาศัยกลไกที่สำคัญได้แก่ การดูดซึมสารมลพิษขึ้นจากดินหรือน้ำเข้าสู่รากของพืช แล้วนำไปสะสมที่ยอดหรือราก การดูดซับสารพิษไว้ให้อยู่ในรูปที่เคลื่อนที่ได้น้อยลงหรืออยู่ในรูปที่สิ่งมีชีวิตนำไปใช้ไม่ได้ การทำให้ธาตุโลหะหรือสารประกอบของโลหะที่ระเหยได้ขึ้นมาจากดินหรือน้ำโดยแรงดึงจากการคายน้ำ การย่อยสลายสารพิษในพืช การหลั่งสารจากพืชเพื่อกระตุ้นการเจริญของจุลินทรีย์ในดินหรือน้ำ ที่สามารถช่วยย่อยสลายสารมลพิษได้ และการดูดซับหรือตกตะกอนสารมลพิษด้วยราก (Sarwar et al., 2017)

โดยทั่วไปพืชที่ใช้ในการกำจัดสารพิษและโลหะหนักมักถูกจำกัดพื้นที่เพื่อไม่ให้เกิดการแพร่กระจายหรือถูกทำลายด้วยการเผา งานวิจัยนี้จึงมีแนวคิดที่จะใช้พืชในการกำจัดโลหะหนักปนเปื้อนจากน้ำ และศึกษาความเป็นไปได้ของการใช้เซลล์พืชในการเปลี่ยนแปลงอ็อกไซด์ของโลหะหนักให้เป็นอนุภาคนาโนซึ่งมีมูลค่าเชิง

พาณิชย์ จากรายงานวิจัยก่อนหน้านี้พบว่ามีการนำพีชมาสกัดเป็นสารละลายแล้วนำไปทำปฏิกิริยาร่วมกับสารละลายออลิโธหะหนักในการสังเคราะห์อนุภาคนาโน ทำให้เกิดแนวคิดที่ว่าภายในเซลล์พืชอาจมีกลไกในการเปลี่ยนออลิโธหะหนักให้เป็นอนุภาคนาโนที่มีพิษน้อยลงในเซลล์พืชได้ นอกจากนี้พบว่าในแบคทีเรียบางชนิดสามารถสังเคราะห์อนุภาคนาโนแม่เหล็กภายในเซลล์ได้ จากข้อมูลและแนวคิดดังกล่าว จึงตั้งสมมติฐานว่านอกจากพืชจะสามารถใช้กลไกภายในเซลล์ในการกำจัดออลิโธหะหนักจากน้ำปนเปื้อนแล้ว ยังอาจสามารถเปลี่ยนออลิโธหะหนักดังกล่าวให้อยู่ในรูปอนุภาคนาโนซึ่งมีมูลค่าเชิงพาณิชย์ ทั้งนี้จากการทำการวิจัยเบื้องต้นในพืชชนิดหนึ่งพบว่าพืชสามารถผลิตอนุภาคนาโนได้ ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงต้องการศึกษาการใช้ผักตบชวาซึ่งมีความสามารถในการดูดซับได้ดี ทนและเจริญได้ดีในน้ำที่มีการปนเปื้อน ในการกำจัดและเปลี่ยนแปลงออลิโธหะหนักที่ปนเปื้อนในน้ำ 5 ชนิด ให้เป็นอนุภาคนาโนที่มีมูลค่าเชิงพาณิชย์ ซึ่งนอกจากจะเป็นวิธีการบำบัดสารมลพิษ โดยพืชที่มีต้นทุนต่ำและเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม ยังสามารถผลิตอนุภาคนาโนที่มีมูลค่าเชิงพาณิชย์ด้วยเทคโนโลยีสีเขียวที่เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม

## 2. วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

- 2.1 เพื่อศึกษาการดูดซับออลิโธหะของทองแดง เหล็ก นิกเกิล ตะกั่ว และซิลเวอร์ ด้วยผักตบชวา และความเป็นพิษของออลิโธหะที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ต่อผักตบชวา
- 2.2 เพื่อศึกษาความสามารถในการผลิตอนุภาคนาโนจากออลิโธหะของทองแดง เหล็ก นิกเกิล ตะกั่ว และซิลเวอร์ของผักตบชวา
- 2.3 เพื่อศึกษาชนิด ลักษณะ และคุณสมบัติของอนุภาคนาโนที่ได้

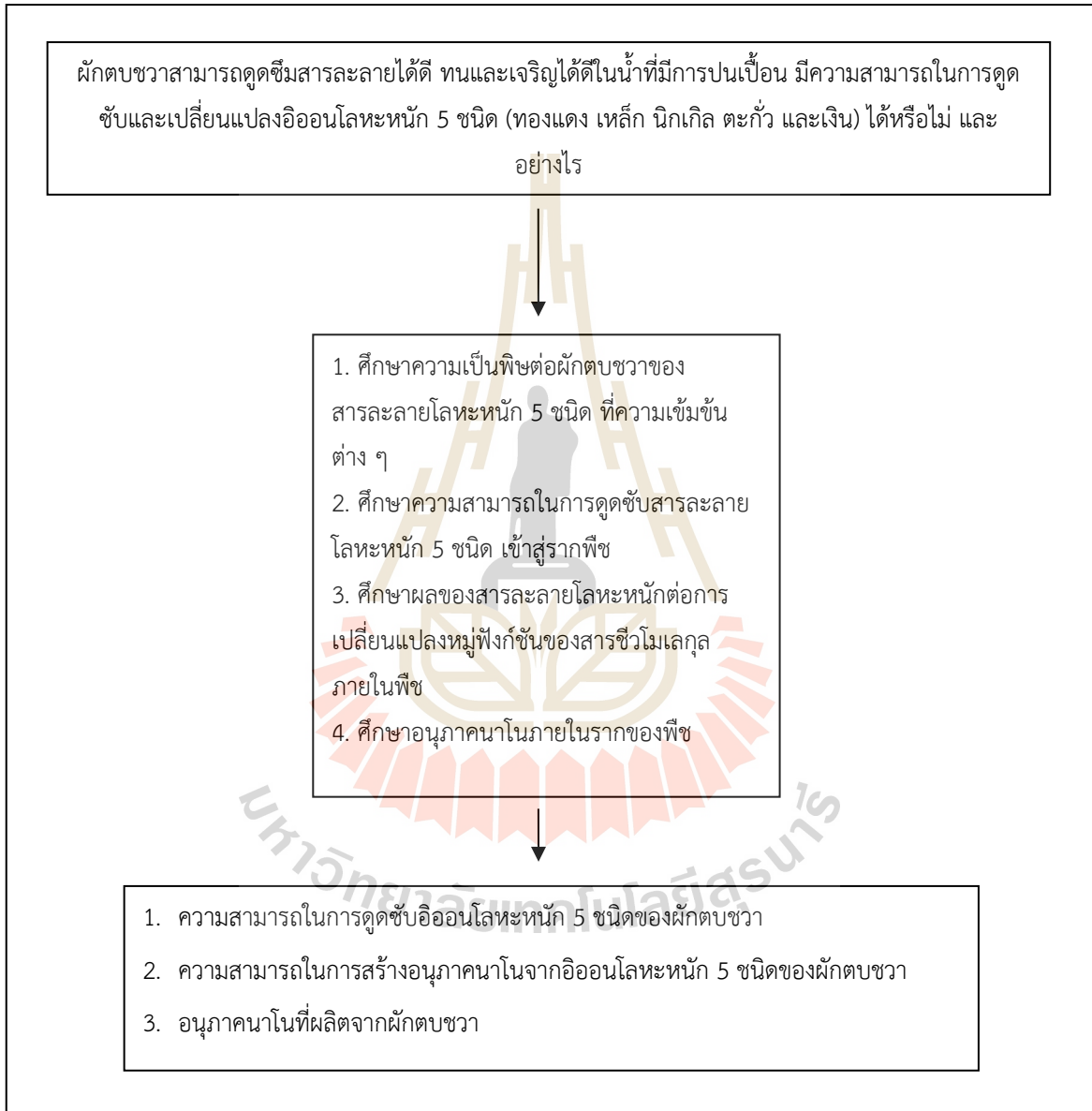
## 3. ขอบเขตของโครงการวิจัย

โครงการวิจัยนี้มีขอบเขตรอบคลุมการศึกษาการดูดซึมและการสังเคราะห์อนุภาคนาโนจากออลิโธหะของทองแดง เหล็ก นิกเกิล ตะกั่ว และซิลเวอร์ในผักตบชวา และการศึกษาสมบัติของอนุภาคนาโนที่ผลิตได้จากผักตบชวา

#### 4. ทฤษฎี สมมุติฐาน (ถ้ามี) และกรอบแนวความคิดของโครงการวิจัย

4.1 สมมุติฐาน: นอกจากพืชจะสามารถใช้กลไกภายในเซลล์ในการกำจัดอออนโลหะหนักจากน้ำปนเปื้อนแล้ว ยังอาจสามารถเปลี่ยนอออนโลหะหนักดังกล่าวให้อยู่ในรูปอนุภาคนาโน

##### 4.2 กรอบแนวความคิด





## บทที่ 2

### การทบทวนวรรณกรรม/สารสนเทศที่เกี่ยวข้อง

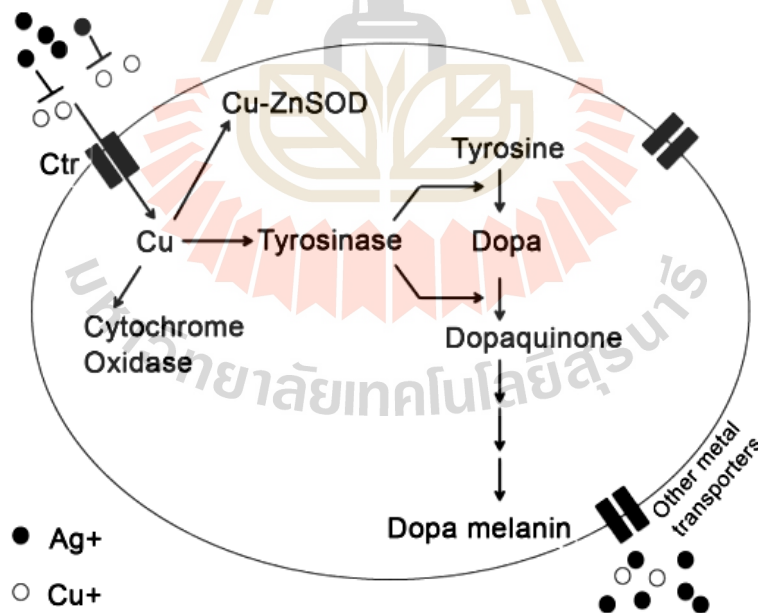
#### 2.1 โลหะหนักที่มีการปนเปื้อนในประเทศไทย

โลหะหนักเป็นธาตุที่มีเลขอะตอมอยู่ในช่วง 23 ถึง 92 อยู่ในคาบ 5 ถึง 7 ในตารางธาตุ และมีความถ่วงจำเพาะมากกว่าน้ำตั้งแต่ 5 ขึ้นไป (Rai et al., 2019) ในปัจจุบันโลหะหนักถูกนำมาใช้ในด้านต่าง ๆ อย่างกว้างขวาง เช่น ทางด้านอุตสาหกรรม ซึ่งถูกนำมาใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตสินค้าต่าง ๆ เช่น พลาสติก ท่อพีวีซี สี ถ่านไฟฉาย เครื่องสำอาง แบตเตอรี่ เป็นต้น ทางด้านการเกษตร โลหะหนักถูกนำมาเป็นส่วนผสมของยาฆ่าแมลงและปุ๋ย และทางด้านการแพทย์ มีการนำโลหะหนักมาใช้ในการเป็นส่วนผสมของยาและอุปกรณ์ทางการแพทย์ โลหะหนักที่มีการนำมาใช้ในภาคอุตสาหกรรมมาก ได้แก่ ทองแดง เหล็ก นิกเกิล ตะกั่ว และซิลเวอร์ (Yang et al., 2018)

##### 2.1.1 ทองแดง (Cu)

ทองแดงพบทั้งในรูปไอ และเกลือของทองแดง ซึ่งนำไปใช้ในอุตสาหกรรมต่าง ๆ มากมาย เช่น อุตสาหกรรมที่มีการหลอมโลหะทองแดง ทองเหลือง การเชื่อมและบัดกรีโลหะโดยใช้โลหะผสม นอกจากนี้ทองแดงยังถูกนำมาใช้เป็นส่วนประกอบของ ลวด สายไฟ ท่อน้ำ และเป็นองค์ประกอบของสารเคมีทางการเกษตร สารกำจัดศัตรูพืช และการทำสีย้อม (Al-Saydeh et al., 2017) จากความต้องการทองแดงในปริมาณมาก ส่งผลให้มีการแพร่กระจาย และมีการปนเปื้อนโลหะดังกล่าวสู่สิ่งแวดล้อมมากขึ้น ซึ่งเราอาจได้รับทองแดงจากการหายใจ (ปนเปื้อนในอากาศ) การดื่มน้ำ (ปนเปื้อนจากน้ำดื่ม) การบริโภคอาหาร (ปนเปื้อนในอาหาร) ร่างกายต้องการทองแดงในปริมาณน้อย (Camara et al., 2017) โดยเป็นส่วนประกอบที่สำคัญของระบบต่าง ๆ ในร่างกาย เช่น เป็นส่วนประกอบของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับระบบการหายใจ (Bertini et al., 2010) หรือปฏิกิริยาที่เกี่ยวข้องกับการใช้ออกซิเจน เป็นส่วนประกอบของน้ำย่อยไทโรซิเนส ที่ทำหน้าที่เปลี่ยน

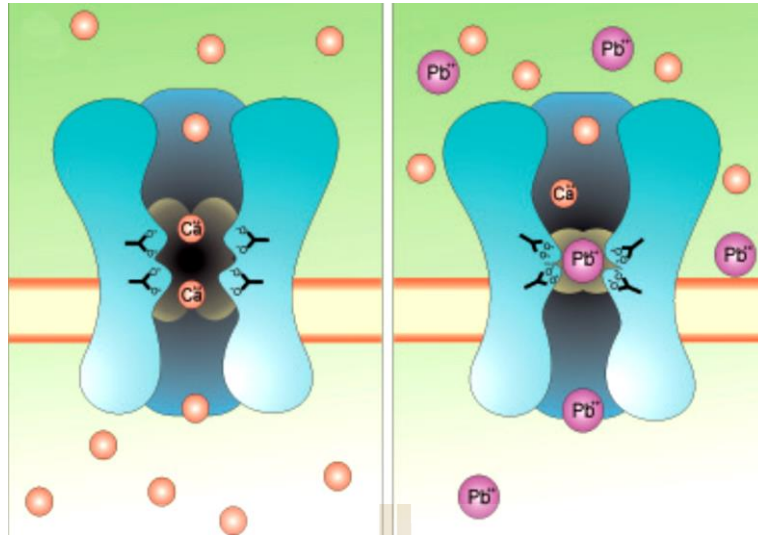
ให้ไทโรซีนกลายเป็นเมลานิน (Okajima et al., 2019) เป็นส่วนประกอบของ cytochrome c oxidase และ catalase ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับระบบการสลายตัวของ hydrogen peroxide ให้เป็นน้ำระบบต้านภาวะเครียดออกซิเดชัน ดังแสดงในภาพที่ 2.1 (Palumaa, 2013) แต่อย่างไรก็ตาม เมื่อร่างกายได้รับทองแดงในปริมาณมากจะทำให้เกิดความเป็นพิษต่อร่างกาย ได้แก่ คลื่นไส้ อาเจียน เกิดการอักเสบในช่องท้องและกล้ามเนื้อ ท้องเสีย การทำงานของหัวใจผิดปกติ ก่อระบบภูมิคุ้มกันของร่างกายและอาจส่งผลให้เกิดความผิดปกติทางจิต (Rebelato et al., 2019) ส่วนอาการเรื้อรังจากการได้รับติดต่อกันเป็นเวลานาน จะทำให้เกิดการทำงานบกพร่องของตับ โดยไม่สามารถขับทองแดงออกจากร่างกายได้ตามปกติ จึงทำให้มีการสะสมอยู่ในร่างกายเป็นปริมาณมาก ส่งผลให้เกิดความผิดปกติของร่างกาย หรือกลุ่มอาการที่เรียกว่า Wilson disease คือ ร่างกายสันเทาอยู่ตลอดเวลา กล้ามเนื้อแข็งเกร็ง มีน้ำมูกน้ำลายไหล ควบคุมการพูดลำบาก (Zischka and Borchard, 2019) มากไปกว่านั้น เมื่อได้รับทองแดงปริมาณมากและเป็นระยะเวลาาน อาจทำให้ผิวหนังและผมเปลี่ยนสีได้ และเป็นโรคโลหิตจางได้ (Smrečki et al., 2019)



ภาพที่ 2.1 กลไกการเกิดปฏิกิริยาของทองแดงต่อเมลานินในเซลล์ (ที่มา: Armstrong et al., 2013)

## 2.1.2 ตะกั่ว (Pb)

ตะกั่วเป็นโลหะหนักที่นิยมใช้ในอุตสาหกรรมก่อสร้าง อุตสาหกรรมผลิตสีทาบ้าน ใช้สังเคราะห์ สารตะตะเอทิลเลด (tetraethyl lead หรือ  $Pb(C_2H_5)_4$ ) ในเบนซินเพื่อเพิ่มค่าออกเทน (octane number) อุปกรณ์อิเล็กทรอนิกส์ และคอมพิวเตอร์ (Ribeiro et al., 2019) เมื่อเข้าสู่ร่างกายและมีปริมาณการสะสมที่ มากพอจะส่งผลกระทบต่อระบบประสาท ทำให้เกิดความผิดปกติของสมอง (ภาพที่ 2.2) รวมทั้งก่อให้เกิดความดัน โลหิตสูง (Iyer et al., 2015) ปัจจุบันพบว่า การปนเปื้อนของสารตะกั่ว เป็นปัญหาสาธารณสุขระดับโลก เนื่องจากอุปกรณ์ต่าง ๆ ที่ใช้ในชีวิตประจำวันส่วนใหญ่มีสารตะกั่วเป็นองค์ประกอบ เช่น ท่อส่งน้ำ อุปกรณ์ เครื่องครัว เป็นต้น โดยองค์การอนามัยโลก (World Health Organization) หรือ WHO รวมถึงประเทศต่าง ๆ ได้มีการรณรงค์ และมีมาตรการป้องกันความเสี่ยงโดยกำหนดกฎหมาย การกำหนดมาตรฐานระดับความ ปลอดภัย และการพัฒนาผลิตภัณฑ์ที่มีคุณภาพปลอดภัยจากโลหะดังกล่าว รวมทั้งสร้างระบบเฝ้าระวัง ติดตาม และตรวจสอบไม่ให้ประชากรได้รับสารตะกั่วเกินปริมาณที่กำหนด (Järup, 2003) ในประเทศไทยพบว่า มีพื้นที่ การปนเปื้อนโลหะหนักกระจายทั่วทั้งประเทศ ในปี พ.ศ. 2526 พบว่านิคมอุตสาหกรรมจังหวัดลำพูนเกิดการ รั่วไหลของสารตะกั่ว ทองแดง และสังกะสี ปนเปื้อนในดินและแหล่งน้ำใต้ดิน ทำให้ชาวบ้านป่วยเป็นโรคมะเร็ง แพ้ โรคทางเดินหายใจ และบางรายเสียชีวิตโดยไม่ทราบสาเหตุ (คำ, 2526) ต่อมาในปี พ.ศ. 2541 พบว่าโรงแต่ง แร่ตะกั่วได้ลักลอบปล่อยน้ำเสียลงสู่ลำห้วยใกล้เคียงโรงงาน ส่งผลให้ชาวบ้านที่อาศัยในหมู่บ้านคลิตี้ล่าง จังหวัดกาญจนบุรี เจ็บป่วย ไม่สามารถใช้น้ำจากลำห้วยได้ (ฉัตร, 2018) ต่อมาในปี พ.ศ. 2543 เกิดการรั่วไหล ของสารกัมมันตรังสี โคบอลต์ 60 ในร้านขายของเก่าในเขตพระประแดง ซึ่งทำให้มีผู้ป่วยเป็นมะเร็ง เป็น สาเหตุของการสูญเสียอวัยวะ และเสียชีวิต นอกจากนี้ในตำบลเจ็ดลูก อำเภอทับคล้อ จังหวัดพิจิตร พบว่ามี การปนเปื้อนสารตะกั่ว พรอท และไซยาไนด์ ที่ถูกปล่อยออกจากบริษัทอัคราไมนิ่ง จำกัด (เหมืองแร่ทองคำ) ในแหล่งน้ำ ส่งผลให้ชาวบ้านเจ็บป่วยด้วยโรคทางเดินหายใจและโรคผิวหนัง (Khunarrak et al., 2001)



ภาพที่ 2.2 การเกิดพิษจากการสะสมโลหะตะกั่วที่มีผลต่อสมอง (ที่มา: Garza et al., 2006)

### 2.1.3 นิกเกิล (Ni)

โลหะนิกเกิล ได้ถูกนำมาใช้ในอุตสาหกรรมต่าง ๆ มากมาย เช่น อุตสาหกรรมแม่เหล็ก เครื่องใช้ไฟฟ้า อุปกรณ์ก่อสร้าง แบตเตอรี่ เครื่องประดับ เป็นส่วนประกอบในการทำแม่เหล็ก ส่วนประกอบของเครื่องยนต์ เหมืองวิทยาปณ์ อุปกรณ์ทางการแพทย์ อุปกรณ์ทันตกรรม และเครื่องกระตุ้นหัวใจชนิดฝังในตัวผู้ป่วย เป็นต้น (Coman et al., 2013) นิกเกิลที่ปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อมสามารถเข้าสู่ร่างกายได้โดยทางการหายใจ ทางผิวหนัง และจากทางเดินอาหาร ภาวะความเป็นพิษของนิกเกิลพบได้น้อยและไม่มีอาการเฉพาะ โดยส่วนใหญ่อาการเหมือนการได้รับพิษโลหะหนักทั่วไป เช่น ปวดศีรษะมาก คลื่นไส้ อาเจียน ถ้าจากการสูดดมอาการคือ หายใจลำบากหรืออาการคล้ายโรคหอบหืดซึ่งเป็นอาการที่เกิดจากการได้รับนิกเกิลในปริมาณสูงมาก (Shahzad et al., 2018) แต่อย่างไรก็ตามเมื่อร่างกายได้รับนิกเกิลในปริมาณสูงเป็นระยะเวลานานอาจส่งผลให้เกิดโรคเรื้อรังได้ เช่น โรคไต เกิดภาวะไขกระดูกทำงานผิดปกติ ในหญิงตั้งครรภ์อาจแท้งบุตรได้ รวมถึงเกิดภาวะภูมิคุ้มกันต้านทานโรคต่ำ มากไปกว่านั้นหากร่างกายได้รับนิกเกิลสูงเป็นเวลานานจากการสูดดม อาจส่งผลให้ปวดอักเสบเรื้อรัง เกิดอาการ eczematous dermatitis ซึ่งเป็นอาการที่พบมากที่สุดเมื่อร่างกายได้รับโลหะนิกเกิลเป็นเวลานาน (ภาพที่ 2.3) (Marks and Miller, 2019) อาการ Loeffler syndrome

(pulmonary eosinophilia) (Sunderman, 1981) การระคายเคืองเยื่อจมูก และเกิดผนังจมูกทะลุ (nasal septum perforation) (Gad, 2014) ในบางรายอาจสูญเสียการรับกลิ่น การสัมผัสแบบเรื้อรังเป็นสาเหตุของการเกิดมะเร็งในโพรงจมูก ไชนิส และปอดได้ (Schaumlöffel, 2012) องค์กร International Agency for Research on Cancer หรือ IARC ซึ่งเป็นหนึ่งองค์กรของ WHO ของสหประชาชาติได้มีการกำหนดให้สารประกอบนิกเกิลเป็นสารก่อมะเร็งสำหรับมนุษย์กลุ่มที่ 1 (สารก่อมะเร็ง) และกำหนดให้โลหะนิกเกิล (nickel metallic and alloy) จัดอยู่ในกลุ่มที่ 2B (อาจจะเป็นสารก่อมะเร็ง) (Boffetta and health, 1993)



ภาพที่ 2.3 อาการ Loeffler syndrome ที่เกิดจากการได้รับโลหะนิกเกิลเป็นเวลานาน (ที่มา: Siegfried and Hebert, 2015)

#### 2.1.4 ซิลเวอร์ (Ag)

โลหะซิลเวอร์ ถูกนำมาใช้ในอุตสาหกรรมต่าง ๆ เช่น การแพทย์ งานทันตกรรม การผลิตฟิล์มภาพยนตร์ การอัดภาพ ไฟฟ้า ชิ้นส่วนอิเล็กทรอนิกส์ รถยนต์ เครื่องทำความเย็น แบทเตอรี และโลหะบัดกรี นอกจากนี้โลหะซิลเวอร์ยังนิยมนำมาเป็นส่วนประกอบสำคัญในการผลิตเหรียญกษาปณ์ อุปกรณ์ และเครื่องครัวประเภทต่าง ๆ ได้แก่ ชันเงิน พานเงิน กาน้ำ ส่วนประกอบของตู้เสื้อผ้า โต๊ะ และเก้าอี้ เป็นต้น ซิลเวอร์เป็นโลหะที่ไม่จำเป็นต่อร่างกาย (Neis et al., 2019) เมื่อร่างกายได้รับโลหะซิลเวอร์จากการปนเปื้อนใน

อาหาร น้ำดื่ม หรือจากการงานอาชีพที่เกี่ยวข้องกับการใช้โลหะซิลเวอร์ อาจส่งผลให้เกิดอาการต่าง ๆ มากมาย เช่น เกิดการระคายเคืองผิวหนังจนอาจเกิดผื่นแพ้สัมผัส หรือผื่นระคายสัมผัสเมื่อผิวหนังสัมผัสโลหะซิลเวอร์ เกิดอาการลูกต้ออักเสบรุนแรงเมื่อสัมผัสตา เกิดอาการคลื่นไส้ อาเจียน วิงเวียน ปวดศีรษะเมื่อได้รับโลหะซิลเวอร์โดยการกิน/ดื่มปริมาณสูง (การปนเปื้อนในอาหาร น้ำดื่ม น้ำใช้) (Kim et al., 2009) ขณะเดียวกันอาจเกิดอาการระคายเคืองต่อเนื้อเยื่อปอด จนทำให้ปอดอักเสบได้ถ้าสูดดมฝุ่นโลหะซิลเวอร์ มากไปกว่านั้นร่างกายสามารถสะสมโลหะซิลเวอร์ในร่างกายได้ อาจส่งผลให้เกิดโรคไตอักเสบซึ่งเป็นสาเหตุของไตวาย ตับอักเสบ ภาวะโลหิตจาง และก่อให้เกิดผลทางสมอง เช่น อาการซึม สับสน หมดสติ และอาจเสียชีวิตได้ (Panyala et al., 2008)

### 2.1.5 เหล็ก (Fe)

โลหะเหล็ก เป็นโลหะที่มีความสำคัญต่อระบบอุตสาหกรรมอย่างมาก เนื่องจากเหล็กมีความเชื่อมโยงกับอุตสาหกรรมอื่น ๆ มากมาย ได้แก่ รถยนต์ ไฟฟ้า อิเล็กทรอนิกส์ เพอร์นิเจอร์ บรรจุก๊าซ เครื่องจักรกล และอุตสาหกรรมก่อสร้าง เป็นต้น (Rebelato et al., 2019) ร่างกายต้องการเหล็กในปริมาณน้อย โดยเป็นส่วนประกอบที่สำคัญของระบบต่าง ๆ เช่น การผลิตเฮโมโกลบิน ไมโอโกลบิน และเอนไซม์บางชนิด รวมทั้งยังเป็นสารที่มีความจำเป็นต่อกระบวนการเผาผลาญวิตามินบี โดยเฉพาะวิตามินซี โคบอลต์ แมงกานีส และทองแดง ซึ่งเป็นสารที่มีความสำคัญต่อการดูดซึมของธาตุเหล็ก เป็นต้น (Conway and Henderson, 2019) แต่อย่างไรก็ตามเมื่อร่างกายได้รับโลหะเหล็กในปริมาณมากเกินไป อาจส่งผลให้เกิดพิษอาการต่าง ๆ เช่น อาการ local effects โดยจะระคายเคืองต่อเยื่อบุทางเดินอาหาร ทำให้มีอาการคลื่นไส้ อาเจียน เกิดเป็น gastritis มี bleeding หรือ perforation ได้ (Conway and Henderson, 2019) อาการ systemic effects เหล็กเมื่อเข้าสู่ร่างกายจะจับกับ transferrin เหล็กบางส่วนจะถูกเก็บสะสมในรูปของ ferritin และ hemosiderin และเมื่อร่างกายได้รับปริมาณสูงอาจก่อให้เกิดภาวะซีดได้ (Iancu, 1992)



จากปัญหาการปนเปื้อนของโลหะหนักข้างต้นชี้ให้เห็นว่า การปนเปื้อนของโลหะในสิ่งแวดล้อมสามารถส่งผลกระทบต่อทั้งระยะสั้นและระยะยาวต่อร่างกายเมื่อได้รับโลหะหนักในปริมาณสูงและเป็นระยะเวลานาน ดังนั้นวิธีการและเทคโนโลยีต่าง ๆ จึงได้ถูกนำมาใช้เพื่อการกำจัดโลหะหนักจากสิ่งแวดล้อมและลดผลกระทบต่อมนุษย์และสิ่งมีชีวิตในระบบนิเวศ

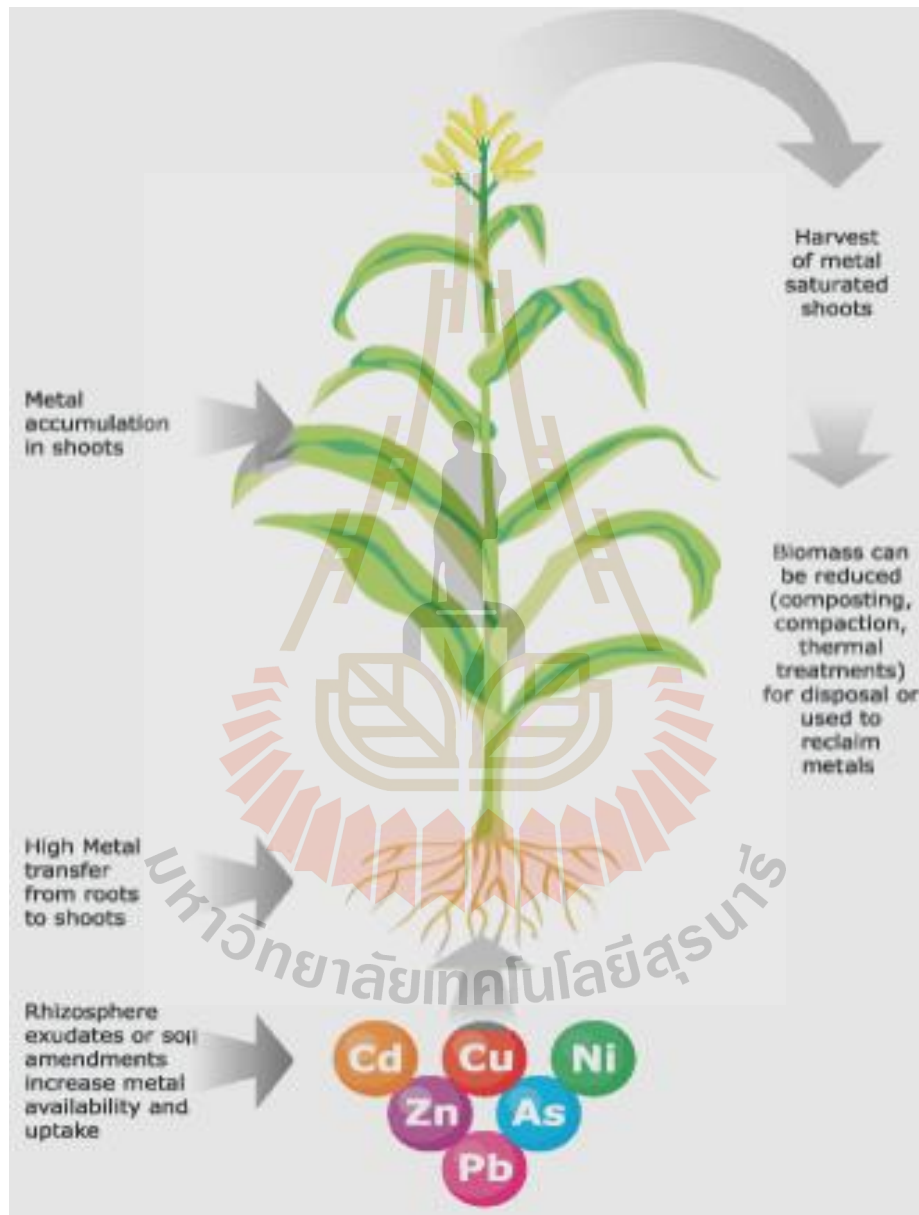
## 2.2 วิธีการกำจัดโลหะหนัก

วิธีการกำจัดโลหะหนักปนเปื้อนในน้ำเสียอุตสาหกรรม มี 3 วิธี ได้แก่ วิธีทางกายภาพ เคมี และชีวภาพ (Kobielska et al., 2018) การเลือกกระบวนการใดในการกำจัดโลหะหนักนั้นขึ้นอยู่กับหลายปัจจัย เช่น เทคโนโลยีการบำบัดน้ำเสีย ความเข้มข้น และสภาพการเกิดออกซิเดชัน (oxidation state) ของโลหะ ความเป็นกรด-ด่างของน้ำ และกลไกในการกำจัดโลหะ (Yin et al., 2019) วิธีการกำจัดโลหะหนักปนเปื้อนที่นิยมใช้ในปัจจุบันคือ วิธีทางกายภาพและเคมี เช่น วิธีออสโมซิสย้อนกลับ การแยกกรองด้วยไฟฟ้า การกรอง การแลกเปลี่ยนประจุ และการตกตะกอนทางเคมี (Chen et al., 2018) นอกจากวิธีทางกายภาพและเคมีแล้ว วิธีทางชีวภาพเป็นอีกทางเลือกที่ได้รับความสนใจเนื่องจากเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม (Jacob et al., 2018) ได้แก่ เทคโนโลยีการดูดซับทางชีวภาพโดยใช้มวลชีวภาพจากธรรมชาติเป็นสารดูดซับโลหะหนัก ทำให้ประหยัดค่าใช้จ่ายและเป็นมิตรกับระบบนิเวศ นอกจากนั้นโลหะหนักที่ถูกดูดซับและสารดูดซับชีวภาพก็สามารถนำกลับไปใช้ในระบบได้อีก การใช้จุลชีพหรือจุลินทรีย์ในการดูดซับโลหะหนักสามารถทำได้ทั้งทางตรงและทางอ้อม (Yin et al., 2019) ทางตรงโดยการสะสมสารพิษในสิ่งมีชีวิต หรือทางอ้อมโดยการดูดซับทางชีวภาพ นอกจากนี้ยังมีการฟื้นฟูสภาพสิ่งแวดล้อมด้วยพืช เป็นการใช้กระบวนการทำงานของพืชเพื่อเคลื่อนย้าย เก็บ หรือทำให้สารมลพิษในสิ่งแวดล้อมเป็นอันตรายต่อสิ่งมีชีวิตอื่นน้อยลง (Cristaldi et al., 2017) โดยมีกลไกของการฟื้นฟูที่สำคัญได้แก่

### 2.2.1 การสกัดด้วยพืช (phytoextraction)

กระบวนการนี้พืชมีการดูดซึมสารมลพิษ เช่น โลหะหนัก สารประกอบของโลหะหนักและกัมมันตภาพรังสี ผ่านเข้ามาทางเซลล์รากไปสะสมที่ยอดหรือราก หรือบางส่วนจะถูกสะสมไว้ที่บริเวณผนัง

เซลล์ เนื้อเยื่อต่าง ๆ ในราก เช่น อีพิตีเดอริมิส คอร์เทกซ์ จากนั้นเกิดการเคลื่อนย้ายมายังเซลล์ส่วนยอด ซึ่งพืชจะมีกระบวนการลดความเป็นพิษของโลหะหนัก จากนั้นเก็บสะสมไว้ในตำแหน่งที่ไม่เป็นอันตรายในระดับเซลล์ เช่น แวกคิวโอล เป็นต้น แต่อย่างไรก็ตามพืชเหล่านี้มักได้รับผลกระทบจากสารพิษเหล่านี้ต่อการเจริญ คือ มีการเจริญเติบโตช้าและต้นมีขนาดเล็ก (Nascimento and Xing, 2006) ดังแสดงดังภาพที่ 2.4

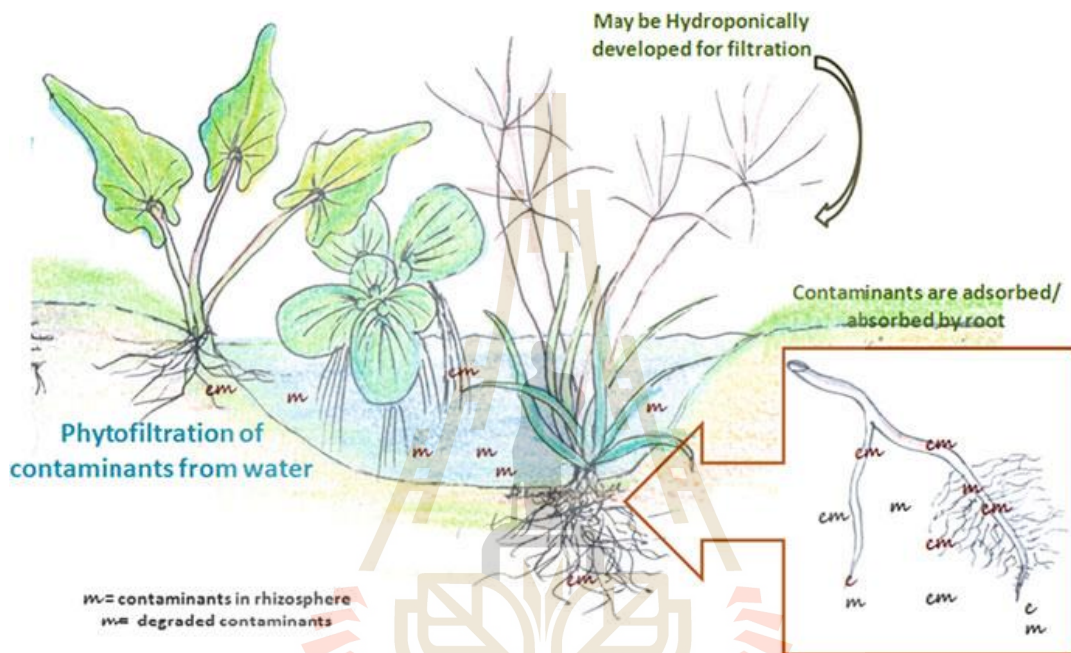


ภาพที่ 2.4 กระบวนการกำจัดโลหะหนักด้วยวิธีสกัดด้วยพืช (phytoextraction) (ที่มา: Nascimento and Xing, 2006)



## 2.2.2 การกรองด้วยรากพืช (rhizofiltration)

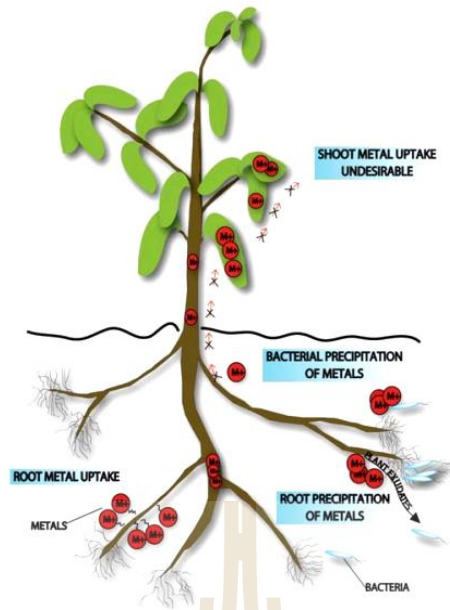
กระบวนการนี้เกิดจากการที่รากพืชดูดหรือกรองสารมลพิษ ในกรณีที่สารพิษปนเปื้อนอยู่ในน้ำ พืชสามารถกรองสารมลพิษด้วยราก และสะสมสารพิษเหล่านั้นไว้ในเซลล์รากเท่านั้น การดูดซับโลหะหนักทางชีวภาพ (biosorption) มักพบในพืชน้ำ (Chatterjee et al., 2013) ดังแสดงดังภาพที่ 2.5



ภาพที่ 2.5 กระบวนการกำจัดโลหะหนักด้วยวิธีการกรองด้วยรากพืช (rhizofiltration) (ที่มา: Chatterjee et al., 2013)

## 2.2.3 การตรึงด้วยพืช (phytostabilization)

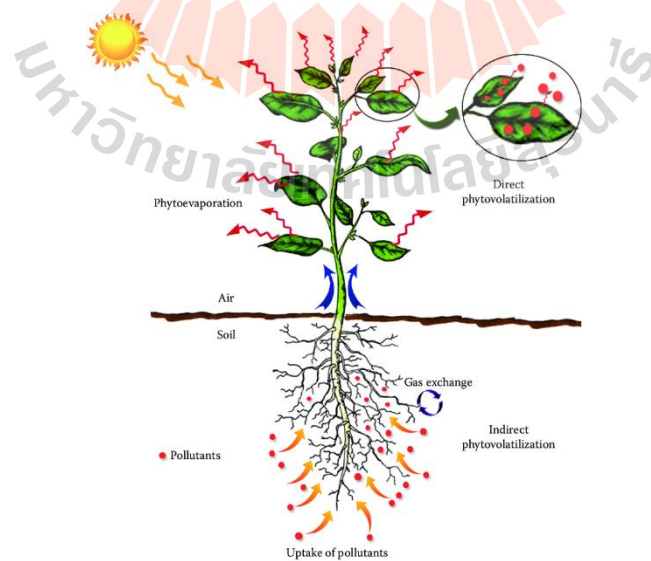
พืชควบคุมให้โลหะอยู่ในรูปที่ไม่เคลื่อนที่และไม่เป็นพิษแต่ก็เกิดผลเพียงชั่วคราวเท่านั้น (Mendez and Maier, 2008) ดังแสดงดังภาพที่ 2.6



ภาพที่ 2.6 กระบวนการกำจัดโลหะหนักด้วยวิธีการตรึงด้วยพืช (phytostabilization) (ที่มา: Mendez and Maier, 2008)

#### 2.2.4 การทำให้ระเหยด้วยพืช (phytovolatilization)

พืชกำจัดธาตุโลหะที่เมื่ออยู่ในรูปที่เป็นไอแล้วมีความเป็นพิษต่อสิ่งมีชีวิตน้อยลง โดยอาศัยแรงดึงจากการคายน้ำ แล้วปล่อยออกทางใบ (Kumar and Chandra, 2017) ดังแสดงดังภาพที่ 2.7

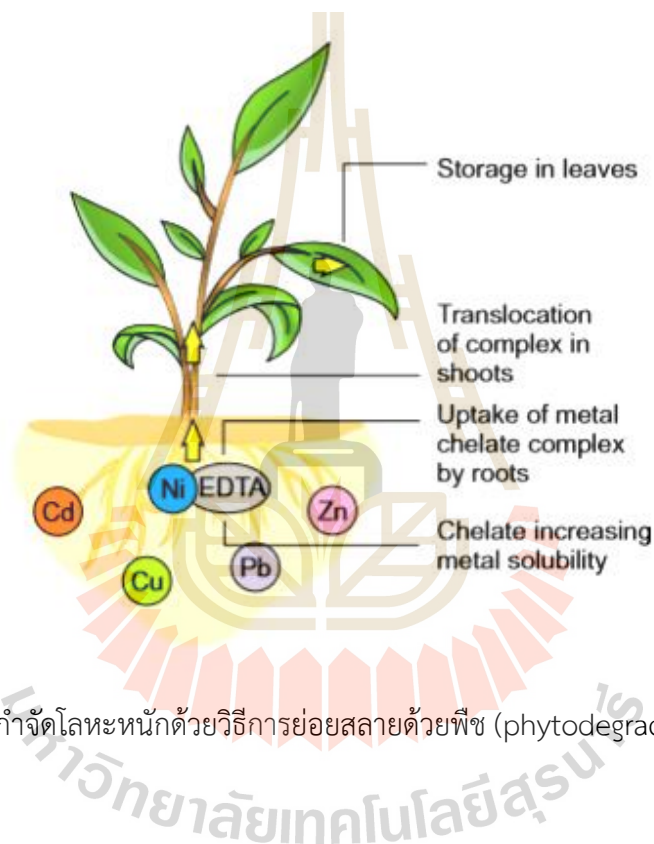


ภาพที่ 2.7 กระบวนการกำจัดโลหะหนักด้วยวิธีการทำให้ระเหยด้วยพืช (phytovolatilization) (ที่มา:

Kumar and Chandra, 2017)

### 2.2.5 การย่อยสลายด้วยพืช (phytodegradation)

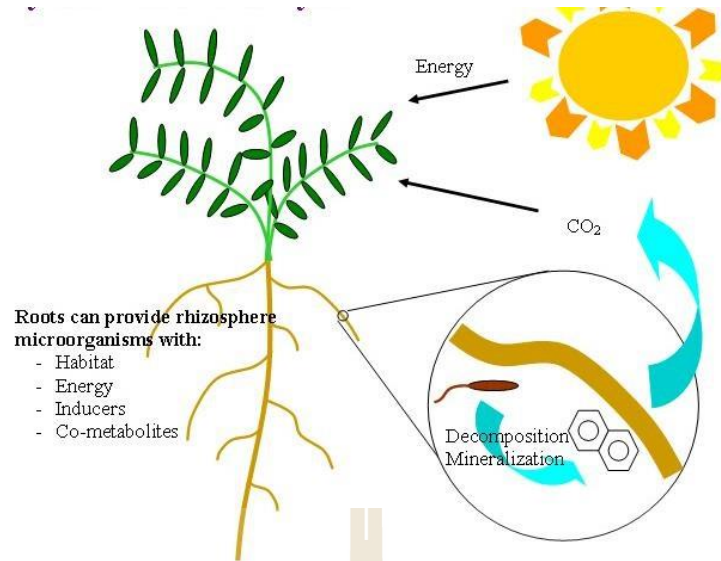
พืชกำจัดสารมลพิษที่ดูดซึมเข้าไปโดยย่อยสลายหรือเปลี่ยนแปลงด้วยเมตาบอลิซึมของพืชเอง หรือเปลี่ยนเป็นสารที่แบคทีเรียสามารถย่อยสลายต่อไปได้ (Ghori et al., 2016) ดังแสดงดังภาพที่ 2.8



ภาพที่ 2.8 กระบวนการกำจัดโลหะหนักด้วยวิธีการย่อยสลายด้วยพืช (phytodegradation) (ที่มา: Ghori et al., 2016)

### 2.2.6 การกระตุ้นด้วยพืช (phytostimulation)

พืชมีการหลั่งสารเพื่อกระตุ้นการเจริญเติบโตของแบคทีเรียหรือเชื้อราไมคอร์ไรซาเพื่อไปสลายสารมลพิษ มักใช้กับสารอินทรีย์ที่ละลายน้ำได้น้อย เช่น บีโตรเลียม พีเอเอช และ พีซีบี (Akpor and Muchie, 2010) ดังแสดงดังภาพที่ 2.9



ภาพที่ 2.9 กระบวนการกำจัดโลหะหนักด้วยวิธีการกระตุ้นด้วยพืช (phytostimulation) (ที่มา: Akpor and Muchie, 2010)

### 2.3. พืชน้ำและพืชลอยน้ำบางชนิดที่ใช้ในการบำบัดน้ำปนเปื้อนโลหะหนัก

พืชน้ำและพืชลอยน้ำมักถูกนำมาดัดแปลงเป็นโมเดลที่ใช้ในการบำบัดน้ำปนเปื้อนโลหะหนักโดยแบ่งออกเป็น 3 กลุ่ม ประกอบไปด้วย

#### 2.3.1 พืชลอยน้ำ (floating plant)

พืชลอยน้ำ เป็นพืชที่เจริญและลอยอยู่ผิวน้ำ มีส่วนรากเจริญอยู่ใต้น้ำ ส่วน ต้น ดอก ใบ ชูขึ้นเหนือระดับน้ำ เคลื่อนที่ได้อย่างอิสระ หากเจริญอยู่บริเวณที่น้ำตื้น ส่วนรากจะยึดติดกับพื้นดินใต้น้ำได้

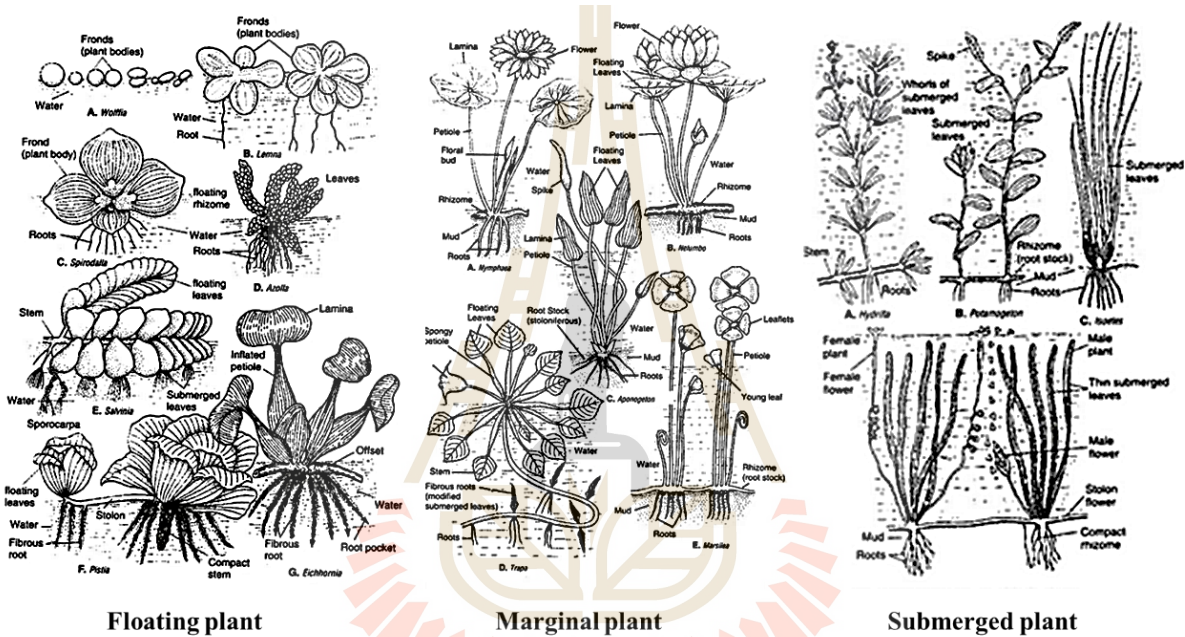
#### 2.3.2 พืชชายน้ำ (marginal plant)

พืชชายน้ำ เป็นพืชที่อยู่ริมตลิ่ง หรือหนองน้ำมีน้ำท่วมขังตื้น ๆ เช่น กก โสน เป็นต้น มีรากเจริญอยู่ในดิน ชูส่วนลำต้น ใบ ดอก ขึ้นมาเหนือน้ำ

#### 2.3.3 พืชใต้น้ำ (submerged plant)

พืชใต้น้ำเป็นพืชที่มีการเจริญเติบโตอยู่ใต้น้ำทั้งหมด ส่วนของราก ลำต้น ใบจมอยู่ใต้น้ำ อาจมีการยึดเกาะกับพื้นดินที่อยู่ใต้น้ำ หรือไม่ก็ได้ รากอาจมีลักษณะเป็นฝอยสั้น ๆ แตกตามข้อ หรือแตกเป็นกออยู่

ใต้ดิน พืชบางชนิดเมื่อมีดอกจะชูขึ้นมาเหนือผิวน้ำน้ำเพื่อผสมเกสร พืชกลุ่มนี้จะสามารถแลกเปลี่ยนก๊าซและธาตุอาหารจากน้ำได้โดยตรง ดังนั้นท่อลำเลียงน้ำและท่อลำเลียงอาหารของพืชกลุ่มนี้จึงมีไม่มากเมื่อเปรียบเทียบกับพืชบกหรือพืชน้ำกลุ่มอื่น ๆ โคลงสร้างภายในของลำต้นและใบจะมีช่องว่างมากเพื่อใช้ในการสะสมก๊าซและช่วยในการพองตัวให้ลอยได้ อาจมีรูปร่างหลายแบบ เช่น เป็นแถบ หรือ แผ่นยาว หรือ แตกออกเป็นฝอย ใบมักจะอ่อนบางและเปราะ ประกอบด้วยเซลล์ไม่กี่ชั้น ใบไม่มีคิวตินเคลือบและไม่มีปากใบ (Speichert and Speichert, 2004) ดังภาพที่ 2.10



ภาพที่ 2.10 พืชน้ำและพืชลอยน้ำบางชนิดที่ใช้ในการบำบัดน้ำปนเปื้อนโลหะหนัก (ที่มา: Speichert and Speichert, 2004)

ปัจจุบันพบว่าได้มีการศึกษาสมบัติในการดูดซับโลหะหนักจากแหล่งน้ำที่ปนเปื้อนโดยใช้พืชกลุ่มดังกล่าวหลายชนิด ซึ่งพืชน้ำบางชนิดสามารถลำเลียงไอออนของโลหะหนักเข้าสู่เซลล์ จากนั้นมีการเปลี่ยนรูปให้อยู่ในรูปแบบที่ไม่เป็นพิษต่อเซลล์พืช ซึ่งจะถูเก็บสะสมไว้ภายในเซลล์พืชได้ แต่อย่างไรก็ตามพืชน้ำบางชนิดก็มีกลไกในการกำจัดไอออนของโลหะหนักออกจากเซลล์ได้เช่นกัน ดังนั้นความสามารถการดูดซับโลหะหนักของพืชน้ำที่ปนเปื้อนในแหล่งน้ำขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายอย่างเช่น ชนิดของพืชน้ำ ประเภทโลหะหนักและปริมาณของโลหะ



หนัก เป็นต้น (El Falaky et al., 2004; Keskinan et al., 2003; Török et al., 2015) ดังแสดงในตารางที่

2.1

**ตารางที่ 2.1** ชนิดของพืชน้ำที่สามารถดูดซับโลหะหนักในปริมาณที่แตกต่างกัน (ที่มา: El Falaky et al., 2004; Keskinan et al., 2003; Török et al., 2015)

พืชน้ำ	ความเข้มข้นของโลหะหนัก (มิลลิกรัมต่อลิตร)						
	ตะกั่ว	สังกะสี	ทองแดง	แคดเมียม	เหล็ก	โครเมียม	โคบอลต์
<i>Ceratophyllum demersum</i>	44.8	13.98	6.17	6.0	106.6	2.5	5.1
<i>Myriophyllum spicatum</i>	46.69	15.59	10.37	12.1	19.8	2.3	-
<i>Potamogeton lucens</i>	141	32.4	40.8	-	10.5	4.6	1.3
<i>Salvinia herzegoi</i>	-	18.1	19.7	-	12.3	4.8	6.1
<i>Eichhornia crassipes</i>	61	19.2	23.1	34.3	25.4	-	-
<i>Sphaerotilus natans</i>	42	28	8.1	6.25	34.8	6.2	-
<i>Litaneutria minor</i>	12.5	2.3	9.2	1.6	19.7	-	-
<i>Lemna gibba</i>	19.5	100.0	7.5	6.5	225.0	10.5	1.0
<i>Potamogeton crispus</i>	32.5	120.1	34.0	8.0	165.5	85.1	-
<i>Typha domingensis</i>	211.6	82.6	18	2.8	7.8	15.5	3.2
<i>Phragmites australis</i>	5.2	98.7	9.8	2.7	341.6	6.0	1.8
<i>Cyprus alopecnroide</i>	10.3	45.5	5.3	2.5	825.0	1.0	-

## 2.4 ผักตบชวา

ผักตบชวา (*Eichhornia crassipes*) เป็นพืชพื้นเมืองของทวีปอเมริกาใต้ คาดว่ามีถิ่นกำเนิดอยู่ในประเทศบราซิล ในปี 2444 ได้มีการนำผักตบชวาจากประเทศอินโดนีเซียเข้ามาปลูกในวังสระประทุม แต่ภายหลังเกิดน้ำท่วมวังสระประทุม ผักตบชวาลุดลอยออกไปสู่ลำคลองภายนอก แล้วเริ่มระบาดไปตามที่ต่าง ๆ อย่างรวดเร็ว ผักตบชวาเป็นพืชที่เจริญอยู่บนผิวน้ำ จัดเป็นประเภทลอยน้ำ (floating plant) (Penfound and Earle,

1948) โดยปกติรากจะไม่ยึดติดกับพื้นดิน ต้นผักตบชวาประกอบด้วยกลุ่มของใบเรียงกันเป็นกระจุก ในต้นหนึ่ง ๆ จะมีใบตั้งแต่สองใบขึ้นไป ที่โคนก้านใบจะมีกาบใบ (sheath) ลักษณะเป็นเยื่อบาง ๆ สีขาวแกมเขียวอ่อน ๆ แต่เมื่อมีอายุมากขึ้นก็จะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล บริเวณของกาบใบ เป็นสีน้ำตาลแกมม่วง จะเชื่อมติดต่อกันโดยมีไหล (stolon) ซึ่งเป็นลำต้นที่ทอดไปตามผิวน้ำช่วยในการขยายตัวของผักตบชวาให้เพิ่มขึ้น ผักตบชวาจะมีไหลแตกออกไปได้หลายอัน เมื่อไหลแตกออกไปแล้ว ก็จะเจริญขึ้นเป็นต้นใหม่ แต่ยังคงติดกับต้นเดิมอยู่และเกิดเป็นกอขึ้น พร้อมทั้งมีรากเกิดขึ้น รากของผักตบชวาเป็นแบบรากฝอย (fibrous root) คือ มีรากย่อย ๆ เป็นกระจุก รากที่แทงออก จะมีลักษณะอวบ สีขาว เมื่อมีอายุมากขึ้นจึงจะมีรากขนอ่อน (root hair) ที่มีสีน้ำตาลอ่อน และเมื่อแก่รากขนอ่อนนี้จะเป็นสีน้ำตาลแก่จนถึงสีดำ ความยาวของรากจะแตกต่างกันไป (60–90 เซนติเมตร) ใบมีลักษณะเป็นใบเดี่ยว (simple leaf) ประกอบด้วย แผ่นใบ (blade) และก้านใบ (petiole) แผ่นใบมีลักษณะคล้ายรูปไต (reniform) หรือคล้ายรูปหัวใจ (cordate) มักมีความกว้างมากกว่ายาว หรือเกือบจะเท่า ๆ กัน เมื่อยังอ่อน ปลายใบมักจะมน แต่เมื่อมีอายุมากขึ้น ปลายใบจะแหลม มีสีเขียวเข้มขึ้น ขอบใบเรียบ ระบบเส้นใบ (venation) ซึ่งทำหน้าที่ลำเลียงน้ำและอาหาร เป็นแบบเส้นใบขนาน ก้านใบมีลักษณะกลม เรียบ อวบน้ำ ถ้าผักตบชวาเจริญอยู่ห่าง ๆ กัน ลำต้นจะเล็กและก้านใบมักจะพองออกเป็นฟองลอยน้ำ (ลักษณะเช่นนี้เรียกว่า buoyancy leaf) แต่ถ้าผักตบชวาเจริญอยู่ในที่เบียดชิดกันมากโดยเฉพาะในน้ำนิ่ง ก้านใบจะไม่พอง (Télliez et al., 2008) นอกจากนั้น ก้านใบยังยาวมาก การเกิดใบอ่อน จะเกิดตรงกลางกอ โดยแผ่นใบของใบอ่อนจะม้วนหุ้มรอบโคนก้านใบใกล้เคียง และมีกาบใบบาง ปลายกาบใบนี้ จะมีลักษณะคอดแล้วบาน ขอบหยักเล็กน้อย เป็นเยื่อบาง ๆ เมื่อใบอ่อนโตขึ้นก้านใบก็จะขยายขึ้น ต้นกาบใบที่ห่อหุ้มนั้นออก แผ่นใบก็จะค่อยคลี่เป็นอิสระจากโคนก้านใบเดิมในระยะแรกใบจะมีสีเขียวอ่อน ต่อไปจะมีสีเขียวเข้มขึ้น กาบใบนั้นก็ยังคงติดอยู่ตรงโคนก้านใบ (Seid and Getenet, 2017) ดังภาพที่ 2.11



ภาพที่ 2.11 ผักตบชวา (ที่มา: Seid and Getenet, 2017)

## 2.5 การดูดซึมอออนของโลหะหนักและการสร้างอนุภาคนาโนด้วยพืช

พืชมีความสามารถในการดูดซึมโลหะหนักด้วยราก ผ่านเข้าไปในเยื่อหุ้มเซลล์ แล้วเก็บโลหะหนักเหล่านั้นไว้ในช่องว่างภายในเซลล์ราก ที่เรียกว่า “vacuole” (Rai et al., 2019) หากโลหะหนักมีปริมาณมากหรือพืชมีการสัมผัสกับโลหะหนักเป็นเวลานาน โลหะหนักที่เก็บไว้ที่รากจะถูกลำเลียงไปเก็บไว้ที่ท่อลำเลียงน้ำในลำต้น พืชหลายชนิดที่มีความสามารถในการสะสมโลหะหนักได้มาก (hyperaccumulator) และมีความทนต่อโลหะหนักมากกว่าพืชชนิดอื่น ๆ (Miransari, 2011) เช่น ผักตบชวา และพืชในตระกูลธูปฤาษี (Rascio and Navarillo, 2011) แต่อย่างไรก็ดียังไม่มีการศึกษาว่าพืชเหล่านี้สามารถเปลี่ยนอออนของโลหะที่ดูดซึมเข้าไปเป็นอนุภาคนาโนได้หรือไม่ แต่จากที่มีรายงานวิจัยถึงการสังเคราะห์อนุภาคนาโนที่เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อมโดยใช้สารสกัดจากพืช ได้แก่ การใช้สารสกัดจากใบตำลึง ใบกระเพรา กร่าง กระเม็ง เปลือกกล้วย และสมอไทย มาใช้ในการสังเคราะห์อนุภาคนาโนซิลเวอร์ (Arunachalam et al., 2012; Bankar et al., 2010; Mohan Kumar et al., 2012; Patil et al., 2012; Rajakumar and Abdul Rahuman, 2011; Saxena et al., 2012) การใช้สารสกัดจากว่านหางจระเข้ ใบโหระพา มะนาว และผักตบชวาในการสังเคราะห์อนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ ในการใช้สารสกัดจากลูกหว้าในการสังเคราะห์อนุภาคแม่เหล็ก (Sangeetha et al., 2011) การนำสารสกัดจากต้นสาหร่ายหางกระรอกและผักตบชวามาใช้ในการสังเคราะห์อนุภาคนาโนซิลเวอร์



(Mochochoko et al., 2013; N. et al., 2012) แต่อย่างไรก็ดี ยังไม่มีการศึกษาถึงการสังเคราะห์อนุภาคนาโนโลหะภายในเซลล์ของผักตบชวาจากออรอนของโลหะที่พืชดูดผ่านทางราก



## บทที่ 3

### วิธีการดำเนินการวิจัย

#### 3.1 การศึกษาความเป็นพิษของสารละลายโลหะหนักที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ต่อผักตบชวา

นำผักตบชวาที่มีความสูงประมาณ 30 เซนติเมตร มาใช้ในการทดลอง โดยล้างในน้ำปราศจากไอออน เพื่อกำจัดฝุ่นและไอออนของโลหะอื่น ๆ ที่ปนเปื้อนมากับรากพืชน้ำเป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นคัดเลือกพืชน้ำที่มีความสมบูรณ์ และมีขนาดใกล้เคียงกันเพื่อทดสอบความเป็นพิษด้วยการแช่ในน้ำปราศจากไอออนหรือสารละลาย  $\text{AgNO}_3$   $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$   $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$   $\text{Ni}(\text{NO}_3)_2$  และ  $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$  ที่ความเข้มข้น 1 ถึง 600 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 12 ชั่วโมง และคำนวณเปอร์เซ็นต์ความเป็นพิษของโลหะที่มีผลต่อพืชโดยแสดงดังสมการ

$$\text{เปอร์เซ็นต์ความเป็นพิษ} = (\text{จำนวนใบที่ตายหรือเหี่ยว} / \text{จำนวนใบทั้งหมด}) \times 100$$

จากนั้นศึกษาลักษณะทางกายภาพจากภาพตัดขวางของรากพืช โดยการนำส่วนปลายราก (root tip) ที่ได้หลังการแช่ในสารละลายโลหะหนักที่ความเข้มข้นต่าง ๆ มาตัดตามขวางด้วยวิธี free hand section จากนั้นศึกษาลักษณะทางกายภาพของภาพตัดขวางด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง

#### 3.2 การศึกษาการดูดซึมสารละลายโลหะหนักของผักตบชวา

นำผักตบชวาที่มีความสูงประมาณ 30 เซนติเมตร มาล้างในน้ำปราศจากไอออน เพื่อกำจัดฝุ่น และไอออนของโลหะต่าง ๆ ที่ปนเปื้อนมากับรากพืชน้ำเป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นคัดเลือกพืชน้ำที่มีความสมบูรณ์ และมีขนาดใกล้เคียงกันมาแช่ในน้ำปราศจากไอออนหรือสารละลาย  $\text{AgNO}_3$   $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$   $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$   $\text{Ni}(\text{NO}_3)_2$  และ  $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$  ที่ความเข้มข้นที่ทำให้เกิดพิษที่ 10 เปอร์เซ็นต์ (จากการวิเคราะห์ในข้อ 3.1) เป็นเวลา 12 ชั่วโมง จากนั้นตัดปลายรากที่ระดับความยาว 1 เซนติเมตร มาล้างด้วยสารละลาย Ethylenediaminetetraacetic

acid (EDTA, pH 8.0) ความเข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์ และศึกษาการดูดซึมสารละลายโลหะหนักภายในรากพืช น้ำด้วยเทคนิค Energy dispersive X-ray fluorescence (EDXRF)

### 3.3 การศึกษาผลการเปลี่ยนแปลงหมู่ฟังก์ชันของสารชีวโมเลกุลภายในเซลล์พืช

นำผักตบชวาที่มีความสูงประมาณ 30 เซนติเมตร มาล้างในน้ำปราศจากไอออน เพื่อกำจัดฝุ่น และไอออนของโลหะต่าง ๆ ที่ปนเปื้อนมากับรากพืชเป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นคัดเลือกพืชที่มีความสมบูรณ์ และมีขนาดใกล้เคียงกันมาแช่ในน้ำปราศจากไอออนหรือสารละลาย  $\text{AgNO}_3$   $\text{Cu(NO}_3)_2$   $\text{Fe(NO}_3)_3$   $\text{Ni(NO}_3)_2$  และ  $\text{Pb(NO}_3)_2$  ที่ความเข้มข้นที่ทำให้เกิดพิษที่ 10 เปอร์เซ็นต์ (จากการวิเคราะห์ในข้อ 3.1) เป็นเวลา 12 ชั่วโมง จากนั้นตัดปลายรากที่ระดับความยาว 1 เซนติเมตร มาล้างด้วยสารละลาย 10 มิลลิโมลาร์ EDTA จากนั้นอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำตัวอย่างแห้งที่ได้มาวิเคราะห์หมู่ฟังก์ชันของสารชีวโมเลกุลภายในเซลล์พืชด้วยเทคนิค Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR) ที่ความยาวคลื่น 400–4000 เซนติเมตร<sup>-1</sup>

### 3.4 การศึกษาการสะสมของอนุภาคนาโนของโลหะหนักออกไซด์ในผักตบชวา

นำผักตบชวาที่มีความสูงประมาณ 30 เซนติเมตร มาล้างในน้ำปราศจากไอออน เพื่อกำจัดฝุ่น และไอออนของโลหะต่าง ๆ ที่ปนเปื้อนมากับรากพืชเป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นคัดเลือกพืชที่มีความสมบูรณ์ และมีขนาดใกล้เคียงกันมาแช่ในน้ำปราศจากไอออนหรือสารละลาย  $\text{AgNO}_3$   $\text{Cu(NO}_3)_2$   $\text{Fe(NO}_3)_3$   $\text{Ni(NO}_3)_2$  และ  $\text{Pb(NO}_3)_2$  ที่ความเข้มข้นที่ทำให้เกิดพิษที่ 10 เปอร์เซ็นต์ (จากการวิเคราะห์ในข้อ 3.1) เป็นเวลา 12 ชั่วโมง จากนั้นตัดปลายรากที่ระดับความยาว 1 เซนติเมตร มาล้างด้วยสารละลาย 10 มิลลิโมลาร์ EDTA จากนั้นเตรียมตัวอย่างพืชในสเปียร์เรซิน และตัดให้มีความหนา 70 นาโนเมตรด้วย ultramicrotome แล้วศึกษาการสะสมอนุภาคนาโนโลหะในพืชภายใต้กล้อง Transmission electron microscopy (TEM) เปรียบเทียบกับพืชที่แช่ในน้ำปราศจากไอออน

## บทที่ 4

### ผลการทดลองและอภิปรายผลการทดลอง

#### 4.1 การวัดความเป็นพิษของสารละลายโลหะหนักต่อพืช

ความเป็นพิษของสารละลายโลหะหนัก 5 ชนิดต่อผักตบชวา จากการเปลี่ยนแปลงเชิงสัณฐานวิทยา (morphological change) ของใบผักตบชวาที่มีลักษณะเหี่ยวและตายหลังจากที่ได้รับสารละลายโลหะหนัก ดังกล่าวที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน เป็นเวลา 12 ชั่วโมง ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 4.1 ซึ่งแสดงผลร้อยละความเป็นพิษ (%Toxicity value หรือ %TC) ของสารละลายโลหะทั้ง 5 ชนิด (สารละลาย  $\text{AgNO}_3$   $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$   $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$   $\text{Ni}(\text{NO}_3)_2$  และ  $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ ) ต่อผักตบชวา เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารละลายโลหะทุกชนิดมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงเชิงสัณฐานวิทยาของผักตบชวาที่เพิ่มขึ้น (จำนวนใบที่เปลี่ยนแปลงลักษณะทางกายภาพแบบแปรผันตรงกับความเข้มข้น (dose-dependent response))

จากลักษณะของใบ ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า สารละลายโลหะ  $\text{AgNO}_3$  มีความเป็นพิษต่อผักตบชวา มากที่สุด รองลงมาคือ  $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$   $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$   $\text{Ni}(\text{NO}_3)_2$  และ  $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$  ตามลำดับ ซึ่งวิเคราะห์ได้จากค่าความเข้มข้นของสารละลายที่เป็นพิษต่อพืช อย่างไรก็ตามผลการศึกษานี้เป็นการวิเคราะห์จากลักษณะการเปลี่ยนแปลงภายนอกของใบพืชเท่านั้น ดังนั้นผลความเป็นพิษของสารละลายต่อพืชอาจเปลี่ยนแปลงจากข้อมูลข้างต้นหากทำการวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงภายในเซลล์

จากการศึกษาของ Malar และทีมวิจัยจากห้องปฏิบัติการ Plant Genetic Engineering and Molecular Biology ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ มหาวิทยาลัย Periyar ประเทศอินเดียรายงานว่า โลหะหนักประเภทตะกั่ว ที่ความเข้มข้นต่ำจะส่งผลเชิงสัณฐานวิทยาต่อพืชน้อยมากเนื่องจากพืชมีกลไกในการลดความเป็นพิษของโลหะ ข้างต้นโดยอาศัยการทำงานของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant enzyme) และ สารอินทรีย์ต่าง ๆ แต่อย่างไรก็ตามเมื่อความเข้มข้นของโลหะชนิดดังกล่าวสูงขึ้น (มากกว่า 1000 มิลลิกรัม ต่อ

ลิตร) โลหะดังกล่าวสามารถเหนี่ยวนำให้เกิดการลดลงของกิจกรรมการสังเคราะห์แสงได้มากกว่าร้อยละ 50 มากไปกว่านั้น อีออนของโลหะตะกั่วยังสามารถจับกับหมู่ฟังก์ชันไทออล (–SH) ไฮดรอกซิล (–OH) ซึ่งส่วนใหญ่เป็นหมู่ฟังก์ชันที่สำคัญของโปรตีนและเอนไซม์หลายชนิด จึงส่งผลให้สารชีวโมเลกุลเหล่านั้นทำงานทำงานผิดปกติหรือถูกยับยั้งการทำงานได้ (Malar et al., 2014)

**ตารางที่ 4.1** ความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละความเป็นพิษ (TC10 TC20 TC50 และ TC80) ของสารละลาย  $\text{AgNO}_3$   $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$   $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$   $\text{Ni}(\text{NO}_3)_2$  และ  $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$  ต่อการเปลี่ยนแปลงเชิงสัณฐานวิทยาของผักตบชวา

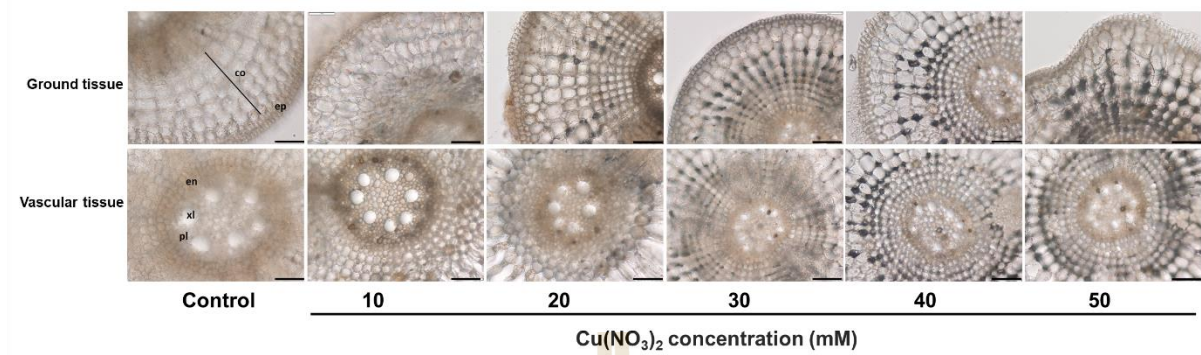
Treatment	Concentrations (mM) at			
	TC10	TC20	TC50	TC80
$\text{AgNO}_3$	$2.79 \pm 1.17^a$	$3.67 \pm 3.18^a$	$5.82 \pm 0.16^a$	$9.24 \pm 2.34^a$
$\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$	$27.17 \pm 1.06^b$	$32.13 \pm 8.11^b$	$42.67 \pm 2.56^b$	$56.66 \pm 1.06^b$
$\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$	$28.46 \pm 0.99^c$	$32.46 \pm 4.74^b$	$40.53 \pm 1.63^b$	$50.60 \pm 1.27^c$
$\text{Ni}(\text{NO}_3)_2$	$307.99 \pm 0.74^d$	$350.04 \pm 21.53^c$	$434.49 \pm 38.15^c$	$539.29 \pm 2.57^d$
$\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$	$281.85 \pm 1.46^e$	$370.57 \pm 4.36^d$	$588.24 \pm 3.65^d$	$933.77 \pm 5.26^e$

N = 5, p < 0.05, two replications

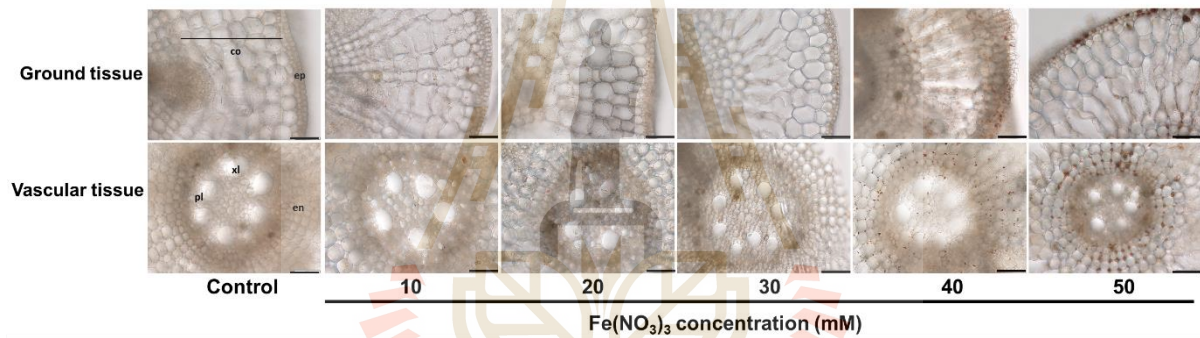
เมื่อนำเฉพาะรากผักตบชวา (ห่างจากปลายราก 1 เซนติเมตร) ที่แช่ในสารละลาย  $\text{AgNO}_3$   $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$   $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$   $\text{Ni}(\text{NO}_3)_2$  และ  $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$  มาตัดตามขวางและศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง เปรียบเทียบกับรากพืชที่แช่ในน้ำปราศจากอีออน ผลการทดลองพบการสะสมอนุภาคสีดำ/สีส้ม ที่กระจุกตัวอยู่บริเวณเยื่อหุ้มเซลล์ของเนื้อเยื่อพีเตอริส คอร์เท็กซ์ และกลุ่มของมัดท่อลำเลียง (vascular bundle) ของรากผักตบชวาที่แช่ในสารละลาย  $\text{AgNO}_3$   $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$   $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$  และ  $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$  ที่



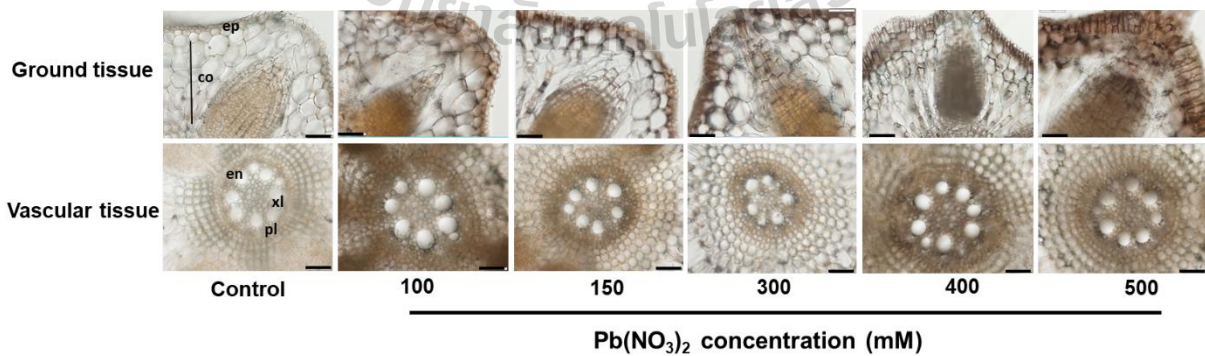
ความเข้มข้นต่าง ๆ ดังภาพที่ 4.1 ถึง ภาพที่ 4.5 แต่ไม่พบการสะสมของอนุภาคดังกล่าวในรากผักตบชวาที่แช่ด้วยสารละลาย  $\text{Ni}(\text{NO}_3)_2$  และรากพืชชุดควบคุม



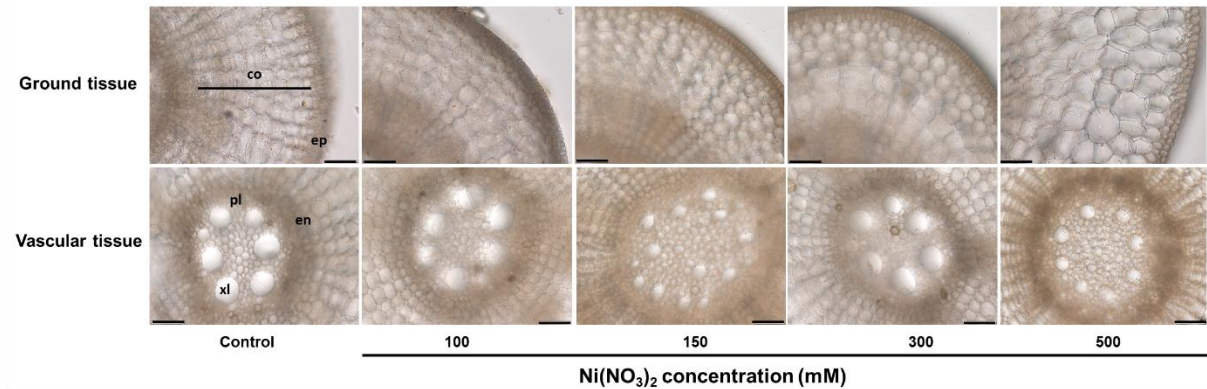
ภาพที่ 4.1 ภาพตัดขวางของรากผักตบชวาที่แช่ในสารละลาย  $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$  ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง



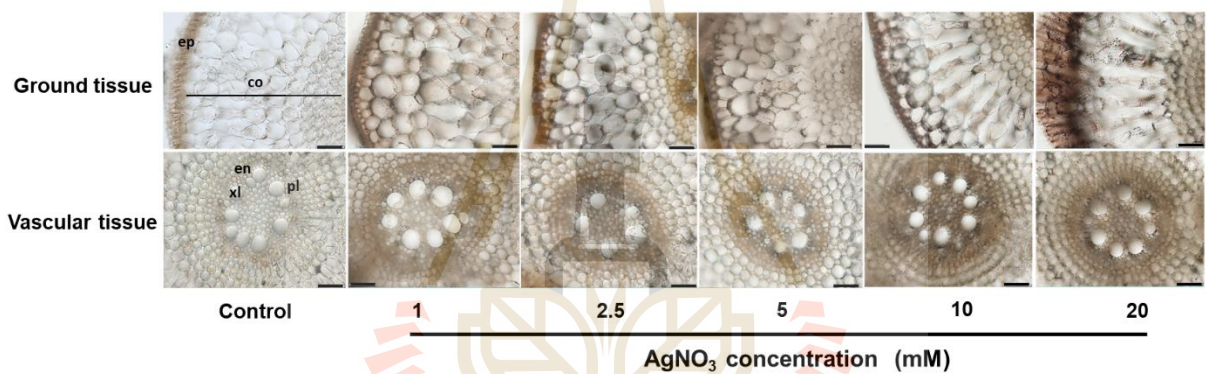
ภาพที่ 4.2 ภาพตัดขวางของรากผักตบชวาที่แช่ในสารละลาย  $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$  ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง



ภาพที่ 4.3 ภาพตัดขวางของรากผักตบชวาที่แช่ในสารละลาย  $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$  ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง



ภาพที่ 4.4 ภาพตัดขวางของรากผักตบชวาที่แช่ในสารละลาย  $\text{Ni}(\text{NO}_3)_2$  ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง



ภาพที่ 4.5 ภาพตัดขวางของรากผักตบชวาที่แช่ในสารละลาย  $\text{AgNO}_3$  ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง

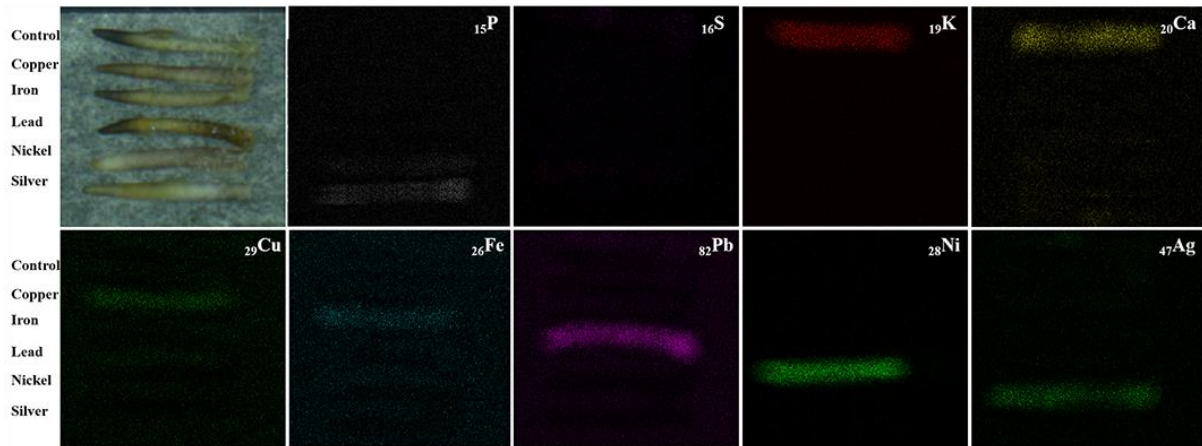
โดยทั่วไปไอออนของโลหะสามารถเข้าสู่เซลล์รากผ่านระบบอะพลาสต์ (apoplast) ซึ่งเป็นการเคลื่อนที่ของไอออนจากเซลล์หนึ่งไปยังอีกเซลล์หนึ่งโดยผ่านช่องว่างระหว่างผนังเซลล์ในชั้น cortex และผ่านเซลล์ที่ไม่มีชีวิต ได้แก่ เทรคีด และเวสเซล ยกเว้นเอนโดเดอร์มิส (Shahid et al., 2017) ขณะเดียวกัน ไอออนของโลหะชนิดต่าง ๆ สามารถผ่านเข้าสู่เซลล์พืชได้ด้วยระบบซิมพลาสต์ (symplast) ซึ่งเป็นการเคลื่อนที่ของไอออนจากเซลล์รากผ่านเข้าไปในเซลล์จากเซลล์หนึ่งไปสู่อีกเซลล์หนึ่งโดยผ่านทางพลาสโมเดสมตา (plasmodesmata) ของชั้น cortex เข้าสู่โปรโทพลาสซึม และ แวกคิวโอล (Ovečka and Takáč, 2014) ในการสังเกตเห็นการสะสมและการกระจายตัวของอนุภาคสีดำ/ส้มบริเวณต่าง ๆ รากพืชที่แช่ในสารละลาย  $\text{AgNO}_3$   $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$



$\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$  และ  $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$  คาดว่าเกิดจากการตอบสนองของพืชในการลดความเป็นพิษที่เกิดจากไอออนของโลหะหนักที่แพร่เข้าสู่เซลล์รากพืช โดยจากรายงานการวิจัยของ Huyi He และทีมวิจัยจาก คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัย Nanning ประเทศจีนที่ตีพิมพ์ในวารสาร *Ecotoxicology and Environmental Safety* ในปี 2561 ระบุว่า พืชมีกลไกในการตอบสนองและลดความเป็นพิษที่เกิดจากไอออนของโลหะหนักโดยการหลั่งสารบางชนิด เช่น metallothioneins phytochelatins โปรตีน และกรดอินทรีย์ ซึ่งทำหน้าที่จับกับไอออนของโลหะหนักแล้วรวมเป็นสารประกอบที่เรียกว่า metal-organic complex สะสมอยู่บริเวณต่าง ๆ ของเซลล์พืช (He et al., 2018) แต่อย่างไรก็ตาม เมื่อความเข้มข้นของสารละลายโลหะหนักเพิ่มขึ้น จะมีผลทำให้ปริมาณไอออนของโลหะหนักที่สามารถเข้าสู่เซลล์เพิ่มมากขึ้นด้วย ส่งผลกระทบทางกายภาพของพืชเปลี่ยนแปลงเช่น สีของรากเริ่มเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลจนถึงดำ รากเน่า ใบพืชเปลี่ยนสีและเหี่ยวอย่างรวดเร็ว เป็นต้น โดยการเปลี่ยนแปลงข้างต้นอาจเป็นผลเนื่องมาจากผล plasmolysis และ toxicity ของไอออนของโลหะที่สามารถเหนี่ยวนำให้เกิด อนุมูลอิสระ (reactive oxygen species หรือ ROS) ในพืชซึ่งเป็น oxidative stress มากไปกว่านั้นไอออน ของโลหะยังสามารถทำให้เกิดความผิดปกติของระบบการรักษาสสมดุลภายในเซลล์ ขัดขวางกระบวนการสังเคราะห์แสงของพืช ส่งผลให้เซลล์พืชแตกและตายได้ในที่สุด (Arif et al., 2016)

#### 4.2 การศึกษาการดูดซึมสารละลายโลหะหนักของพืช

การดูดซึมของไอออนโลหะหนักของพืชที่แช่ในสารละลาย  $\text{AgNO}_3$   $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$   $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$   $\text{Ni}(\text{NO}_3)_2$  และ  $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$  เปรียบเทียบกับพืชที่แช่ในน้ำปราศจากไอออน ได้วิเคราะห์ด้วยเทคนิค EDXRF ซึ่งสามารถวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงของธาตุได้ 31 ชนิด ผลการศึกษาแสดงดังรูปที่ 4.6 พบว่ามีการเปลี่ยนแปลงปริมาณธาตุต่าง ๆ ในรากพืชที่แช่ในสารละลาย  $\text{AgNO}_3$   $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$   $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$   $\text{Ni}(\text{NO}_3)_2$  และ  $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$  อย่างเห็นได้ชัดทั้งหมด 9 ชนิด ได้แก่  $^{15}\text{P}$   $^{16}\text{S}$   $^{19}\text{K}$   $^{20}\text{Ca}$   $^{26}\text{Fe}$   $^{28}\text{Ni}$   $^{29}\text{Cu}$   $^{47}\text{Ag}$  และ  $^{82}\text{Pb}$



ภาพที่ 4.6 EDXRF mapping ของรากผักตบชวาที่แช่ในสารละลาย  $\text{AgNO}_3$   $\text{Cu(NO}_3)_2$   $\text{Fe(NO}_3)_3$   $\text{Ni(NO}_3)_2$  และ  $\text{Pb(NO}_3)_2$  เปรียบเทียบกับพืชควบคุม (แช่น้ำปราศจากไอออน) ที่เวลา 12 ชั่วโมง

ผลการวิเคราะห์ปริมาณธาตุชนิดต่าง ๆ ที่ถูกดูดซึมภายในรากผักตบชวาแสดงในตารางที่ 4.2 เมื่อเปรียบเทียบผักตบชวาที่แช่ในสารละลาย  $\text{AgNO}_3$   $\text{Cu(NO}_3)_2$   $\text{Fe(NO}_3)_3$   $\text{Ni(NO}_3)_2$  และ  $\text{Pb(NO}_3)_2$  พบว่ารากผักตบชวามีความสามารถในการดูดซึมไอออนของโลหะหนักมากที่สุด (ร้อยละ 81.68) รองลงมาคือ ตะกั่ว ทองแดง ซิลเวอร์ และนิกเกิล (ร้อยละ 81.12 78.88 62.17 และ 59.26) ตามลำดับ

ทั้งนี้กลไกที่เกี่ยวข้องกับการดูดซึมสารละลายโลหะหนักจากสิ่งแวดล้อมเข้าสู่เซลล์พืชนั้นมีรายงานที่เกี่ยวข้องกับโปรตีนหลายชนิดที่ฝังอยู่ในเยื่อหุ้มเซลล์ ได้แก่ 1) zinc-responsive transporter/iron-responsive transporter-like หรือ ZIP 2) Cu-transporter protein หรือ COPT (Yruela, 2009) 3) iron-nicotianamine transporters (Aydemir and Cousins, 2018) 4) plant natural resistance-associated macrophage protein หรือ NRAMP (Thomine et al., 2000) 5) high-affinity nickel transport 6) metallothionein และ 7) metallochaperones (Chen et al., 2009)

นอกจากนั้นจากการทดลองพบว่าปริมาณธาตุโพแทสเซียม ( $^{19}\text{K}$ ) และธาตุแคลเซียม ( $^{20}\text{Ca}$ ) มีปริมาณลดลงในรากพืชที่แช่ในสารละลาย  $\text{AgNO}_3$   $\text{Cu(NO}_3)_2$   $\text{Fe(NO}_3)_3$   $\text{Ni(NO}_3)_2$  และ  $\text{Pb(NO}_3)_2$  เมื่อเปรียบเทียบกับรากพืชที่แช่น้ำปราศจากไอออน อาจเป็นผลเนื่องมาจากโลหะหนักข้างต้นสามารถเข้าสู่เซลล์ผ่านช่องเดียวกันกับ

ธาตุโพแทสเซียมและธาตุแคลเซียมได้ ซึ่งเป็นการแย่งชิงและขัดขวางการดูดซึมแร่ธาตุดังกล่าวเข้าสู่เซลล์พืช ส่งผลทำให้พบปริมาณธาตุทั้งสองน้อยลง (Ahmad et al., 2016) นอกจากนี้ จากการทดลองยังพบว่ามีปริมาณธาตุฟอสฟอรัส ( $^{15}\text{P}$ ) เพิ่มขึ้นในรากที่แช่ในสารละลาย  $\text{Ni}(\text{NO}_3)_2$  และ  $\text{AgNO}_3$  (ภาพที่ 4.11) สันนิษฐานว่าอาจเป็นผลเนื่องมาจากการตอบสนองของพืชต่อโลหะนิกเกิลและซิลเวอร์ในกระบวนการกำจัดสารพิษของพืช (metal detoxification) โดยการเกิดอันตรกิริยาระหว่างโลหะกับสารประกอบ polyphosphates ในเซลล์พืช (Guasch et al., 2004)

**ตารางที่ 4.2** ปริมาณแร่ธาตุที่พบในรากผักตบชวาที่แช่ในสารละลาย  $\text{AgNO}_3$   $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$   $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$   $\text{Ni}(\text{NO}_3)_2$  และ  $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$

Elements	Ctrl	Elemental concentrations (% mass) in plant roots treated by				
		$\text{AgNO}_3$	$\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$	$\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$	$\text{Ni}(\text{NO}_3)_2$	$\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$
$^{15}\text{P}$	$1.22 \pm 1.01^a$	$37.94 \pm 1.50^c$	$1.57 \pm 0.13^a$	$0.50 \pm 1.21^a$	$31.43 \pm 3.50^b$	$2.02 \pm 2.63^a$
$^{16}\text{S}$	$0.27 \pm 0.18^a$	$0.02 \pm 0.03^a$	$0.66 \pm 0.80^a$	$0.82 \pm 1.21^a$	$0.30 \pm 0.46^a$	$0.19 \pm 0.40^a$
$^{19}\text{K}$	$64.48 \pm 4.36^b$	$0.59 \pm 1.20^a$	$1.26 \pm 0.32^a$	$1.64 \pm 1.26^a$	$0.85 \pm 1.21^a$	$1.50 \pm 1.77^a$
$^{20}\text{Ca}$	$55.47 \pm 1.97^b$	$0.79 \pm 0.36^a$	$0.37 \pm 0.28^a$	$1.18 \pm 0.77^a$	$1.32 \pm 0.57^a$	$1.46 \pm 0.33^a$
$^{29}\text{Cu}$	$0.38 \pm 0.43^a$	$1.66 \pm 0.85^a$	$78.88 \pm 2.73^b$	$1.91 \pm 0.49^a$	$0.29 \pm 0.19^a$	$0.37 \pm 0.15^a$
$^{16}\text{Fe}$	$0.99 \pm 1.08^a$	$1.77 \pm 2.41^a$	$0.53 \pm 0.35^a$	$81.68 \pm 3.57^b$	$0.86 \pm 0.36^a$	$1.89 \pm 0.29^a$
$^{82}\text{Pb}$	$0.00 \pm 0.00^a$	$0.01 \pm 0.01^a$	$0.08 \pm 0.04^a$	$1.08 \pm 0.68^a$	$2.02 \pm 1.81^a$	$81.12 \pm 4.12^b$
$^{28}\text{Ni}$	$0.08 \pm 0.19^a$	$0.05 \pm 0.08^a$	$0.13 \pm 0.09^{a,b}$	$1.30 \pm 0.29^{a,b}$	$59.26 \pm 3.75^c$	$3.17 \pm 0.60^{a,b}$
$^{47}\text{Ag}$	$0.19 \pm 0.20^a$	$62.17 \pm 3.36^b$	$0.88 \pm 0.76^a$	$0.88 \pm 0.86^a$	$0.06 \pm 0.09^a$	$0.09 \pm 0.06^a$

N = 5, p < 0.05, two replications.

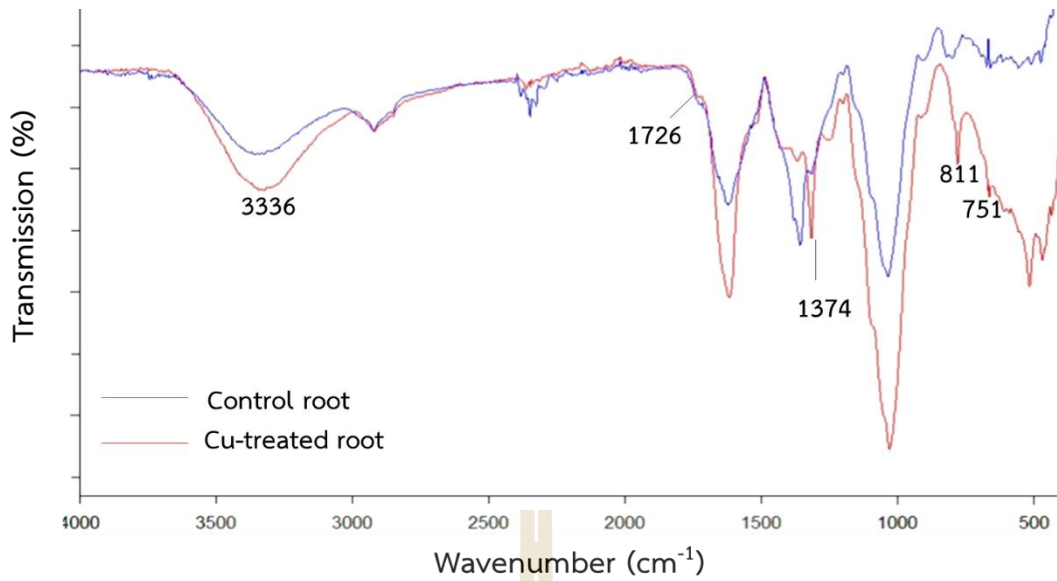
Note: Each element of the treated plant root was compared with that of the control.

### 4.3 การศึกษาผลของโลหะต่อการเปลี่ยนแปลงหมู่ฟังก์ชันของสารชีวโมเลกุล

ผลของการดูดซึมไอออนของโลหะจากสารละลาย  $\text{AgNO}_3$   $\text{Cu(NO}_3)_2$   $\text{Fe(NO}_3)_3$   $\text{Ni(NO}_3)_2$  และ  $\text{Pb(NO}_3)_2$  ต่อผักตบชวา ได้ทำการศึกษาโดยใช้เทคนิค FTIR โดยวิเคราะห์จากการเปลี่ยนแปลงหมู่ฟังก์ชันของสารชีวโมเลกุลในรากผักตบชวาที่แช่ในสารละลายข้างต้นเปรียบเทียบกับรากผักตบชวาที่แช่ในน้ำปราศจากไอออนจากการทดลองพบว่าหมู่ฟังก์ชันของสารชีวโมเลกุลในรากผักตบชวามีการเปลี่ยนแปลงดังนี้

#### 4.3.1. ผลของโลหะทองแดง

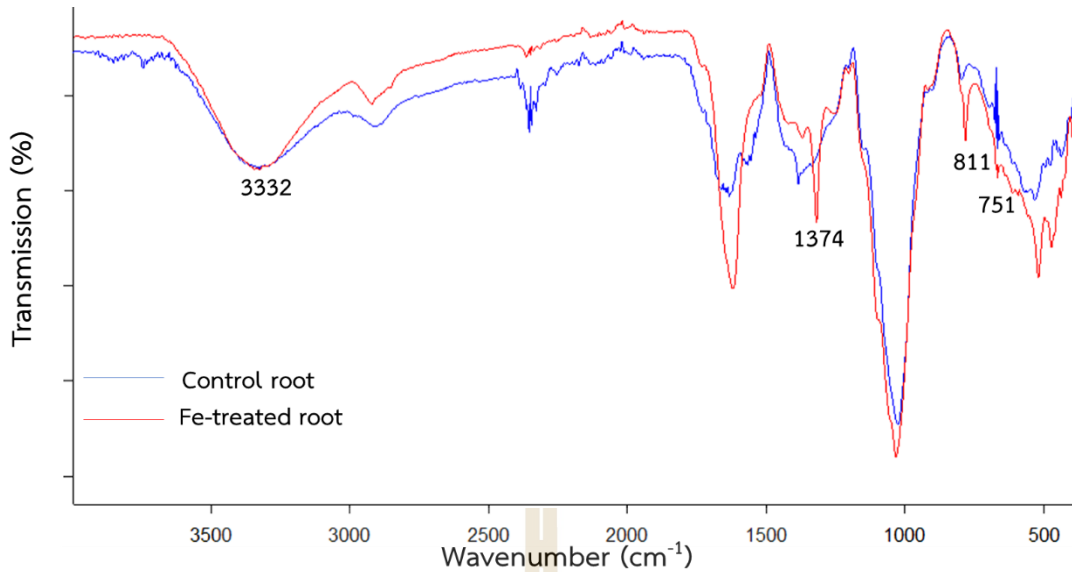
ผลการวิเคราะห์รากผักตบชวาที่แช่ในสารละลาย  $\text{Cu(NO}_3)_2$  ด้วยเทคนิค FTIR แสดงในภาพที่ 4.7 โดยพบพีกเอกลักษณ์ของสารชีวโมเลกุลที่เพิ่มขึ้นในรากผักตบชวาที่แช่กับ  $\text{Cu(NO}_3)_2$  เมื่อเปรียบเทียบกับรากผักตบชวาในชุดควบคุม ดังนี้ พีกเอกลักษณ์ที่  $3336 \text{ เซนติเมตร}^{-1}$  ซึ่งแสดงเอกลักษณ์ที่สำคัญของหมู่ฟังก์ชัน O-H ที่มีการสั่นแบบ stretching vibration ของสารประกอบ phenolic และ คาร์โบไฮเดรต ซึ่งเป็นสารประกอบหลักของเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส เพกติน และลิกนิน (Mira et al., 2002) พีกเอกลักษณ์ที่ 1726  $1374$  และ  $811 \text{ เซนติเมตร}^{-1}$  ซึ่งเป็นเอกลักษณ์ที่สำคัญของหมู่ฟังก์ชัน C=O ที่มีการสั่นแบบ stretching ของสารประกอบคาร์บอนิลของเอไมด์ชนิดที่ 1 หมู่ฟังก์ชัน C-N ของเอไมด์ ชนิดที่ 2 และ N-H ของโปรตีน ตามลำดับ (Suresh et al., 2016a; 2016b) พีกเอกลักษณ์ที่ตำแหน่ง  $751 \text{ เซนติเมตร}^{-1}$  ซึ่งแสดงเอกลักษณ์ที่สำคัญของหมู่ฟังก์ชัน N-C ของสารพันธุกรรม (Puig et al., 2007)



ภาพที่ 4.7 FTIR สเปกตราของรากผักตบชวาที่มีการดูดซึมไอออนของโลหะทองแดงเปรียบเทียบกับชุดควบคุม

#### 4.3.2 ผลของโลหะเหล็ก

สำหรับรากผักตบชวาที่แช่ในสารละลาย  $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$  เมื่อวิเคราะห์ด้วยเทคนิค FTIR พบพีคเอกลักษณ์ของสารชีวโมเลกุลที่เพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับรากผักตบชวาในชุดควบคุม ซึ่งคล้ายกับรากพืชที่แช่กับสารละลาย  $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$  ซึ่งรายงานไว้ข้างต้น ผลการวิเคราะห์รากผักตบชวาที่แช่ในสารละลาย  $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$  แสดงในภาพที่ 4.8 โดยพบพีคเอกลักษณ์ที่ 3332  $\text{cm}^{-1}$  ซึ่งแสดงเอกลักษณ์ที่สำคัญของหมู่ฟังก์ชัน O-H ที่มีการสั่นแบบ stretching vibration ของสารประกอบ phenolic และ คาร์โบไฮเดรต ซึ่งเป็นสารประกอบหลักของเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส เพกติน และลิกนิน (Mira et al., 2002) ขณะเดียวกันพบพีคเอกลักษณ์ที่ 1374 และ 811  $\text{cm}^{-1}$  ซึ่งแสดงเอกลักษณ์ที่สำคัญของหมู่ฟังก์ชัน C-N ของเอไมด์ ชนิดที่ 2 และ N-H ของโปรตีน ตามลำดับ (Suresh et al., 2016a; 2016b) พีคเอกลักษณ์ที่ตำแหน่ง 751  $\text{cm}^{-1}$  ที่แสดงเอกลักษณ์ที่สำคัญของหมู่ฟังก์ชัน N-C ของสารพันธุกรรม (Puig et al., 2007)

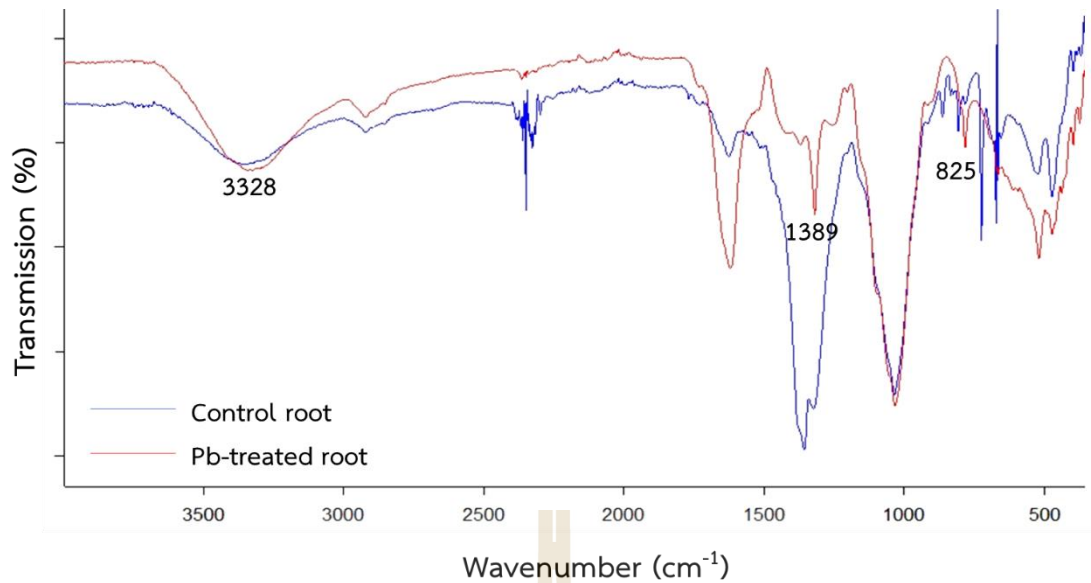


ภาพที่ 4.8 FTIR สเปกตราของรากผักตบชวาที่มีการดูดซึมไอออนของโลหะเหล็กเปรียบเทียบกับชุดควบคุม

#### 4.3.3 ผลของโลหะตะกั่ว

ผลการวิเคราะห์รากผักตบชวาที่แช่ในสารละลาย  $Pb(NO_3)_2$  ด้วยเทคนิค FTIR แสดงในภาพที่ 4.9 โดยพบพีคเอกลักษณ์ที่ 3328 เซนติเมตร<sup>-1</sup> ซึ่งแสดงเอกลักษณ์ที่สำคัญของหมู่ฟังก์ชัน O-H ที่มีการสั่นแบบ stretching vibration ของสารประกอบ phenolic และ คาร์โบไฮเดรต ซึ่งเป็นสารประกอบหลักของเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส เพกติน และลิกนิน (Mira et al., 2002) นอกจากนี้พบพีคเอกลักษณ์ที่ 1389 และ 825 เซนติเมตร<sup>-1</sup> ซึ่งแสดงเอกลักษณ์ที่สำคัญของหมู่ฟังก์ชัน C—N ของเอไมด์ ชนิดที่ 2 และ N—H ของโปรตีน ตามลำดับ (Suresh et al., 2016a;2016b) แต่ในการศึกษานี้ไม่พบพีคเอกลักษณ์ที่เกี่ยวข้องกับสารพันธุกรรม

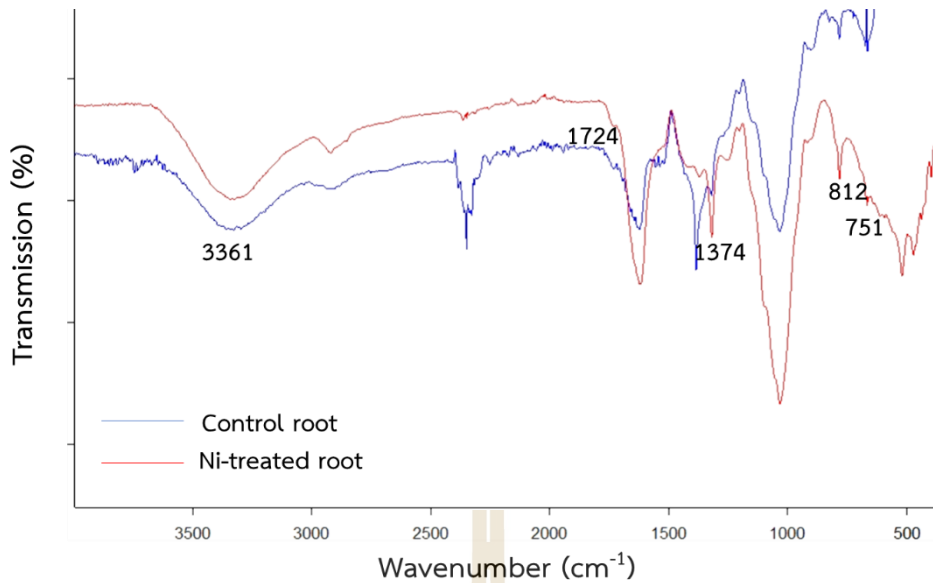




ภาพที่ 4.9 FTIR สเปกตรัมของรากผักตบชวาที่มีการดูดซึมไอออนของโลหะตะกั่วเปรียบเทียบกับชุดควบคุม

#### 4.3.4 ผลของโลหะหนักเกิด

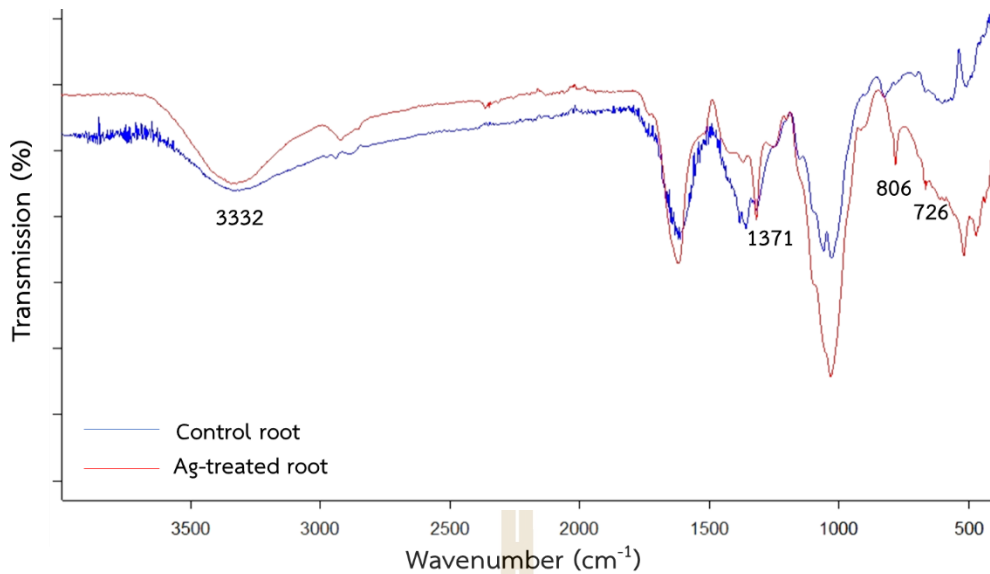
ผลการวิเคราะห์รากผักตบชวาที่แช่ในสารละลาย  $\text{Ni}(\text{NO}_3)_2$  ด้วยเทคนิค FTIR แสดงในภาพที่ 4.10 จากการทดลองพบพีคที่  $3361 \text{ เซนติเมตร}^{-1}$  ซึ่งแสดงเอกลักษณ์ที่สำคัญของหมู่ฟังก์ชัน O-H ที่มีการสั่นแบบ stretching vibration ของสารประกอบ phenolic และ คาร์โบไฮเดรต ซึ่งเป็นสารประกอบหลักของเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส เพกติน และลิกนิน (Mira et al., 2002) พบพีคที่  $1724 \text{ } 1374 \text{ และ } 812 \text{ เซนติเมตร}^{-1}$  ซึ่งแสดงเอกลักษณ์ที่สำคัญของหมู่ฟังก์ชัน C=O ที่มีการสั่นแบบ stretching ของสารประกอบคาร์บอนิลของเอไมด์ ชนิดที่ 1 หมู่ฟังก์ชัน C–N ของเอไมด์ ชนิดที่ 2 และ N–H ของโปรตีน ตามลำดับ (Suresh et al., 2016a;2016b) นอกจากนี้พบพีคที่ตำแหน่ง  $726 \text{ เซนติเมตร}^{-1}$  ซึ่งแสดงเอกลักษณ์ที่สำคัญของหมู่ฟังก์ชัน N–C ของสารพันธูกรรม (Puig et al., 2007)



ภาพที่ 4.10 FTIR สเปกตร้าของรากผักตบชวาที่มีการดูดซึมไอออนของโลหะนิกเกิลเปรียบเทียบกับชุดควบคุม

#### 4.3.5 ผลของโลหะซิลเวอร์

ผลการวิเคราะห์รากผักตบชวาที่แช่ในสารละลาย  $\text{AgNO}_3$  ด้วยเทคนิค FTIR แสดงในภาพที่ 4.11 โดยพบพีคเอกลักษณ์ที่  $3332 \text{ cm}^{-1}$  ซึ่งแสดงเอกลักษณ์ที่สำคัญของหมู่ฟังก์ชัน O-H ที่มีการสั่นแบบ stretching vibration ของสารประกอบ phenolic และ คาร์โบไฮเดรต ซึ่งเป็นสารประกอบหลักของเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส เพกติน และลิกนิน (Mira et al., 2002) พบพีคเอกลักษณ์ที่  $1371$  และ  $806 \text{ cm}^{-1}$  ซึ่งแสดงเอกลักษณ์ที่สำคัญของหมู่ฟังก์ชัน C—N ของเอไมด์ ชนิดที่ 2 และ N—H ของโปรตีน ตามลำดับ (Suresh et al., 2016a;2016b) นอกจากนี้พบพีคที่ตำแหน่ง  $726 \text{ cm}^{-1}$  ซึ่งแสดงเอกลักษณ์ที่สำคัญของหมู่ฟังก์ชัน N—C ของสารพันธุกรรม (Puig et al., 2007)



ภาพที่ 4.11 FTIR สเปกตราของรากผักตบชวาที่มีการดูดซึมไอออนของโลหะซิลเวอร์เปรียบเทียบกับชุดควบคุม

จากการศึกษาผลของไอออนทองแดง เหล็ก นิกเกิล ตะกั่ว และซิลเวอร์ ต่อการเปลี่ยนแปลงหมู่ฟังก์ชันของสารชีวโมเลกุลในรากผักตบชวาด้วยเทคนิค FTIR สามารถสรุปได้ดังตารางที่ 4.3 จากการการเปลี่ยนแปลงหมู่ฟังก์ชันของสารชีวโมเลกุลในรากผักตบชวาที่แช่ในสารละลายชนิดต่าง ๆ พบการเปลี่ยนแปลงของพีกเอกกักษณ์ในช่วง 3600–3300 เซนติเมตร<sup>-1</sup> ซึ่งแสดงเอกกักษณ์ที่สำคัญของหมู่ฟังก์ชัน O–H ที่มีการสั่นแบบ stretching vibration ของสารประกอบ phenolic และ คาร์โบไฮเดรต ซึ่งเป็นสารประกอบหลักของเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส เพกติน และลิกนิน ซึ่งหมู่ฟังก์ชันดังกล่าวมีผลในการจับกับประจุบวกของโลหะหนักที่บริเวณผนังเซลล์พืช และเกิดเป็นสารประกอบโลหะ-อินทรีย์สะสมอยู่บริเวณเยื่อหุ้มเซลล์ใกล้เคียงเซลล์ (Singh et al., 2016) นอกจากนี้ยังพบว่าพบพีกเอกกักษณ์ในช่วง 1800–1630 1500–1395 และ 1000–800 เซนติเมตร<sup>-1</sup> ซึ่งแสดงเอกกักษณ์ที่สำคัญของหมู่ฟังก์ชัน C–N ของเอไมด์ ชนิดที่ 2 และ N–H ของโปรตีนตามลำดับ อาจเป็นผลเนื่องมาจากการสร้างโปรตีนขึ้นมาใหม่เพื่อใช้ในการลดความเป็นพิษที่เกิดจากโลหะหนักของพืช (Hasan et al., 2017) ขณะเดียวกันยังพบพีกเอกกักษณ์ในช่วง 800–515 เซนติเมตร<sup>-1</sup> คาดว่าเป็น

พีคเอกลักษณ์ของหมู่ฟังก์ชัน N—C ของสารพันธุกรรมที่มีความสำคัญต่อการแสดงออกของยีนในกลไกการกำจัดโลหะหนักของพืช (Puig et al., 2007)

ตารางที่ 4.3 สรุปผลการเปลี่ยนแปลงหมู่ฟังก์ชันของสารชีวโมเลกุลในรากผักตบชวา

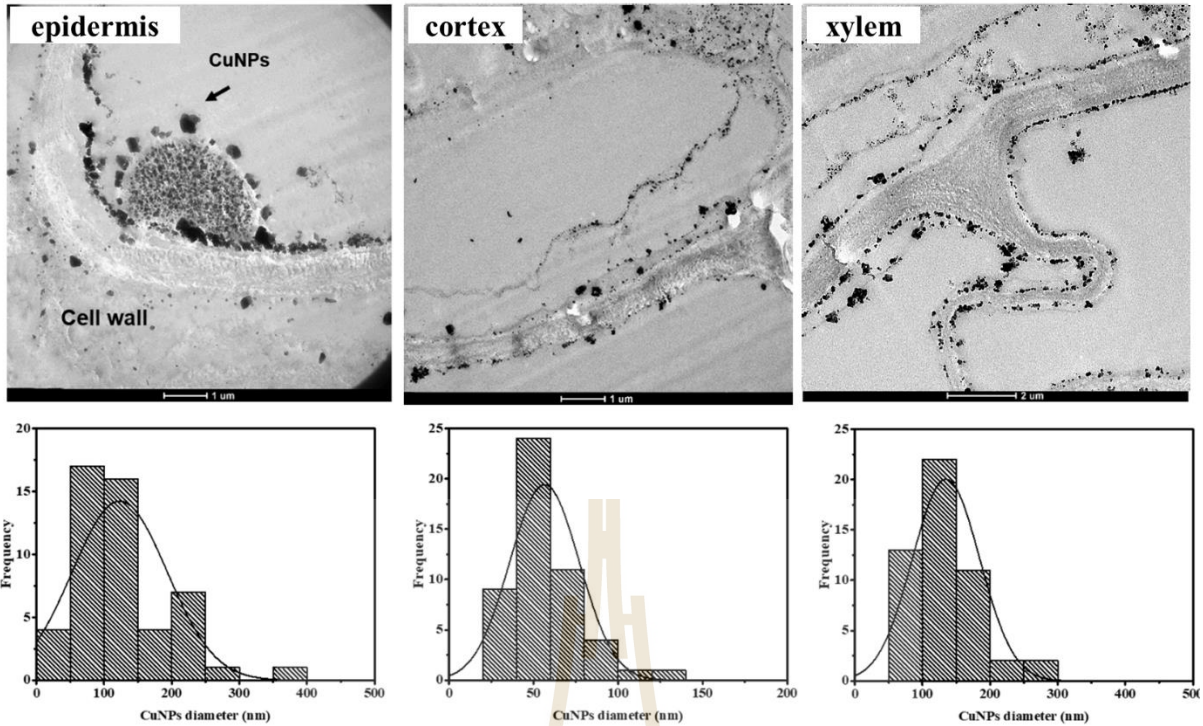
No.	FTIR peak (wave number, $\text{cm}^{-1}$ )							Functional groups	Biological compounds
	Standard reference	Ctrl root	Treated roots						
			Ag	Cu	Fe	Ni	Pb		
1	3600-3300	3332	3332	3336	3332	3361	3328	O—H	Carbohydrate, phenolic
2	1800-1630	nd	nd	1726	nd	1724	nd	C=O	Amine I proteins
3	1395-1370	nd	1371	1374	1374	1374	1389	C—N	Amide II proteins
5	1000-800	nd	806	811	811	812	825	N—H	Proteins
6	800-515	nd	726	751	751	726	nd	N—C	Nucleic acids

#### 4.4 การศึกษาการสะสมอนุภาคนาโนของโลหะในพืช

##### 4.4.1 การศึกษาการสะสมอนุภาคนาโนทองแดง

จากการศึกษาการสะสมอนุภาคนาโนทองแดงในรากผักตบชวาที่แช่ในสารละลาย  $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$  เป็นเวลา 12 ชั่วโมง ด้วยเทคนิค TEM พบว่าผักตบชวาที่แช่ในสารละลายดังกล่าว มีการสะสมของอนุภาคนาโนและกระจายอยู่บริเวณใกล้ผนังเซลล์ ช่องว่างระหว่างเซลล์ และเยื่อหุ้มเซลล์ของอีพิตีเดอริมิส คอร์เทกซ์ และไซเลม ดังแสดงในภาพที่ 4.12 ซึ่งอนุภาคบางส่วนมีรูปร่างไม่แน่นอน (amorphous) และส่วนใหญ่มีรูปร่างเป็นทรงกลม (spherical shape) ในอีพิตีเดอริมิสมีอนุภาคนาโนทองแดงขนาด  $123.7 \pm 31.1$  นาโนเมตร ในคอร์เทกซ์มีอนุภาคนาโนทองแดงขนาด  $56.5 \pm 20.6$  นาโนเมตร และในไซเลมมีอนุภาคนาโนทองแดงขนาด

34.3 ± 4.4 นาโนเมตร ทั้งนี้โดยทั่วไปบริเวณผนังเซลล์พืชประกอบไปด้วย 3 ส่วน ได้แก่ ผนังเซลล์ปฐมภูมิ เป็นผนังเซลล์ชั้นแรกที่สร้างขึ้น อยู่ด้านนอกสุดของเซลล์ ชั้นนี้มีส่วนประกอบหลักเป็นพอลิแซคคาไรด์ เช่น เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส เพกติน เป็นต้น และโปรตีน ชั้นถัดมาคือ ผนังเชื่อมยึดระหว่างเซลล์ (middle lamella) เป็นชั้นถัดมาจากผนังเซลล์ปฐมภูมิ ในชั้นนี้มีสารชีวโมเลกุลหลักคือ เพกติน และชั้นในสุดคือผนังเซลล์ทุติยภูมิ มีส่วนประกอบหลักคือ เซลลูโลส ซูเบอร์ริน และ คิวติน (Höfte and Voxeur, 2017) ซึ่งการทดลองนี้สอดคล้องกับการรายงานของ Salvadori และคณะผู้ร่วมวิจัย ในปี ค.ศ. 2014 โดยศึกษาการสังเคราะห์อนุภาคนาโนของโลหะหนัก 3 ชนิด ได้แก่ ตะกั่ว แคดเมียม และ ไทเทเนียมโดยใช้เซลล์ยีส จากการทดลองพบว่า อนุภาคนาโนของโลหะหนักเหล่านี้มีการสะสมที่บริเวณเยื่อหุ้มเซลล์ใกล้ผนังเซลล์ซึ่งคาดว่าเป็นผลเนื่องมาจากกลุ่มไฮดรอกซิล คาร์บอนิลของเพกตินที่ทำปฏิกิริยากับอ็อกซิเจนของโลหะหนักแล้วเกิดสารประกอบขึ้นที่บริเวณใกล้ผนังเซลล์ของพืช (Salvadori et al., 2014) นอกจากนี้ยังพบว่าอนุภาคนาโนสามารถสะสมได้ที่บริเวณเยื่อหุ้มเซลล์ได้ เนื่องจากอ็อกซิเจนของทองแดงบางส่วนสามารถเข้าสู่เซลล์ของพืชผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ผ่านระบบซิมพลาสโดยมี Proteins transporter เป็นสื่อกลางนำอ็อกซิเจนเข้าสู่เซลล์ และมีการทำปฏิกิริยาสารอินทรีย์ที่อยู่ภายในไซโทพลาสซึม เช่น กลูตาไธโอน ไฟโตคีเลติน เมทัลโลไธโอนิน โปรตีน สารประกอบฟีนอลิก และกรดอินทรีย์ต่าง ๆ เป็นต้น (Gharbi et al., 2005; Theriault and Nkongolo, 2016)



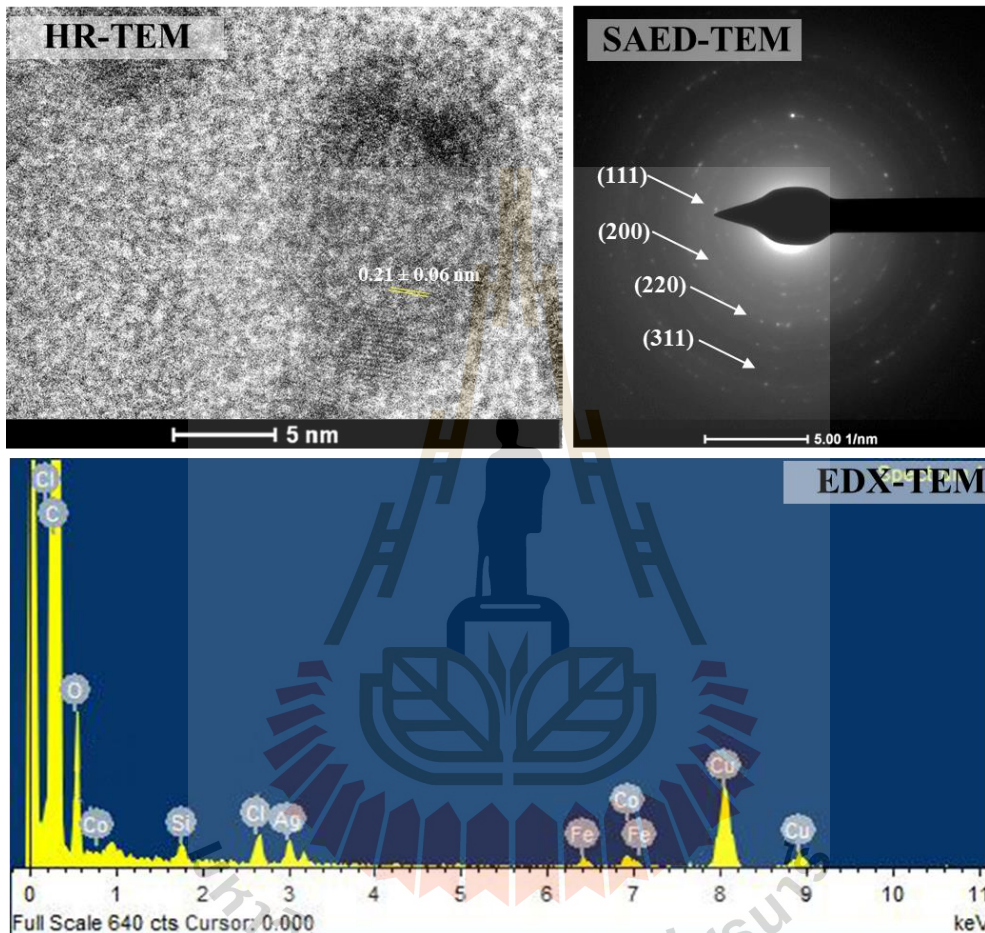
ภาพที่ 4.12 ภาพถ่าย TEM แสดงการสะสมของอนุภาคนาโนทองแดงที่กระจายอยู่บริเวณใกล้ผนังเซลล์ ช่องว่างระหว่างเซลล์ และเยื่อหุ้มเซลล์ของอีพิเดอร์มิส คอร์เทกซ์ และไซเล็มของรากผักตบชวาหลังจากที่แช่พืชในสารละลาย  $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$  เป็นเวลา 12 ชั่วโมง

เพื่อศึกษาเอกลักษณ์ของอนุภาคที่ได้จากเซลล์รากของผักตบชวาว่าเป็นอนุภาคนาโนทองแดง จึงได้วิเคราะห์อนุภาคดังกล่าวด้วยเทคนิค High resolution TEM (HR-TEM) เทคนิค Selected area TEM (SAED-TEM) และเทคนิค Energy-dispersive X-ray TEM (EDX-TEM) โดยผลการทดลองแสดงดังภาพที่ 4.13

ผลการวิเคราะห์ด้วย HR-TEM พบว่าระยะห่างระหว่างระนาบของอนุภาคนาโนมีค่าเท่ากับ  $0.21 \pm 0.06$  นาโนเมตร โดยสัมพันธ์กับค่าระนาบของผลึกในชั้น (111) ซึ่งแสดงถึงระนาบของอนุภาคนาโนของทองแดง เมื่อวิเคราะห์ด้วยเทคนิค SAED-TEM โดยการคำนวณจากค่า  $d$ -spacing พบว่าเมื่อเทียบกับค่ามาตรฐานหมายเลข 01-1242 (JCPDS-01-1242) ซึ่งมีค่าเท่ากับ 3.00 2.72 1.41 และ 1.28 อังสตรอม ซึ่งสัมพันธ์กับค่าระนาบของผลึกในชั้น hkl คือ (111) (200) (220) และ (311) ของโครงสร้างแบบ Face



centered cubic ของโลหะทองแดง (Wang et al., 2014) นอกจากนั้นผลของ EDX-TEM แสดงให้เห็นว่าอนุภาคนาโนที่ได้มีโลหะทองแดงเป็นองค์ประกอบหลัก ส่วนแร่ธาตุอื่น ๆ ที่ตรวจพบ น่าจะเป็นแร่ธาตุที่เป็นองค์ประกอบของสารอินทรีย์ต่าง ๆ ในเซลล์พืช



ภาพที่ 4.13 เอกลักษณะของอนุภาคนาโนทองแดงที่ได้จากเซลล์รากของผักตบชวาเมื่อวิเคราะห์ด้วยเทคนิค

HR-TEM SAED-TEM และ EDX-TEM

#### 4.4.2 การศึกษาการสะสมของอนุภาคนาโนเหล็ก

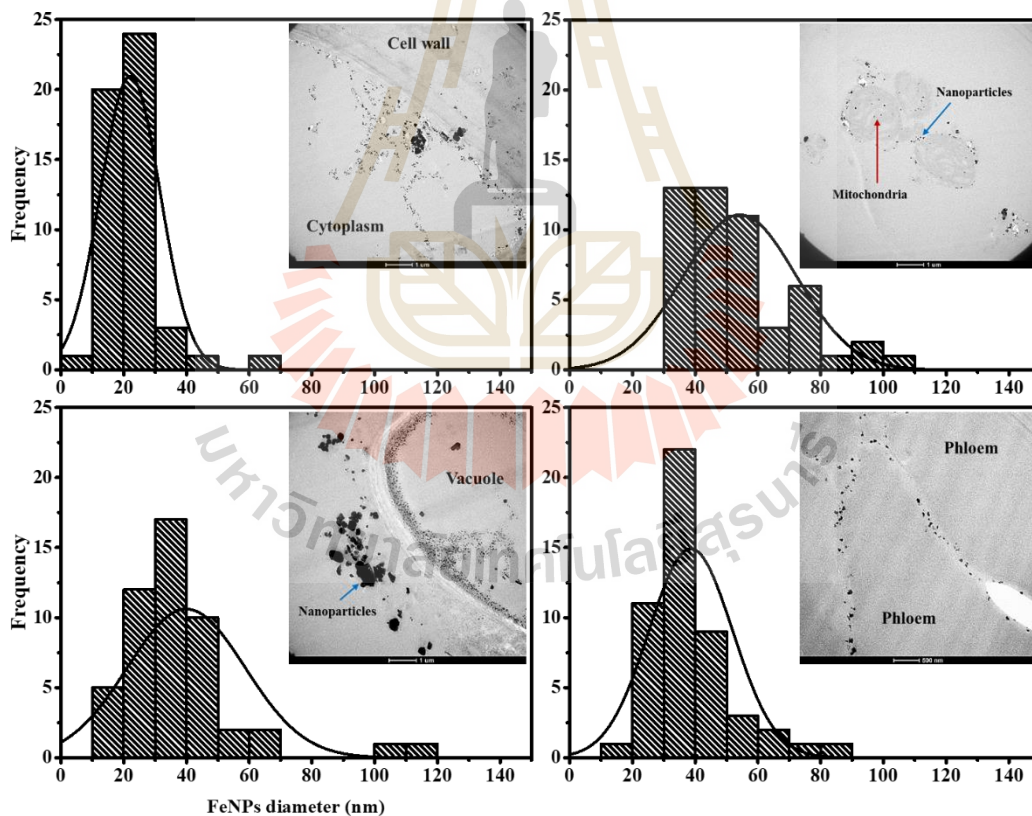
จากการศึกษาการสะสมอนุภาคนาโนเหล็กในรากผักตบชวาที่แช่ในสารละลาย  $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$  เป็นเวลา 12 ชั่วโมง ด้วยเทคนิค TEM พบว่ามีการสะสมของอนุภาครูปรางทรงกลมขนาด  $22.1 \pm 9.53$  นาโนเมตร

สะสมอยู่บริเวณเยื่อหุ้มเซลล์ใกล้เคียงเซลล์เซลล์ นอกจากนี้ยังพบอนุภาคขนาด  $54.2 \pm 18.1$   $39.9 \pm 18.8$  และ  $38.6 \pm 18.4$  นาโนเมตร สะสมอยู่บริเวณเยื่อหุ้มเซลล์ของเซลล์ไมโทคอนเดรีย แวกคิวโอล และโพลีเอ็มตามลำดับ ดังแสดงในภาพที่ 4.14

ซึ่งจากรายงานก่อนหน้าในปี คศ. 2017 Sangireddy และคณะที่มิวิจัยจากมหาวิทยาลัยมหาวิทยาลัยคอร์เนล ประเทศสหรัฐอเมริกาพบว่า อีออนของโลหะหนักจากภายนอกสามารถเคลื่อนที่เข้าสู่ภายในเซลล์พืชได้ 2 ระบบ ประกอบไปด้วย ระบบซิมพลาส ซึ่งเป็น การนำอีออนของโลหะเข้าสู่เซลล์ผ่านทางไซโทพลาสซึมที่เชื่อมต่อกัน และทะลุไปอีกเซลล์หนึ่งโดยผ่านทางพลาสโมเดสมิตา เข้าสู่ท่อไซเลมและระบบอะโพพลาส ซึ่งเป็น การนำอีออนเข้าสู่เซลล์โดยอาศัยการแพร่ของอีออนจากเซลล์หนึ่งไปยังอีกเซลล์ ผ่านผนังเซลล์ที่ติดกัน และช่องว่างภายนอกเซลล์ เมื่ออีออนของเหล็กหรือโลหะอื่น ๆ ที่มีประจุ +3 เข้าสู่ภายในเซลล์แล้ว เซลล์พืชจะมีการตอบสนองต่ออีออนของโลหะหนักดังกล่าวโดยการกระตุ้นการสร้างโปรตีนมากกว่า 10 กลุ่ม ซึ่งโปรตีนเหล่านี้เกี่ยวข้องกับกระบวนการต่าง ๆ ของเซลล์ เช่น การลำเลียงและขนส่งสารเข้าสู่เซลล์ วัฏจักรของเซลล์ การตอบสนองของเซลล์ การแบ่งเซลล์และการซ่อมแซมของเซลล์ เป็นต้น (Sangireddy et al., 2017) อีออนของเหล็กที่ผ่านเข้าสู่เซลล์เมื่อมีปริมาณน้อยสามารถเข้าทำหน้าที่เป็นโคแฟกเตอร์ซึ่งเสริมสร้างการทำงานของเอนไซม์ได้ แต่อย่างไรก็ตาม เมื่อความเข้มข้นของอีออนของเหล็กสูง จะส่งผลให้เซลล์มีปริมาณอีออนอิสระเหลืออยู่สูง อีออนอิสระเหล่านี้สามารถทำปฏิกิริยากับสารชีวโมเลกุลที่อยู่ภายในเซลล์พืชได้เช่นกัน โดยรายงานวิจัยของ Singh และคณะที่มิวิจัยจากมหาวิทยาลัยอัลลฮาบาด ประเทศอินเดีย ในปี คศ. 2016 ระบุว่าสารประกอบพอลิแซคคาไรด์เช่น เพกติน เป็นสารชีวโมเลกุลที่สำคัญในการจับกับอีออนของโลหะที่บริเวณผนังเซลล์พืช โดยโลหะเหล่านี้เข้าทำปฏิกิริยากับหมู่ฟังก์ชันบางชนิดของพอลิแซคคาไรด์ เช่น หมู่ไฮดรอกซิล หมู่คาร์บอนิล เกิดเป็นสารประกอบโลหะ-อินทรีย์ (metal-organic compound) สะสมอยู่บริเวณเยื่อหุ้มเซลล์ใกล้เคียงเซลล์ (Singh et al., 2016) อีออนอิสระที่แพร่ผ่านเข้าสู่ไซโทพลาสซึมสามารถเคลื่อนที่เข้าสู่เซลล์ไมโทคอนเดรียผ่านโปรตีนขนส่ง (transport protein) ได้แก่ ZIP Family transferrin-like protein และ ABC-type transporter ขณะเดียวกันอีออนอิสระยังสามารถจับกับสารอินทรีย์ภายใน

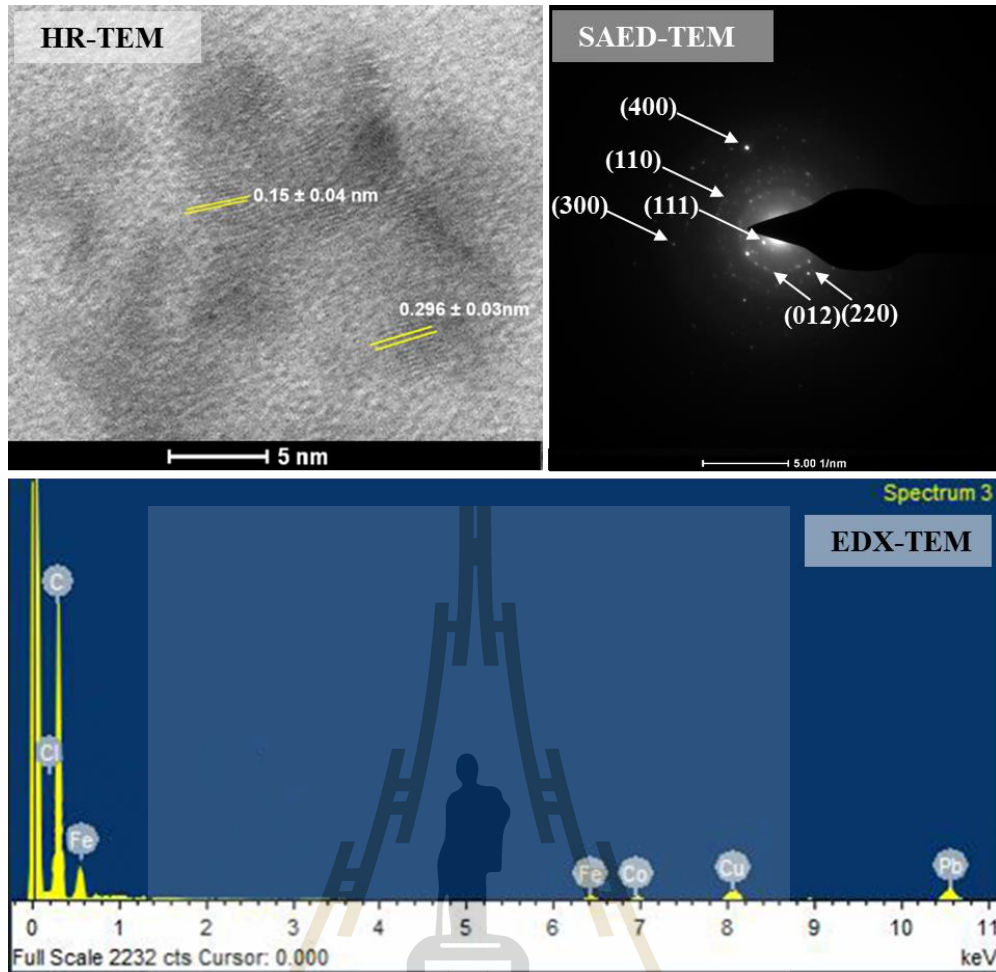
เซลล์ เช่น ไฟโตเคเลติน เมทัลโลโธโอนิน สารนิโคตินาไมด์ สารซิเตรต สารมาเลท และสารออกซาเลท ซึ่งสามารถจับกับประจุบวกของเหล็กเกิดเป็นสารประกอบโลหะ-อินทรีย์ได้เช่นกัน (Clemens, 2001; Paz et al., 2007)

การลำเลียงไอออนของเหล็กจากไซโทพลาสซึมผ่านเข้าสู่เซลล์แวคิวโอลเป็นการแพร่โดยอาศัยโปรตีนตัวกลาง 2 กลุ่ม ได้แก่โปรตีนกลุ่ม Nramp และ YSL (Yellow Stripe-Like) ซึ่งเป็นโปรตีนที่ฝังตัวอยู่ในเยื่อหุ้มเซลล์ของเซลล์แวคิวโอล ทำหน้าที่ลำเลียงไอออนของโลหะจากภายนอกเซลล์เข้าภายในเซลล์ ขณะเดียวกันไอออนอิสระที่ผ่านเข้าสู่เซลล์ยังสามารถจับกับสารอินทรีย์ต่าง ๆ จึงเกิดเป็นสารประกอบการสะสมอยู่บริเวณเยื่อหุ้มเซลล์ของแวคิวโอล (Grotz and Guerinot, 2006)



ภาพที่ 4.14 ภาพถ่าย TEM แสดงการสะสมของอนุภาคนาโนเหล็ก และกระจายตัวของอนุภาคดังกล่าว บริเวณผนังเซลล์ เซลล์ไมโทคอนเดรีย แวกิวโอล และโฟลเอ็มของรากผักตบชวาหลังจากที่แช่พืชดังกล่าวในสารละลาย  $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$  เป็นเวลา 12 ชั่วโมง

เพื่อศึกษาเอกลักษณ์ของอนุภาคที่ได้จากเซลล์รากของผักตบชวาว่าเป็นอนุภาคนาโนเหล็ก จึงได้วิเคราะห์อนุภาคนาโนดังกล่าวด้วยเทคนิค HR-TEM เทคนิค EDX-TEM และเทคนิค SAED-TEM ดังแสดงในภาพที่ 4.15 ผลจากการวิเคราะห์ HR-TEM พบว่าระยะห่างระหว่างระนาบของอนุภาคนาโนมีค่าเท่ากับ  $0.15 \pm 0.04$  นาโนเมตร และ  $0.30 \pm 0.03$  นาโนเมตร ซึ่งแสดงถึงระนาบ hlk ที่สัมพันธ์กับระนาบ (311) และ (400) ของอนุภาคนาโนเหล็กออกไซด์แบบแมกนีไทต์และแมกนีไมต์ ตามลำดับ (Iyengar et al., 2014) ผลจากการวิเคราะห์ด้วย EDX-TEM แสดงให้เห็นว่าอนุภาคนาโนที่ได้มีโลหะเหล็กเป็นองค์ประกอบ ส่วนแร่ธาตุอื่น ๆ ที่ตรวจพบได้แก่ ทองแดง และตะกั่ว คาดว่าเป็นแร่ธาตุที่เป็นองค์ประกอบของกริด และสารอินทรีย์ต่าง ๆ ในเซลล์พืช สำหรับการวิเคราะห์ด้วย SAED-TEM โดยการคำนวณจากค่า  $d$ -spacing พบว่ามีค่าเท่ากับ 3.66 และ 1.46 อังสตรอม เมื่อเทียบกับค่ามาตรฐานหมายเลข 01-1053 (JCPDS-01-1053) พบว่ามีความสัมพันธ์กับค่าระนาบของ (311) และ (400) ของแมกนีไมต์ ( $\text{Fe}_2\text{O}_3$ ) (Shao et al., 2011) ขณะเดียวกันค่า  $d$ -spacing เท่ากับ 4.84 2.00 1.27 และ 1.50 อังสตรอม ยังสอดคล้องกับค่ามาตรฐานหมายเลข 01-1111 (JCPDS-01-1111) ที่บ่งบอกระนาบ (111) (110) (400) และ (220) ของแมกนีไทต์ ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ) (Shao et al., 2011)



ภาพที่ 4.15 เอกลักษณ์ของอนุภาคนาโนเหล็ก ที่ได้จากเซลล์รากของผักตบชวาด้วยเทคนิค HR-TEM โดยระยะห่างระหว่างระนาบของอนุภาคนาโนมีค่าเท่ากับ  $0.15 \pm 0.04$  นาโนเมตร และ  $0.30 \pm 0.03$  นาโนเมตร

#### 4.4.3 การศึกษาการสะสมอนุภาคนาโนตะกั่ว

จากการศึกษาการสะสมอนุภาคนาโนของตะกั่วในรากผักตบชวาหลังจากแช่พืชดังกล่าวในสารละลาย  $Pb(NO_3)_2$  เป็นเวลา 12 ชั่วโมง ผลการวิเคราะห์ด้วยภาพถ่าย TEM แสดงดังภาพที่ 4.16 จากการศึกษาการสะสมอนุภาคนาโนทองแดงในรากผักตบชวาที่แช่ในสารละลาย  $Pb(NO_3)_2$  เป็นเวลา 12 ชั่วโมง ด้วยเทคนิค TEM พบว่ามีการสะสมของอนุภาครูปรางทรงกลมขนาด  $24.19 \pm 9.71$  นาโนเมตร สะสมอยู่



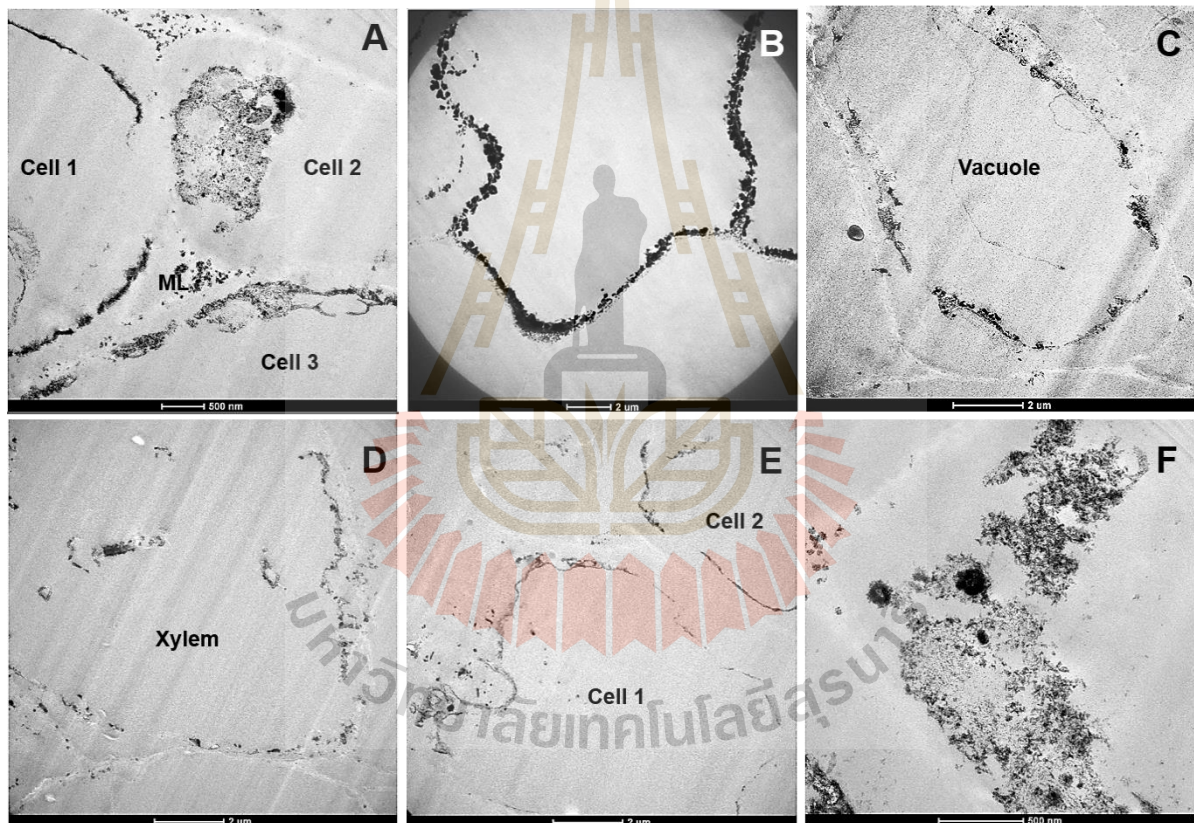
บริเวณเยื่อหุ้มเซลล์ใกล้เคียงเซลล์เซลล์ นอกจากนี้ยังพบอนุภาคขนาด  $26.03 \pm 1.21$  นาโนเมตร ซึ่งสะสมอยู่บริเวณช่องว่างระหว่างเซลล์และใกล้เยื่อหุ้มเซลล์ของไซโตเลม

จากรายงานการวิจัยของ Kumar และคณะที่มีวิจัยจากมหาวิทยาลัยมหาวิทยาลัยคิงส์ซาอุด์ ประเทศซาอุดีอาระเบีย ซึ่งตีพิมพ์ในวารสาร Arabian Journal of Chemistry เมื่อ ค.ศ. 2017 โดยเนื้อหาระบุว่าพืชหลายชนิดสามารถดูดซึมและสะสมตะกั่วในไว้ในเซลล์รากประมาณ 95 เปอร์เซ็นต์ โดยส่วนใหญ่ ตะกั่วจะสะสมที่เยื่อหุ้มเซลล์ของเนื้อเยื่อพืช และขณะเดียวกันสามารถพบการสะสมตะกั่วดังกล่าวที่ไซโทพลาสซึมได้เนื่องจากเมื่อไอออนอิสระของโลหะตะกั่วเคลื่อนที่เข้าสู่เซลล์ผ่านเยื่อหุ้มเซลล์แล้ว ไอออนบวกของโลหะยังสามารถทำปฏิกิริยากับสารชีวโมเลกุล เช่น สารฟิโทคีเลติน กลูตาไธโอน กรดอะมิโนต่าง ๆ เป็นต้น ซึ่งส่งผลให้ตะกั่วสามารถสะสมอยู่ในไซโทพลาสซึมได้เช่นเดียวกัน แต่อย่างไรก็ดีในการศึกษานี้ไม่ได้วิเคราะห์ว่าตะกั่วที่พบในพืชเป็นอนุภาคนาโนตะกั่วหรือไม่ (Kumar et al., 2017)

จากภาพที่ 4.16A พบการสะสมของอนุภาคตะกั่วอย่างหนาแน่นและมีรูปร่างไม่แน่นอนอยู่ในบริเวณเยื่อหุ้มเซลล์ ผนังเชื่อมยึดระหว่างเซลล์ และไซโทพลาสซึมใกล้เคียงเซลล์ ซึ่งโดยทั่วไปเมื่อพืชได้รับไอออนของตะกั่วเข้าไปในเซลล์ ตะกั่วสามารถเคลื่อนที่ผ่านระบบอพอพลาสซึ่งเป็นการแพร่ของไอออนจากเซลล์หนึ่งผ่านผนังเซลล์ที่ติดต่อกัน และช่องว่างภายนอกเซลล์จนถึงเนื้อเยื่อชั้นในสุดที่เรียกว่าเอนโดเดอริส (Endodermis) และผ่าน  $Ca^{2+}$ -permeable channels โดยไอออนอิสระเหล่านั้นสามารถเกิดปฏิกิริยากับสารชีวโมเลกุลและสารอินทรีย์ในเซลล์พืชได้เช่น เพกติน เซลลูโลส โปรตีน นิโคตินาไมด์ และเมไทโอนีน ซึ่งเป็นองค์ประกอบส่วนใหญ่ในผนังเซลล์ปฐมภูมิ ผนังเซลล์ที่ติดต่อกัน และผนังเซลล์ทุติยภูมิ ดังนั้นจึงสังเกตเห็นการสะสมอนุภาคอย่างหนาแน่นที่บริเวณที่มีสารชีวโมเลกุลและสารอินทรีย์เหล่านั้นอยู่ เยื่อหุ้มเซลล์บริเวณคอร์เทกซ์ เป็นอีกเนื้อเยื่อหนึ่งที่พบการสะสมของอนุภาคโลหะดังแสดงในภาพที่ 4.16B โดยเยื่อหุ้มเซลล์ของเนื้อเยื่อนี้ส่วนใหญ่ประกอบด้วย เซลลูโลส อาจมีเฮมิเซลลูโลส และเพกตินบ้างแต่ปริมาณน้อย (Leite et al., 2017) ซึ่งองค์ประกอบเหล่านี้มีหมู่ฟังก์ชันอิสระของคาร์บอกซิล ไฮดรอกซิล และออกซิเจนที่สามารถสร้างพันธะกับประจุบวกของไอออนตะกั่วได้เป็นอย่างดี (Krzestowska, 2011) แวกิวโอลในพืชเป็นออร์แกเนลล์ที่มี



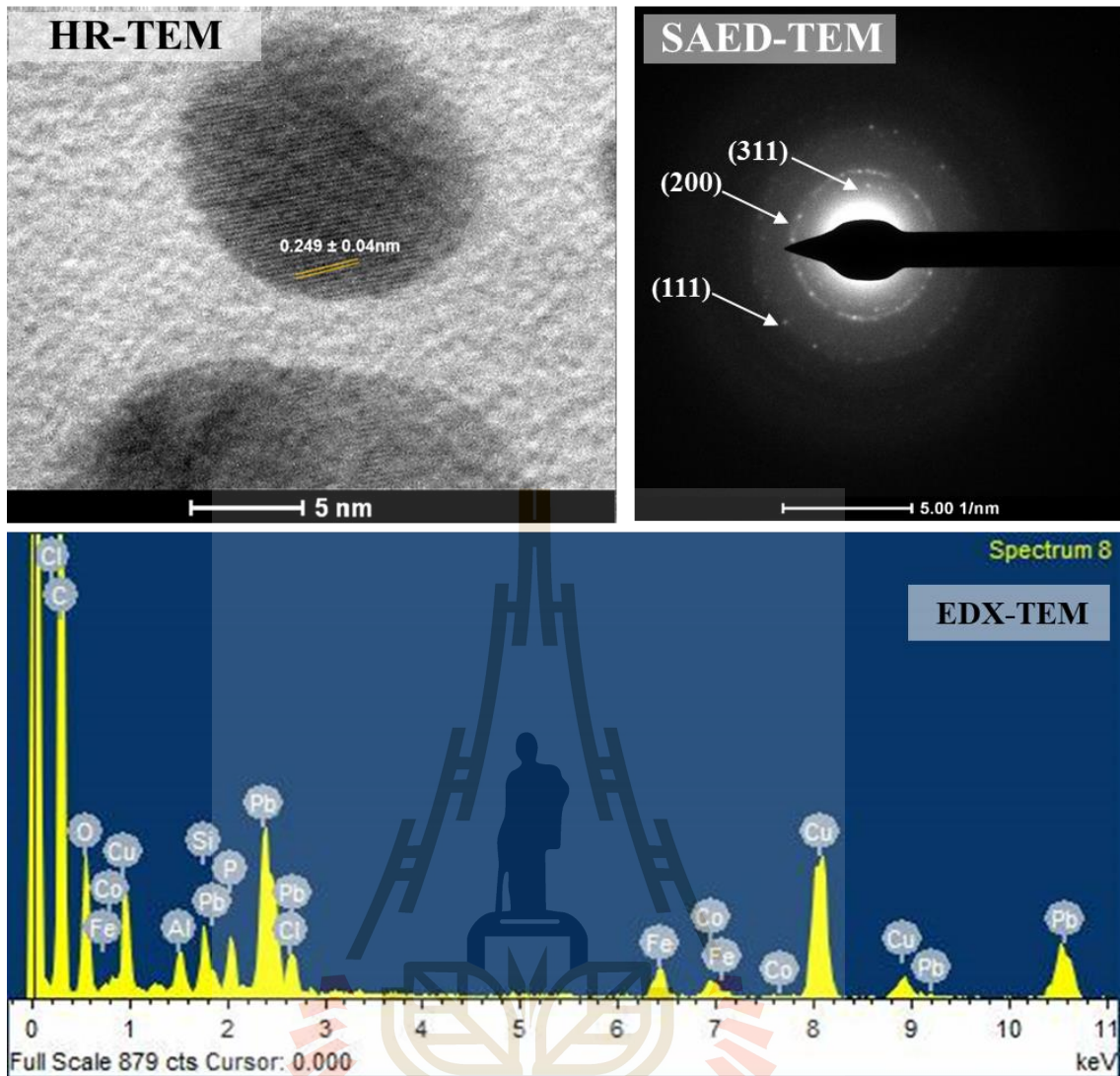
ลักษณะเป็นถุง กินพื้นที่ของเซลล์ประมาณ 50-95 เปอร์เซ็นต์ของพื้นที่เซลล์ทั้งหมด โดยเป็นออร์แกเนลล์ที่มีส่วนสำคัญในการสะสมอาหาร แร่ธาตุ และของเสียต่าง ๆ การลำเลียงไอออนของตะกั่วจากไซโทพลาสซึมผ่านเข้าสู่เซลล์แวคิวโอลเป็นการแพร่โดยอาศัยตัวกลางหลายชนิด ได้แก่ ZIP family members กลุ่มตัวพา heavy metal ions like  $Cd^{2+}$  และอนุพันธ์ของ glutathione-derived synthesis ของไฟโตคีเลติน ซึ่งเป็นโปรตีนที่ฝังตัวอยู่ในเยื่อหุ้มเซลล์ของเซลล์แวคิวโอล ทำหน้าที่ลำเลียงไอออนของตะกั่วจากภายนอกเซลล์เข้าภายในเซลล์ ขณะเดียวกันไอออนอิสระที่ผ่านเข้าสู่เซลล์ยังสามารถจับกับสารอินทรีย์ต่าง ๆ จึงเกิดเป็นสารประกอบการสะสมอยู่บริเวณเยื่อหุ้มเซลล์ของแวคิวโอล (Yang and Chu, 2011) ดังแสดงในภาพที่ 4.16C



ภาพที่ 4.16 ภาพถ่าย TEM แสดงการสะสมของอนุภาคนาโนของตะกั่วบริเวณผนังเซลล์และเยื่อหุ้มเซลล์คอร์เทกซ์ (A) บริเวณเยื่อหุ้มเซลล์คอร์เทกซ์ (B) เยื่อหุ้มเซลล์ของแวคิวโอล (C) เยื่อหุ้มเซลล์ของไซเล็ม (D) เยื่อหุ้มเซลล์ของโฟลเอ็ม (E) และไซโทพลาสซึมของคอร์เทกซ์ (F) ในเซลล์รากผักตบชวาหลังจากที่แช่พืชดังกล่าวในสารละลาย  $Pb(NO_3)_2$  เป็นเวลา 12 ชั่วโมง

เพื่อศึกษาเอกลักษณ์ของอนุภาคนาโนที่ได้จากเซลล์รากของผักตบชวา ได้วิเคราะห์อนุภาคนาโนตะกั่วด้วยเทคนิค HR-TEM เทคนิค EDX-TEM และเทคนิค SAED-TEM ดังแสดงในภาพที่ 4.17 ผลการวิเคราะห์ HR-TEM พบว่ามีระยะห่างระหว่างระนาบของอนุภาคนาโนเท่ากับ  $249 \pm 0.04$  นาโนเมตร ซึ่งสอดคล้องกับระนาบ hkl ที่สัมพันธ์กับระนาบ (111) ของโครงสร้างแลตทิซแบบ cubic ( $Fm\bar{3}m$ ) ของตะกั่ว (Castro-Longoria et al., 2014) ผลจากการวิเคราะห์ด้วย EDX-TEM พบว่าอนุภาคนาโนที่ได้มีโลหะตะกั่วเป็นองค์ประกอบหลัก ส่วนแร่ธาตุอื่น ๆ ที่ตรวจพบได้แก่ ทองแดง เหล็ก โพแทสเซียม คลอไรด์ ออกซิเจน คาร์บอน เป็นต้น คาดว่าเป็นแร่ธาตุที่เป็นองค์ประกอบของกริด และสารอินทรีย์ต่าง ๆ ในเซลล์พืช สำหรับการวิเคราะห์ด้วย SAED-TEM โดยการคำนวณจากค่า  $d$ -spacing พบว่ามีค่าเท่ากับ 1.49 2.46 และ 2.86 อังสตรอม ที่สัมพันธ์กับ hkl planar แบบ (311) (200) และ (111) ของตะกั่วออกไซด์ (PbO) (Ren et al., 2007; Roy and Bysakh, 2011)





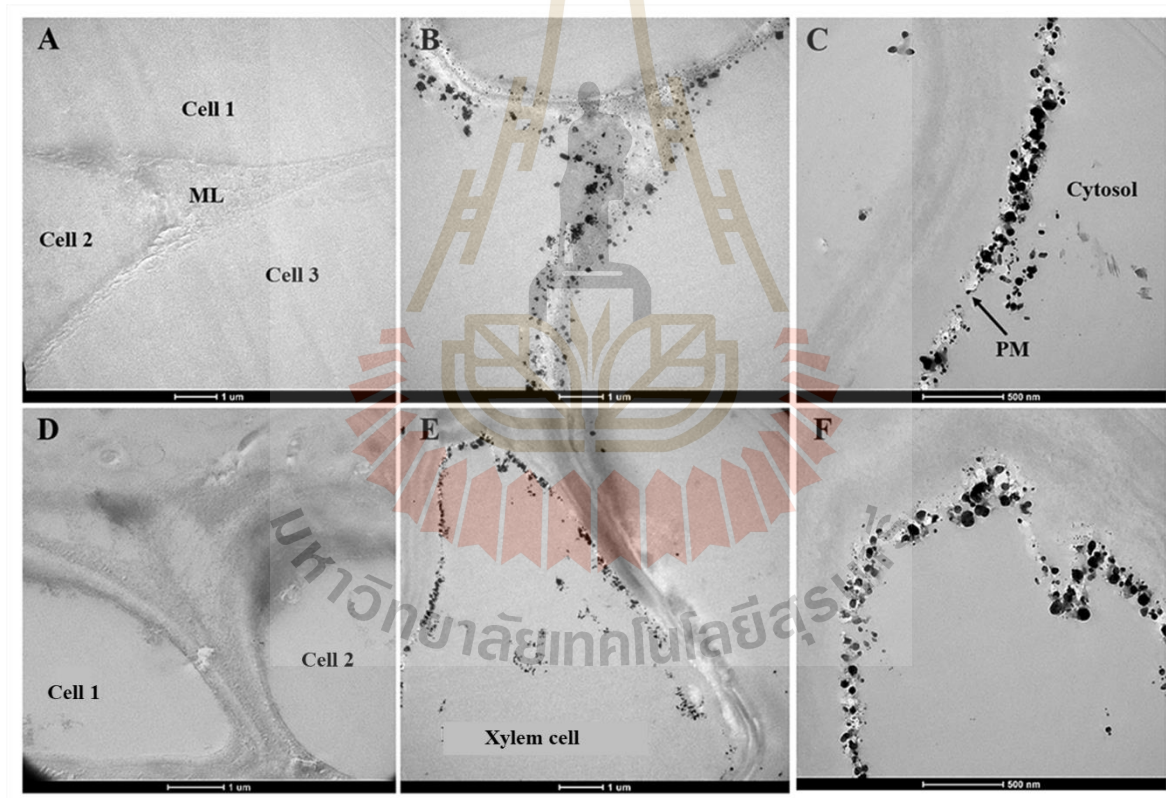
ภาพที่ 4.17 เอกลักษณะของอนุภาคนาโนตะกั่วที่ได้จากเซลล์รากของผักตบชวาเมื่อวิเคราะห์ด้วยเทคนิค HR-TEM SAED-TEM และ EDX-TEM

#### 4.4.4 การศึกษาการสะสมของอนุภาคนาโนซิลเวอร์

การศึกษาการสะสมอนุภาคนาโนของซิลเวอร์ในรากผักตบชวาหลังจากแช่ในสารละลาย  $\text{AgNO}_3$  เป็นเวลา 12 ชั่วโมง จากการวิเคราะห์ด้วยภาพถ่าย TEM (ภาพที่ 4.18) พบการสะสมของอนุภาครูปร่างทรงกลมขนาด  $28.1 \pm 6.43$  นาโนเมตร กระจายอยู่บริเวณเยื่อหุ้มเซลล์ ช่องว่างระหว่างเซลล์ และกลุ่มของมัดท่อลำเลียง ของเนื้อเยื่อพีเอดอร์มิส คอร์เทกซ์ และไซเลม โดยการลำเลียงอออนซิลเวอร์จากภายนอก



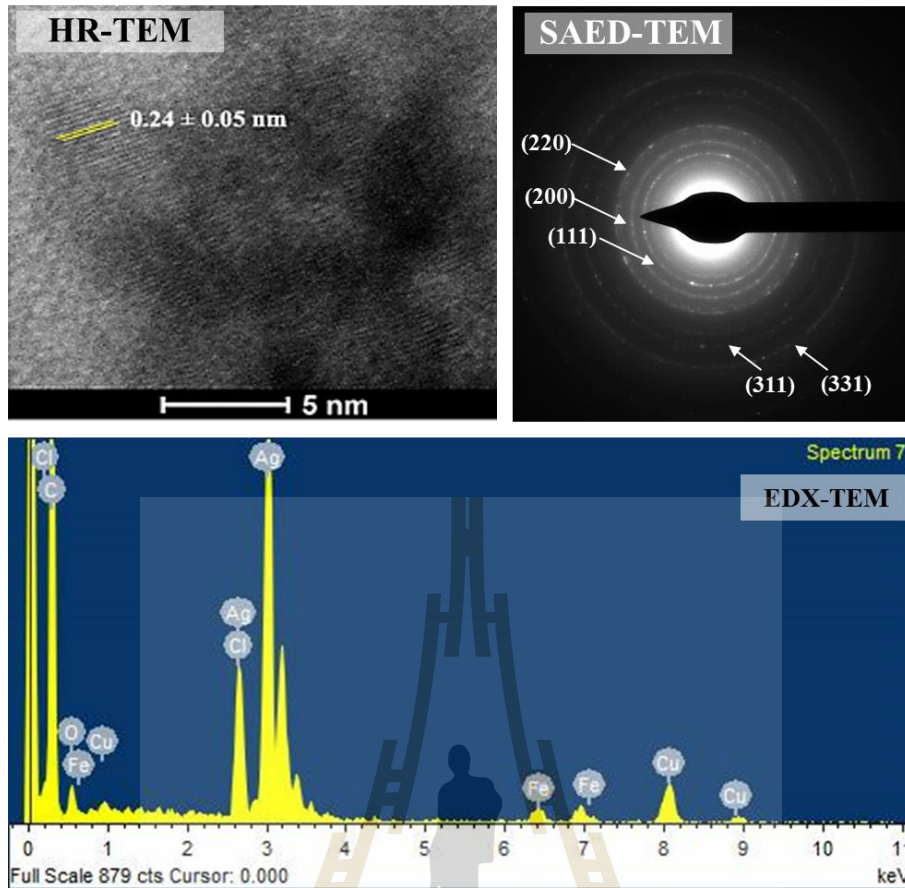
เข้าสู่ภายในของเซลล์พืช จะผ่านระบบการแพร่แบบอพอพลาสและซิมพลาส อีออนของซิลเวอร์บางส่วนสามารถทำปฏิกิริยากับสารภายในเซลล์ได้ เช่น สารอินทรีย์ต่าง ๆ โปรตีน พอลิแซคคาไรด์ โดยเฉพาะอย่างยิ่ง เซลลูโลสและสารเพกติน ซึ่งเป็นส่วนประกอบส่วนใหญ่ในเนื้อเยื่อของผนังเซลล์ จากนั้นอออนอิสระสามารถเคลื่อนที่ผ่านเยื่อหุ้มเซลล์เข้าสู่ของเหลวภายในเซลล์ได้ผ่านโปรตีนหลายชนิด ได้แก่ โปรตีนในกลุ่ม ZIP (zinc/iron-regulated transporters) โปรตีน heavy metal ions like  $Cd^{2+}$  โปรตีนกลุ่ม glutathione-derived synthesis of phytochelatins (PCs) เป็นต้น (Yang and Chu, 2011) นอกจากนี้ยังพบว่าอออนอิสระของซิลเวอร์สามารถเคลื่อนที่เข้าสู่ของเหลวภายในเซลล์ซึ่งภายหลังจับกับสารอินทรีย์ที่อยู่ภายในเซลล์ เกิดเป็นของแข็งสะสมที่บริเวณที่มีสารเหล่านั้นอยู่



ภาพที่ 4.18 ภาพถ่าย TEM แสดงการสะสมของอนุภาคนาโนซิลเวอร์ในรากผักตบชวาหลังจากแช่ในสารละลาย  $AgNO_3$  เป็นเวลา 12 ชั่วโมง โดย A: เซลล์บริเวณเนื้อเยื่อพื้นฐานของชุดควบคุม B: เยื่อหุ้มเซลล์ของอีพิเดอร์มิส C: เยื่อหุ้มเซลล์ของคอร์เทกซ์ D: เซลล์บริเวณมัดท่อลำเลียงของชุดควบคุม E: เยื่อหุ้มเซลล์ของไซเลม F: ภาพขยายของอนุภาคนาโนซิลเวอร์บริเวณเยื่อหุ้มเซลล์ของไซเลม

เพื่อศึกษาเอกลักษณ์ของอนุภาคนาโนที่ได้จากเซลล์รากของผักตบชวาว่าเป็นอนุภาคนาโนซิลเวอร์หรือไม่ จึงได้วิเคราะห์อนุภาคดังกล่าวด้วยเทคนิค HR-TEM เทคนิค EDX-TEM และเทคนิค SAED-TEM ดังแสดงในภาพที่ 4.19 ผลการวิเคราะห์ HR-TEM พบว่าระยะห่างระหว่างระนาบของอนุภาคนาโนที่ได้เท่ากับ  $0.24 \pm 0.05$  นาโนเมตร ซึ่งแสดงถึงระนาบ hkl ที่สัมพันธ์กับระนาบ (111) ของอนุภาคนาโนของซิลเวอร์ (เปรียบเทียบกับค่ามาตรฐานหมายเลข 04-0783 (JCPDS 04-0783)) ซึ่งมีโครงสร้างผลึกแบบ Face center cubic (Chumpol and Siri, 2017) ผลจากการวิเคราะห์ด้วย EDX-TEM แสดงให้เห็นว่าอนุภาคนาโนที่ได้มีซิลเวอร์เป็นองค์ประกอบหลัก ส่วนธาตุอื่น ๆ ที่ตรวจพบได้แก่ ทองแดง เหล็ก คลอไรด์ ออกซิเจน คาร์บอน น่าจะเป็นธาตุที่เป็นองค์ประกอบของกริด และสารอินทรีย์ต่าง ๆ ในเซลล์พืช สำหรับการวิเคราะห์ด้วย SAED-TEM สามารถคำนวณค่า *d*-spacing เท่ากับ 2.11 2.02 1.48 1.28 และ 0.94 อังสตรอม ซึ่งเมื่อเทียบกับค่ามาตรฐานหมายเลข 04-0783 (JCPDS-04-0783) พบว่ามีความสัมพันธ์กับค่าระนาบของผลึกแบบ face centered cubic ในชั้น hkl คือ (111) (200) (220) (311) และ (331) ของอนุภาคนาโนซิลเวอร์ (Chaisabai et al., 2017)





ภาพที่ 4.19 เอกลักษณะของอนุภาคนาโนซิลเวอร์ที่ได้จากเซลล์รากของผักตบชวาเมื่อวิเคราะห์ด้วยเทคนิค HR-TEM SAED-TEM และ EDX-TEM





## บทที่ 5

### สรุปผลการทดลอง

ผลจากการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่า ผักตบชวามีความสามารถในการดูดซึมอ๊อนของโลหะหนักที่ทดสอบ 5 ชนิด คือ ทองแดง เหล็ก ตะกั่ว นิกเกิลและซิลเวอร์ เข้าสู่เซลล์รากได้โดยวิเคราะห์จาก EDXRF analysis ซึ่งการดูดซึมโลหะหนักเป็นสมบัติของพืชที่สามารถนำมาเป็นพืชบำบัดโลหะหนักได้ ผักตบชวามีความสามารถในการดูดซึมและสะสมอ๊อนของเหล็กในรากได้สูงที่สุด รองลงมาคือ ตะกั่ว ทองแดง ซิลเวอร์ และนิกเกิล ตามลำดับ ทั้งนี้พืชมีการตอบสนองต่ออ๊อนของโลหะหนักที่เข้าสู่เซลล์ จากการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค FTIR พบว่ามีการเปลี่ยนแปลงปริมาณของคาร์โบไฮเดรต โปรตีน และสารพืชนุกรมในเซลล์รากพืชจากการศึกษาการเปลี่ยนรูปของอ๊อนของโลหะเป็นอนุภาคนาโนโลหะนั้น ๆ พบว่าผักตบชวาสามารถเปลี่ยนอ๊อนของทองแดง เหล็ก ตะกั่ว และซิลเวอร์ เป็นอนุภาคนาโนทองแดง เหล็ก ตะกั่ว และซิลเวอร์ ตามลำดับ แต่ไม่สามารถเปลี่ยนอ๊อนของนิกเกิลเป็นอนุภาคนาโนได้ ทั้งนี้อนุภาคนาโนของโลหะพบว่าการกระจายอยู่บริเวณเยื่อหุ้มเซลล์ และช่องว่างระหว่างเซลล์ของอีพิเดอร์มิส คอร์เทกซ์ และกลุ่มมัดท่อลำเลียง ซึ่งเอกลักษณ์ของอนุภาคนาโนโลหะแต่ละชนิดได้ถูกยืนยันด้วยผลการวิเคราะห์โครงสร้างอนุภาคด้วยเทคนิค HR-TEM SAED-TEM และ EDX-TEM

## บรรณานุกรม

- Abdullah, N., Tajuddin, M. H., and Yusof, N. (2019). 10 - Forward osmosis (FO) for removal of heavy metals. In: Ahsan, A. and A. F. Ismail (Ed.). **Nanotechnology in Water and Wastewater Treatment**. Elsevier, pp. 177-204
- Abou-Elwafa, S. F., Amin, A. E.-E. A. Z., and Shehzad, T. (2019). Genetic mapping and transcriptional profiling of phytoremediation and heavy metals responsive genes in sorghum. **Ecotoxicology and Environmental Safety**. 173: 366-372.
- Ahmad, P., Abdel Latef, A. A., Abd Allah, E. F., Hashem, A., Sarwat, M., Anjum, N. A., and Gucl, S. (2016). Calcium and potassium supplementation enhanced growth, osmolyte secondary metabolite production, and enzymatic antioxidant machinery in cadmium-exposed chickpea (*Cicer arietinum* L.). **Frontiers in Plant Science**. 7: 513-527.
- Akpor, O., and Muchie, M. (2010). Remediation of heavy metals in drinking water and wastewater treatment systems: Processes and applications. **International journal of physical sciences** 5(12):1807-1817.
- Al-Saydeh, S. A., El-Naas, M. H., and Zaidi, S. J. (2017). Copper removal from industrial wastewater: A comprehensive review. **Journal of Industrial and Engineering Chemistry**. 56: 35-44.
- Arif, N., Yadav, V., Singh, S., Singh, S., Ahmad, P., Mishra, R. K., Sharma, S., Tripathi, D. K., Dubey, N. K., and Chauhan, D. K. (2016). Influence of high and low levels of plant-beneficial heavy metal ions on plant growth and development. **Frontiers in Environmental Science**. 4: 69-75.

- Armstrong, N., Ramamoorthy, M., Lyon, D., Jones, K., and Duttaroy, A. (2013). Mechanism of silver nanoparticles action on insect pigmentation reveals intervention of copper homeostasis. **PLoS One**. 8(1): e53186.
- Arunachalam, R., Dhanasingh, S., Kalimuthu, B., Uthirappan, M., Rose, C., and Mandal, A. B. (2012). Phytosynthesis of silver nanoparticles using *Coccinia grandis* leaf extract and its application in the photocatalytic degradation. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**. 94: 226-230.
- Aydemir, T. B., and Cousins, R. J. (2018). The multiple faces of the metal transporter ZIP14 (SLC39A14). **The Journal of Nutrition**. 148(2): 174-184.
- Bankar, A., Joshi, B., Kumar, A. R., and Zinjarde, S. (2010). Banana peel extract mediated novel route for the synthesis of silver nanoparticles. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**. 368(1-3): 58-63.
- Bertini, I., Cavallaro, G., and McGreevy, K. S. (2010). Cellular copper management—a draft user's guide. **Coordination Chemistry Reviews**. 254(5): 506-524.
- Boffetta, P. J. S. j. o. w., environment, and health. (1993). Carcinogenicity of trace elements with reference to evaluations made by the International Agency for Research on Cancer. **Scandinavian Journal of Work, Environment & Health**. 19: 67-70.
- Camara, B. I., Yamapi, R., and Mokrani, H. (2017). How do copper contamination pulses shape the regime shifts of phytoplankton-zooplankton dynamics?. **Communications in Nonlinear Science and Numerical Simulation**. 48: 170-178.
- Castro-Longoria, E., Trejo-Guillén, K., Vilchis-Nestor, A. R., Avalos-Borja, M., Andrade-Canto, S. B., Leal-Alvarado, D. A., and Santamaría, J. M. (2014). Biosynthesis of lead nanoparticles

- by the aquatic water fern, *Salvinia minima* Baker, when exposed to high lead concentration. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**. 114: 277-283.
- Castro, C., Urbieta, M. S., Plaza Cazón, J., and Donati, E. R. (2019). Metal biorecovery and bioremediation: Whether or not thermophilic are better than mesophilic microorganisms. **Bioresource Technology**. 279: 317-326.
- Chaisabai, W., Khamhaengpol, A., and Siri, S. (2017). Sericins of mulberry and non-mulberry silkworms for eco-friendly synthesis of silver nanoparticles. **Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology**: 1-8.
- Chatterjee, S., Mitra, A., Datta, S., and Veer, V. (2013). Phytoremediation Protocols: An Overview. In: Gupta, D. K. (Ed.). **Plant-Based Remediation Processes**. Berlin, Heidelberg, Springer Berlin Heidelberg, pp. 1-18
- Chen, C., Huang, D., and Liu, J. (2009). Functions and toxicity of nickel in plants: Recent advances and future prospects. **Clean**. 37(4-5): 304-313.
- Chen, Q., Yao, Y., Li, X., Lu, J., Zhou, J., and Huang, Z. (2018). Comparison of heavy metal removals from aqueous solutions by chemical precipitation and characteristics of precipitates. **Journal of Water Process Engineering**. 26: 289-300.
- Chumpol, J., and Siri, S. (2017). Simple green production of silver nanoparticles facilitated by bacterial genomic DNA and their antibacterial activity. **Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology**: 1-7.
- Clemens, S. (2001). Molecular mechanisms of plant metal tolerance and homeostasis. **Planta**. 212(4): 475-486.

- Coman, V., Robotin, B., and Ilea, P. (2013). Nickel recovery/removal from industrial wastes: A review. **Resources, Conservation and Recycling**. 73: 229-238.
- Conway, D., and Henderson, M. A. (2019). Iron metabolism. **Anaesthesia & Intensive Care Medicine**.
- Cristaldi, A., Conti, G. O., Jho, E. H., Zuccarello, P., Grasso, A., Copat, C., and Ferrante, M. (2017). Phytoremediation of contaminated soils by heavy metals and PAHs. A brief review. **Environmental Technology & Innovation**. 8: 309-326.
- Dong, L., Hou, L. a., Wang, Z., Gu, P., Chen, G., and Jiang, R. (2018). A new function of spent activated carbon in BAC process: Removing heavy metals by ion exchange mechanism. **Journal of Hazardous Materials**. 359: 76-84.
- El Falaky, A. A., Aboulroos, S., Saoud, A., and Ali, M. (2004). Aquatic plants for bioremediation of wastewater. In: the 8<sup>th</sup> International Water Technology Conference IWTC8, Alexandria, Egypt. pp. 361-376.
- Gad, S. C. (2014). Nickel and Nickel Compounds. In: Wexler, P. (Ed.). **Encyclopedia of Toxicology (Third Edition)**. Oxford, Academic Press, pp. 506-510
- Garza, A., Vega, R., and Soto, E. (2006). Cellular mechanisms of lead neurotoxicity. **Medical science monitor : International Journal of Experimental and Clinical Research**. 12(3): Ra57-65.
- Gharbi, F., Rejeb, S., Ghorbal, M. H., and Morel, J. L. (2005). Plant Response to Copper Toxicity as Affected by Plant Species and Soil Type. **Journal of Plant Nutrition**. 28(3): 379-392.

- Ghori, Z., Iftikhar, H., Bhatti, M. F., Nasar um, M., Sharma, I., Kazi, A. G., and Ahmad, P. (2016). Chapter 15 - Phytoextraction: The Use of Plants to Remove Heavy Metals from Soil. In: Ahmad, P. (Ed.). **Plant Metal Interaction**. Elsevier, pp. 385-409
- Grotz, N., and Guerinot, M. L. (2006). Molecular aspects of Cu, Fe and Zn homeostasis in plants. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research**. 1763(7): 595-608.
- Guasch, H., Navarro, E., Serra, A., and Sabater, S. (2004). Phosphate limitation influences the sensitivity to copper in periphytic algae. **Freshwater Biology**. 49(4): 463-473.
- Hasan, M. K., Cheng, Y., Kanwar, M. K., Chu, X.-Y., Ahammed, G. J., and Qi, Z.-Y. (2017). Responses of plant proteins to heavy metal stress—a review. **Frontiers in Plant Science**. 8: 1492-1502.
- He, H., Li, Y., and He, L.-F. (2018). The central role of hydrogen sulfide in plant responses to toxic metal stress. **Ecotoxicology and Environmental Safety**. 157: 403-408.
- Höfte, H., and Voxeur, A. (2017). Plant cell walls. **Current Biology**. 27(17): R865-R870.
- Hong, M., Yu, L., Wang, Y., Zhang, J., Chen, Z., Dong, L., Zan, Q., and Li, R. (2019). Heavy metal adsorption with zeolites: The role of hierarchical pore architecture. **Chemical Engineering Journal**. 359: 363-372.
- Iancu, T. C. (1992). Ferritin and hemosiderin in pathological tissues. **Electron Microscopy Reviews**. 5(2): 209-229.
- Iyengar, S. J., Joy, M., Ghosh, C. K., Dey, S., Kotnala, R. K., and Ghosh, S. (2014). Magnetic, X-ray and Mossbauer studies on magnetite/maghemite core-shell nanostructures fabricated through an aqueous route. **RSC Advances**. 4(110): 64919-64929.



- Iyer, S., Sengupta, C., and Velumani, A. (2015). Lead toxicity: An overview of prevalence in Indians. **Clinica Chimica Acta**. 451: 161-164.
- Jacob, J. M., Karthik, C., Saratale, R. G., Kumar, S. S., Prabakar, D., Kadirvelu, K., and Pugazhendhi, A. (2018). Biological approaches to tackle heavy metal pollution: A survey of literature. **Journal of Environmental Management**. 217: 56-70.
- Järup, L. J. B. m. b. (2003). Hazards of heavy metal contamination. 68(1): 167-182.
- Keskinkan, O., Goksu, M. Z. L., Yuceer, A., Basibuyuk, M., and Forster, C. F. (2003). Heavy metal adsorption characteristics of a submerged aquatic plant (*Myriophyllum spicatum*). **Process Biochemistry**. 39(2): 179-183.
- Khunarrak, P., Rerkamnuaychoke, B., Takum, R., and Nadee, P. (2001). Chromosomal aberration diagnosis of Co-60 source retrieval operator at Samutprakarn province. **International Nuclear Information System**. 33: 722-725.
- Kim, S., Choi, J. E., Choi, J., Chung, K.-H., Park, K., Yi, J., and Ryu, D.-Y. (2009). Oxidative stress-dependent toxicity of silver nanoparticles in human hepatoma cells. **Toxicology in Vitro**. 23(6): 1076-1084.
- Kobielska, P. A., Howarth, A. J., Farha, O. K., and Nayak, S. (2018). Metal-organic frameworks for heavy metal removal from water. **Coordination Chemistry Reviews**. 358: 92-107.
- Krzyszowska, M. (2011). The cell wall in plant cell response to trace metals: polysaccharide remodeling and its role in defense strategy. **Acta Physiologiae Plantarum**. 33(1): 35-51.
- Kumar, B., Smita, K., and Cumbal Flores, L. (2017). Plant mediated detoxification of mercury and lead. **Arabian Journal of Chemistry**. 10: S2335-S2342.

- Kumar, V., and Chandra, R. (2017). Phytoremediation: A Green Sustainable Technology for Industrial Waste Management. In: **Phytoremediation of Environmental Pollutants**. CRC Press,pp. 15-56
- Leite, D. C. C., Grandis, A., Tavares, E. Q. P., Piovezani, A. R., Pattathil, S., Avci, U., Rossini, A., Cambler, A., De Souza, A. P., Hahn, M. G., and Buckeridge, M. S. (2017). Cell wall changes during the formation of aerenchyma in sugarcane roots. **Annals of Botany**. 120(5): 693-708.
- Liu, L., Li, W., Song, W., and Guo, M. (2018). Remediation techniques for heavy metal-contaminated soils: Principles and applicability. **Science of The Total Environment**. 633: 206-219.
- Malar, S., Shivendra Vikram, S., Jc Favas, P., and Perumal, V. (2014). Lead heavy metal toxicity induced changes on growth and antioxidative enzymes level in water hyacinths [*Eichhornia crassipes* (Mart.)]. **Botanical Studies**. 55(1): 54.
- Marks, J. G., and Miller, J. J. (2019). 8 - Eczematous Rashes. In: Marks, J. G. and J. J. Miller (Ed.). **Lookingbill and Marks' Principles of Dermatology (Sixth Edition)**. London, Content Repository Only!,pp. 95-112
- Mendez, M. O., and Maier, R. M. (2008). Phytostabilization of mine tailings in arid and semiarid environments--an emerging remediation technology. **Environmental health perspectives**. 116(3): 278-283.
- Mira, L., Fernandez, M. T., Santos, M., Rocha, R., Florencio, M. H., and Jennings, K. R. (2002). Interactions of flavonoids with iron and copper ions: a mechanism for their antioxidant activity. **Free Radical Research**. 36(11): 1199-1208.

- Miransari, M. (2011). Hyperaccumulators, arbuscular mycorrhizal fungi and stress of heavy metals. **Biotechnology Advances**. 29(6): 645-653.
- Mochochoko, T., Oluwafemi, O. S., Jumbam, D. N., and Songca, S. P. (2013). Green synthesis of silver nanoparticles using cellulose extracted from an aquatic weed; water hyacinth. **Carbohydrate Polymers**. 98(1): 290-294.
- Mohan Kumar, K., Sinha, M., Mandal, B. K., Ghosh, A. R., Siva Kumar, K., and Sreedhara Reddy, P. (2012). Green synthesis of silver nanoparticles using *Terminalia chebula* extract at room temperature and their antimicrobial studies. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**. 91: 228-233.
- N., S., S., G., S., B., A., G., and M.M., R. (2012). Phytofabrication of silver nanoparticles by using aquatic plant *Hydrilla verticillata*. **Nusantara Bioscience** 4: 45-49.
- Nascimento, C. W. A. d., and Xing, B. (2006). Phytoextraction: a review on enhanced metal availability and plant accumulation. **Scientia Agricola**. 63: 299-311.
- Neis, F. A., de Costa, F., de Araújo, A. T., Fett, J. P., and Fett-Neto, A. G. (2019). Multiple industrial uses of non-wood pine products. **Industrial Crops and Products**. 130: 248-258.
- Okajima, S., Hamamoto, A., Asano, M., Isogawa, K., Ito, H., Kato, S., Hirata, Y., Furuta, K., and Takemori, H. (2019). Azepine derivative T4FAT, a new copper chelator, inhibits tyrosinase. **Biochemical and Biophysical Research Communications**. 509(1): 209-215.
- Ovečka, M., and Takáč, T. (2014). Managing heavy metal toxicity stress in plants: Biological and biotechnological tools. **Biotechnology Advances**. 32(1): 73-86.
- Palumaa, P. (2013). Copper chaperones. The concept of conformational control in the metabolism of copper. **FEBS Letters**. 587(13): 1902-1910.

- Panyala, N. R., Peña-Méndez, E. M., and Havel, J. (2008). Silver or silver nanoparticles: a hazardous threat to the environment and human health. **Journal of Applied Biomedicine**. 6(3): 117–129.
- Patil, R. S., Kokate, M. R., and Kolekar, S. S. (2012). Bioinspired synthesis of highly stabilized silver nanoparticles using *Ocimum tenuiflorum* leaf extract and their antibacterial activity. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**. 91: 234-238.
- Paz, Y., Shimoni, E., Weiss, M., and Pick, U. (2007). Effects of Iron Deficiency on Iron Binding and Internalization into Acidic Vacuoles in *Dunaliella salina*. **Plant Physiology**. 144(3): 1407-1415.
- Penfound, W. T., and Earle, T. (1948). The biology of the water hyacinth. **Ecological Monograph**. 18(4): 447-472.
- Puig, S., Anders-Colas, N., Garica-Molina, A., and Penarrubia, L. (2007). Copper and iron homeostasis in *Arabidopsis*: responses to metal deficiencies, interactions and biotechnological applications. **Plant, Cell & Environment**. 30(3): 271-290.
- Rai, P. K., Lee, S. S., Zhang, M., Tsang, Y. F., and Kim, K.-H. (2019). Heavy metals in food crops: Health risks, fate, mechanisms, and management. **Environment International**. 125: 365-385.
- Rajakumar, G., and Abdul Rahuman, A. (2011). Larvicidal activity of synthesized silver nanoparticles using *Eclipta prostrata* leaf extract against filariasis and malaria vectors. **Acta Tropica**. 118(3): 196-203.

- Rascio, N., and Navari-Izzo, F. (2011). Heavy metal hyperaccumulating plants: How and why do they do it? And what makes them so interesting? **Plant Science**. 180(2): 169-181.
- Rebelato, M. G., Rodrigues, A. M., Thomaz, A. G. d. B., Saran, L. M., Madaleno, L. L., and Oliveira, O. J. d. (2019). Developing an index to assess human toxicity potential of sugarcane industry. **Journal of Cleaner Production**. 209: 1274-1284.
- Ren, Z., Xu, G., Wei, X., Liu, Y., Hou, X., Du, P., Weng, W., Shen, G., and Han, G. (2007). Room temperature ferromagnetism in Fe-doped  $\text{PbTiO}_3$  nanocrystals. **Applied Physics Letters**. 91: 063106-063112.
- Ribeiro, V. E., Pereira, M. P., de Castro, E. M., Corrêa, F. F., Cardoso, M. d. G., and Pereira, F. J. (2019). Enhanced essential oil and leaf anatomy of *Schinus molle* plants under lead contamination. **Industrial Crops and Products**. 132: 92-98.
- Roy, S., and Bysakh, S. (2011). Ultrafine PZT based ceramics synthesized by auto-ignition of metal-polymer gel: Enhanced sinterability and higher remnant polarization. **Materials Chemistry and Physics**. 126(3): 948-954.
- Salvadori, M. R., Ando, R. A., Oller do Nascimento, C. A., and Corrêa, B. (2014). Intracellular Biosynthesis and Removal of Copper Nanoparticles by Dead Biomass of Yeast Isolated from the Wastewater of a Mine in the Brazilian Amazonia. **PLOS ONE**. 9(1): e87968.
- Sangeetha, G., Rajeshwari, S., and Venckatesh, R. (2011). Green synthesis of zinc oxide nanoparticles by aloe barbadensis miller leaf extract: Structure and optical properties. **Materials Research Bulletin**. 46(12): 2560-2566.

- Sangireddy, S., Okekeogbu, I., Ye, Z., Zhou, S., Howe, K. J., Fish, T., and Thannhauser, T. W. (2017). Effects of Al(3+) and La(3+) Trivalent Metal Ions on Tomato Fruit Proteomes. **Proteomes**. 5(1): 7.
- Sarwar, N., Imran, M., Shaheen, M. R., Ishaque, W., Kamran, M. A., Matloob, A., Rehim, A., and Hussain, S. (2017). Phytoremediation strategies for soils contaminated with heavy metals: Modifications and future perspectives. **Chemosphere**. 171: 710-721.
- Saxena, A., Tripathi, R. M., Zafar, F., and Singh, P. (2012). Green synthesis of silver nanoparticles using aqueous solution of Ficus benghalensis leaf extract and characterization of their antibacterial activity. **Materials Letters**. 67(1): 91-94.
- Schaumlöffel, D. (2012). Nickel species: Analysis and toxic effects. **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology**. 26(1): 1-6.
- Seid, A., and Getenet, B. (2017). Exotic and invasive plants: Water hyacinth. In: **Social and Ecological System Dynamics**. Springer, pp. 257-279
- Shahid, M., Dumat, C., Khalid, S., Schreck, E., Xiong, T., and Niazi, N. K. (2017). Foliar heavy metal uptake, toxicity and detoxification in plants: A comparison of foliar and root metal uptake. **Journal of Hazardous Materials**. 325: 36-58.
- Shahzad, B., Tanveer, M., Rehman, A., Cheema, S. A., Fahad, S., Rehman, S., and Sharma, A. (2018). Nickel; whether toxic or essential for plants and environment - A review. **Plant Physiology and Biochemistry**. 132: 641-651.
- Shao, H., Zhang, X., Liu, S., Chen, F., Xu, J., and Feng, Y. (2011). Preparation of pure iron nanofibers via electrospinning. **Materials Letters**. 65(12): 1775-1777.



- Siegfried, E. C., and Hebert, A. A. (2015). Diagnosis of Atopic Dermatitis: Mimics, Overlaps, and Complications. **Journal of clinical medicine**. 4(5): 884-917.
- Singh, A., Prasad, S. M., and Singh, R. P. (2016). Plant Responses to Xenobiotics. **Springer**.
- Smrečki, N., Rončević, T., Jović, O., Kukovec, B.-M., Maravić, A., Gajski, G., and Čikeš-Čulić, V. (2019). Copper(II) complexes with N'-methylsarcosinamide selective for human bladder cancer cells. **Inorganica Chimica Acta**. 488: 312-320.
- Speichert, G., and Speichert, S. (2004). **Encyclopedia of water garden plants**. Timber Press, Inc.
- Sunderman, F. W. (1981). 5 - Nickel. In: Bronner, F. and J. W. Coburn (Ed.). **Disorders of Mineral Metabolism**. Academic Press, pp. 201-232
- Suresh, S., Karthikeyan, S., and Jayamoorthy, K. (2016a). FTIR and multivariate analysis to study the effect of bulk and nano copper oxide on peanut plant leaves. **Journal of Science: Advanced Materials and Devices**. 1(3): 343-350.
- Suresh, S., Karthikeyan, S., and Jayamoorthy, K. (2016b). Spectral investigations to the effect of bulk and nano ZnO on peanut plant leaves. **Karbala International Journal of Modern Science**. 2(2): 69-77.
- Téllez, T. R., López, E., Granado, G. L., Pérez, E. A., López, R. M., and Guzmán, J. S. (2008). The water hyacinth, *Eichhornia crassipes*: an invasive plant in the Guadiana River Basin (Spain). **Journal of Aquatic Invasions**. 3(1): 42-53.
- Therault, G., and Nkongolo, K. (2016). Nickel and Copper Toxicity and Plant Response Mechanisms in White Birch (*Betula papyrifera*). **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**. 97(2): 171-176.

- Thomine, S., Wang, R., Ward, J. M., Crawford, N. M., and Schroeder, J. I. (2000). Cadmium and iron transport by members of a plant metal transporter family in *Arabidopsis* with homology to Nramp genes. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**. 97(9): 4991-4996.
- Török, A., Gulyás, Z., Szalai, G., Kocsy, G., and Majdik, C. (2015). Phytoremediation capacity of aquatic plants is associated with the degree of phytochelatin polymerization. **Journal of Hazardous Materials**. 299: 371-378.
- Tran, T.-K., Chiu, K.-F., Lin, C.-Y., and Leu, H.-J. (2017). Electrochemical treatment of wastewater: Selectivity of the heavy metals removal process. **International Journal of Hydrogen Energy**. 42(45): 27741-27748.
- Wang, X., Liu, X., and Xie, J. (2014). Mechanism of surface texture evolution in pure copper strips subjected to double rolling. **Progress in Natural Science: Materials International**. 24(1): 75-82.
- Yang, Q., Li, Z., Lu, X., Duan, Q., Huang, L., and Bi, J. (2018). A review of soil heavy metal pollution from industrial and agricultural regions in China: Pollution and risk assessment. **Science of The Total Environment**. 642: 690-700.
- Yang, Z., and Chu, C. (2011). Towards Understanding Plant Response to Heavy Metal Stress. In: Shanker, A. and B. Venkateswarlu (Ed.). **Abiotic Stress in Plants - Mechanisms and Adaptations**. Rijeka, InTech, pp. Ch. 04
- Yin, K., Wang, Q., Lv, M., and Chen, L. (2019). Microorganism remediation strategies towards heavy metals. **Chemical Engineering Journal**. 360: 1553-1563.

Yruela, I. (2009). Copper in plants: Acquisition, transport and interactions. **Functional Plant Biology**. 36(5): 409-430.

Zeng, L., Liu, Q., Luo, L., Liu, L., and Tang, K. (2019). Enhancement mechanism of an improved liquid membrane using selective permeation retardant for heavy metal ions separation. **Chemical Engineering Science**.

Zischka, H., and Borchard, S. (2019). Chapter 8 - Mitochondrial Copper Toxicity with a Focus on Wilson Disease. In: Kerkar, N. and E. A. Roberts (Ed.). **Clinical and Translational Perspectives on WILSON DISEASE**. Academic Press, pp. 65-75

กุลวิวัฒน์ เงามคำ และ วรณภา สิริระศิริ (2526). พลวัตและผลกระทบจากการพัฒนาการเกษตรและอุตสาหกรรมจังหวัดลำพูน :กรณีศึกษานิคมอุตสาหกรรมจังหวัดลำพูนและพื้นที่โดยรอบ. [www.industry.go.th/lamphun](http://www.industry.go.th/lamphun).

ตุลฉัตร อุดารักษ์ (2018). คำพิพากษาและคำสั่งศาลในคดีด้านสิ่งแวดล้อมและทรัพยากรธรรมชาติที่น่าสนใจ. **Journal of Public Health**. 4(2): 295-306.

พรพรรณ พนาปวุฒิกุล (2557). โลหะหนัก: ตัวการปัญหาสิ่งแวดล้อม. <http://www.chemtrack.org>.

สำนักระบาดวิทยา. (2548). สรุปรายงานการเฝ้าระวังโรค. <http://epid.moph.go.th>.





## 1. General chemicals and materials

Copper nitrate	Merck, Darmstadt, Germany
Iron nitrate	Merck, Darmstadt, Germany
Nickel nitrate	Merck, Darmstadt, Germany
Lead nitrate	EMS, Hatfield, PA, USA
Silver nitrate	QRec, Auckland, New Zealand
Glutaraldehyde	Unilab, Auckland, New Zealand
Disodium hydrogen phosphate	Sigma Aldrich, Darmstadt, Germany
Dihydrogen phosphate	Sigma Aldrich, Darmstadt, Germany
Acetone	Unilab, Auckland, New Zealand

## 2. Spurr's resin media

Vinylcyclohexene Dioxide	EMS, Hatfield, PA, USA
Diglycidyl ether of polypropylene glycol	EMS, Hatfield, PA, USA
Nonenyl succinic anhydride	EMS, Hatfield, PA, USA
Dimethylaminoethanol	EMS, Hatfield, PA, USA



ภาคผนวก ข

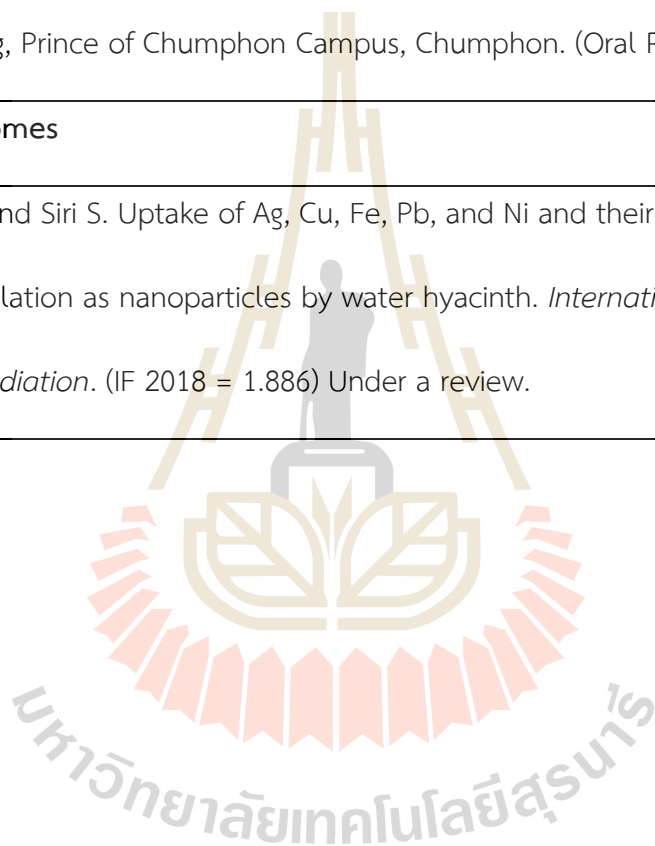
Output of the research



## Research Outcomes

Objectives	Outcomes
<p>1) เพื่อศึกษาการดูดซับอ๊อนของทองแดง เหล็ก นิกเกิล ตะกั่ว และซิลเวอร์ ด้วยผักตบชวา และความเป็นพิษของอ๊อนโลหะที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ต่อผักตบชวา</p> <p>2) เพื่อศึกษาความสามารถในการผลิตอนุภาคนาโน จากอ๊อนของทองแดง เหล็ก นิกเกิล ตะกั่ว และซิลเวอร์ของผักตบชวา</p> <p>3) เพื่อศึกษาชนิด ลักษณะ และคุณสมบัติของอนุภาคนาโนที่ได้</p>	<p>1) ได้ข้อมูลการดูดซับอ๊อนทั้ง 5 ชนิด และความเป็นพิษของอ๊อนดังกล่าวในผักตบชวา</p> <p>2) ได้ข้อมูลการเปลี่ยนอ๊อนของโลหะทั้ง 5 ชนิด เป็นอนุภาคนาโน โดยมีเฉพาะนิกเกิลที่ไม่เกิดการสร้างอนุภาคนาโนภายในเซลล์พืช</p> <p>3) ได้ข้อมูลการเกิดอนุภาคนาโนภายในเซลล์ผักตบชวา ซึ่งชี้ให้เห็นว่าสามารถใช้ผักตบชวาเป็นพืชดูดซึมอ๊อนปนเปื้อนในแหล่งน้ำ และสามารถผลิตเป็นอนุภาคนาโนภายในเซลล์ได้ ซึ่งการนำผักตบชวาที่ได้ไปเผาต่อหน้าจะทำให้ได้อนุภาคนาโนที่สามารถนำไปใช้ประโยชน์ต่อไปได้</p>
<b>Presentation outcomes</b>	
<p>2019. Chumpol J and Siri S. Biosynthesis of lead nanoparticles in water hyacinth (Eichhornia crassipes) cells from the uptake lead ions. The 4th National Conference on Informatics, Agriculture, Management, Business administration, Engineering, Sciences and Technology: IAMBEST 2019, May 30 – 31 2016, King</p>	

<p>Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang, Prince of Chumphon Campus, Chumphon. (Oral Presentation).</p> <p>2017. Chumpol J and Siri S. Biosynthesis of Silver Nanoparticles by Water Hyacinth (<i>Eichhornia crassipes</i>). The 2nd Multi National Conference on Informatics, Agriculture, Management, Business Administration, Engineering, Sciences and Technology, May 30 – June 01, 2016, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang, Prince of Chumphon Campus, Chumphon. (Oral Presentation).</p>
<b>Publication outcomes</b>
<p>20xx. Chumpol J and Siri S. Uptake of Ag, Cu, Fe, Pb, and Ni and their potential bioaccumulation as nanoparticles by water hyacinth. <i>International Journal of Phytoremediation</i>. (IF 2018 = 1.886) Under a review.</p>



## ประวัตินักวิจัย

ผู้เสนอโครงการ

ชื่อ-สกุล นางสาว สินีนาฏ ศิริ (Miss Sineenat Siri)

สถานที่ทำงาน สาขาวิชาชีววิทยา สำนักวิชาวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี อ.เมือง

จ. นครราชสีมา 30000 โทรศัพท์ 044-223305, 089-7119112 โทรสาร 044-224633

อีเมลล์: ssinee@sut.ac.th

ประวัติการศึกษา

วท.บ. (ชีววิทยา เกียรตินิยมอันดับหนึ่ง)	มหาวิทยาลัยขอนแก่น	2532-2536
M.Sc. (Biological Science, Emphasis Mol. Biol.)	U. of Southern Mississippi, USA	2537-2540
Ph.D. (Cell Biology, Emphasis Mol. Biol.)	U. of Connecticut, USA	2540-2546

### ผลงานตีพิมพ์ระดับนานาชาติ (2019-2015)

- 201x. Chumpol J and Siri S\*. Light- Mediated Green Synthesis of DNA- Capped Silver Nanoparticles and Their Antibacterial Activity. **Journal of Nanoscience and Nanotechnology**. Accepted. (IF2016=1.354)
2019. Bamroongnok K, Khamhaengpol A and Siri S\*. Comparison of ethanolic extracts of phytoestrogenic *Dendrolobium lanceolatum* and non-phytoestrogenic *Raphanus sativus* to mediate green syntheses of silver nanoparticles. *Chemical Report*. 1: 43-50.
2019. Phuruangrat, A., Siri, S., Wadbua, P., Thongtem, S., Thongtem, T. Microwave-assisted synthesis, photocatalysis and antibacterial activity of Ag nanoparticles supported on ZnO flowers. **Journal of Physics and Chemistry of Solids**. 126: 170-177. (IF2017=2.207)
2018. Sritong N, Chumsook S and Siri S\*. Light emitting diode irradiation induced shape conversion of DNA-capped silver nanoparticles and their antioxidant and antibacterial activities. **Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology**. 2018 Feb 46: 955-963. (IF2016=5.605)
2018. Chumpol J and Siri S\*. Simple green production of silver nanoparticles facilitated by bacterial genomic DNA and their antibacterial activity. **Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology**. 46(3): 619-625. (IF2016=5.605)
2018. Jaisabai W, Khamhaengpol A and Siri S\*. Sericins of mulberry and non-mulberry silkworms for eco-friendly synthesis of silver nanoparticles. **Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology**. 46(3): 536-543. (IF2016=5.605)

2018. Janthima R, Khamhaengpol A and **Siri S\***. Egg extract of apple snail for eco-friendly synthesis of small silver nanoparticles and their antibacterial activity. **Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology**. 46(2): 361-367. (IF2016=5.605)
2017. Khamhaengpol A and **Siri S\***. Composite electrospun scaffold derived from recombinant fibroin of weaver ant (*Oecophylla smaragdina*) as cell-substratum. **Applied Biochemistry and Biotechnology**. 183(1): 110-125. (IF2015=1.606)
2017. Khamhaengpol A and **Siri S\***. Green synthesis of silver nanoparticles using tissue extract of weaver ant larvae. **Materials Letters**. 192: 72-75. (IF2015= 2.437)
2017. Busayapongchai P and **Siri S\***. Sensitive detection of estradiol based on ligand binding domain of estrogen receptor and gold nanoparticles. **Analytical Biochemistry**. 518: 60-68. (IF2015=2.243)
2017. Busayapongchai P and **Siri S\***. Estrogenic Receptor-Functionalized Magnetite Nanoparticles for Rapid Separation of Phytoestrogens in Plant Extracts. **Applied Biochemistry and Biotechnology**. 181:925-938. (IF2015=1.606)
2017. Busayapongchai P and **Siri S\***. Simple assay for screening phytoestrogenic compounds using oestrogen receptor immobilized magnetite nanoparticles. **IET Nanobiotechnology**. 11(4): 395-402. (IF2015=1.500)
2016. Khamhaengpol A and **Siri S\***. Fluorescent light mediated a green synthesis of silver nanoparticles using the protein extract of weaver ant larvae. **Journal of Phytochemistry and Phytobiology B: Biology**. 163:337-344. (IF2015=3.035)
2016. Chumwangwapee S, Chingsongnoen A and **Siri S\***. A Plasms modified cellulose-chitosan porous membrane allows efficient DNA binding and provides antibacterial properties: A step towards developing a new DNA collecting card. **Forensic Science International: Genetics**. 25: 19-25. (IF2015=4.988)
2016. Chumpol J and **Siri S\***. Electrospun cellulose acetate membrane for size separating and antibacterial screening of crude polysaccharides. **IET Nanobiotechnology**. 10(6): 405-410. (IF2015=1.500)
2015. [Chaisri P](#), [Chingsungnoen A](#), **Siri S\***. Repetitive Gly-Leu-Lys-Gly-Glu-Asn-Arg-Gly-Asp Peptide Derived from Collagen and Fibronectin for Improving Cell-Scaffold Interaction. [Apply Biochemistry and Biotechnology](#). 175:2489-2500. (IF2014=1.735)

### ผู้ร่วมโครงการ

ชื่อ-สกุล นางสาวจิราพร ชุมพล (Miss Jiraporn Chumpol)

สถานที่ทำงาน สาขาวิชาชีววิทยา สำนักวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี อ.เมือง

จ. นครราชสีมา 30000 โทรศัพท์ 083-0387724

อีเมล: m5710096@g.sut.ac.th

### ประวัติการศึกษา

วิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาวิชาเคมี	มหาวิทยาลัยมหาสารคาม	2550-2553
วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาชีวเคมี	มหาวิทยาลัยขอนแก่น	2554-2556

### ผลงานตีพิมพ์ระดับนานาชาติ

- 20xx. **Chumpol J** and Siri S. Uptake of Ag, Cu, Fe, Pb, and Ni and their potential bioaccumulation as nanoparticles by water hyacinth. *International Journal of Phytoremediation*. (IF 2018 = 1.886) Under a review.
- 20xx. **Chumpol J** and Siri S. Light-mediated green synthesis of DNA-capped silver nanoparticles and their antibacterial activity. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*. (IF 2018 = 1.354) Under a revised.
2017. **Chumpol J** and Siri S. Simple green production of silver nanoparticles facilitated by bacterial genomic DNA and their antibacterial activity. Submitted to *Artificial Cells, Nanomedicine and Biotechnology*. 46(3): 619-625. (IF 2015 = 2.024).
2016. **Chumpol J** and Siri S. Electrospun cellulose acetate membrane for size separating and antibacterial screening of crude polysaccharides. Submitted to *IET Nanobiotechnology*. 10(4): 405-410. (IF 2015 = 1.5)

### การนำเสนอผลงานระดับนานาชาติ

2019. **Chumpol J** and Siri S. Biosynthesis of lead nanoparticles in water hyacinth (*Eichhornia crassipes*) cells from the uptake lead ions. The 4th National Conference on Informatics, Agriculture, Management, Business administration, Engineering, Sciences and Technology: IAMBEST 2019, May 30 – 31 2016, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang, Prince of Chumphon Campus, Chumphon. (Oral Presentation)
2017. **Chumpol J** and Siri S. Biosynthesis of Silver Nanoparticles by Water Hyacinth (*Eichhornia crassipes*). The 2<sup>nd</sup> Multi National Conference on Informatics, Agriculture, Management,



- Business Administration, Engineering, Sciences and Technology, May 30 – June 01, 2016, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang, Prince of Chumphon Campus, Chumphon. (Oral Presentation)
2016. **Chumpol J** and Siri S. Biological Synthesis of Copper Nanoparticles in Water Velvet (*Azolla pinnata*). International Conference on Advances in Science, Engineering, Technology and Natural Resources (ICASETNR-16), May 11-12, 2016, Bayview Hotel, Singapore. (Oral Presentation)
2014. **Chumpol j** and Siri S. “Green synthesis of lead nanoparticles in *Azolla pinnata*” The 26th Annual Meeting of the Thai Society for Biotechnology and International Conference “3Bs: Biodiversity, Biotechnology and Bioeconomy” November 26-29, 2014, Mae Fah Luang University, Chiang Rai, Thailand. (The best poster presentation)
2013. **Chumpol J** and Siri S. Development of Electospun Nanofibrous Membrane for a Simple Polysaccharide Separation. Hatyai Symposium 2013, May 9, 2013, Hatyai University, Songkha. (Oral Presentation)

