



รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

การแพร่กระจายและผลของโลหะหนักต่อพฤติกรรมการกินและมิถุนวิทยา
ของระบบทางเดินอาหารของหอยเชอรี่ (*Pomacea canaliculata*) และ
หอยโข่ง (*Pila* spp.) ในเขตพื้นที่ภาคตะวันออกของประเทศไทย
(Distribution and effects of heavy metals on feeding behavior
and histology of digestive system in *Pomacea canaliculata*
and *Pila* spp. in the Eastern region of Thailand)

นางสาวจันทิมา ปิยะพงษ์

นางศศิธร มั่นเจริญ

นางจิรารัช กิตนะ

โครงการวิจัยประเภทงบประมาณเงินรายได้
จากเงินอุดหนุนรัฐบาล (งบประมาณแผ่นดิน)

ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2560

มหาวิทยาลัยบูรพา

รหัสโครงการ 2560A10802160

สัญญาเลขที่ 93/2560

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

การแพร่กระจายและผลของโลหะหนักต่อพฤติกรรมการกินและมิยชีววิทยาของระบบทางเดินอาหารของหอยเชอรี่ (*Pomacea canaliculata*) และหอยโข่ง (*Pila* spp.) ในเขตพื้นที่ภาคตะวันออกของประเทศไทย (Distribution and effects of heavy metals on feeding behavior and histology of digestive system in *Pomacea canaliculata*) and *Pila* spp. in the Eastern region of Thailand)

นางสาวจันทิมา ปิยะพงษ์

ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

นางศศิธร มั่นเจริญ

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

นางจิรารัช กิตนะ

ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทคัดย่อ

การเปลี่ยนแปลงทางพยาธิสภาพเป็นตัวบ่งชี้ที่ดีของผลของมลพิษต่อสิ่งมีชีวิตที่ได้รับสารพิษ และสามารถใช้เป็นเครื่องมือในการบ่งชี้เพื่อแสดงถึงความเป็นพิษในเบื้องต้นได้ ซึ่งต่อมย่อยอาหารของหอยเป็นบริเวณที่สำคัญในการสะสมและการกำจัดสารพิษ ด้วยเหตุนี้การเปลี่ยนแปลงของต่อมย่อยอาหารของหอยจึงสามารถใช้เป็นตัวชี้วัดทางชีวภาพสำหรับการติดตามมลภาวะทางสิ่งแวดล้อมได้ จากการศึกษาการแพร่กระจายหอยเชอริ (*Pomacea canaliculata*) และหอยโข่ง (*Pila spp.*) จาก 10 พื้นที่อาศัยในเขตพื้นที่จังหวัดฉะเชิงเทรา ชลบุรีและระยองของภาคตะวันออกของประเทศไทยพบเฉพาะหอยเชอริใน 6 พื้นที่อาศัยในขณะที่ไม่พบหอยโข่งเลย ผลการศึกษามิถุนวิทยาลัยของต่อมย่อยอาหารของหอยเชอริที่ได้จาก 6 พื้นที่ดังกล่าวพบว่าไม่สามารถบ่งบอกความแตกต่างกันได้อย่างชัดเจนในพื้นที่ธรรมชาติ พื้นที่เกษตรกรรม พื้นที่ชุมชนและพื้นที่อุตสาหกรรม รวมทั้งปริมาณโลหะหนัก 6 ชนิดได้แก่ ตะกั่ว แคดเมียม เหล็ก สังกะสี นิกเกิล และทองแดงในแหล่งน้ำจาก 10 พื้นที่อาศัยดังกล่าวทั้งหมดมีค่าต่ำกว่าค่ามาตรฐานที่กรมควบคุมมลพิษกำหนดเกณฑ์ไว้สูงสุดสำหรับน้ำผิวดิน ผลการศึกษานี้เป็นเพียงการศึกษาเพื่อใช้เป็นแนวทางในการดำเนินการวิจัยในห้องปฏิบัติการเพื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างพฤติกรรมการกินและมิถุนวิทยาลัยของระบบทางเดินอาหารของหอยเชอริและหอยโข่งที่ได้รับโลหะหนักในปีงบประมาณ 2561

Abstract

Histopathological alteration is a good indicator of the effects of pollution on exposed organisms and provides an early indication of toxicity. The digestive gland of molluscs is the major site of pollutant accumulation and detoxification. Therefore, digestive gland alteration of molluscs can be used as a biomarker for monitoring environmental pollution. According to the survey of distribution of the apple snails (*Pomacea canaliculata* and *Pila* spp.) from 10 habitats in the Eastern Region of Thailand (Chachoengsao, Chonburi and Rayong provinces), only the invasive apple snails (*P. canaliculata*) were found in 6 out of 10 habitats whereas none of the native species was found. The histopathological result revealed that the digestive glands of *P. canaliculata* from these 6 habitats showed no clear difference among sites (forest, agriculture, industry and urban). Also, all heavy metals (Pb, Cd, Fe, Zn, Ni and Cu concentrations) were below the standard limits in all the habitats for surface water (Pollution Control Department). These results could be used as a guideline for investigating the relationship between feeding behavior and histopathology of digestive system in apple snails when exposing to heavy metal in the laboratory for fiscal year in 2561.

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจากงบประมาณเงินรายได้จากเงินอุดหนุนรัฐบาล (งบประมาณแผ่นดิน) ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2560 มหาวิทยาลัยบูรพา ผ่านสำนักงานคณะกรรมการการวิจัยแห่งชาติ เลขที่สัญญา 93/2560

ผู้วิจัยขอขอบคุณ บุคลากร เจ้าหน้าที่ และนิสิต ภาควิชาชีววิทยาและภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา โดยเฉพาะนางสาวกรองทอง ตั้งสิทธิ ที่มีส่วนร่วมในการเก็บข้อมูล การวิเคราะห์ข้อมูล และจัดพิมพ์รายงาน รวมทั้ง กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 6 จังหวัดชลบุรี ที่วิเคราะห์โลหะหนัก

สุดท้ายนี้ขอขอบคุณผู้มีพระคุณที่ไม่ได้เอ่ยนามที่มีส่วนร่วมให้ความช่วยเหลือให้งานวิจัยนี้ สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

สารบัญเรื่อง

เนื้อหา	หน้า
บทคัดย่อ.....	๗
Abstract.....	๘
กิตติกรรมประกาศ.....	๙
สารบัญเรื่อง.....	๑๐
สารบัญตาราง.....	๑๑
สารบัญภาพ.....	๑๒
บทนำ.....	1
ความสำคัญและที่มาของปัญหา.....	1
วัตถุประสงค์ของการวิจัย.....	2
ขอบเขตของการวิจัย.....	2
แนวทางความคิดที่นำมาใช้ในการวิจัย.....	3
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	3
อุปกรณ์และวิธีการดำเนินการวิจัย.....	4
ผลการศึกษา.....	10
สรุปและวิจารณ์ผลการศึกษา.....	16
บรรณานุกรม.....	18
ภาคผนวก.....	20

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
ตารางที่ 1	ขั้นตอนการเตรียมเนื้อเยื่อต่อมย่อยอาหารของหอยเชอร์รี่ที่พบในธรรมชาติ	7
ตารางที่ 2	ขั้นตอนการย้อมสีเนื้อเยื่อต่อมย่อยอาหารของหอยเชอร์รี่ด้วยสีฮีมาทอกไซลีนและอิโอซินวาย	8
ตารางที่ 3	ข้อมูลการสำรวจหอยเชอร์รี่และหอยโข่งพันธุ์พื้นเมืองจากแหล่งน้ำบริเวณต่าง ๆ ใน จ.ชลบุรี จ.ระยอง และจ.ฉะเชิงเทรา	11
ตารางที่ 4	มิถุนวิทยาต่อมย่อยอาหารของหอยเชอร์รี่จากพื้นที่สำรวจ 6 พื้นที่ (Mean±S.D.) (n=3)	14

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
ภาพที่ 1 เนื้อเยื่อต่อมย่อยอาหารของหอยเชอร์รี่พื้นที่สำรวจ 6 พื้นที่ (รายละเอียดตามตารางที่ ย่อด้วยสี H&E DC คือ เซลล์ย่อยอาหาร DG คือ แกรนูลสีเข้ม V คือ ช่องว่างภายในเซลล์ ย่อยอาหาร L คือ ช่องว่างตรงกลางต่อมย่อยอาหาร ➡ คือ เซลล์เบโซฟิลิก ➤ คือ นิวเคลียสของเซลล์เบโซฟิลิก	15

บทนำ

ความสำคัญและที่มาของปัญหา

ปัจจุบันโลกกำลังถูกทำลายด้วยปัญหาด้านสิ่งแวดล้อม อันเป็นผลมาจากจำนวนประชากรที่เพิ่มสูงขึ้นและเทคโนโลยีที่ก้าวหน้า จึงทำให้เกิดการสูญเสียทรัพยากรธรรมชาติและเกิดปัญหามลพิษของสิ่งแวดล้อมอย่างมาก โดยปัญหาที่โลกกำลังเผชิญอยู่เช่น ความเสื่อมโทรมของทรัพยากรธรรมชาติ การเกิดมลพิษทั้งในระบบนิเวศน้ำจืดและทะเล การสูญเสียความหลากหลายทางชีวภาพและการเปลี่ยนแปลงของสภาพภูมิอากาศโลก จากที่กล่าวแล้วข้างต้น มลพิษนี้ยังรวมถึงโลหะหนักที่ปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อมด้วย การเฝ้าระวังและติดตามปัญหามลพิษนี้เช่น การศึกษาทางชีววิทยา เช่นมิถุนวิทยาหรือพฤติกรรมจึงมีความจำเป็น

เป็นที่ทราบทั่วกันว่าภาคตะวันออกของประเทศไทย โดยเฉพาะในเขตจังหวัดระยอง ชลบุรี และฉะเชิงเทรา จัดเป็นพื้นที่ที่มีแหล่งอุตสาหกรรม เกษตรกรรมและท่องเที่ยวทางธรรมชาติอยู่ร่วมกัน ซึ่งเป็นพื้นที่ที่เป็นแหล่งเศรษฐกิจสำคัญในลำดับต้นๆ ของประเทศไทย สามารถนำเม็ดเงินจำนวนมากมาเข้าสู่ประเทศ อย่างไรก็ตามพบว่าเมื่อพื้นที่ใดที่มีความเจริญไม่ว่าจะเป็นทางด้านเศรษฐกิจ หรืออุตสาหกรรม พื้นที่เหล่านั้นมักจะพบปัญหาทางด้านสิ่งแวดล้อมตามมา ซึ่งในพื้นที่บริเวณเขตจังหวัดระยอง ชลบุรีและฉะเชิงเทราก็เช่นเดียวกัน

การศึกษาที่ผ่านมาในอดีตเกี่ยวกับการปนเปื้อนหรือการสะสมของมลพิษ พบว่าการศึกษาการปนเปื้อน หรือการสะสมของมลพิษ โดยเฉพาะโลหะหนักในสิ่งมีชีวิตต่างๆ สามารถถูกใช้เพื่อเป็นตัวชี้วัดคุณภาพของแหล่งน้ำ หรือที่รู้จักกันในชื่อ “Bio-monitoring” ทั้งนี้เนื่องจากปริมาณของโลหะในแหล่งน้ำ และที่สะสมในเนื้อเยื่อสิ่งมีชีวิตเหล่านี้สามารถใช้เป็นตัวชี้วัดคุณภาพของแหล่งน้ำ เพื่อเป็นแนวทางในการติดตามและเฝ้าระวังปัญหามลพิษทางสิ่งแวดล้อมได้ นอกจากการใช้เนื้อเยื่อของสิ่งมีชีวิตบางชนิดเป็นตัวชี้วัดคุณภาพของแหล่งน้ำได้แล้ว พฤติกรรมสามารถถูกใช้เป็นตัวชี้วัดได้เช่นเดียวกัน อย่างไรก็ตามพบว่ามีการศึกษาเกี่ยวกับพฤติกรรมของสัตว์เพื่อใช้ในเรื่อนั้นน้อยมากในประเทศไทย ทั้ง ๆ ที่การทดสอบความเป็นพิษทางพฤติกรรมนั้นมีต้นทุนที่ต่ำและเป็นวิธีการที่สามารถตรวจพบผลความเป็นพิษรองเฉียบพลันของของโลหะหนักและสามารถพัฒนาเป็นตัวชี้วัดคุณภาพของแหล่งน้ำได้ (Døving, 1991; Scott & Sloman, 2004)

หอยเชอร์รี่ (*Pomacea canaliculata*) เป็นชนิดพันธุ์หนึ่งซึ่งถูกจัดเป็น ชนิดพันธุ์ต่างถิ่นที่รุกรานแล้วในประเทศไทย (ชวลิต วิทยานนท์, 2549) จากข้อมูลของทีมผู้วิจัยที่ศึกษาเมื่อไม่นานมานี้ในห้องปฏิบัติการพบว่า หอยเชอร์รี่แสดงพฤติกรรมการกินอาหารมากกว่าหอยโข่งพันธุ์พื้นเมือง (*Pila pesmei*) และในการสำรวจภาคสนามเบื้องต้นในพื้นที่ภาคตะวันออกไม่ค่อยพบหอยโข่งพันธุ์พื้นเมืองในขณะที่หอยเชอร์รี่ถูกพบได้ทั่วไปรวมทั้งในแหล่งน้ำที่มีปัญหามลพิษ เป็นไปได้ว่าหอยเชอร์รี่อาจมีแนวโน้มที่มีความทนทานต่อสารมลพิษ เช่น โลหะหนักต่าง ๆ ในสิ่งแวดล้อมได้ดีกว่าหอยโข่ง

พันธุ์พื้นเมือง จึงทำให้หอยเชอร์รี่ประสบความสำเร็จในการรุกรานชนิดพันธุ์พื้นเมือง (Chapple et al., 2012)

ดังนั้นการวิจัยนี้จึงสนใจที่จะศึกษาการแพร่กระจายและผลของโลหะหนักบางชนิดต่อพฤติกรรมการกินและมิถุวิทยาของระบบทางเดินอาหารของหอยเชอร์รี่และหอยโข่งซึ่งเป็นสัตว์ต้นแบบ จากการศึกษาครั้งนี้สามารถนำไปใช้เป็นแนวทางในการศึกษาความเป็นไปได้ของการใช้หอยเชอร์รี่และหอยโข่งเป็นสัตว์ต้นแบบเพื่อเฝ้าระวังผลกระทบจากโลหะหนักในสิ่งแวดล้อมผ่านการศึกษาวงพฤติกรรมซึ่งมีต้นทุนในการวิจัยต่ำและสอดคล้องกับแนวคิดปรัชญาเศรษฐกิจพอเพียงเพื่อสร้างองค์ความรู้ในการดูแลรักษาคุณภาพสิ่งแวดล้อมและควบคุมปัญหามลพิษอย่างเป็นรูปธรรมที่เหมาะสมตามศักยภาพของท้องถิ่นด้วยหลักการทางวิทยาศาสตร์

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

- เพื่อศึกษาการแพร่กระจายและผลของโลหะหนักต่อพฤติกรรมการกินและมิถุวิทยาของระบบทางเดินอาหารของหอยเชอร์รี่ (*Pomacea canaliculata*) และหอยโข่ง (*Pila spp.*) ในเขตพื้นที่ภาคตะวันออกของประเทศไทย (ปีงบประมาณ 2560-2561)
- เพื่อวิเคราะห์ปริมาณโลหะหนัก 6 ชนิดได้แก่ ตะกั่ว แคดเมียม เหล็ก สังกะสี นิกเกิล และทองแดง ในพื้นที่ศึกษาและในห้องปฏิบัติการโดยใช้เทคนิคที่อาศัยหลักการวิเคราะห์ทางเคมีไฟฟ้า (ปีงบประมาณ 2560)
- เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างพฤติกรรมการกินและมิถุวิทยาของระบบทางเดินอาหารของหอยเชอร์รี่ (*Pomacea canaliculata*) และหอยโข่ง (*Pila spp.*) ที่ได้รับโลหะหนัก (ปีงบประมาณ 2561)

ขอบเขตของการวิจัย

งานวิจัยนี้มีขอบเขตในการศึกษา 2 ประเด็น คือ

ขอบเขตเชิงเนื้อหา แบ่งออกเป็น 2 ส่วน คือ

1) การศึกษาภาคสนาม ซึ่งจะทำการศึกษาข้อมูลพื้นฐานพื้นที่ที่ทำการเก็บตัวอย่างหอยโข่งพันธุ์พื้นเมืองและหอยเชอร์รี่เพื่อประเมินสถานการณ์การกระจายของหอยดังกล่าวในจังหวัดฉะเชิงเทรา ชลบุรีและระยองแบ่งออกเป็น 4 พื้นที่คือ พื้นที่ธรรมชาติ พื้นที่เกษตรกรรม พื้นที่ชุมชนและพื้นที่อุตสาหกรรม หลังจากนั้นทำการเก็บตัวอย่าง น้ำ ดินและหอยเพื่อมาทำการวิเคราะห์หาความเข้มข้นของโลหะหนักด้วยเทคนิคทางเคมีไฟฟ้าและศึกษามิถุวิทยาของระบบทางเดินอาหารของตัวอย่างหอยที่ได้จากภาคสนาม

2) การศึกษาในห้องปฏิบัติการ เป็นการศึกษาความเป็นพิษรองเฉียบพลันของโลหะหนักต่อการศึกษาพฤติกรรมการกิน รวมทั้งการวิเคราะห์พยาธิสภาพของเซลล์หอยและปริมาณโลหะหนักในเนื้อเยื่อหอย

2. ขอบเขตเชิงพื้นที่ พื้นที่ที่ใช้ในการศึกษา คือ 3 จังหวัดของภาคตะวันออก ได้แก่ ฉะเชิงเทรา ชลบุรีและระยอง

แนวทางความคิดที่นำมาใช้ในการวิจัย

ความทนทานต่อสารมลพิษในสิ่งแวดล้อมของชนิดพันธุ์ต่างถิ่นน่าจะมีความทนทานมากกว่า ดังนั้นหอยเชอร์รี่ทนทานต่อสารมลพิษ เช่น โลหะหนักต่างๆ ในสิ่งแวดล้อมได้ดีกว่าหอยโข่งพันธุ์พื้นเมืองโดยคาดการณ์ว่ามีความแตกต่างระหว่างมิถุนวิทยาของระบบทางเดินอาหารและพฤติกรรมการกินระหว่างหอยโข่งและหอยเชอร์รี่ นอกจากนี้แนวคิดของโครงการวิจัยนี้คือต้องการสร้างองค์ความรู้ในการใช้การศึกษาทางพฤติกรรมซึ่งมีต้นทุนต่ำเป็นดัชนีชี้วัดทางชีวภาพ โดยการสำรวจพื้นที่การแพร่กระจายของหอยโข่งและหอยเชอร์รี่ในเขตพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือครอบคลุมพื้นที่ธรรมชาติ เกษตรกรรม ชุมชนและอุตสาหกรรม ทำการเก็บตัวอย่าง น้ำ ดินและหอยเพื่อนำมาวิเคราะห์ความเข้มข้นของโลหะหนักด้วยเทคนิคทางไฟฟ้าและนำหอยจากภาคสนามมาศึกษามิถุนวิทยาของระบบทางเดินอาหาร ในห้องปฏิบัติการทำการศึกษาศักยภาพของเซลล์และวิเคราะห์หาโลหะหนักที่ตกค้างในเนื้อเยื่อหอย วิเคราะห์ผลและเปรียบเทียบเพื่อศึกษาความเป็นไปได้ในการใช้หอยโข่งและหอยเชอร์รี่เป็นสัตว์ต้นแบบเพื่อเฝ้าระวังผลกระทบจากโลหะหนักในสิ่งแวดล้อมต่อพฤติกรรมการกิน รวมทั้งเผยแพร่และถ่ายทอดองค์ความรู้

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

- ทราบการแพร่กระจายและผลของโลหะหนักต่อพฤติกรรมการกินและมิถุนวิทยาของระบบทางเดินอาหารของหอยเชอร์รี่ (*Pomacea canaliculata*) และหอยโข่ง (*Pila spp.*) ในเขตพื้นที่จังหวัดฉะเชิงเทรา ชลบุรีและระยอง
- ทราบความสัมพันธ์ของปริมาณโลหะหนักในเนื้อเยื่อระหว่างหอยโข่งและหอยเชอร์รี่
- ทราบเทคนิคการวิเคราะห์ปริมาณโลหะหนักโดยเทคนิคเคมีไฟฟ้าที่อาจจะพัฒนาเป็นชุดทดสอบภาคสนาม (Portable kit) ได้
- ทราบการตอบสนองทางพฤติกรรมต่อปริมาณโลหะหนักของหอยโข่งและหอยเชอร์รี่
- ทราบการทดสอบความเป็นพิษทางพฤติกรรมในหอยที่อาจจะพัฒนาเป็นเครื่องมือเพื่อใช้เป็นดัชนีชี้วัดทางชีวภาพในแหล่งน้ำได้
- นำผลการวิจัยเผยแพร่ต่อชุมชนและหน่วยงานที่เกี่ยวข้องเพื่อนำไปใช้ประโยชน์ต่อไป
- ได้ผลงานตีพิมพ์ในวารสารทางวิชาการระดับนานาชาติซึ่งอยู่ในฐานข้อมูล ISI อย่างน้อย 1 เรื่อง และอยู่ในฐาน TCI อย่างน้อย 1 เรื่อง
- สร้างนักวิจัยรุ่นใหม่มีสติปัญญาโท 1 คน คือ นางสาวกรองทอง ตั้งสิทธิ

อุปกรณ์และวิธีดำเนินการวิจัย

วัสดุอุปกรณ์

1. ตู้อบ (Hot air oven)
2. เครื่องควบคุมความร้อน (Hot plate)
3. เครื่องตัดเนื้อเยื่อ (Rotary microtome, HM 360, Kinetics corporation., LTD)
4. เครื่องเตรียมชิ้นเนื้อเยื่ออัตโนมัติ (Automatic tissue processor)
5. เครื่องอุ่นแผ่นสไลด์ (Slide warmer)
6. กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (Light microscopy, Olympus; BX51)
7. เครื่องตรวจวัดคุณภาพน้ำแบบหลายพารามิเตอร์ (Multi-parameter YSI 81)
8. เครื่องตรวจวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH Metter Toledo)
9. กล้องถ่ายภาพดิจิทัล (Digital camera, Olympus; Series DP22)
10. ตู้ทดสอบขนาด 30x30x30 เซนติเมตร
11. บ่อซีเมนต์ขนาด 70x70x35 เซนติเมตร
12. ขวดใส่ตัวอย่าง
13. แม่พิมพ์ (Embedding mold)
14. Embedding ring
15. สไลด์ (Microscope slide)
16. กระจกปิดสไลด์ (Cover slip)
17. ภาชนะใส่สีย้อม (Staining jar)

สารเคมี

1. เลดไนเตรต (Lead nitrate; $Pb(NO_3)_2$)
2. กรดพิคริก (Picric acid; $C_6H_2(NO_3)_3OH$)
3. ฟอรัมาลดีไฮด์ (Formaldehyde; CH_2O)
4. ไซลีน (Xylene; $C_6H_4(CH_3)_2$)
5. เอทานอล (Ethanol; C_2H_6O)
6. น้ำกลั่น (Distilled water; H_2O)
7. ไดออกเซน (Dioxane; $C_4H_8O_2$)
8. พาราพลาสต์ (Paraplast)
9. กลีเซอรอล (Glycerol; $C_3H_8O_3$)
10. ผงถ่าน (Activated charcoal; C)
11. เจลาติน (Gelatin)
12. อะลูมิเนียมโพแทสเซียมซัลเฟต (Aluminum potassium sulfate; $AlK(SO_4)_2 \cdot 12H_2O$)
13. โซเดียมไอโอดेट (Sodium iodate; $NaIO_3$)

14. โซเดียมเมตาไบซัลไฟต์ (Sodium metabisulfite; $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$)
15. กรดอะซิติก (Acetic acid; $\text{C}_2\text{H}_4\text{O}_2$)
16. กรดไนตริก (Nitric acid; HNO_3)
17. กรดไฮโดรคลอริก (Hydrochloric acid; HCl)
18. สีฮีมาทอกไซลีน (Hematoxylin; $\text{C}_{16}\text{H}_{14}\text{O}_6$)
19. สีอีโอซินวาย (Eosin Y; $\text{C}_{20}\text{H}_6\text{Br}_4\text{Na}_2\text{O}_5$)
20. กรดเพอริโอดิก (Periodic acid; H_5IO_6)
21. เบสิค ฟุซซิน (Basic fuchsin; $\text{C}_{19}\text{H}_{17}\text{N}_3\cdot\text{HCl}$)
22. เอ็น-บิวทิลแอลกอฮอล์ (N-Butyl alcohol; $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_2\text{CH}_2\text{OH}$)
23. เพอร์เม้าท์ (Permout)

วิธีการดำเนินการวิจัย

1. การสำรวจพื้นที่ธรรมชาติ เกษตรกรรม ชุมชน อุตสาหกรรมและการเก็บตัวอย่าง
 ทำการสำรวจหอยเชอรี่และหอยโข่งพันธุ์พื้นเมืองในพื้นที่ภาคตะวันออก ซึ่งครอบคลุม
 พื้นที่ธรรมชาติ เกษตรกรรม ชุมชนและอุตสาหกรรม รวมทั้งหมด 10 พื้นที่ พื้นที่ละ 3 จุดเก็บ
 ตัวอย่าง ทำการวัดคุณภาพน้ำ โดยวัดค่าอุณหภูมิ (Water temperature) ค่าการละลายของ
 ออกซิเจนในน้ำ (Dissolved oxygen; DO) ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ค่าความเค็ม (Salinity) และ
 ค่าการนำไฟฟ้า (Conductivity) ในพื้นที่สำรวจทันที ข้อมูลแสดงดังตารางภาคผนวก จากนั้น
 ทำการเก็บตัวอย่างน้ำปริมาณ 1,000 มิลลิลิตร ในแต่ละบริเวณจุดเก็บตัวอย่างใส่ในขวดพลาสติก
 โพลีเอทิลีนชนิดหนา (High density polyethylene; HDPE) ทำการรักษาสภาพตัวอย่างน้ำด้วย
 กรดไนตริกเข้มข้นปริมาณ 2 มิลลิลิตร เพื่อปรับ pH ของตัวอย่างน้ำให้มีค่าต่ำกว่า 2
 (กรมควบคุมมลพิษ, 2553) และเก็บตัวอย่างเฉพาะหอยเชอรี่ เนื่องจากพื้นที่ทั้งหมดข้างต้น
 ที่ทำการสำรวจไม่พบหอยโข่งพันธุ์พื้นเมือง โดยเก็บตัวอย่างหอยเชอรี่อย่างน้อย 20 ตัวอย่างจากแต่
 ละพื้นที่ที่ศึกษา โดยใส่ตัวอย่างหอยเชอรี่ในซองพลาสติกชนิดมีแถบล็อค แล้วบรรจุตัวอย่างน้ำ ดิน
 และตัวอย่างหอยเชอรี่ในกล่องโฟมที่มีน้ำแข็งเพื่อขนส่งตัวอย่างมายังห้องปฏิบัติการ จากนั้นทำการ
 เก็บรักษาสภาพตัวอย่างดินและน้ำในตู้แช่เย็นที่มีอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ส่วนของตัวอย่างเนื้อเยื่อ
 หอยเชอรี่ทำการเก็บรักษาสภาพในตู้แช่แข็งที่มีอุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส ระหว่างรอการ
 ดำเนินการนำตัวอย่างไปทำการวิเคราะห์ปริมาณโลหะหนัก 6 ชนิดได้แก่ ตะกั่ว แคดเมียม เหล็ก
 สังกะสี นิกเกิล และทองแดงโดยเทคนิคเคมีไฟฟ้า

2. การวิเคราะห์ปริมาณโลหะหนักในดิน น้ำและตัวอย่างเนื้อเยื่อหอยที่พบในธรรมชาติ
 เนื่องจากการวิเคราะห์ปริมาณโลหะหนักในข้อ 1 เกิดเหตุขัดข้องในการปรับสภาพการวิเคราะห์โลหะ
 หนักด้วยเทคนิคเคมีไฟฟ้าในห้องปฏิบัติการ (ภาคผนวก) ดังนั้นทำให้มีความจำเป็นในการนำตัวอย่าง
 น้ำและเนื้อเยื่อหอยที่ได้จากภาคสนามในข้อ 1 ไปวิเคราะห์ปริมาณโลหะหนักดังกล่าวข้างต้นด้วย
 เทคนิค ICP - OES ที่กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 6 จังหวัดชลบุรีแล้ว พบว่าโลหะหนักดังกล่าวใน
 ตัวอย่างน้ำและตัวอย่างเนื้อเยื่อหอยเชอรี่ทั้งหมดมีค่าต่ำกว่าค่ามาตรฐานที่กรมควบคุมมลพิษกำหนด

เกณฑ์ไว้สูงสุดสำหรับน้ำผิวดิน ตามการแบ่งประเภทคุณภาพน้ำในการใช้ประโยชน์ (กรมควบคุมมลพิษ, 2553) ดังนั้นในรายงานนี้ไม่แสดงรายละเอียดในผลการวิเคราะห์นี้

3. การศึกษามิถุวิทยาต่อมย่อยอาหารของหอยเชอร์รี่ที่พบในธรรมชาติ

3.1 การเตรียมน้ำยารักษาสภาพเนื้อเยื่อ

น้ำยารักษาสภาพ Davidson's fixative ประกอบด้วยกลีเซอรอล 200 มิลลิลิตร พอร์มาลดีไฮด์ 400 มิลลิลิตร เอทานอล 600 มิลลิลิตรและกรดอะซิติก 200 มิลลิลิตร ผสมสารละลายทั้งหมดให้เข้ากัน บรรจุน้ำยารักษาสภาพใส่ขวดสารเคมีที่มีฝาปิด

3.2 การศึกษามิถุวิทยาาระบบทางเดินอาหาร (ต่อมย่อยอาหาร) ของหอยเชอร์รี่ที่พบในธรรมชาติ

3.2.1 นำตัวอย่างหอยจากภาคสนามจำนวนพื้นที่ละ 3 ตัวอย่าง ทำการผ่าเอาเฉพาะเนื้อเยื่อหอยออกจากเปลือก และล้างด้วยน้ำกลั่น แล้วทำการผ่าเนื้อเยื่อต่อมย่อยอาหาร (Digestive gland) ออกมา ตัดชิ้นเนื้อเยื่อตามขวางให้มีขนาดไม่เกิน 5 มิลลิเมตร แล้วนำเนื้อเยื่อแช่ในน้ำยารักษาสภาพ Davidson's fixative เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เมื่อครบเวลาล้างน้ำยารักษาสภาพออกด้วยเอทานอลความเข้มข้น 70% เป็นจำนวน 3-5 ครั้ง จากนั้นเก็บรักษาเนื้อเยื่อในเอทานอลความเข้มข้น 70% ก่อนทำขั้นตอนต่อไป

3.2.2 ทำการดึงน้ำออกจากเนื้อเยื่อด้วยวิธีแอลกอฮอล์ซีรีส์ โดยนำเนื้อเยื่อแช่ในเอทานอลความเข้มข้นต่ำไปหาความเข้มข้นสูง (เอทานอลความเข้มข้น 80% 90% อย่างละ 1 ครั้ง ครั้งละ 1 ชั่วโมง และ 100% 2 ครั้ง ครั้งที่ 1 แช่ 1 ชั่วโมง ครั้งที่ 2 แช่ 1 ชั่วโมง 30 นาที) หลังจากนั้นนำเนื้อเยื่อแช่ในไดออกเซน 2 ครั้ง ครั้งที่ 1 แช่ 1 ชั่วโมง ครั้งที่ 2 แช่ทิ้งไว้ข้ามคืน ต่อจากนั้นนำเนื้อเยื่อแช่ในพาราฟลาสต์ 3 ครั้ง (ครั้งที่ 1 และครั้งที่ 2 แช่เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ครั้งที่ 3 แช่ทิ้งไว้ข้ามคืน) ขั้นตอนที่กำลังมาข้างต้นทำโดยเครื่องเตรียมชิ้นเนื้อเยื่ออัตโนมัติ แล้วนำเนื้อเยื่อมาฝังลงในพาราฟลาสต์ (Bancroft & Gamble, 2008)

3.2.3 ทำการตัดเนื้อเยื่อตามขวางให้เนื้อเยื่อมีความหนา 7 ไมโครเมตร ด้วยเครื่องตัดเนื้อเยื่อ จากนั้นติดเนื้อเยื่อบนสไลด์ด้วยสารละลายเจลาตินและวางสไลด์เนื้อเยื่อบนเครื่องอุ่นสไลด์เป็นเวลาอย่างน้อย 24 ชั่วโมง ขั้นตอนการเตรียมนเนื้อเยื่อต่อมย่อยอาหารแสดงดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ขั้นตอนการเตรียมเนื้อเยื่อต่อมย่อยอาหารของหอยเชอร์รี่ที่พบในธรรมชาติ

ขั้นตอน	เวลา
1. แช่เนื้อเยื่อในสารละลาย Davidson' s fixative	24 ชั่วโมง
2. แช่เนื้อเยื่อในเอทานอลความเข้มข้น 70%	3-5 ครั้ง
3. แช่เนื้อเยื่อในเอทานอลความเข้มข้น 80%	1 ชั่วโมง
4. แช่เนื้อเยื่อในเอทานอลความเข้มข้น 90%	1 ชั่วโมง
5. แช่เนื้อเยื่อในเอทานอลความเข้มข้น 100% I	1 ชั่วโมง
6. แช่เนื้อเยื่อในเอทานอลความเข้มข้น 100% II	1 ชั่วโมง 30 นาที
7. แช่เนื้อเยื่อในไดออกแซน I	1 ชั่วโมง
8. แช่เนื้อเยื่อในไดออกแซน II	ทิ้งไว้ข้ามคืน
9. แช่เนื้อเยื่อในพาราฟลาสต์ I	2 ชั่วโมง
10. แช่เนื้อเยื่อในพาราฟลาสต์ II	2 ชั่วโมง
11. แช่เนื้อเยื่อในพาราฟลาสต์ III	ทิ้งไว้ข้ามคืน
12. ฝังเนื้อเยื่อลงในพาราฟลาสต์	
13. ตัดเนื้อเยื่อตามขวางให้มีความหนา 7 ไมโครเมตร	
14. ติดเนื้อเยื่อบนสไลด์ด้วยสารละลายเจลาติน	
15. วางสไลด์เนื้อเยื่อบนเครื่องอุ่นสไลด์	24 ชั่วโมง

3.2.4 ย้อมสีเนื้อเยื่อด้วยสีฮีมาทอกไซลีนและอีโอซินวาย (Hematoxylin and Eosin Y; H&E) (Kruatrachue et al., 2011) เพื่อศึกษาองค์ประกอบของเซลล์ในเนื้อเยื่อต่อมย่อยอาหาร ขั้นตอนการย้อมเนื้อเยื่อต่อมย่อยอาหารแสดงดังตารางที่ 2

3.2.5 ศึกษาพยาธิวิทยาต่อมย่อยอาหารของหอยเชอร์รี่ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (Olympus; BX51) และถ่ายภาพเนื้อเยื่อต่อมย่อยอาหารของหอยเชอร์รี่ จำนวน 3 ตัวอย่างด้วยกล้องดิจิตอล (Olympus; DP22) จากนั้นทำการสุ่มภาพที่มีกำลังขยาย 400 เท่า จำนวน 3 ภาพจากหอยในแต่ละพื้นที่ โดยนับจำนวนเซลล์เบโซฟิลิกและแกรนูโลสไซม์ในพื้นที่เนื้อเยื่อทั้งหมดเท่ากับ 0.095 ตารางมิลลิเมตร ด้วยโปรแกรม ImageJ (Papadopoulos et al., 2007) และคำนวณจำนวนเฉลี่ยของเซลล์เบโซฟิลิกและแกรนูโลสไซม์ต่อพื้นที่เนื้อเยื่อปุกิว 1 ตารางมิลลิเมตร (Klobucar, Lajtner, & Erben, 2001) นอกจากนี้ทำการศึกษาการเสียดสีของเนื้อเยื่อปุกิวของเนื้อเยื่อต่อมย่อยอาหารที่พบการเกิดช่องว่างของเซลล์ย่อยอาหารจากการสุ่มสไลด์เนื้อเยื่อ จำนวน 3 สไลด์ จากแต่ละพื้นที่ ทำการระบุระดับการเสียดสีของเนื้อเยื่อต่อมย่อยอาหารโดยการให้คะแนนดังนี้ 0 คือ ไม่เกิดการเปลี่ยนแปลง + คือ เกิดการเปลี่ยนแปลงเล็กน้อย (พบการเปลี่ยนแปลงอย่างชัดเจน จำนวน 1 สไลด์ที่ทำการวิเคราะห์) + + คือ เกิดการเปลี่ยนแปลงปานกลาง

(พบการเปลี่ยนแปลงอย่างชัดเจน จำนวน 2 สไลด์ที่ทำการวิเคราะห์) + + + คือ เกิดการเปลี่ยนแปลงอย่างมาก (พบการเปลี่ยนแปลงอย่างชัดเจน จำนวนทั้ง 3 สไลด์ที่ทำการวิเคราะห์)

ตารางที่ 2 ขั้นตอนการย้อมสีเนื้อเยื่อต่อมย่อยอาหารของหอยเชอร์รี่ด้วยสีฮีมาทอกไซลีนและ
อีโอซินว้าย

ขั้นตอน	เวลา
1. แห่สไลด์ในไซลีน I	5 นาที
2. แห่สไลด์ในไซลีน II	5 นาที
3. แห่สไลด์ในเอทานอล 100% I	5 นาที
4. แห่สไลด์ในเอทานอล 90%	5 นาที
5. แห่สไลด์ในเอทานอล 70% I	5 นาที
6. แห่สไลด์ในน้ำกลั่น	5 นาที
7. ย้อมเนื้อเยื่อด้วยสีฮีมาทอกไซลีน	10 วินาที
8. เขย่าสไลด์เนื้อเยื่อในสารละลาย Differentiation	10 วินาที
9. แห่สไลด์ในน้ำปะปาที่ไหลผ่านตลอด	10 นาที
10. แห่สไลด์ในเอทานอล 70% II	5 นาที
11. ย้อมเนื้อเยื่อด้วยสีอีโอซินว้าย	2 นาที

ตารางที่ 2 (ต่อ)

ขั้นตอน	เวลา
12. แชนส์ไลต์ในเอทานอล 95%	1 นาที
13. แชนส์ไลต์ในเอทานอล 100% II	5 นาที
14. แชนส์ไลต์ในเอทานอล 100% III	10 นาที
15. แชนส์ไลต์ในเอ็น-บิวทิลแอลกอฮอล์ I	5 นาที
16. แชนส์ไลต์ในเอ็น-บิวทิลแอลกอฮอล์ II	10 นาที
17. แชนส์ไลต์ในไซลีน III	5 นาที
18. แชนส์ไลต์ในไซลีน IV	5 นาที
19. หยดเปอร์เม้าท์บนสไลด์แล้วปิดด้วยกระจกปิดสไลด์	
20. นำแผ่นสไลด์วางบนเครื่องอุ่นสไลด์	24 ชั่วโมง
21. นำสไลด์ไปศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง	

ผลการศึกษา

การสำรวจพื้นที่ธรรมชาติ เกษตรกรรม ชุมชน อุตสาหกรรมและการเก็บตัวอย่าง

จากข้อมูลในตารางที่ 3 แสดงการสำรวจหอยเชอร์รี่และหอยโข่งพันธุ์พื้นเมือง ในแหล่งน้ำบริเวณพื้นที่ จ.ชลบุรี จ.ฉะเชิงเทรา และ จ.ระยอง ซึ่งครอบคลุมพื้นที่ธรรมชาติ พื้นที่เกษตรกรรม พื้นที่ชุมชนและพื้นที่อุตสาหกรรม รวมทั้งสิ้น 10 พื้นที่ พบเฉพาะหอยเชอร์รี่ 6 พื้นที่ แบ่งออกเป็นพื้นที่ จ.ชลบุรี จำนวน 3 พื้นที่ คือ พบหอยเชอร์รี่ในแหล่งน้ำบริเวณสำนักสงฆ์ ต.พลวงทอง อ.บ่อทอง แหล่งน้ำบริเวณนาข้าว ต.หัวถนน อ.พนัสนิคม และแหล่งน้ำบริเวณ ถนนข้าวหลาม ต.ห้วยกะปิ อ.เมืองชลบุรี พื้นที่ จ.ระยอง จำนวน 1 พื้นที่ คือ อ่างเก็บน้ำประแสร์ ต.ชุมแสง อ.วังจันทร์ สูดท้ายพบหอยเชอร์รี่ในพื้นที่ จ.ฉะเชิงเทรา จำนวน 2 พื้นที่ คือ แหล่งน้ำบริเวณ ถนนสิริโสธร ต.ลาดขวาง และแหล่งน้ำบริเวณนาข้าว ต.เทพราช อ.บ้านโพธิ์ โดยการสำรวจ แหล่งน้ำบริเวณภูเขา ต.เขาน้อย อ.เขาชะเมา จ.ระยอง นิคมอุตสาหกรรมอมตะนคร ต.บ้านเก่า อ.พานทอง จ.ชลบุรี ต.บางปะกง อ.บางปะกง และวัดคงคาราม (วัดบน) ต.บางปะกง อ.บางปะกง จ.ฉะเชิงเทรา ไม่พบหอยทั้ง 2 ชนิดในพื้นที่ดังกล่าว โดยการสำรวจครั้งนี้ไม่พบหอยโข่งพันธุ์พื้นเมือง ในพื้นที่ที่ทำการสำรวจทั้ง 10 พื้นที่

ตารางที่ 3 ข้อมูลการสำรวจหอยเชอริ้และหอยโข่งพันธุ์พื้นเมืองจากแหล่งน้ำบริเวณต่าง ๆ ใน จ.ชลบุรี จ.ระยอง และจ.ฉะเชิงเทรา

พื้นที่	Latitude	Longitude	การใช้ประโยชน์พื้นที่	หอยเชอริ้	หอยโข่งพันธุ์พื้นเมือง
1. สำนักสงฆ์ ต.พลวงทอง อ.บ่อทอง จ.ชลบุรี	N 13° 09.072'	E 101° 35.837'	ธรรมชาติ	พบ	ไม่พบ
2. แหล่งน้ำบริเวณ ต.เขาน้อย อ.เขาชะเมา จ.ระยอง	N 13° 05.033'	E 101° 36.011'	เกษตรกรรม	ไม่พบ	ไม่พบ
3. อ่างเก็บน้ำประแสร์ ต.ชุมแสง อ.วังจันทร์ จ.ระยอง	N 12° 58.712'	E 101° 33.522'	เกษตรกรรม	พบ	ไม่พบ
4. คลองส่งน้ำ ต.หัวถนน อ.พนัสนิคม จ.ชลบุรี	N 13° 31.208'	E 101° 12.017'	เกษตรกรรม	พบ	ไม่พบ
5. นิคมอุตสาหกรรมอมตะนคร ต.บ้านเก่า อ.พานทอง จ.ชลบุรี	N 13° 27.400'	E 101° 02.167'	อุตสาหกรรม	ไม่พบ	ไม่พบ
6. แหล่งน้ำบริเวณ ต.บางปะกง อ.บางปะกง จ.ฉะเชิงเทรา	N 13° 30.164'	E 100° 59.471'	ชุมชน	ไม่พบ	ไม่พบ
7. วัดคงคาราม (วัดบน) ต.บางปะกง อ.บางปะกง จ.ฉะเชิงเทรา	N 13° 29.661'	E 100° 59.703'	ชุมชน	ไม่พบ	ไม่พบ
8. ถนนสิริโสธร ต.ลาดขวาง อ.บ้านโพธิ์ จ.ฉะเชิงเทรา	N 13° 36.726'	E 101° 01.545'	อุตสาหกรรม	พบ	ไม่พบ
9. นาข้าว ต.เทพราช อ.บ้านโพธิ์ จ.ฉะเชิงเทรา	N 13° 39.376'	E 100° 58.761'	เกษตรกรรม	พบ	ไม่พบ
10. ถนนข้าวหลาม ต.ห้วยกะปิ อ.เมืองชลบุรี จ.ชลบุรี	N 13° 16.898'	E 100° 56.706'	ชุมชน	พบ	ไม่พบ

การศึกษามิถุนวิทยาต่อมย่อยอาหารของหอยเชอร์รี่ที่พบในธรรมชาติ

จากการศึกษามิถุนวิทยาต่อมย่อยอาหารของหอยเชอร์รี่ที่พบในพื้นที่ทำการสำรวจ โดยทำการย้อมเนื้อเยื่อต่อมย่อยอาหารด้วยสีฮีมาทอกไซลินและอีโอซินพบว่าต่อมย่อยอาหารมีลักษณะเป็นท่อ (Tubule) มีช่องว่าง (Lumen) ตรงกลางในแต่ละท่อต่อมย่อยอาหาร เนื้อเยื่อบุผิวของต่อมย่อยอาหารประกอบด้วยเซลล์ 2 ชนิด ได้แก่ เซลล์ย่อยอาหาร (Digestive cell) และเซลล์เบโซฟิลิก (Basophilic cell) ซึ่งเซลล์ย่อยอาหารเป็นเซลล์เนื้อเยื่อบุผิวทรงสูงชั้นเดียว (Simple columnar epithelial cell) ไฮโดรพลาสซึมย้อมติดสีชมพู (ภาพที่ 1, DC) พบนิวเคลียสอยู่ตรงฐานของเซลล์ย้อมติดสีม่วง (ภาพที่ 1, ➡) ในส่วนของเซลล์เบโซฟิลิกย้อมติดสีม่วงมีรูปร่างคล้ายพีระมิดหรือสามเหลี่ยม โดยที่พบเซลล์เบโซฟิลิกแทรกอยู่ระหว่างบริเวณฐานเซลล์ย่อยอาหาร (ภาพที่ 1, ►) ตามปกติเนื้อเยื่อต่อมย่อยอาหารพบเซลล์เบโซฟิลิกจำนวนน้อย นอกจากนี้ยังพบแกรนูลสีเข้ม (Dark granule) กระจายอยู่ทั่วบริเวณเนื้อเยื่อต่อมย่อยอาหาร เมื่อพิจารณามิถุนวิทยาต่อมย่อยอาหารของหอยเชอร์รี่จากแต่ละพื้นที่ที่สำรวจสามารถอธิบายได้ดังนี้

1. แหล่งน้ำบริเวณสำนักสงฆ์ ต.พลวงทอง อ.บ่อทอง จ.ชลบุรี (พื้นที่ธรรมชาติ) เนื้อเยื่อต่อมย่อยอาหารของหอยเชอร์รี่จากพื้นที่ ต.พลวงทอง แสดงดังภาพที่ 1A พบการเสียดสีของเนื้อเยื่อบุผิวของเซลล์ย่อยอาหารสังเกตเห็นเป็นช่องว่าง (V) และช่องว่างตรงกลางท่อต่อมย่อยอาหาร (L) มีขนาดค่อนข้างแคบ พบเซลล์เบโซฟิลิกมีจำนวนมาก นอกจากนี้ยังพบว่าแกรนูลสีเข้มแทรกอยู่บริเวณฐานของเซลล์ย่อยอาหาร ซึ่งมีจำนวนมาก จำนวนแกรนูลสีเข้มแสดงดังตารางที่ 4
2. อ่างเก็บน้ำประแสร์ ต.ชุมแสง อ.วังจันทร์ จ.ระยอง (พื้นที่ธรรมชาติ)เนื้อเยื่อต่อมย่อยอาหารของหอยเชอร์รี่จากพื้นที่ ต.ชุมแสง แสดงดังภาพที่ 1B พบเซลล์ย่อยอาหารเรียงตัวไม่เป็นระเบียบ ทำให้ขอบเขตของเซลล์ไม่ชัดเจน และแกรนูลสีเข้มมีจำนวนมาก จำนวนแกรนูลสีเข้มแสดงดังตารางที่ 4
3. แหล่งน้ำบริเวณนาข้าว ต.หัวถนน อ.พนสนธิคม จ.ชลบุรี (พื้นที่เกษตรกรรม) เนื้อเยื่อต่อมย่อยอาหารของหอยเชอร์รี่จากพื้นที่ ต.หัวถนน แสดงดังภาพที่ 1C พบการเสียดสีของเนื้อเยื่อบุผิวของเซลล์ย่อยอาหารสังเกตเห็นเป็นช่องว่าง (V) และช่องว่างตรงกลางท่อต่อมย่อยอาหาร (L) แคบลง ส่วนเซลล์เบโซฟิลิกมีจำนวนมาก เนื้อเยื่อต่อมย่อยอาหารของหอยเชอร์รี่ในพื้นที่ที่สำรวจนี้พบว่าแกรนูลสีเข้มมีขนาดที่ใหญ่แต่มีจำนวนน้อยจำนวนแกรนูลสีเข้มแสดงดังตารางที่ 4
4. แหล่งน้ำบริเวณถนนสิริโสธร ต.ลาดขวาง อ.บ้านโพธิ์ จ.ฉะเชิงเทรา (พื้นที่อุตสาหกรรม) เนื้อเยื่อต่อมย่อยอาหารของหอยเชอร์รี่จากพื้นที่ ต.ลาดขวาง แสดงดัง

ภาพที่ 1D พบเซลล์ย่อยอาหารเรียงตัวเป็นระเบียบ ทำให้ขอบเขตของเซลล์ชัดเจน ช่องว่างตรงกลางท่อ ต่อมย่อยอาหารกว้าง (L) พบเซลล์เบโซฟิลิคเล็กน้อย แกรนูโลลในเนื้อเยื่อต่อมย่อยอาหารของหอยเชอริในพื้นที่นี้มีลักษณะไม่เข้มและมีขนาดเล็กพบแทรกอยู่บริเวณฐานของเซลล์ย่อยอาหาร แกรนูโลลมีจำนวนน้อยเมื่อเปรียบเทียบกับพื้นที่ธรรมชาติทั้ง 2 พื้นที่ จำนวนแกรนูโลลแสดงดังตารางที่ 4

5. แหล่งน้ำบริเวณนาข้าว ต.เทพราช อ.บ้านโพธิ์ จ.ฉะเชิงเทรา (พื้นที่เกษตรกรรม) เนื้อเยื่อต่อมย่อยอาหารของหอยเชอริจากพื้นที่ ต.เทพราช แสดงดังภาพที่ 1E พบเซลล์ย่อยอาหารเรียงตัวเป็นระเบียบ ทำให้ขอบเขตของเซลล์ชัดเจน ช่องว่างตรงกลางท่อต่อมย่อยอาหารกว้าง (L) พบเซลล์เบโซฟิลิคเล็กน้อย ลักษณะของแกรนูโลลสีเข้มขนาดเล็กและมีจำนวนมาก จำนวนแกรนูโลลสีเข้มแสดงดังตารางที่ 4

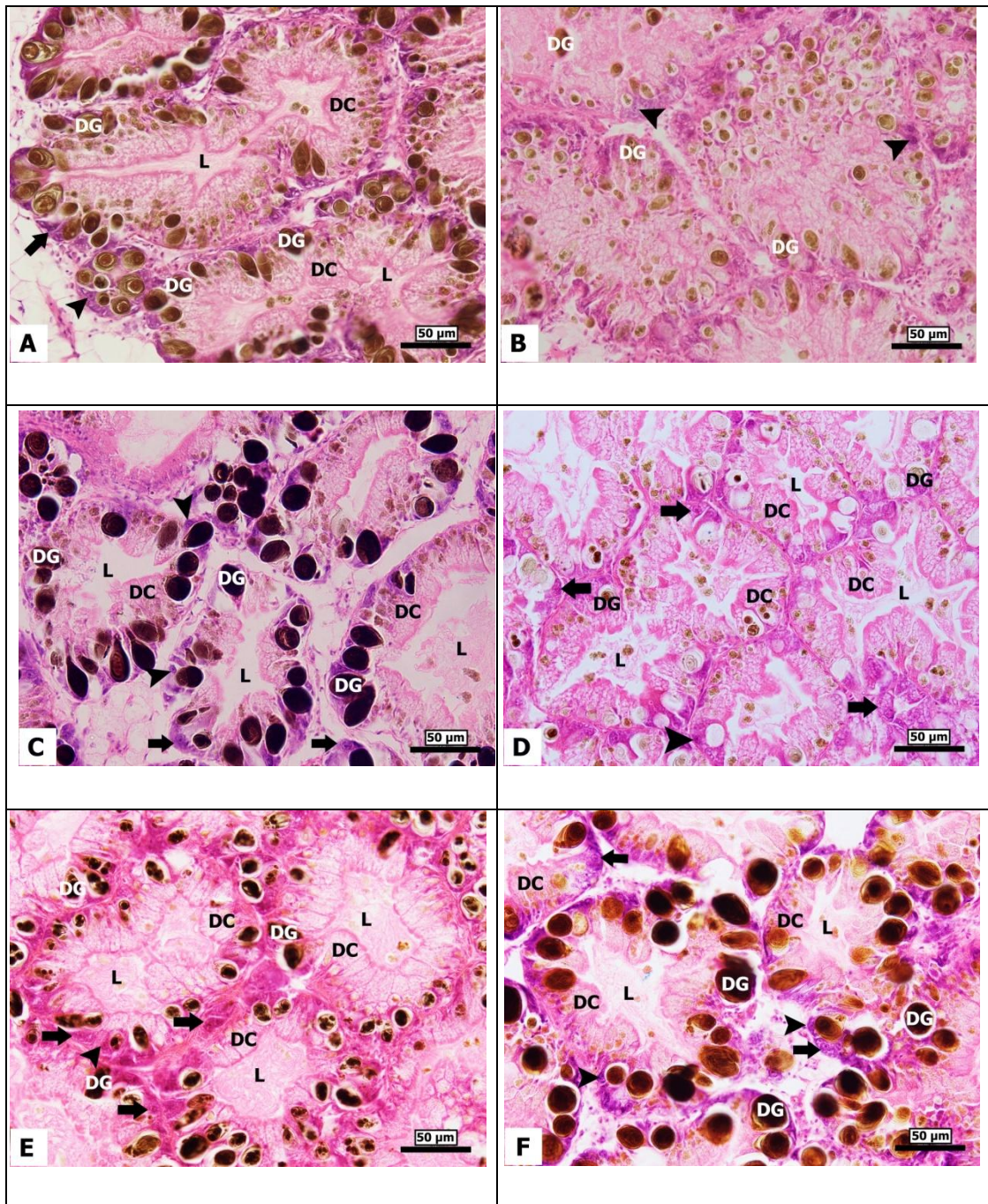
6. แหล่งน้ำบริเวณถนนข้าวหลาม ต.ห้วยกะปิ อ.เมืองชลบุรี จ.ชลบุรี (พื้นที่ชุมชน) เนื้อเยื่อต่อมย่อยอาหารของหอยเชอริจากพื้นที่ ต.ห้วยกะปิ แสดงดังภาพที่ 1F เนื้อเยื่อบุผิวของเซลล์ย่อยอาหารเรียงตัวเป็นระเบียบ แต่ท่อต่อมย่อยอาหารบางท่อพบว่าช่องว่างตรงกลางท่อต่อมย่อยอาหารแคบลง (L) และเซลล์เบโซฟิลิคมีจำนวนมาก ต่อมย่อยอาหารของหอยเชอริในพื้นที่สำรวจนี้พบว่าแกรนูโลลสีเข้มมีขนาดใหญ่ คล้ายกับแกรนูโลลสีเข้มในเนื้อเยื่อต่อมย่อยอาหารของหอยเชอริจากพื้นที่ แหล่งน้ำบริเวณนาข้าว ต.หัวถนน อ.พนัสนิคม จ.ชลบุรี จำนวนแกรนูโลลสีเข้มแสดงดังตารางที่ 4

ตารางที่ 4 มิถุนวิทยาต่อมย่อยอาหารของหอยเชอรี่จากพื้นที่สำรวจ 6 พื้นที่ (Mean±S.D.) (n=3)

พยาธิสภาพ	พื้นที่					
	ธรรมชาติ 1	ธรรมชาติ 2	เกษตรกรรม 1	อุตสาหกรรม	เกษตรกรรม 2	ชุมชน
การเสียสภาพ เนื้อเยื่อบุผิว	+	++	++	0	0	0
จำนวนเซลล์ ไบโอฟิลิค/ พื้นที่	69±23	0	101±23	22±22	36±6	116±89
จำนวนแกรนูล สีเข้ม/ พื้นที่	1243±175	1116±657	975±407	341±323	1080±318	917±56

หมายเหตุ

- พื้นที่ธรรมชาติ 1 (A) คือ แหล่งน้ำบริเวณสำนักสงฆ์ ต.พลวงทอง อ.บ่อทอง จ.ชลบุรี
- พื้นที่ธรรมชาติ 2 (B) คือ อ่างเก็บน้ำประแสร์ ต.ชุมแสง อ.วังจันทร์ จ.ระยอง
- พื้นที่เกษตรกรรม 1 (C) คือ แหล่งน้ำบริเวณนาข้าว ต.หัวถนน อ.พนัสนิคม จ.ชลบุรี
- พื้นที่อุตสาหกรรม (D) คือ แหล่งน้ำบริเวณถนนสิริโสธร ต.ลาดขวาง อ.บ้านโพธิ์ จ.ฉะเชิงเทรา
- พื้นที่เกษตรกรรม 2 (E) คือ แหล่งน้ำบริเวณนาข้าว ต.เทพราช อ.บ้านโพธิ์ จ.ฉะเชิงเทรา
- พื้นที่ชุมชน (F) คือ แหล่งน้ำบริเวณถนนข้าวหลาม ต.ห้วยกะปิ อ.เมืองชลบุรี จ.ชลบุรี
- ระดับคะแนนของการเสียสภาพเนื้อเยื่อบุผิว 0 คือ ไม่เกิดการเปลี่ยนแปลง + คือ เกิดการเปลี่ยนแปลงเล็กน้อย (พบการเปลี่ยนแปลงอย่างชัดเจน จำนวน 1 สไลด์ที่ทำการวิเคราะห์)
- ++ คือ เกิดการเปลี่ยนแปลงปานกลาง (พบการเปลี่ยนแปลงอย่างชัดเจน จำนวน 2 สไลด์ที่ทำการวิเคราะห์) +++ คือ เกิดการเปลี่ยนแปลงอย่างมาก (พบการเปลี่ยนแปลงอย่างชัดเจน จำนวน ทั้ง 3 สไลด์ที่ทำการวิเคราะห์)
- จำนวนเซลล์ไบโอฟิลิคและแกรนูลสีเข้มต่อพื้นที่เนื้อเยื่อบุผิว 1 ตารางมิลลิเมตร



ภาพที่ 1 เนื้อเยื่อต่อมย่อยอาหารของหอยเชอร์รี่พื้นที่สำรวจ 6 พื้นที่ (รายละเอียดตามตารางที่ ย้อมด้วยสี H&E DC คือ เซลล์ย่อยอาหาร DG คือ แกรนูลสีเขียว V คือ ช่องว่างภายในเซลล์ย่อยอาหาร L คือ ช่องว่างตรงกลางต่อมย่อยอาหาร ➡ คือ เซลล์เบโซฟิลิก ➤ คือ นิวเคลียสของเซลล์เบโซฟิลิก

สรุปและวิจารณ์ผลการศึกษา

จากการศึกษาเพื่อศึกษาการแพร่กระจายหอยเชอร์รี่ (*Pomacea canaliculata*) และหอยโข่ง (*Pila spp.*) จาก 10 พื้นที่อาศัยในเขตพื้นที่จังหวัดฉะเชิงเทรา ชลบุรีและระยองของภาคตะวันออกของประเทศไทยพบเฉพาะหอยเชอร์รี่ใน 6 พื้นที่อาศัยในขณะที่ไม่พบหอยโข่งเลย ส่วนปริมาณโลหะหนักหนัก 6 ชนิดได้แก่ ตะกั่ว แคดเมียม เหล็ก สังกะสี นิกเกิล และทองแดงในแหล่งน้ำจาก 10 พื้นที่อาศัยดังกล่าวทั้งหมดมีค่าต่ำกว่าค่ามาตรฐานที่กรมควบคุมมลพิษกำหนดเกณฑ์ไว้สูงสุดสำหรับน้ำผิวดิน ตามการแบ่งประเภทคุณภาพน้ำในการใช้ประโยชน์ (กรมควบคุมมลพิษ, 2553) รวมทั้งผลการศึกษาปริญญาโทของต่อมย่อยอาหารของหอยเชอร์รี่ที่ได้จาก 6 พื้นที่ดังกล่าวพบว่าไม่สามารถบ่งบอกความแตกต่างกันได้อย่างชัดเจนในพื้นที่ธรรมชาติ พื้นที่เกษตรกรรม พื้นที่ชุมชนและพื้นที่อุตสาหกรรม ผลการศึกษานี้เป็นเพียงการศึกษาเพื่อใช้เป็นแนวทางในการดำเนินการวิจัยในห้องปฏิบัติการเพื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างพฤติกรรมการกินและปริญญาโทของระบบทางเดินอาหารของหอยเชอร์รี่และหอยโข่งที่ได้รับโลหะหนักในปีงบประมาณ 2561

การสะสมโลหะหนักในห่วงโซ่อาหารอาจมีการสะสมในสิ่งมีชีวิตที่เป็นผู้บริโภคลำดับสูงขึ้นไป (Mohammadein, El-Shenawy, & Al-Fahmie, 2013) ปัจจุบันมีการศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิสภาพของเซลล์เพื่อใช้เป็นตัวบ่งชี้ทางชีวภาพ (Biomarker) สำหรับสิ่งแวดล้อมที่มีการปนเปื้อนของมลพิษ เช่น การรายงานของ Otitoloju, Ajikobi, and Egonmwan (2009) ที่ทำการศึกษากการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิสภาพของเซลล์ในเนื้อเยื่อต่อมย่อยอาหารและการสะสมทางชีวภาพของทองแดงกับตะกั่วในหอยทากบกยักษ์ชนิด *Archachatina marginata* ที่มาจากแหล่งเดียวกัน นำมาเลี้ยงเพื่อปรับสภาพในห้องปฏิบัติการเป็นเวลา 7 วันก่อนการทดลอง โดยหอยทากบกยักษ์ได้รับทองแดงและตะกั่วจากการกินอาหารที่ปนเปื้อนโลหะหนักดังกล่าว (Feeding experiment) ความเข้มข้นของทองแดงและตะกั่ว เท่ากับ 2.35 mM และ 5.79 mM ตามลำดับ ซึ่งเป็นความเข้มข้นของโลหะหนักดังกล่าวที่ทำให้หอยทากตายลงครึ่งหนึ่ง (LC_{50}) หลังจากการทดลองเป็นเวลา 28 วัน พบว่าเนื้อเยื่อต่อมย่อยอาหารของหอยทากบกยักษ์ที่ได้รับทองแดงมีการอุดตันและเกิดการหนาขึ้นของบริเวณขอบเซลล์ย่อยอาหาร ขณะที่หอยทากบกยักษ์ที่ได้รับตะกั่วเกิดการอักเสบของท่อ Hepatic ในเนื้อเยื่อต่อมย่อยอาหาร และผลการศึกษาประสิทธิภาพในการสะสมทางชีวภาพพบว่าคอปเปอร์ซัลเฟต ($CuSO_4$) มีความเป็นพิษมากกว่าเลดไนเตรต ($Pb(NO_3)_2$) เป็นที่ทราบกันว่าต่อมย่อยอาหารของหอยฝาดียวเป็นอวัยวะที่สำคัญสำหรับการสะสมโลหะ โดยจากการศึกษาของ Mohammadein et al. (2013) ที่ทำการศึกษากการสะสมทางชีวภาพและการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิสภาพของเซลล์ในเนื้อเยื่อต่อมย่อยอาหารของหอยทากบกชนิด *Eobania vermiculata* เพื่อใช้เป็นตัวชี้วัดทางชีวภาพสำหรับการปนเปื้อนโลหะหนักบนบกในเมือง Taif ประเทศซาอุดีอาระเบีย โดยทำการศึกษาโลหะหนัก 6 ชนิด ได้แก่ เหล็ก ทองแดง สังกะสี แคดเมียม ตะกั่วและแคลเซียมในหอยทากบกชนิดดังกล่าวที่ทำการเก็บจากพื้นที่ภาคสนาม ได้แก่ ฟาร์ม El-Shreef ฟาร์ม Qarua และสวน Wadi Waj พบว่าเนื้อเยื่อต่อมย่อยอาหารมีการขยายขนาดเพิ่มขึ้นโดยเกิดจากการขยายตัวของนิวเคลียสภายในเซลล์เนื้อเยื่อบุผิว เซลล์ย่อยอาหารมีการลดลงของ

บรัซบอร์เตอร์ และเซลล์หลังสารมีการเพิ่มจำนวนและขนาดของเซลล์มากขึ้น ซึ่งการเปลี่ยนแปลงของเซลล์หลังสารดังกล่าวเกิดขึ้นเหมือนกันในหอยทากบกชนิดนี้ที่เก็บจากพื้นที่ฟาร์ม Qarua และสวน Wadi Waj จากการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิสภาพของเซลล์ในเนื้อเยื่อต่อมย่อยอาหารชี้ให้เห็นผลของการปนเปื้อนสารมลพิษในเนื้อเยื่อต่าง ๆ ของสิ่งมีชีวิตและชี้ให้เห็นความเป็นพิษของสารมลพิษเหล่านี้เบื้องต้นได้ และจากรายงานการศึกษาผลของโลหะหนักต่อการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิสภาพของเซลล์ในเนื้อเยื่อระบบทางเดินอาหารของหอยเชอร์รี่ในประเทศไทย เช่น การรายงานของ Kruatrachue et al. (2011) ที่ทำการศึกษานหอยเชอร์รี่ที่เก็บจากพื้นที่ที่ไม่ปนเปื้อนโลหะหนักและเลี้ยงเพื่อปรับสภาพก่อนการทดลองในห้องปฏิบัติการเป็นระยะเวลา 3 เดือน เมื่อได้รับสัมผัสดินตะกอนที่ปนเปื้อนโลหะหนัก (ตะกั่ว โครเมียม นิกเกิล แคดเมียม สังกะสี เหล็กและทองแดง) ที่เก็บจากแม่น้ำแม่กลอง จังหวัดสมุทรสงคราม จากผลการศึกษาพบว่าเนื้อเยื่อทางเดินอาหารมีเซลล์มีวัคส์เพิ่มจำนวนมากขึ้น มีการสูญเสียซีเลีย เซลล์เนื้อเยื่อบุผิวมีการขยาย เนื้อเยื่อต่อมย่อยอาหารพบแกรนูโลสี้แซมมีจำนวนมากขึ้น ผลการศึกษาในเนื้อเยื่อต่อมย่อยอาหารของหอยเชอร์รี่จากแม่น้ำแม่กลอง จังหวัดสมุทรสงครามนี้ สอดคล้องกับการศึกษาของ Dumme et al. (2012) ที่รายงานหอยเชอร์รี่ที่เพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ เมื่อได้รับสัมผัสดินตะกอนที่ปนเปื้อนทองแดง แมงกานีส เหล็ก ตะกั่ว และแคดเมียมจากบึงบอระเพ็ด จังหวัดนครสวรรค์ เป็นระยะเวลา 60 วัน ในห้องปฏิบัติการพบว่าเนื้อเยื่อทางเดินอาหาร (หลอดอาหาร ลำไส้เล็ก กระเพาะอาหารและลำไส้ใหญ่) มีการสูญเสียซีเลีย และเซลล์มีวัคส์มีจำนวนมากขึ้น ขณะที่เนื้อเยื่อต่อมย่อยอาหารพบเซลล์เบโซฟิลิคและแกรนูโลสี้แซมมีจำนวนมากขึ้นและเซลล์ย่อยอาหารมีการบวม นอกจากนี้จากการรายงานของ Dumme et al. (2015) ที่ศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิสภาพของเซลล์ในเนื้อเยื่อต่อมย่อยอาหารของหอยเชอร์รี่ที่เพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ เมื่อได้รับสัมผัสคอปเปอร์ซัลเฟตความเข้มข้น 147 ไมโครกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 96 ชั่วโมง (พิษกึ่งเฉียบพลัน) พบการเปลี่ยนแปลงในเนื้อเยื่อต่อมย่อยอาหารระดับปานกลางเมื่อเปรียบเทียบกับหอยในกลุ่มควบคุม ได้แก่ การเสียสภาพของเซลล์ย่อยอาหารและการเพิ่มจำนวนเซลล์เบโซฟิลิคในเนื้อเยื่อต่อมย่อยอาหาร จากผลการศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิสภาพของเซลล์ในเนื้อเยื่อต่อมย่อยอาหาร Dumme et al. (2015) สรุปว่าหอยเชอร์รี่มีประสิทธิภาพที่ดีในการเป็นตัวบ่งชี้ทางชีวภาพ (Bioindicator) สำหรับทองแดงและเป็นตัวชี้วัดทางชีวภาพ (Biomarker) สำหรับการติดตามตรวจสอบทางชีวภาพการปนเปื้อนทองแดงในสิ่งแวดล้อมทางน้ำได้

จากการรายงานผลของโลหะหนักต่าง ๆ ต่อมิถุนวิทยาของระบบทางเดินอาหารในหอยเชอร์รี่ในประเทศไทยที่ทำการทบทวนยังไม่พบการรายงานการศึกษาผลของตะกั่วต่อมิถุนวิทยาของระบบทางเดินอาหารในหอยเชอร์รี่เพื่อใช้หอยเชอร์รี่เป็นตัวชี้วัดทางชีวภาพสำหรับการติดตามทางชีวภาพการปนเปื้อนของตะกั่วในสิ่งแวดล้อมทางน้ำและยังไม่พบการรายงานการศึกษาผลของตะกั่วต่อมิถุนวิทยาของระบบทางเดินอาหารในหอยโข่งพันธุ์พื้นเมืองเช่นกัน ดังนั้นสำหรับการศึกษาในปีงบประมาณ 2561 จะศึกษาผลของตะกั่วต่อมิถุนวิทยาของระบบทางเดินอาหารในหอยเชอร์รี่และหอยโข่งพันธุ์พื้นเมือง

บรรณานุกรม

- กรมควบคุมมลพิษ. (2553). *คู่มือวิธีปฏิบัติสำหรับการเก็บตัวอย่างน้ำจากแหล่งน้ำ*. เข้าถึงได้จาก http://infofile.pcd.go.th/water/Water_CollNat_Manual.pdf
- ชวลิต วิทยานนท์. (2549). ชนิดพันธุ์สัตว์น้ำต่างถิ่นที่รุกรานที่สุดในประเทศไทย. ใน *รายงานการประชุมวิชาการ เรื่องชนิดพันธุ์ต่างถิ่น* วันที่ 31 สิงหาคม 2549 (หน้า 67-74). กรุงเทพฯ: สำนักงานนโยบายและแผนทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม กระทรวงทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม.
- Bancroft, J. D., & Gamble, M. (Eds.). (2008). *Theory and practice of histological techniques* (6th ed.). China: Elsevier Health Sciences.
- Chapple, D.G., Simmonds, S.M., & Wong, B. (2012). Can behavioral and personality traits influence the success of unintentional species introductions?. *Trends in ecology & evolution*, 27(1), 57-64.
- Døving, K.B. (1991). Assessment of animal behaviour as a method to indicate environmental toxicity. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Comparative Pharmacology*, 100(1), 247-252.
- Dumree, V., Kruatrachue, M., Trinachartvanit, W., Tanhan, P., Pokethitiyook, P., & Damrongphol, P. (2012). Bioaccumulation of heavy metals in water, sediments, aquatic plant and histopathological effects on the golden apple snail in Beung Boraphet reservoir, Thailand. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 86, 20412.
- Dumree, V., Tanhan, P., Kruatrachue, M., Damrongphol, P., & Pokethitiyook, P. (2015). Histopathological changes in snail, *Pomacea canaliculata*, exposed to sub-lethal copper sulfate concentrations. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 122, 290-295.
- Klobucar, G. I., Lajtner, J., & Erben, R. (2001). Increase in number and size of kidney concretions as a result of PCP exposure in the freshwater snail *Planorbium corneum* (Gastropoda, Pulmonata). *Diseases of Aquatic Organisms*, 44(2), 149-154.
- Kruatrachue, M., Sumritdee, C., Pokethitiyook, P., & Singhakaew, S. (2011). Histopathological effects of contaminated sediments on golden apple snail (*Pomacea canaliculata*, Lamarck 1822). *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 86(6), 610-614.
- Mohammadein, A., El-Shenawy, N. S., & Al-Fahmie, Z. H. H. (2013). Bioaccumulation and histopathological changes of the digestive gland of the land snail

- Eobania vermiculata* (Mollusca: Gastropoda), as biomarkers of terrestrial heavy metal pollution in Taif city. *Italian Journal of Zoology*, 80(3), 345-357.
- Otitolaju, A. A., Ajikobi, D. O., & Egonmwan, R. I. (2009). Histopathology and bioaccumulation of heavy metals (Cu & Pb) in the giant land snail, *Archachatina marginata* (Swainson). *Open Environmental Pollution Toxicology Journal*, 1, 79-88.
- Papadopulos, F., Spinelli, M., Valente, S., Foroni, L., Orrico, C., Alviano, F., & Pasquinelli, G. (2007). Common tasks in microscopic and ultra-structural image analysis using ImageJ. *Ultrastructural Pathology*, 31(6), 401-407.
- Scott, G.R., & Sloman, K.A. (2004). The effects of Rainbow, P.S. (1995). Biomonitoring of heavy metal availability in the marine environment. *Marine Pollution Bulletin*, 31, 183-192.

ภาคผนวก

ค่าเฉลี่ยคุณภาพน้ำในภาคสนามที่ทำการสำรวจและเก็บตัวอย่าง (Mean \pm SD) (n=3)

พื้นที่	อุณหภูมิน้ำ (°C)	ความเป็นกรด- ด่าง	DO (mg/l)	ความเค็ม (ppt)	การนำไฟฟ้า (μ s/cm)
1	30.6 \pm 0.7	6.58 \pm 0.40	3.24 \pm 0.18	0.1	212.3 \pm 0.7
2	30.9 \pm 0.1	7.36 \pm 0.16	5.94 \pm 0.27	0	66.3 \pm 1.0
3	31.8 \pm 0.3	7.80 \pm 0.17	6.06 \pm 0.27	0.1 \pm 0.1	108.4 \pm 6.0
4	26.6 \pm 0.5	6.79 \pm 0.07	0.66 \pm 0.56	0.5 \pm 0.3	1006.3 \pm 711.6
5	26.6 \pm 0.5	6.93 \pm 0.02	0.64 \pm 0.18	0.6	1261.7 \pm 21.6
6	28	6.69 \pm 0.12	0.05 \pm 0.03	21.2 \pm 1.1	35388.7 \pm 1698.8
7	28.4 \pm 0.2	6.93 \pm 0.05	4.53 \pm 0.04	28.0 \pm 0.2	44987.7 \pm 203.4
8	29.0 \pm 0.3	6.96 \pm 0.03	0.08 \pm 0.04	1.3 \pm 0.1	2552.0 \pm 103.5
9	28.6 \pm 0.4	7.11 \pm 0.02	3.78 \pm 0.63	1.0 \pm 0.2	2160.3 \pm 312.2
10	27.8 \pm 0.3	7.64 \pm 0.19	2.83 \pm 0.77	0.4	954.0 \pm 7.9

หมายเหตุ 1 คือ สำนักสงฆ์ ต. พลวงทอง อ. บ่อทอง จ. ชลบุรี (พื้นที่ธรรมชาติ)

2 คือ ภูเขา ต. เขาน้อย อ. เขาชะเมา จ. ระยอง (พื้นที่เกษตรกรรม)

3 คือ อ่างเก็บน้ำประแสร์ ต. ชุมแสง อ. วังจันทร์ จ. ระยอง (พื้นที่ธรรมชาติ)

4 คือ นาข้าว ต. หัวถนน อ. พนสนิมคม จ. ชลบุรี (พื้นที่เกษตรกรรม)

5 คือ นิคมอุตสาหกรรม ต. บ้านเก่า อ. พานทอง จ.ชลบุรี (พื้นที่ชุมชน)

6 คือ ต. บางปะกง อ. บางปะกง จ. ฉะเชิงเทรา (พื้นที่ชุมชน)

7 คือ วัดคงคาราม (วัดบน) ต. บางปะกง อ.บางปะกง จ. ฉะเชิงเทรา (พื้นที่ชุมชน)

8 คือ ถนนสิริโสธร ต. ลาดขวาง อ. บ้านโพธิ์ จ. ฉะเชิงเทรา (พื้นที่อุตสาหกรรม)

9 คือ นาข้าว ต. เทพราช อ. บ้านโพธิ์ จ. ฉะเชิงเทรา (พื้นที่เกษตรกรรม)

10 คือ ถนนข้าวหลาม ต. ห้วยกะปิ อ. เมืองชลบุรี จ. ชลบุรี (พื้นที่ชุมชน)

1. ผลการวิเคราะห์โลหะหนักในดิน (ตะกั่ว แคดเมียม สังกะสี ทองแดง เหล็กและนิกเกิล)

1.1 การเตรียมสารละลายมาตรฐานโลหะหนัก

เตรียมสารละลายมาตรฐานโลหะหนักความเข้มข้น 500 ppm ปริมาตร 100 ml โดยเตรียมจากสารละลายมาตรฐานโลหะหนักความเข้มข้น 1,000 ppm

$$C_1V_1 = C_2V_2$$

$$(1,000 \text{ ppm}) V_1 = (500 \text{ ppm}) (100 \text{ ml})$$

$$V_1 = \frac{(500 \text{ ppm})(100 \text{ ml})}{1,000 \text{ ppm}}$$

$$V_1 = 50 \text{ ml}$$

ทำการเตรียมสารละลายมาตรฐานโลหะหนักทั้ง 6 ชนิดตั้งข้างต้นและนำสารละลายเหล่านี้มาเตรียมสารละลายมาตรฐานโลหะหนักทั้ง 6 ชนิดผสมกัน โดยต้องการสารละลายโลหะหนักความเข้มข้น 50 ppm ปริมาตร 100 ml สารละลายมาตรฐานโลหะหนักทั้ง 6 ชนิดผสมกันเตรียมได้ดังนี้

$$C_1V_1 = C_2V_2$$

$$(500 \text{ ppm}) V_1 = (50 \text{ ppm}) (100 \text{ ml})$$

$$V_1 = \frac{(50 \text{ ppm})(100 \text{ ml})}{500 \text{ ppm}}$$

$$V_1 = 10 \text{ ml}$$

ดูดสารละลายมาตรฐานโลหะหนักแต่ละชนิดความเข้มข้น 500 ppm ปริมาตร 10 ml ใส่ลงในขวดวัดปริมาตร 100 ml และเติมน้ำกลั่นจนได้ปริมาตร 100 ml ทำการกลับขวดวัดปริมาตรไปมาเพื่อให้สารละลายผสมกันดี สุดท้ายได้สารละลายมาตรฐานโลหะหนักทั้ง 6 ชนิดผสมกัน จากนั้นเตรียมสารละลาย spiked sample โดยต้องการเตรียม spiked sample 2 ความเข้มข้น คือ ความเข้มข้น 1 ppm และ 0.01 ppm ปริมาตร 100 ml

Spiked sample 1 ppm

$$C_1V_1 = C_2V_2$$

$$(50 \text{ ppm}) V_1 = (1 \text{ ppm}) (100 \text{ ml})$$

$$V_1 = \frac{(1 \text{ ppm})(100 \text{ ml})}{50 \text{ ppm}}$$

$$V_1 = 2 \text{ ml}$$

ดูดสารละลายมาตรฐานโลหะหนักแต่ละชนิดความเข้มข้น 50 ppm ปริมาตร 2 ml ใส่ลงในขวดวัดปริมาตร 100 ml และเติมน้ำกลั่นจนได้ปริมาตร 100 ml ทำการกลับขวดวัดปริมาตรไปมาเพื่อให้สารละลายผสมกันดี

Spiked sample 0.01 ppm

$$C_1V_1 = C_2V_2$$

$$(50 \text{ ppm}) V_1 = (0.01 \text{ ppm}) (100 \text{ ml})$$

$$V_1 = \frac{(0.01 \text{ ppm})(100 \text{ ml})}{50 \text{ ppm}}$$

$$V_1 = 0.02 \text{ ml}$$

ดูสารละลายมาตรฐานโลหะหนักแต่ละชนิดความเข้มข้น 50 ppm ปริมาตร 0.02 ml ใส่ลงในขวดวัดปริมาตร 100 ml และเติมน้ำกลั่นจนได้ปริมาตร 100 ml ทำการกลับขวดวัดปริมาตรไปมาเพื่อให้สารละลายผสมกันดี

1.2 การเตรียมตัวอย่างดิน (ตัวอย่างดินจากสถานีที่ 1 จุดสำรวจที่ 1)

ขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างดินมีดังนี้ (Mohammadein et al., 2013)

1.2.1 ร่อนตัวอย่างดินเพื่อนำเศษใบไม้และสิ่งเจือปนต่าง ๆ ออก

1.2.2 นำตัวอย่างดินมาวางไว้ในที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24 ชั่วโมง

1.2.3 เมื่อครบเวลานำตัวอย่างดินมาอบอุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 ชั่วโมง

1.2.4 จากนั้นบดตัวอย่างดินให้ละเอียดด้วยโถง

1.2.5 ร่อนตัวอย่างดินอีกครั้งด้วยตะแกรงร่อนที่มีขนาดของช่องเท่ากับ 2 มิลลิเมตร

1.2.6 บรรจุตัวอย่างดินที่บดแล้วในถุงพลาสติกชนิดมีแถบล็อค ทำการเขียนระบุสถานีและ

จุดสำรวจให้ชัดเจน ก่อนนำตัวอย่างดินย่อยต่อไป

1.3 การย่อยตัวอย่างดิน

ขั้นตอนการย่อยตัวอย่างดิน (EPA, 1996)

1.3.1 ชั่งตัวอย่างดินอบแห้งหนัก 1 กรัม ใส่ในขวดก้นกลม

1.3.2 เติมสารละลาย 1:1 ของน้ำต่อกรดไนตริก (HNO_3) ปริมาณ 10 มิลลิลิตร

1.3.3 นำขวดก้นกลมต่อกับชุด reflux ปรับอุณหภูมิ heating mantle เท่ากับ 95 องศาเซลเซียส แล้วตั้งทิ้งไว้ 10 นาที

1.3.4 เมื่อครบเวลานำขวดก้นกลมออกจากชุด reflux และรอให้สารละลายเย็นลง แล้วจึงเติมกรดไนตริกเข้มข้น ปริมาณ 5 มิลลิลิตร

1.3.5 นำขวดก้นกลมกลับไปต่อกับชุด reflux โดยตั้งอุณหภูมิ heating mantle เท่าเดิมตามข้อ

1.3.3 เป็นเวลา 30 นาที ขั้นตอนนี้จะเกิดควันสีน้ำตาล โดยทำขั้นตอนนี้ซ้ำจนกว่าจะไม่เกิดควันดังกล่าว

1.3.6 ต่อมานำขวดก้นกลมตั้งในหม้อน้ำที่วางอยู่บน hot plate เพื่อให้อุณหภูมิของสารละลายเท่ากับ 95 ± 5 องศาเซลเซียส ตั้งขวดก้นกลมดังกล่าวเป็นเวลา 2 ชั่วโมง และใช้กระจกนาฬิกาปิดขวดก้นกลม

1.3.7 เมื่อครบเวลา 2 ชั่วโมง ปล่อยให้สารละลายเย็นลง แล้วเติมน้ำกลั่นปริมาณ 2 มิลลิลิตร และเติมสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 30% ปริมาณ 3 มิลลิลิตร ตามลำดับ

1.3.8 จากนั้นนำขวดก้นกลมตั้งบน heating mantle ตั้งอุณหภูมิเท่ากับ 95 ± 5 องศาเซลเซียส สังเกตการเปลี่ยนแปลงของสารละลาย เติมสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 30% ปริมาณ 1 มิลลิลิตร หลังจากสังเกตเป็นเวลา 5 นาที ทำขั้นตอนนี้ซ้ำจนกว่าสารละลายไม่เกิดการเปลี่ยนแปลง (ไม่เกิดควันหรือฟองแก๊ส)

1.3.9 นำขวดก้นกลมตั้งในหม้อน้ำที่วางอยู่บน hot plate โดยให้อุณหภูมิของสารละลายเท่ากับ 95 ± 5 องศาเซลเซียส ตั้งขวดก้นกลมเป็นเวลา 2 ชั่วโมง และใช้กระจกนาฬิกาปิดขวดก้นกลม

1.3.10 เมื่อครบเวลา 2 ชั่วโมง พักให้สารละลายเย็นตัวลง แล้วจึงเติมกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น ปริมาณ 10 มิลลิลิตร

1.3.11 นำขวดก้นกลมต่อกับชุด reflux ตั้งอุณหภูมิเครื่องที่ 95 องศาเซลเซียส แล้วตั้งทิ้งไว้ 15 นาที

1.3.12 เมื่อครบเวลานำขวดก้นกลมพักให้สารละลายเย็นลง ต่อมาทำการกรองสารละลายตัวอย่าง ด้วยกระดาษกรองเบอร์ 41 ลงบนขวดวัดปริมาตร 100 มิลลิลิตร และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น จากนั้นเท สารละลายตัวอย่างลงในขวดพลาสติกชนิด PE เขียนฉลากโดยระบุชื่อตัวอย่าง วันที่ทำการย่อย ปริมาณและ ชื่อผู้ทำการย่อยให้ชัดเจน ก่อนจะนำสารละลายตัวอย่างส่งวิเคราะห์ควรเก็บรักษาสารละลายไว้ในตู้แช่เย็น อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

1.4 การวิเคราะห์โลหะหนักในดิน

สารละลายตัวอย่างที่ได้จากการย่อยตัวอย่างดินนั้น ถูกนำไปวิเคราะห์หาปริมาณโลหะหนักทั้งหมด 6 ชนิด ได้แก่ ตะกั่ว แคดเมียม สังกะสี ทองแดง เหล็กและนิกเกิล โดยตัวอย่างทั้งหมดนำไปวิเคราะห์ที่ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 6 จังหวัดชลบุรี ด้วยเทคนิคอินดักทีฟคัปเปิลพลาสมาแมสสเปกโตรเมตรี (ICP-OES) สัญญาณการเปล่งพลังงานของอะตอมอิสระของธาตุที่วัดด้วยเทคนิค ICP-OES แสดงดังตารางที่ 1

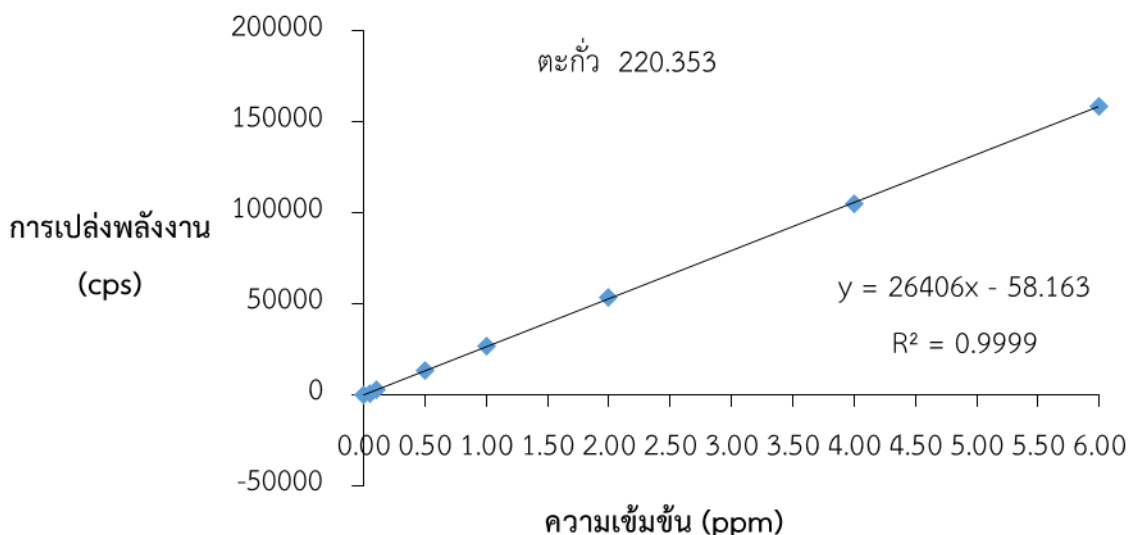
ตารางที่ 1 สัญญาณการเปล่งพลังงานของอะตอมอิสระของธาตุที่วัดด้วยเทคนิค ICP-OES

ตัวอย่าง (ppm)	ตะกั่ว	แคดเมียม	เหล็ก	สังกะสี	นิกเกิล	ทองแดง
DI water 0.0	0.0	271.3	307.1	1200.3	202.8	0.0
std. Mixed 0.05	788.8	5374.3	2783.6	7496.1	4899.9	8919.6
std. Mixed 0.10	2398.1	11343.0	9096.1	16297.3	10104.9	21425.9
std. Mixed 0.50	13079.4	57820.9	112006.2	84747.0	51128.7	109076.2
std. Mixed 1.00	26900.7	118054.3	252207.2	173359.8	104766.6	221144.1
std. Mixed 2.00	5338.0	234260.0	523612.4	346378.6	207744.6	438998.6
std. Mixed 4.00	104978.3	455715.0	1019259.7	672181.7	406237.5	852308.4
std. Mixed 6.00	158499.4	693478.1	1557077.5	1030457.7	614493.7	1305608.7
Sample 1	7180.5	3572.9	*1260235.1	171481.1	33124.8	85821.1
Spiked 1.1 0.01	7433.5	4556.1	*1297582.3	171194.6	31300.2	88870.6
Spiked 1.2 1.00	24287.5	87939.2	*1357138.5	305248.5	93679.1	246378.2
Blank 1	319.22	151.2	58753.9	16921.5	4611.9	1482.6

หมายเหตุ * คือ สัญญาณการเปล่งพลังงานของอะตอมอิสระของเหล็กได้จากการเจือจางสารละลายตัวอย่าง 200 เท่า

1.5 การคำนวณความเข้มข้นโลหะหนัก

โดยใช้สมการเส้นตรงจากการเขียนกราฟเส้นตรงความสัมพันธ์ระหว่างสัญญาณการเปล่งพลังงานอะตอมอิสระของธาตุกับความเข้มข้นของโลหะหนักแต่ละชนิด ภาพที่ 1-6 แสดงกราฟเส้นตรงความสัมพันธ์ระหว่างสัญญาณการเปล่งพลังงานอะตอมอิสระของธาตุกับความเข้มข้นของตะกั่ว แคดเมียมเหล็ก สังกะสี นิกเกิลและทองแดงในตัวอย่างดินจากสถานีที่ 1 จุดสำรวจที่ 1 ตามลำดับ



ภาพที่ 1 กราฟเส้นตรงความสัมพันธ์ระหว่างสัญญาณการเปล่งพลังงานอะตอมอิสระของธาตุกับ ความเข้มข้นของตะกั่ว

จากกราฟสมการเส้นตรง ภาพที่ 1 คือ $y = 26406x - 58.163$ ความเข้มข้นของตะกั่วในตัวอย่างดิน (Sample 1) หาได้จากการแทนค่า $y = 7180.5$

$$7180.5 = 26406X - 58.163$$

$$X = \frac{7180.5 + 58.163}{26406}$$

$$X = 0.2741 \text{ ppm}$$

การตรวจสอบความถูกต้องของการวิเคราะห์ความเข้มข้นของตะกั่วในตัวอย่างดินสามารถทำได้โดยการคำนวณร้อยละการกลับคืน (% recovery) จากสูตร ดังนี้

$$\% \text{ recovery} = \frac{\text{ความเข้มข้น Spiked} - \text{ความเข้มข้น Sample}}{\text{ความเข้มข้นสารมาตรฐานที่เติมลงไป}} \times 100$$

เกณฑ์ที่ยอมรับ 90%- 100%

ในทำนองเดียวกันกับการหาความเข้มข้นของตะกั่ว สามารถหาความเข้มข้นของตะกั่วในตัวอย่างดินที่

มีการเติมสารมาตรฐานตะกั่วที่ทราบความเข้มข้น Spiked 1.1 เท่ากับ 0.01 ppm Spiked 1.2 เท่ากับ 1.00 ppm และสารละลาย Blank จากสมการเส้นตรงข้างต้น

Spiked 1.1 (0.01 ppm) แทนค่า $y = 7433.5$

$$7433.5 = 26406X - 58.163$$

$$X = \frac{7433.5 + 58.163}{26406}$$

$$X = 0.2837 \text{ ppm}$$

Spiked 1.2 (1.00 ppm) แทนค่า $y = 24287.5$

$$24287.5 = 26406X - 58.163$$

$$X = \frac{24287.5 + 58.163}{26406}$$

$$X = 0.9219 \text{ ppm}$$

Blank 1 แทนค่า $y = 319.22$

$$319.22 = 26406X - 58.163$$

$$X = \frac{319.22 + 58.163}{26406}$$

$$X = 0.0143 \text{ ppm}$$

เมื่อทราบความเข้มข้นของตะกั่วในตัวอย่างดินทั้งหมดแล้ว ต้องนำความเข้มข้นของตะกั่วในตัวอย่างมาหักออกด้วยความเข้มข้นของตะกั่วในตัวอย่าง Blank ก่อนแล้วจึงสามารถคำนวณ % recovery ได้ดังนี้
Spiked 1.1 (0.01 ppm)

$$\% \text{ recovery} = \frac{\text{ความเข้มข้น Spiked} - \text{ความเข้มข้น Sample}}{\text{ความเข้มข้นสารมาตรฐานที่เติมลงไป}} \times 100$$

$$\% \text{ recovery} = \frac{0.2694 \text{ ppm} - 0.2598 \text{ ppm}}{0.01 \text{ ppm}} \times 100$$

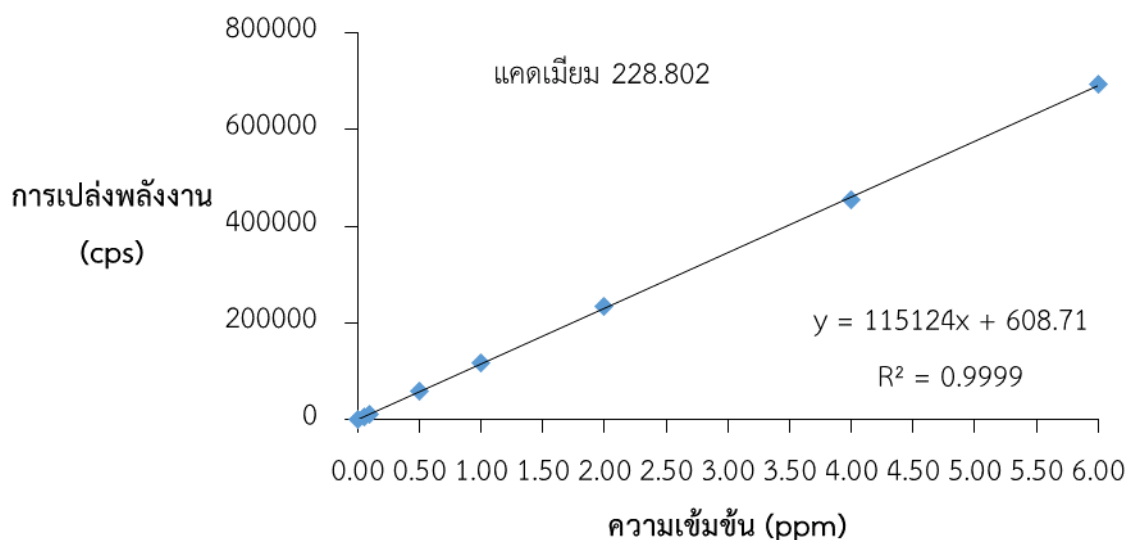
$$\% \text{ recovery} = 96\%$$

Spiked 1.2 (1.00 ppm)

$$\% \text{ recovery} = \frac{\text{ความเข้มข้น Spiked} - \text{ความเข้มข้น Sample}}{\text{ความเข้มข้นสารมาตรฐานที่เติมลงไป}} \times 100$$

$$\% \text{ recovery} = \frac{0.9076 \text{ ppm} - 0.2598 \text{ ppm}}{1.00 \text{ ppm}} \times 100$$

$$\% \text{ recovery} = 64.78\%$$



ภาพที่ 2 กราฟเส้นตรงความสัมพันธ์ระหว่างสัญญาณการเปล่งพลังงานอะตอมอิสระของธาตุกับความเข้มข้นของแคดเมียม

จากกราฟสมการเส้นตรงภาพที่ 2 คือ $y = 115124x - 608.71$ ความเข้มข้นของแคดเมียมในตัวอย่างดิน (Sample 1) หาได้จากการแทนค่า $y = 3572.9$

$$3572.9 = 115124X + 608.71$$

$$X = \frac{3572.9 - 608.71}{115124}$$

$$X = 0.0257 \text{ ppm}$$

Spiked 1.1 (0.01 ppm) แทนค่า $y = 4556.1$

$$4556.1 = 115124X + 608.71$$

$$X = \frac{4556.1 - 608.71}{115124}$$

$$X = 0.0343 \text{ ppm}$$

Spiked 1.2 (1.00 ppm) แทนค่า $y = 87939.2$

$$87939.2 = 115124X + 608.71$$

$$X = \frac{87939.2 - 608.71}{115124}$$

$$X = 0.7586 \text{ ppm}$$

Blank 1 แทนค่า $y = 151.2$

$$151.2 = 115124X + 608.71$$

$$X = \frac{151.2 - 608.71}{115124}$$

$$X = 0.0 \text{ ppm}$$

Spiked 1.1 (0.01 ppm)

$$\% \text{ recovery} = \frac{\text{ความเข้มข้น Spiked} - \text{ความเข้มข้น Sample}}{\text{ความเข้มข้นสารมาตรฐานที่เติมลงไป}} \times 100$$

$$\% \text{ recovery} = \frac{0.0343 \text{ ppm} - 0.0257 \text{ ppm}}{0.01 \text{ ppm}} \times 100$$

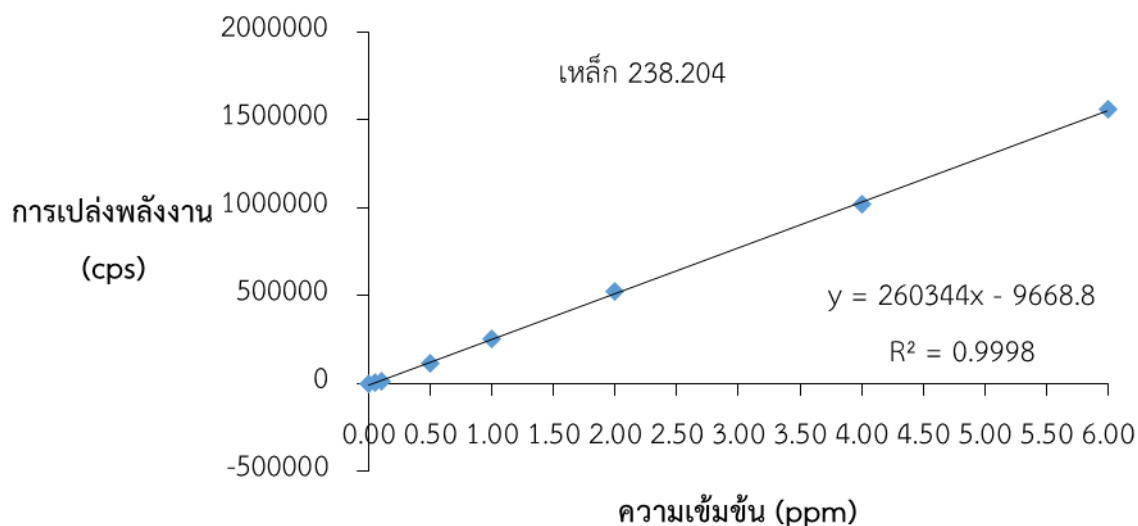
$$\% \text{ recovery} = 86\%$$

Spiked 1.2 (1.00 ppm)

$$\% \text{ recovery} = \frac{\text{ความเข้มข้น Spiked} - \text{ความเข้มข้น Sample}}{\text{ความเข้มข้นสารมาตรฐานที่เติมลงไป}} \times 100$$

$$\% \text{ recovery} = \frac{0.7586 \text{ ppm} - 0.0257 \text{ ppm}}{1.00 \text{ ppm}} \times 100$$

$$\% \text{ recovery} = 73.29\%$$



ภาพที่ 3 กราฟเส้นตรงความสัมพันธ์ระหว่างสัญญาณการเปล่งพลังงานอะตอมอิสระของธาตุกับความเข้มข้นของเหล็ก

จากกราฟสมการเส้นตรงภาพที่ 3 คือ $y = 260344X - 9668.8$ ความเข้มข้นของเหล็กในตัวอย่างดิน (Sample 1) หาได้จากการแทนค่า $y = 1260235.1$

$$1260235.1 = 260344X - 9668.8$$

$$X = \frac{1260235.1 + 9668.8}{260344}$$

$$X = 4.8778 \text{ ppm}$$

สัญญาณการเปล่งพลังงานของอะตอมอิสระของเหล็กได้จากการเจือจางสารละลายตัวอย่าง 200 เท่า ดังนั้นความเข้มข้นของเหล็กจากตัวอย่างดินจริงต้องคูณด้วย 200 เท่า ความเข้มข้นของเหล็กจึงเท่ากับ 975.56 ppm

Spiked 1.1 (0.01 ppm) แทนค่า $y = 1297582.3$

$$1297582.3 = 260344X - 9668.8$$

$$X = \frac{1297582.3 + 9668.8}{260344}$$

$$X = 5.0212 \text{ ppm}$$

Spiked 1.2 (1.00 ppm) แทนค่า $y = 1357138.5$

$$1357138.5 = 260344X - 9668.8$$

$$X = \frac{1357138.5 + 9668.8}{260344}$$

$$X = 5.2500 \text{ ppm}$$

Blank 1 แทนค่า $y = 58753.9$

$$58753.9 = 260344X - 9668.8$$

$$X = \frac{58753.9 + 9668.8}{260344}$$

$$X = 0.2628 \text{ ppm}$$

เมื่อทราบความเข้มข้นของเหล็กในตัวอย่างดินทั้งหมดแล้ว ต้องนำความเข้มข้นของเหล็กในตัวอย่างมาหักออกด้วยความเข้มข้นของเหล็กในตัวอย่าง Blank ก่อนแล้วจึงสามารถคำนวณ % recovery ได้ดังนี้

Spiked 1.1 (0.01 ppm)

$$\% \text{ recovery} = \frac{\text{ความเข้มข้น Spiked} - \text{ความเข้มข้น Sample}}{\text{ความเข้มข้นสารมาตรฐานที่เติมลงไป}} \times 100$$

$$\% \text{ recovery} = \frac{951.68 \text{ ppm} - 923 \text{ ppm}}{0.01 \text{ ppm}} \times 100$$

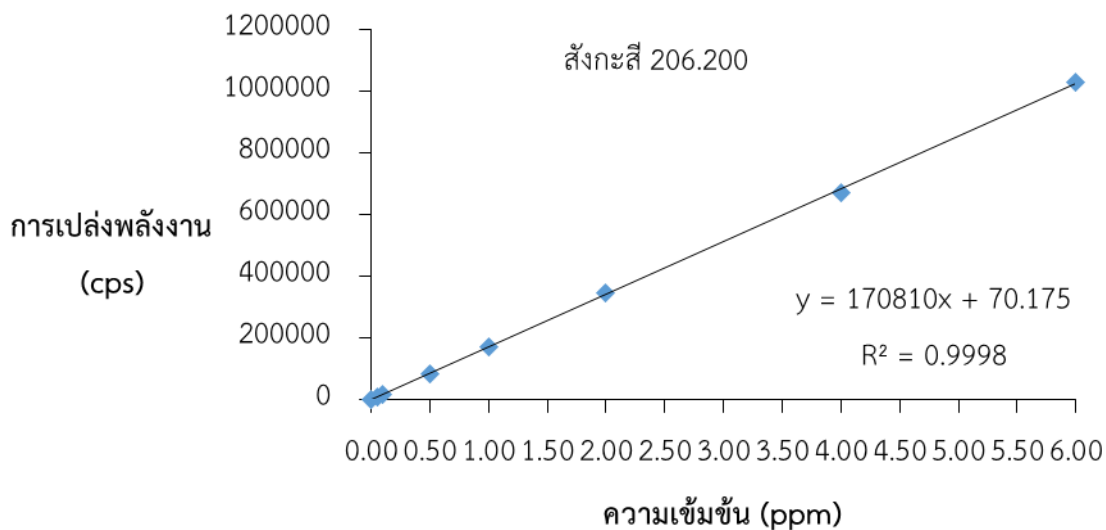
$$\% \text{ recovery} = 1,434 \% \text{ ค่าเกิน } 100\%$$

Spiked 1.2 (1.00ppm)

$$\% \text{ recovery} = \frac{\text{ความเข้มข้น Spiked} - \text{ความเข้มข้น Sample}}{\text{ความเข้มข้นสารมาตรฐานที่เติมลงไป}} \times 100$$

$$\% \text{ recovery} = \frac{997.4 \text{ ppm} - 923 \text{ ppm}}{1.00 \text{ ppm}} \times 100$$

$$\% \text{ recovery} = 37.22 \%$$



ภาพที่ 4 กราฟเส้นตรงความสัมพันธ์ระหว่างสัญญาณการเปล่งพลังงานอะตอมอิสระของธาตุกับความเข้มข้นของสังกะสี

จากกราฟสมการเส้นตรง ภาพที่ 4 คือ $y = 170810X + 70.175$ ความเข้มข้นของสังกะสีในตัวอย่างดิน (Sample 1) หาได้จากการแทนค่า $y = 171481.1$

$$171481.1 = 170810X + 70.175$$

$$X = \frac{171481.1 - 70.175}{170810}$$

$$X = 1.0035 \text{ ppm}$$

Spiked 1.1 (0.01 ppm) แทนค่า $y = 171194.6$

$$171194.6 = 170810X + 70.175$$

$$X = \frac{171194.6 - 70.175}{170810}$$

$$X = 1.0018 \text{ ppm}$$

Spiked 1.2 (1.00 ppm) แทนค่า $y = 305248.5$

$$305248.5 = 170810X + 70.175$$

$$X = \frac{305248.5 - 70.175}{170810}$$

$$X = 1.7866 \text{ ppm}$$

Blank 1 แทนค่า $y = 16921.5$

$$16921.5 = 170810X + 70.175$$

$$X = \frac{16921.5 - 70.175}{170810}$$

$$X = 0.0986 \text{ ppm}$$

เมื่อทราบความเข้มข้นของสังกะสีในตัวอย่างดินทั้งหมดแล้ว ต้องนำความเข้มข้นของสังกะสีในตัวอย่างมาหักออกด้วยความเข้มข้นของสังกะสีในตัวอย่าง Blank ก่อนแล้วจึงสามารถคำนวณ % recovery ได้ดังนี้

Spiked 1.1 (0.01 ppm)

$$\% \text{ recovery} = \frac{\text{ความเข้มข้น Spiked} - \text{ความเข้มข้น Sample}}{\text{ความเข้มข้นสารมาตรฐานที่เติมลงไป}} \times 100$$

$$\% \text{ recovery} = \frac{0.9032 \text{ ppm} - 0.9049 \text{ ppm}}{0.01 \text{ ppm}} \times 100$$

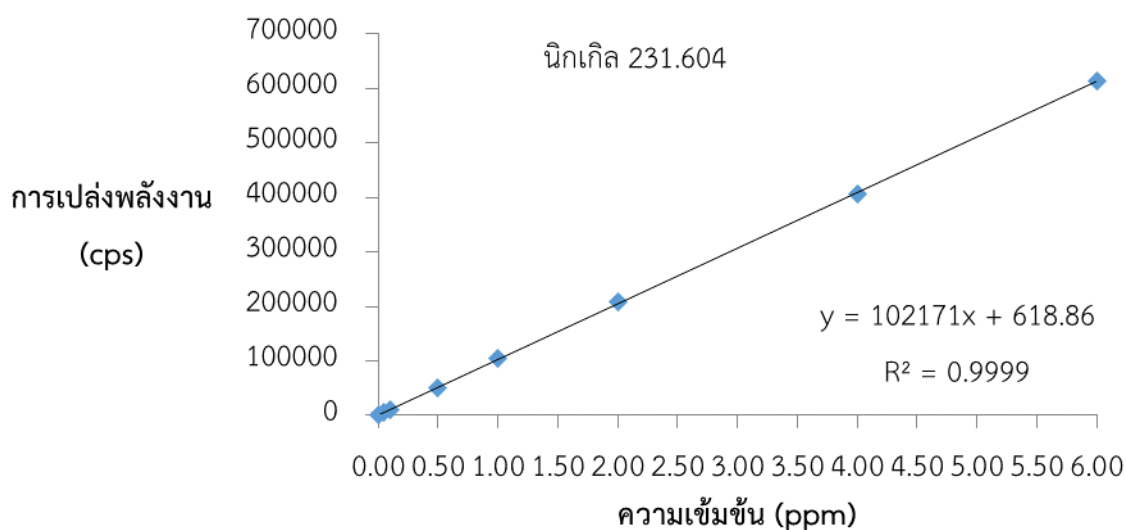
$$\% \text{ recovery} = \text{ติดลบ}$$

Spiked 1.2 (1.00 ppm)

$$\% \text{ recovery} = \frac{\text{ความเข้มข้น Spiked} - \text{ความเข้มข้น Sample}}{\text{ความเข้มข้นสารมาตรฐานที่เติมลงไป}} \times 100$$

$$\% \text{ recovery} = \frac{1.6880 \text{ ppm} - 0.9049 \text{ ppm}}{1.00 \text{ ppm}} \times 100$$

$$\% \text{ recovery} = 78.31 \%$$



ภาพที่ 5 กราฟเส้นตรงความสัมพันธ์ระหว่างสัญญาณการเปล่งพลังงานอะตอมอิสระของธาตุกับความเข้มข้นของนิกเกิล

จากกราฟสมการเส้นตรง ภาพที่ 5 คือ $y = 102171X + 618.86$ ความเข้มข้นของนิกเกิลในตัวอย่างดิน (Sample 1) หาได้จากแทนค่า $y = 33124.8$

$$33124.8 = 102171X + 618.86$$

$$X = \frac{33124.8 - 618.86}{102171}$$

$$X = 0.3182 \text{ ppm}$$

Spiked 1.1 (0.01 ppm) แทนค่า $y = 31300.2$

$$31300.2 = 102171X + 618.86$$

$$X = \frac{31300.2 - 618.86}{102171}$$

$$X = 0.3003 \text{ ppm}$$

Spiked 1.2 (1.00ppm) แทนค่า $y = 93679.1$

$$93679.1 = 102171X + 618.86$$

$$X = \frac{93679.1 - 618.86}{102171}$$

$$X = 0.9108 \text{ ppm}$$

Blank 1 แทนค่า $y = 4611.9$

$$4611.9 = 102171X + 618.86$$

$$X = \frac{4611.9 - 618.86}{102171}$$

$$X = 0.0391 \text{ ppm}$$

เมื่อทราบความเข้มข้นของนิกเกิลในตัวอย่างดินทั้งหมดแล้ว ต้องนำความเข้มข้นของนิกเกิลในตัวอย่างมาหักออกด้วยความเข้มข้นของนิกเกิลในตัวอย่าง Blank ก่อนแล้วจึงสามารถคำนวณ % recovery ได้ดังนี้

Spiked 1.1 (0.01 ppm)

$$\% \text{ recovery} = \frac{\text{ความเข้มข้น Spiked} - \text{ความเข้มข้น Sample}}{\text{ความเข้มข้นสารมาตรฐานที่เติมลงไป}} \times 100$$

$$\% \text{ recovery} = \frac{0.2612 \text{ ppm} - 0.2791 \text{ ppm}}{0.01 \text{ ppm}} \times 100$$

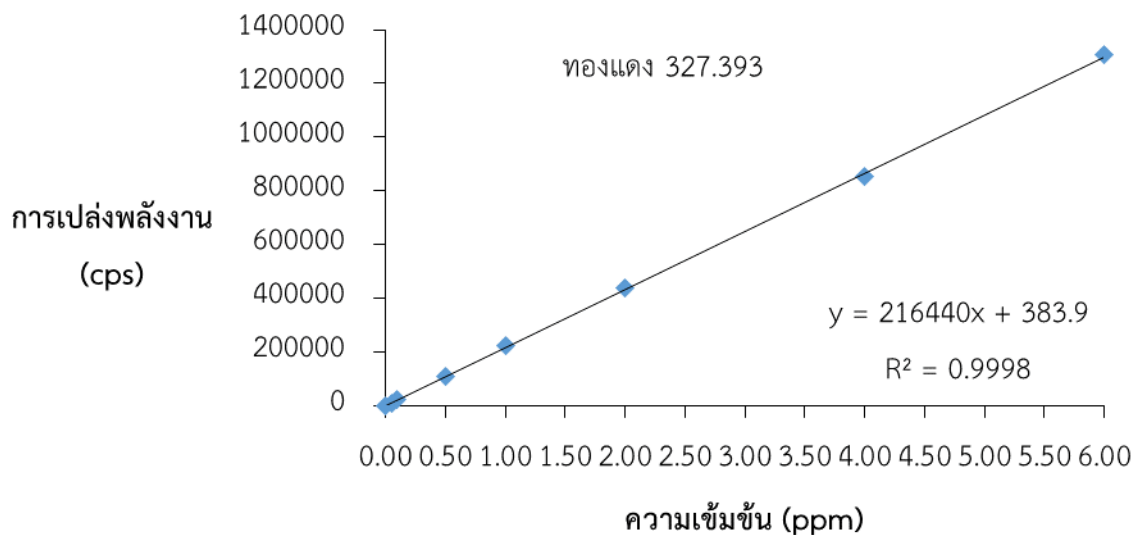
$$\% \text{ recovery} = \text{ติดลบ}$$

Spiked 1.2 (1.00ppm)

$$\% \text{ recovery} = \frac{\text{ความเข้มข้น Spiked} - \text{ความเข้มข้น Sample}}{\text{ความเข้มข้นสารมาตรฐานที่เติมลงไป}} \times 100$$

$$\% \text{ recovery} = \frac{0.8717 \text{ ppm} - 0.2791 \text{ ppm}}{1.00 \text{ ppm}} \times 100$$

$$\% \text{ recovery} = 59.26 \%$$



ภาพที่ 6 กราฟเส้นตรงความสัมพันธ์ระหว่างสัญญาณการเปล่งพลังงานอะตอมอิสระของธาตุกับความเข้มข้นของทองแดง

จากกราฟสมการเส้นตรงภาพที่ 6 คือ $y = 216440X + 383.9$ ความเข้มข้นของทองแดงในตัวอย่างดิน (Sample 1) หาได้จากการแทนค่า $y = 85821.1$

$$85821.1 = 216440X + 383.9$$

$$X = \frac{85821.1 - 383.9}{216440}$$

$$X = 0.3947 \text{ ppm}$$

Spiked 1.1 (0.01 ppm) แทนค่า $y = 88870.6$

$$88870.6 = 216440X + 383.9$$

$$X = \frac{88870.6 - 383.9}{216440}$$

$$X = 0.4088 \text{ ppm}$$

Spiked 1.2 (1.00ppm) แทนค่า $y = 246378.2$

$$246378.2 = 216440X + 383.9$$

$$X = \frac{246378.2 - 383.9}{216440}$$

$$X = 1.1365 \text{ ppm}$$

Blank 1 แทนค่า $y = 1482.6$

$$1482.6 = 216440X + 383.9$$

$$X = \frac{1482.6 - 383.9}{216440}$$

$$X = 0.0051 \text{ ppm}$$

เมื่อทราบความเข้มข้นของทองแดงในตัวอย่างดินทั้งหมดแล้ว ต้องนำความเข้มข้นของทองแดงในตัวอย่างมาหักออกด้วยความเข้มข้นของทองแดงในตัวอย่าง Blank ก่อนแล้วจึงสามารถคำนวณ % recovery ได้ดังนี้

Spiked 1.1 (0.01 ppm)

$$\% \text{ recovery} = \frac{\text{ความเข้มข้น Spiked} - \text{ความเข้มข้น Sample}}{\text{ความเข้มข้นสารมาตรฐานที่เติมลงไป}} \times 100$$

$$\% \text{ recovery} = \frac{0.4037 \text{ ppm} - 0.3923 \text{ ppm}}{0.01 \text{ ppm}} \times 100$$

$$\% \text{ recovery} = \text{เกิน } 100\%$$

Spiked 1.2 (1.00ppm)

$$\% \text{ recovery} = \frac{\text{ความเข้มข้น Spiked} - \text{ความเข้มข้น Sample}}{\text{ความเข้มข้นสารมาตรฐานที่เติมลงไป}} \times 100$$

$$\% \text{ recovery} = \frac{1.1314 \text{ ppm} - 0.3923 \text{ ppm}}{1.00 \text{ ppm}} \times 100$$

$$\% \text{ recovery} = 74.18 \%$$

จากการคำนวณหาความเข้มข้นของโลหะหนักและนำความเข้มข้นเหล่านั้นมาคำนวณหาร้อยละค่าการกลับคืน (% recovery) พบว่ามีเพียงร้อยละค่าการกลับคืนของตะกั่วที่คำนวณจากตัวอย่างที่เติมสารละลาย spiked sample 1 ppm เท่ากับ 96% ซึ่งอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ แต่ร้อยละค่าการกลับคืนของโลหะหนักชนิดอื่น ๆ ส่วนมากไม่อยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับ ดังนั้นความเข้มข้นของโลหะหนักอาจจะยังไม่ใช่ความเข้มข้นที่มีอยู่จริงในตัวอย่างดินทั้งหมด จากผลการคำนวณความเข้มข้นของโลหะหนักอาจเกิดจากข้อผิดพลาดระหว่างการเตรียมตัวอย่างดินในขั้นตอนใดขั้นตอนหนึ่ง โดยตารางที่ 2 แสดงความเข้มข้นของโลหะหนักทั้ง 6 ชนิดในตัวอย่างดินจากสถานีที่ 1 จุดสำรวจที่ 1 ความเข้มข้นตะกั่ว แคดเมียม เหล็ก สังกะสี นิกเกิลและทองแดงเท่ากับ 0.2741 0.0257 975.56 1.0035 0.3182 และ 0.3974 ppm ตามลำดับ

ตารางที่ 2 ความเข้มข้นโลหะหนักในตัวอย่างดินจากสถานีที่ 1 จุดสำรวจที่ 1 Spiked 1.1 Spiked 1.2 และ Blank 1

ตัวอย่าง	ตะกั่ว (ppm)	แคดเมียม (ppm)	เหล็ก (ppm)	สังกะสี (ppm)	นิกเกิล (ppm)	ทองแดง (ppm)
Sample 1	0.2741	0.0257	975.56	1.0035	0.3182	0.3974
Spiked 1.1 (0.01 ppm)	0.2837	0.0343	1,004.24	1.0018	0.3003	0.4088
Spiked 1.2 (1.0 ppm)	0.9219	0.7586	1,050	1.7866	0.9108	1.1365
Blank 1	0.0143	0	52.56	0.0986	0.0391	0.0051

เอกสารอ้างอิง

- EPA, U. (1996). Method 3050B: Acid Digestion of Sediments, Sludges, and Soils. *SW-846 Test Methods for Evaluating Solid Wastes*.
- Mohammadein, A., El-Shenawy, N. S., & Al-Fahmie, Z. H. H. (2013). Bioaccumulation and histopathological changes of the digestive gland of the land snail *Eobania vermiculata* (Mollusca: Gastropoda), as biomarkers of terrestrial heavy metal pollution in Taif city. *Italian Journal of Zoology*, *80*(3), 345-357.