1(2)

สำนักหอสมุด มหาวิทยาลัยบูรพา
ต.แสนสุข อ.เมือง จ.ชลบุรี 20131

รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์

เรื่อง

การย่อยสลายทางชีวภาพของสารประกอบไตรบิวทิลทิน และความเป็นไปได้ในการทำให้เกิด Imposex ในหอยหวาน (*Babylonia areolata*)

(Biodegradation of Tributyltin and The Incidence of Imposex Induced by Tributyltin in *Babylonia areolata*)

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

โดย

นางสุบัณฑิต นิ่มรัตน์[1]
นายวีรพงศ์ วุฒิพันธุ์ชัย[2]
นายวรเทพ มุธุวรรณ[3]
นางสาวเสาวภา สวัสดิ์พีระ[3]

[1]ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา
[2]ภาควิชาวาริชศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา
[3]สถาบันวิทยาศาสตร์ทางทะเล มหาวิทยาลัยบูรพา

29 ธ.ค. 2549 RG 0036332
190654

ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์

มหาวิทยาลัยบูรพา

บทคัดย่อ

การศึกษาในครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการย่อยสลายของสารไตรบิวทิลทิน (TBT), ไดบิวทิลทิน (DBT) และโมโนบิวทิลทิน (MBT) ในน้ำทะเล ตะกอนดินและหอยหวาน รวมทั้งศึกษาชนิดและปริมาณของสารประกอบบิวทิลทินที่น่าจะมีผลทำให้เกิดการ Imposex ในหอยหวาน ผลการทดลองปรากฏว่าเมื่อทำการทดลองใส่สาร TBT, DBT หรือ MBT ที่ความเข้มข้นที่แตกต่างกันคือ 5 หรือ 10 ug/L พบว่า TBT, DBT และ MBT ทั้ง 2 ความเข้มข้นเกิดการย่อยสลายในน้ำทะเลและเกิดผลผลิตโดย TBT จะถูกเปลี่ยนแปลงเป็นสาร DBT และ MBT ตามลำดับ ส่วนสาร DBT จะถูกย่อยสลายให้เป็น MBT ในขณะที่ MBT เกิดการเปลี่ยนแปลงเป็นสารอื่นๆที่ไม่ได้ทำการตรวจวัด และสารผลผลิตเหล่านี้ได้เกิดการย่อยสลายในเวลาต่อมา นอกจากนี้สารพิษตัวตั้งต้นทั้ง 3 ชนิดและสารผลผลิตจากการย่อยสลายได้มีการสะสมในดินตะกอนชั้นบนและชั้นล่างในปริมาณที่ค่อนข้างสูงและค่อยๆ ลดลงตามระยะเวลาการทดลอง สำหรับในหอยหวานพบว่ามีการสะสมสารพิษตั้งต้นและสารผลิตภัณฑ์ในปริมาณน้อยเมื่อเปรียบเทียบกับการสะสมในน้ำทะเลและในดินตะกอนทั้งชั้นบนและชั้นล่าง ในขณะเดียวกันสาร TBT, DBT และ MBT สามารถกระตุ้นทำให้เกิด imposex ในหอยหวานได้แต่มีความแตกต่างกันขึ้นอยู่กับชนิดของสาร โดยพบว่าสาร TBT มีความเป็นพิษที่ทำให้เกิด imposex ได้สูงสุดและรองลงมาคือสาร MBT และ DBT

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

Abstracts

The objective of the present study was to evaluate the biodegradation of tributyltin (TBT), dibutyltin (DBT) and monobutyltin (MBT) in water column, sediments and *Babylonia areolata*, and the possibility of three tested chemicals on the induction of imposex in *B. areolata*. Obtained results showed that all tested chemicals were biodegraded in water column; TBT was transformed into DBT and MBT, respectively, while DBT was converted to MBT. Its metabolites were removed from the water column during the experimental study. At the beginning of the experiment, the amount of parent compounds and their metabolites accumulated in the upper and lower parts of sediments were higher than those observed in the water column. However, both parent compounds and its metabolites in sediments were degraded and decreased during the course of study. On the contrary, there were relatively low levels of parent compounds and its metabolites in *B. areolata*, compared to those in sediments and water column. Finally, all tested butyltin compounds can induce the imposex in *B. areolata* despite different degree of success. Higher incidence of imposex was observed in *B. areolata* treated with TBT than MBT and DBT, respectively.

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยเรื่องการย่อยสลายทางชีวภาพของสารประกอบไตรบิวทิลทิน และความเป็นไปได้ในการทำให้เกิด Imposex ในหอยหวาน (*Babylonia areolata*) (Biodegradation of Tributyltin and The Incidence of Imposex Induced by Tributyltin in *Babylonia areolata*) สำเร็จเรียบร้อยลงได้โดยได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยงบประมาณเพื่อการวิจัยประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2545 สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ข้าพเจ้าและคณะทำงานขอขอบคุณสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติที่ให้ทุนสนับสนุนการวิจัยและขอขอบคุณ คุณมนทกานต์ วิสุทธิแพทย์และคุณเพ็ญนภา ศรีสวัสดิ์ ที่ได้ช่วยในการทดลองในครั้งนี้ รวมทั้งขอขอบคุณภาควิชาจุลชีววิทยา ภาควิชาวาริชศาสตร์ และบัณฑิตวิทยาลัยคณะวิทยาศาสตร์ที่ให้ความอนุเคราะห์และอำนวยความสะดวกในการทดลองและอุปกรณ์ต่างๆ

สุบัณฑิต นิ่มรัตน์และคณะ

กุมภาพันธ์ 2547

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อ....................i
Abstract....................ii
กิตติกรรมประกาศ....................iii
สารบัญ....................iv
สารบัญรูป....................v

บทที่

1 บทนำ.................... 1
2. การทบทวนเอกสารที่เกี่ยวข้อง....................2
3. ทฤษฎีหรือกรอบแนวคิดและการวิจัยที่เกี่ยวข้อง.................... 6
4. วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย.................... 7
5. ระเบียบการวิจัย.................... 7
6. ผลการทดลอง....................11
7. สรุปและอภิปรายผลการทดลอง....................35
8. เอกสารอ้างอิง....................37
9. ภาคผนวก....................41

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

สารบัญรูป

รูปที่ หน้า

รูปที่		หน้า
1	ตู้ทดลอง	8
2	ระบบน้ำที่ใช้ทดลอง	8
3	หอยหวานในตู้ทดลอง	9
4	การสุ่มตัวอย่างมาชั่งน้ำหนักและวัดความยาว	10
5	การเปรียบเทียบปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำในตู้ที่มี TBT, DBT และ MBT จำนวน 5 และ 10 ppb	11
6	การเปรียบเทียบอุณหภูมิในตู้ที่มี TBT, DBT และ MBT จำนวน 5 และ 10 ppb	11
7	การเปรียบเทียบความเป็นกรด-ด่างในตู้ที่มี TBT, DBT และ MBT จำนวน 5 และ 10 ppb	12
8	การเปรียบเทียบปริมาณแอมโมเนียในตู้ที่มี TBT, DBT และ MBT จำนวน 5 และ 10 ppb	12
9	การเปรียบเทียบปริมาณไนไตรต์ในตู้ที่มี TBT, DBT และ MBT จำนวน 5 และ 10 ppb	13
10	การเปรียบเทียบปริมาณไนเตรตในตู้ที่มี TBT, DBT และ MBT จำนวน 5 และ 10 ppb	13
11	การเปรียบเทียบความเค็มในตู้ที่มี TBT, DBT และ MBT จำนวน 5 และ 10 ppb	14
12	ปริมาณของสาร TBT, DBT และ MBT ในตู้ทดลองที่มีการเติม TBT 5 ug/L	15
13	ปริมาณของสาร TBT, DBT และ MBT ในตู้ทดลองที่มีการเติม TBT 10 ug/L	15
14	ปริมาณของสาร TBT, DBT และ MBT ในตู้ทดลองที่มีการเติม DBT 5 ug/L	16
15	ปริมาณของสาร TBT, DBT และ MBT ในตู้ทดลองที่มีการเติม DBT 10 ug/L	16

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

รูปที่		หน้า

16 ปริมาณของสาร TBT, DBT และ MBT ในตู้ทดลองที่มีการเติม MBT 5 ug/L 17

17 ปริมาณของสาร TBT, DBT และ MBT ในตู้ทดลองที่มีการเติม MBT 10 ug/L 17

18 ปริมาณของสาร TBT, DBT และ MBT ในดินตะกอนชั้นบนในตู้ทดลองที่มีการเติม TBT 5 ug/L 18

19 ปริมาณของสาร TBT, DBT และ MBT ในดินตะกอนชั้นบนในตู้ทดลองที่มีการเติม TBT 10 ug/L 19

20 ปริมาณของสาร TBT, DBT และ MBT ในดินตะกอนชั้นบนในตู้ทดลองที่มีการเติม DBT 5 ug/L 20

21 ปริมาณของสาร TBT, DBT และ MBT ในดินตะกอนชั้นบนในตู้ทดลองที่มีการเติม DBT 10 ug/L 20

22 ปริมาณของสาร TBT, DBT และ MBT ในดินตะกอนชั้นบนในตู้ทดลองที่มีการเติม MBT 5 ug/L 21

23 ปริมาณของสาร TBT, DBT และ MBT ในดินตะกอนชั้นบนในตู้ทดลองที่มีการเติม MBT 10 ug/L 21

24 ปริมาณของสาร TBT, DBT และ MBT ในดินตะกอนชั้นล่างในตู้ทดลองที่มีการเติม TBT 5 ug/L 22

25 ปริมาณของสาร TBT, DBT และ MBT ในดินตะกอนชั้นล่างในตู้ทดลองที่มีการเติม TBT 10 ug/L 23

26 ปริมาณของสาร TBT, DBT และ MBT ในดินตะกอนชั้นล่างในตู้ทดลองที่มีการเติม DBT 5 ug/L 24

27 ปริมาณของสาร TBT, DBT และ MBT ในดินตะกอนชั้นล่างในตู้ทดลองที่มีการเติม DBT 10 ug/L 25

28 ปริมาณของสาร MBT ในดินตะกอนชั้นล่างในตู้ทดลองที่มีการเติม MBT 5 ug/L 26

29 ปริมาณของสาร MBT ในดินตะกอนชั้นล่างในตู้ทดลองที่มีการเติม MBT 10 ug/L 26

30 ปริมาณของสาร TBT, DBT และ MBT ในเนื้อเยื่อหอยหวานในตู้ทดลองที่มีการเติม TBT 5 ug/L 27

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

รูปที่ หน้า

31 ปริมาณของสาร TBT, DBT และ MBT ในเนื้อเยื่อหอยหวาน ในตู้ทดลองที่มีการเติม TBT 5 ug/L 27

32 ปริมาณของสาร TBT, DBT และ MBT ในเนื้อเยื่อหอยหวาน ในตู้ทดลองที่มีการเติม DBT 5 ug/L 28

33 ปริมาณของสาร TBT, DBT และ MBT ในเนื้อเยื่อหอยหวาน ในตู้ทดลองที่มีการเติม DBT 10 ug/L 29

34 ปริมาณของสาร TBT, DBT และ MBT ในเนื้อเยื่อหอยหวาน ในตู้ทดลองที่มีการเติม MBT 5 ug/L 29

35 ปริมาณของสาร TBT, DBT และ MBT ในเนื้อเยื่อหอยหวาน ในตู้ทดลองที่มีการเติม MBT 10 ug/L 30

36 การเกิด imposex ในหอยหวาน 30

37 การเปรียบเทียบการเกิด imposex ในตู้ทดลองที่ใส่ TBT, DBT และ MBT ในความเข้มข้น 10 ppb 31

38 การเปรียบเทียบการเกิด imposex ในตู้ทดลองที่ใส่ TBT, DBT และ MBT ในความเข้มข้น 5 และ 10 ppb 31

39 การเปรียบเทียบการเกิด imposex ในตู้ทดลองที่ใส่ TBT, DBT และ MBT ในความเข้มข้น 5 ppb 32

40 การเปรียบเทียบการเกิด imposex ในตู้ทดลองที่ใส่ TBT, DBT และ MBT ในความเข้มข้น 10 ppb 33

41 การเปรียบเทียบการเกิด imposex ในตู้ทดลองที่ใส่ TBT ในความเข้มข้น 5 และ 10 ppb 33

42 การเปรียบเทียบการเกิด imposex ในตู้ทดลองที่ใส่ DBT ในความเข้มข้น 5 และ10 ppb 34

43 การเปรียบเทียบการเกิด imposex ในตู้ทดลองที่ใส่ MBT ในความเข้มข้น 5 และ10 ppb 34

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

บทนำ

ปัจจุบันประเทศไทยมีการใช้สารเคมีมากทั้งในภาคเกษตรกรรมและภาคอุตสาหกรรม เพื่อนำมาพัฒนาผลิตภัณฑ์และผลผลิตต่างๆ โดยมีแนวโน้มว่าจะมีปริมาณการใช้มากขึ้นเรื่อยๆ ทำให้แต่ละปีมีการตกค้างและปลดปล่อยสารต่างๆ ออกสู่สิ่งแวดล้อมในปริมาณมาก ปัญหาด้านสิ่งแวดล้อมจึงตามมาและมีแนวโน้มที่จะเพิ่มความรุนแรงยิ่งขึ้นถ้าหากไม่มีการป้องกันและศึกษาผลกระทบที่จะเกิดขึ้นจากปัญหานั้นๆ อย่างจริงจัง การวัดผลกระทบของสารพิษต่อระบบนิเวศน์แหล่งน้ำจึงมีความสำคัญเป็นอย่างยิ่ง เพราะในแหล่งน้ำเป็นต้นกำเนิดของห่วงโซ่อาหารต่างๆ จำนวนมากและเป็นแหล่งที่อยู่อาศัยของสัตว์น้ำเศรษฐกิจหลายชนิด ในสภาพธรรมชาติการศึกษาหาผลกระทบของสารพิษที่มีอยู่ในแหล่งน้ำธรรมชาติต่อสิ่งมีชีวิตศึกษาได้ยากเนื่องจากมีปัจจัยที่เกี่ยวข้องหลายประการที่ไม่สามารถควบคุมได้ ดังนั้นการศึกษาวิจัยในห้องปฏิบัติการจึงเป็นสิ่งที่น่าในใจ เพราะผู้ทดสอบสามารถควบคุมคุณภาพสิ่งแวดล้อมที่คงที่ได้รวมทั้งควบคุมปริมาณสารที่ทดสอบให้มีความเข้มข้นคงที่ ทำให้ผลการทดสอบที่ได้สามารถนำไปใช้ตามวัตถุประสงค์และเป้าหมายที่กำหนดไว้ได้อย่างถูกต้อง

สารประกอบไตรบิวทิลทิน (TBT) เป็นสารประกอบดีบุกอินทรีย์ที่มีความสำคัญ มีการนำมาใช้ในกิจกรรมต่างๆ มากมายทั้งในด้านเกษตรกรรมและด้านอุตสาหกรรม ทำให้มีการปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อมได้มากโดยเฉพาะในระบบนิเวศน์แหล่งน้ำ โดยที่มีการใช้สารชนิดนี้มากในรูปของสาร TBT ผสมสีที่ใช้ป้องกันสิ่งมีชีวิตประเภทเกาะติดและการนำมาใช้เป็นส่วนประกอบในสีทาเรือซึ่งเป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้สาร TBT ที่ปนเปื้อนและสะสมในสิ่งแวดล้อมเมื่อมีการนำมาใช้มากขึ้น จึงเกิดผลกระทบต่อสิ่งมีชีวิตในน้ำ จากรายงานของ Bech (1999) พบว่าปริมาณสาร TBT ที่ปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อมทางทะเลเพิ่มขึ้นส่งผลกระทบต่อสิ่งมีชีวิตในน้ำหลายชนิดทำให้เกิดความผิดปกติในระยะตัวอ่อนของหอยสองฝา นอกจากนั้นเมื่อมีการปนเปื้อนของ TBT แม้ในปริมาณต่ำๆ ก็สามารถทำให้หอยฝาเดียวเกิดการ Imposex ซึ่งเป็นลักษณะที่ทำให้หอยเพศเมียมีการพัฒนาสร้าง pseudopenisทำให้มีลักษณะคล้ายหอยเพศผู้ ดัง เช่นพบในหอย *Thais bitubercularis* , *Morula musiva* เป็นต้น แต่ในการเกิด Imposexในหอยนั้น ก็ยังไม่ทราบแน่ชัดว่าปริมาณของสาร TBT ควรเป็นเท่าไรที่ก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของ pseudopenis ซึ่งผลกระทบดังกล่าวเป็นเรื่องที่จะต้องศึกษา เพื่อที่จะได้เป็นแนวทางในการป้องกันและอนุรักษ์สิ่งแวดล้อมทางทะเลไว้ให้คงอยู่ต่อไป

ดังนั้นในการศึกษาครั้งนี้จึงมุ่งเน้นศึกษาถึงการเกิดพิษของสารประกอบบิวทิลทินที่ปนเปื้อนสู่แหล่งน้ำธรรมชาติต่อสัตว์น้ำ (หอยหวาน), การย่อยสลายทางชีวภาพของสารประกอบบิวทิลทินในสิ่งแวดล้อมและการเกิด Imposex ในหอยหวาน เนื่องจากหอยหวานเป็นสัตว์เศรษฐกิจที่สำคัญและหอยหวานเป็นหอยฝาเดียวที่ทนทานต่อสภาพแวดล้อมได้สูง การศึกษาทดลองเพาะเลี้ยงหอยหวานในห้องปฏิบัติการจึงเป็นอีกแนวทางในการกำหนดมาตรฐานระดับความเข้มข้น

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ของสารประกอบบิวทิลทินในแหล่งน้ำ การนำสารประกอบบิวทิลทินมาใช้ประโยชน์ และจะเป็นข้อมูลในการศึกษาถึงพิษของสารประกอบบิวทิลทินต่อไปในอนาคต

การทบทวนเอกสารที่เกี่ยวข้อง

การปนเปื้อนของสารประกอบดีบุกอินทรีย์ในสิ่งแวดล้อม

การปนเปื้อนของสารประกอบดีบุกอินทรีย์ในสิ่งแวดล้อมเกิดจากการใช้งานในหลายๆ รูปแบบ เช่น การใช้งานที่ทำให้เกิดการฟุ้งกระจายในบรรยากาศโดยเป็นยาปราบศัตรูพืชหรือยาฆ่าเชื้อราทางเกษตรกรรม การใช้งานในทางอุตสาหกรรมต่างๆ โดยเป็นส่วนผสมลงในสีทาบ้านผสมพลาสติกและพีวีซี เพื่อป้องกันการซีดของสีและไม่เปราะ การใช้งานในน้ำโดยตรงในรูปของสีกันเพรียง การใช้งานในหลายๆ รูปแบบดังที่กล่าวมานี้สามารถปลดปล่อยสารประกอบดีบุกอินทรีย์ออกมาปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อมได้ทั้งสิ้น ไม่ว่าจะเป็นสิ่งแวดล้อมทางดิน น้ำ หรือแม้กระทั่งสิ่งแวดล้อมใต้พื้นท้องทะเล เพราะเมื่อเกิดการสะสมในสิ่งแวดล้อมแล้วสามารถสะสมมาถึงสิ่งมีชีวิตชั้นสูงเช่นมนุษย์ด้วย สารประกอบดีบุกอินทรีย์สามารถแพร่กระจายสู่สิ่งแวดล้อมได้หลายทางด้วยกัน ไม่ว่าจะเป็นการแพร่กระจายทางอากาศ ทางน้ำ และทางดิน

TBT เป็นสารประกอบตัวหนึ่งที่จัดอยู่ในสารประกอบดีบุกอินทรีย์และมีการนำมาใช้ประโยชน์ทั้งในทางอุตสาหกรรมและเกษตรกรรม เช่น ใช้ในการผสมในสีทาเรือเพื่อกันเพรียงมาเกาะ, เป็นสารรักษาเนื้อไม้ (Connell et al., 1999) เป็นสารประกอบในสารฆ่าเชื้อรา แบคทีเรีย ยาฆ่าแมลง (Harino et al., 1998) การใช้ประโยชน์จากสารประกอบไตรบิวทิลทินเริ่มเพิ่มขึ้นในปริมาณมากและก่อให้การปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อมทั้งจากทางอากาศ ดิน และน้ำ การปนเปื้อนอาจจะเริ่มมาจากการนำสารเข้าสู่แหล่งน้ำจืด สะสมในสิ่งมีชีวิตชนิดต่างๆ จนนำมาสะสมในทะเล โดยเฉพาะการใช้งานในน้ำโดยตรงในรูปแบบของสีกันเพรียงจะสามารถทำให้เกิดการปนเปื้อนของสารประกอบไตรบิวทิลทินในปริมาณมาก (Kan-Atireklap et al., 1997)

สารประกอบไตรบิวทิลทินในดินตะกอน

จากคุณสมบัติทางเคมีของสารประกอบไตรบิวทิลทินที่สามารถละลายในไขมันและการที่มีความสามารถในการละลายน้ำได้ต่ำ บอกได้ว่าเมื่อสารประกอบไตรบิวทิลทินลงสู่แหล่งน้ำ จะทำการเกาะกับสารที่เป็นตะกอนในน้ำโดยขึ้นกับสภาพของตะกอนนั้นๆ ประมาณได้ว่า 10-95 % ของสารประกอบไตรบิวทิลทินเมื่อลงสู่แหล่งน้ำแล้วจะเข้าจับกับตะกอนในแหล่งน้ำนั้นๆ และจะอยู่ในสภาพนั้นๆ นานกว่า 10 เดือน โดยไม่หลุดออกมา แต่จะมีการย่อยสลายในตะกอน การศึกษาหาอัตราการเกาะในตะกอนที่ท่าเรือ Pearl มีค่า 0.57 นาโนกรัมไตรบิวทิลทินต่อตารางเซนติเมตรต่อ

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

วัน ไม่มีการหลุดออกของสารประกอบไตรบิวทิลทินจากดินตะกอน แต่จะมีการย่อยสลายเกิดเป็นสารประกอบ ไดบิวทิลทิน ในอัตรา 0.16-0.55 นาโนกรัมไดบิวทิลทินต่อตารางเซนติเมตรต่อวัน (Dobson, 1990)

Dobbson (1990) ได้อธิบายการเข้ายึดเกาะของสารประกอบไตรบิวทิลทินในตะกอนมีปัจจัยสำคัญคือ ความเค็ม, ขนาดของดินตะกอน, ปริมาณของดินตะกอน, อุณหภูมิ และปริมาณของสารอินทรีย์ที่อยู่ในดินตะกอนนั้น

สารประกอบไตรบิวทิลทิน สามารถยึดเกาะติดกับดินตะกอนและสารแขวนลอยได้ ค่าครึ่งชีวิตสำหรับการหลุดออกจากดินตะกอนและสารแขวนลอยมีค่ามากกว่า 10 เดือน ค่าครึ่งชีวิตของสารประกอบไตรบิวทิลทินในดินตะกอนในน้ำจืดมีค่าประมาณ 16 สัปดาห์ และ 23 สัปดาห์สำหรับในน้ำเค็ม (Emund, 1988)

การเกาะตัวของสารประกอบไตรบิวทิลทินบนสารแขวนลอยต่างๆ ทำให้เกิดการตกลงสู่ดินตะกอน ตัวอย่างเช่น ท่าเรือ Poole ในสหราชอาณาจักร ความเข้มข้นของสารประกอบไตรบิวทิลทินมีค่าจาก 49 นาโนกรัมต่อลิตร ถึง 1,270 นาโนกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้งและความเข้มข้นของสารประกอบไดบิวทิลทินมีค่าใกล้เคียงกัน อัตราส่วนความเข้มข้นของสารประกอบไตรบิวทิลทินระหว่างดินตะกอนและน้ำมีค่า 2,400 ต่อ 15,000 เท่า ในที่ๆ มีการปนเปื้อนมาก ในแม่น้ำ Severn และบริเวณ Black creek ในอ่าว Chesapeake มีปริมาณในดินตะกอนในช่วงที่น้อยกว่า 50 นาโนกรัมต่อกรัม อัตราส่วนระหว่างตะกอนต่อน้ำ มีค่า 860 ต่อ 3,800 เท่า ความเข้มข้นของสารประกอบไดบิวทิลทินมีค่าใกล้เคียงกับสารประกอบไตรบิวทิลทิน การกระจายของสารประกอบไตรบิวทิลทินในดินตะกอนและในน้ำ มีอัตราส่วนแตกต่างกันเนื่องจากน้ำถูกควบคุมโดยปัจจัยต่างๆ เช่น ปริมาณของสาร ขนาดอนุภาคของดินตะกอน ชนิดดินตะกอนและความเค็ม (Bryan และ Gibbs, 1991)

Kan-Atireklap et al. (1997) ได้รายงานว่าพบการปนเปื้อนของสารประกอบไตรบิวทิล ทิน ไดบิวทิลทินและโมโนบิวทิลทินในดินตะกอนบริเวณชายฝั่งทะเลของประเทศไทยในปริมาณ 7-410, 2-1,900 และ 4-4,500 ng g^{-1} (น้ำหนักแห้ง) ตามลำดับ ซึ่งพบสารประกอบไตรบิวทิลทินในปริมาณสูง การปนเปื้อนของสารดังกล่าวเกิดเนื่องจากบริเวณชายฝั่งมีการคมนาคมขนส่งสินค้าและเป็นท่าเรือที่มีเรือประมงจำนวนมาก สารประกอบบิวทิลทินที่พบน่าจะมาจากการใช้เครื่องมืออุปกรณ์ เรือ ที่สารประกอบบิวทิลทินเป็นองค์ประกอบ

การย่อยสลายสารประกอบไตรบิวทิลทินในน้ำทะเล

ขั้นตอนหนึ่งที่จะช่วยลดการเกิดพิษของสารประกอบไตรบิวทิลทิน คือ ความสามารถในการย่อยสลายได้โดยสิ่งมีชีวิตซึ่งอาศัยขั้นตอนของการ Debutyllation เกิดสารประกอบไดบิวทิลทิน (DBT) และสารประกอบโมโนบิวทิลทิน (MBT) ในภาคสนามนั้นความเข้มข้นของสารประกอบได

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

บิวทิลทินในแหล่งน้ำใดก็ตามจะต่ำกว่าสารประกอบไตรบิวทิลทินและความเข้มข้นของสารประกอบโมโนบิวทิลทินจะมีค่าต่ำสุด และในขณะนั้นความเข้มข้นของสารประกอบเตทตร้าบิวทิลทินจะสามารถถูกย่อยสลายโดยแบคทีเรียและแพลงตอนพืช (Phytoplankton) การย่อยสลายของสารประกอบไตรบิวทิลทินในน้ำทะเลนั้นจะถูกสลายโดยแสงร่วมกับสารประกอบไนเตรต ค่าครึ่งชีวิตของสารประกอบไตรบิวทิลทินจะมีค่า 3-8 วัน ในที่มีแสง และ 7-13 วันในที่มืด ค่าครึ่งชีวิตมีแนวโน้มที่ยาวนานขึ้นเมื่ออุณหภูมิต่ำลงคือมีค่า 60 วันที่ 5 องศาเซลเซียส (Bryan และ Gibbs, 1991)

การเกิดพิษของสารประกอบไตรบิวทิลทินต่อสิ่งมีชีวิตในทะเล

ความสามารถในการทนต่อการเกิดพิษของสารประกอบไตรบิวทิลทินของสาหร่ายในแต่ละชนิดไม่เท่ากัน สาหร่ายขนาดใหญ่ๆ บางชนิด เช่น *Enteromorpha* sp. และ *Ecotocarpus* sp. สามารถเจริญได้เล็กน้อยที่ผิวใต้ท้องเรือที่มีการทาสีกันเพรียง และ *Fucus* sp. สามารถเจริญเติบโตได้ในบริเวณปากแม่น้ำที่มีการปนเปื้อนของสารประกอบไตรบิวทิลทินในปริมาณสูง สาหร่ายบางชนิดก็มีความไวต่อการเพิ่มมากขึ้นของสารประกอบไตรบิวทิลทินโดยสารประกอบไตรบิวทิลทินสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของไดอะตอม *Skeletonema costatum* และ *Thalassira pseudonana* ค่า EC_{50} ที่ทำให้ปริมาณการเจริญเติบโตของเซลล์ลดลงคือ ช่วง 350-1,150 นาโนกรัมต่อลิตร จากการเปรียบเทียบค่า EC_{50} ของ สเตนัสคลอไรด์ ไดบิวทิลทินไดคลอไรด์ และ เททระบิวทิลทิน ใน *S. costatum* มีค่า 325, 40 และ 170 ไมโครกรัมต่อลิตรตามลำดับ *S. costatum* สามารถย่อยสลายสารประกอบไตรบิวทิลทินไปเป็นสารประกอบไดบิวทิลทินและสารอนุพันธ์อื่นๆ ได้ บางการทดลองสามารถชี้ให้เห็นว่า *S. costatum* ไม่สามารถเจริญได้ในที่ที่มีความเข้มข้นของสารประกอบไตรบิวทิลทินเกิน 100 นาโนกรัมต่อลิตร เมื่อเปรียบเทียบกับการเจริญของ *Dunaliella tertiolecta* และ *Pavlova lutheri* ปรากฏว่าความเข้มข้น 100 นาโนกรัมต่อลิตรจะมีผลต่อการเจริญเล็กน้อยและสามารถเจริญได้ที่ความเข้มข้น 1,000 นาโนกรัมต่อลิตรโดยมีความสามารถในการย่อยสลายสารประกอบไตรบิวทิลทินได้ต่ำ จากการเปรียบเทียบนี้บอกได้ว่าการที่สาหร่ายสามารถเจริญเติบโตได้ในที่ที่มีความเข้มข้นของสารประกอบไตรบิวทิลทินสูงไม่จำเป็นต้องมีความสามารถในการย่อยสลายสารประกอบไตรบิวทิลทินได้ดี (Bryan และ Gibbs, 1991)

การปนเปื้อนของสารประกอบไตรบิวทิลทินในหอยทะเล

Alzieu et al. (1989) ได้ทำการติดตามเฝ้าระวังและประเมินผลของปริมาณบิวทิลทินบริเวณชายฝั่งแอตแลนติกของประเทศฝรั่งเศส ในปี ค.ศ. 1986-1987 พบว่าปริมาณ TBT ในบริเวณท่าเรือในหอยนางรมและบริเวณพื้นที่ที่ทำการเพาะเลี้ยง ตั้งแต่น้อยกว่า 2-1,500 ng l^{-1} ส่วนปริมาณ

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

DBT พบได้ตั้งแต่น้อยกว่า 1-194 ng l^{-1} และปริมาณ MBT ตั้งแต่น้อยกว่า 1-200 ng l^{-1} และในบริเวณอ่าว Arcachon ก็พบปริมาณ TBT ทั้งในน้ำทะเลและในหอยนางรมเช่นเดียวกัน

Kan-atireklap et al. (1997) ได้ทำการศึกษาตั้งแต่ปี ค.ศ. 1994-1995 พบว่ามีการปนเปื้อนของสารประกอบบิวทิลทินและออกาโนคลอรีนในหอยแมลงภู่ (*Perna viridis*) จากบริเวณชายฝั่งทะเลประเทศไทย พบสารประกอบ TBT, DBT ,MBT ในหอย 2 ฝา ปริมาณ 4-800 ng g^{-1}(wet weight) ซึ่งมีปริมาณ TBT > DBT > MBT และพบสารประกอบออกาโนคลอรีนในหอยแมลงภู่ แต่มีปริมาณน้อยกว่าสารประกอบบิวทิลทิน คือพบ DDTs มากที่สุด รองลงมาคือ PCBs > CHLs > HCHs > HCB

ผลของสารประกอบไตรบิวทิลทินต่อหอยทะเล

มีรายงานการศึกษาหลายฉบับได้กล่าวถึงผลของไตรบิวทิลทินว่า สารประกอบไตรบิวทิลทินมีผลทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางสรีระของหอยเพศเมียคือ มี pseudo penis ในหอยเพศเมียหรือที่เรียกกันว่า Imposex ซึ่งจากการรายงานของ Bryan et al. (1986) พบการ Imposex ในหอยทาก (*Nucella lapillus*) บริเวณพื้นที่ที่อยู่ใกล้ท่าเรือหรือบริเวณที่มีกิจกรรมทางเรือ (Cockerham และ Shane, 1994) ซึ่งจากรายงานนี้เป็นที่สนใจของนักวิทยาศาสตร์และนักสิ่งแวดล้อม ในการศึกษาผลกระทบของสารประกอบบิวทิลทินและพิษของสารต่อหอยทะเลและสัตว์น้ำอื่นๆกันมากขึ้น

Tan (1997) ได้รายงานว่าพบการ Imposex ในหอยถึง 3 species ในสิงคโปร์ คือ *Thais bituberculari*, *T. clavigera* และ *T. jubilaea* สาเหตุของการ Imposex เกิดจากการได้รับสารประกอบบิวทิลทินเข้าไปในจำนวนหนึ่งเป็นเวลานาน ทำให้เกิดความผิดปกติเกิดมี Pseudo penis ในหอยเพศเมีย

หอยหวาน

หอยหวานหรือหอยตุ๊กแกเป็นชื่อเรียกตามภาษาท้องถิ่นตะวันออก อาศัยอยู่บริเวณชายฝั่งทะเลที่มีพื้นเป็นทรายหรือทราบปนโคลน ระดับความลึก 5-20 เมตร เป็นหอยฝาเดียว เปลือกค่อนข้างหนา เปลือกหอยเป็นรูปไข่ ผิวเรียบ บนลำตัว มี body whorl พองกลม ที่ผิวมีแถบสีน้ำตาลเข้มเป็นระยะๆ แหล่งที่พบมีการแพร่กระจายอยู่ทั่วบริเวณอ่าวไทย และฝั่งทะเลอันดามัน โดยเฉพาะจังหวัดเพชรบุรี ประจวบคีรีขันธ์ ระยอง จันทบุรี สุราษฎร์ธานี นครศรีธรรมราช กระบี่ และสตูล ปกติหอยหวานจะฝังตัวอยู่ใต้พื้นทราย และออกหากินในเวลากลางคืน โดยจะมีอุปนิสัยคือ เป็นสัตว์กินเนื้อที่มีต่อมน้ำลายสำหรับสร้างน้ำย่อยและส่งออกมาทางงวงยาวที่เรียกว่า Proboscis เพื่อย่อยอาหารภายนอกร่างกายแล้วจึงดูดกินลูกหอยหวานในระยะวัยอ่อน (veliger larvae) จะดำรงชีพแบบแพลงก์ตอนล่องลอยอยู่ในมวลน้ำและกรองกินอาหารจำพวกสาหร่ายเซลล์เดียว เช่น คีโตเซอรอส สเกลลีโตนีมา และไดอะตอมชนิดต่างๆ ฯลฯ เมื่อพัฒนาเข้าสู่ตัวเต็มวัยจะ

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ดำรงชีพอยู่กับพื้นทะเล และเคลื่อนที่ด้วยการคืบคลานด้วยการใช้เท้า ซึ่งจะชอบกินเนื้อปลา และเนื้อสัตว์อื่นๆ เป็นอาหาร

การผสมพันธุ์เป็นแบบภายในร่างกายโดยหอยหวานเพศผู้จะสอดอวัยวะเพศ (penis) เข้าไปในตัวเมียแล้วปล่อยน้ำเชื้อผสมกับไข่ เมื่อตัวเมียจะปล่อยไข่ ไข่จะถูกหุ้มด้วยปลอกก่อนถูกปล่อยสู่ภายนอกซึ่งหอยเพศเมียจะมีต่อม (pedal gland) ที่บริเวณเท้าทำหน้าที่ผลิตเมือกสำหรับยึดติดกับวัสดุ ฝักไข่จะมีความยาวเฉลี่ย 29.31 mm ความกว้างเฉลี่ย 10.32 mm แม่หอย 1 ตัวจะออกไข่ครั้งละ 20-70 ฝัก หอยหวานวางไข่ตลอดทั้งปี (นิพนธ์ ศิริพันธ์ และจรัญ วงษ์วิวัฒนาวุฒิ, 2543)

ทฤษฎีหรือกรอบแนวความคิดและการวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Thain et al. (1987) ศึกษาการย่อยสลายของสารประกอบบีส-ไตรบิวทิลทินออกไซด์และสารประกอบไดบิวทิลทิน พบค่าครึ่งชีวิต 6 วันสำหรับสารประกอบไตรบิวทิลทินในน้ำจืดที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส 60 วัน สำหรับสารประกอบบีส- ไตรบิวทิลทินออกไซด์ในน้ำทะเลที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียสและ 90 วัน สำหรับสารประกอบไดบิวทิลทินในน้ำทะเลที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส อัตราการย่อยสลายและการปรากฏของสารประกอบบีส-ไตรบิวทิลทินออกไซด์และสารประกอบไดบิวทิลทิน มีลักษณะที่คล้ายกัน ทำให้การวัดสารประกอบทั้ง 2 ชนิดในสหราชอาณาจักร มีอัตราส่วนใกล้เคียงกันในสถานที่เดียวกัน แต่อย่างไรก็ตามปรากฏสาหร่ายและแบคทีเรียที่ทนต่อสารประกอบบีส-ไตรบิวทิลทินออกไซด์ได้ในอุณหภูมิที่ต่างกันทำให้มีความแตกต่างกันของสารประกอบบีส-ไตรบิวทิลทินออกไซด์ในบริเวณเดียวกันในแต่ละฤดู

Lee et al. (1987) ศึกษาอัตราการย่อยสลายของสารประกอบบีส – ไตรบิวทิลทินออกไซด์ ในน้ำกร่อยที่มีค่าความเค็ม 22 ส่วนในพันส่วน อุณหภูมิ 29 องศาเซลเซียส จากแม่น้ำ Skidaway ในรัฐจอร์เจีย ประเทศสหรัฐอเมริกาพบว่าในที่ที่มีแสงจะมีอัตราการย่อยสลายมากกว่าในที่มืดและในน้ำที่มีความเข้มข้นของ Chlorophyll 3และ 12 ไมโครกรัมต่อลิตร มีค่า 9 วันและ 4 วัน ตามลำดับ จากการทดลองนี้ยืนยันได้ว่าการย่อยสลายของสารประกอบบีส- ไตรบิวทิลทินออกไซด์ในน้ำ ขึ้นอยู่กับปริมาณของสาหร่ายชนิดต่างๆ ที่ปรากฏอยู่ในแหล่งน้ำนั้น

การถูกย่อยสลายของสารประกอบไตรบิวทิลทิน ไปเป็นสารประกอบไดบิวทิลทินและโมโนบิวทิลทินในดินตะกอนจะช้ากว่าการสลายตัวในน้ำ และมีค่าครึ่งชีวิตเป็น 162 วัน Waldock et al. (1990) ได้รายงานไว้ว่าค่าครึ่งชีวิตในดินตะกอนที่มีออกซิเจนจะมีค่าน้อยกว่า 1 ปี และในดินตะกอนที่ไม่มีออกซิเจนจะนานประมาณ 2 ปี (Bryan และ Gibbs, 1991)

Bech (1999) ได้รายงานว่าการเพิ่มขึ้นของปริมาณสารประกอบไตรบิวทิลทินทำให้เกิดการ Imposex ในหอยฝาเดียว ที่เกาะภูเก็ต ประเทศไทย บริเวณที่ทำการติดตามผลคือบริเวณท่าเรือ ซึ่งจากการติดตามเฝ้าระวังตั้งแต่ปี ค.ศ. 1996 ถึง 1998 ได้ทำการเก็บตัวอย่างหอยมาศึกษาทั้งหมด 21 สถานี พบการ Imposex 10 สถานีที่เก็บตัวอย่าง ซึ่งเป็นบริเวณที่ห่างจากท่าเรือ 3.5 km แต่ในปี ค.ศ.

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

1998 พบการ Imposex เพิ่มขึ้นเป็น 18 สถานี ซึ่งเป็นบริเวณที่ห่างจากท่าเรือ 7.5 km หอยที่ใช้เป็น indicator คือ หอย *Thais bituberculatis* และ *Morula musiva*

วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

1. เพื่อศึกษาการย่อยสลายของสารไตรบิวทิลทิน,ไดบิวทิลทินและโมโนบิวทิลทิน ในน้ำทะเล ตะกอนดินและหอยหวาน

2. เพื่อหาชนิดและปริมาณของสารประกอบบิวทิลทินที่น่าจะมีผลทำให้เกิดการ Imposex ใน หอยหวาน

ระเบียบวิธีวิจัย

1. การเก็บตัวอย่างดินตะกอนและน้ำทะเล

เก็บตัวอย่างดินตะกอนและน้ำทะเลจากชายหาด อ. สัตหีบ จังหวัดชลบุรี โดยวิธี grab sampler แล้วนำมาใส่ในภาชนะที่มีฝาปิดและมีอากาศเหลืออยู่ที่ว่างด้านบน จากนั้นจึงเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องจนกระทั่งนำไปใช้

2. การทดสอบการย่อยสลายสาร TBT, DBT และ MBT ในน้ำทะเล ดินตะกอนและในหอยหวาน

ในการทดสอบความสามารถในการย่อยสลายสาร TBT, DBT และ MBT ในน้ำทะเล ดินตะกอนและในหอยหวาน โดยนำดินตะกอนและน้ำทะเลมาจากชายหาดบริเวณท่าเทียบเรือมาใส่ในตู้กระจกขนาด 40 x 21 x 25 ซม. จำนวน 30 ตู้และมีการให้อากาศตลอดเวลา (รูปที่ 1 และ 2) หลังจากนั้นใส่หอยหวานที่ได้จากโรงเพาะฟัก ขนาดประมาณ 0.5-1 ซม. (รูปที่ 3) ลงไปในแต่ละตู้ ตู้ละ 30 ตัวแล้วเติมสาร TBT, DBT และ MBT ในแต่ละความเข้มข้นโดยแบ่งการทดลองออกเป็น 10 ชุด ชุดละ 3 ซ้ำได้แก่

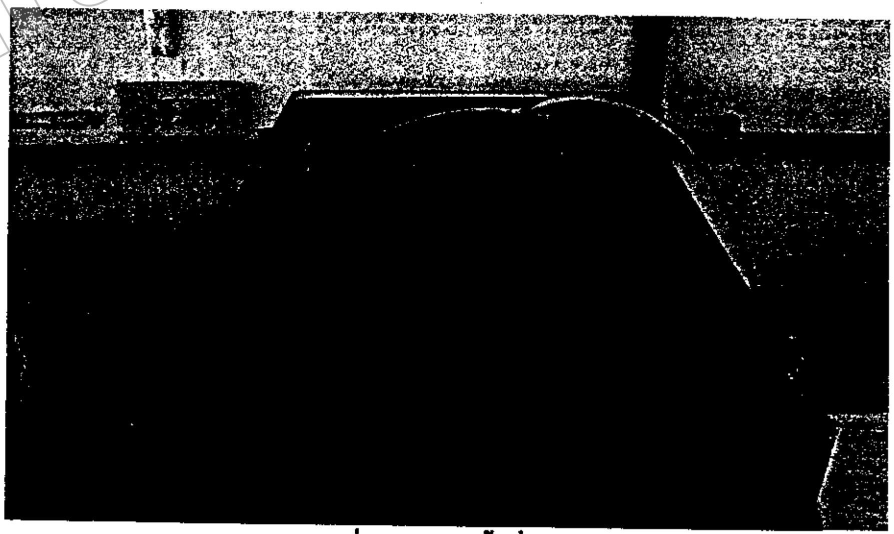
ชุดที่ 1 เติม TBT ให้มีความเข้มข้น 5 ppb
ชุดที่ 2 เติม TBT ให้มีความเข้มข้น 10 ppb
ชุดที่ 3 เติม TBT ให้มีความเข้มข้น 15 ppb
ชุดที่ 4 เติม DBT ให้มีความเข้มข้น 5 ppb
ชุดที่ 5 เติม DBT ให้มีความเข้มข้น 10 ppb
ชุดที่ 6 เติม DBT ให้มีความเข้มข้น 15 ppb
ชุดที่ 7 เติม MBT ให้มีความเข้มข้น 5 ppb
ชุดที่ 8 เติม MBT ให้มีความเข้มข้น 10 ppb
ชุดที่ 9 เติม MBT ให้มีความเข้มข้น 15 ppb

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ชุดที่ 10 เป็นตู้ควบคุม

ทำการเก็บตัวอย่างน้ำทะเล ดินตะกอนและ หอยหวานในวันแรกหลังจากที่เติมสารต่างๆ ลงไป หลังจากนั้นจะมีการเก็บตัวอย่างน้ำทะเล ดินตะกอนและหอยหวานดังกล่าวอีกในระยะเวลาต่างๆ กันเพื่อศึกษาการย่อยสลายของสารประกอบบิวทิลทินและสาร metabolites ตามระยะเวลาที่เหมาะสม สารตัวอย่างเหล่านี้จะนำมาทำการวิเคราะห์สารประกอบบิวทิลทินและสาร metabolites นอกจากนั้นตัวอย่างหอยหวานจะถูกนำมาตรวจดูการเปลี่ยนแปลงของ testis ทั้งลักษณะภายนอกและเนื้อเยื่อต่อไป

รูปที่ 1 ตู้ทดลอง



รูปที่ 2 ระบบน้ำที่ใช้ทดลอง

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

รูปที่ 3 หอยหวานในตู้ทดลอง

3. วิธีวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบ TBT, DBT และ MBT ตามวิธีของ Iwata et al. (1994)

การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบ TBT, DBT และ MBT ในน้ำทะเล, ตะกอนดิน และเนื้อเยื่อหอยจะใช้วิธีวิเคราะห์ที่เหมือนกันแต่ต่างกันที่ ตัวอย่างจากตะกอนดินและเนื้อเยื่อหอยจะต้องทำการย่อยก่อน ซึ่งมีวิธีดังนี้

การเตรียมตัวอย่าง

นำตัวอย่างตะกอนดินหรือเนื้อเยื่อหอยมาประมาณ 1-2 กรัม เติมสารละลายกรดไฮโดรคลอริก 1 N ปริมาณ 10 มล. และเติมสารละลาย 0.1 % ของโทรโพโลนในอะซิโตน 40 มล. เขย่าให้เข้ากันและแยกเอาส่วนสารละลาย 0.1 % ของโทรโพโลนในอะซิโตน ซึ่งมีสารประกอบบิวทิลทินอยู่ออกมา เติมโซเดียมซัลเฟตแอนไฮดรัส 35 กรัม เพื่อกำจัดน้ำออกจากสารละลาย ตั้งทิ้งไว้ และแยกชั้นของสารละลายออกมาลดปริมาตรด้วยโรตารีอีวาโพเรเตอร์ ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ให้เหลือประมาณ 7 มล. ย้ายสารละลายใส่ในหลอดที่มีฝาปิดขนาด 100 มล. เติมสารละลายโพรพิลแมกนีเซียมโบรไมด์ 5มล. เขย่าหลอดในเครื่องอังไอน้ำที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที ทิ้งให้เย็นแล้วหยุดปฏิกิริยาด้วยการเติมสารละลายกรดซัลฟูริก 1 N 20 มล. แยกชั้นสารละลายที่มีสารประกอบบิวทิลทินออกใส่ในขวดรูปชมพู่ ที่มี 10 % เบนซินในเฮกเซน 10 มล. และน้ำกลั่นที่ล้างด้วยเมทานอล 50 มล. เขย่าให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้และแยกชั้นของ 10 % เบนซินในเฮกเซนไปลดปริมาตรให้เหลือ 5 มล. นำสารละลายที่ได้ไป clean up ด้วยฟลอริซิลโดยการแพ็คคอลัมน์ นำสารละลายที่สะอาดแล้วไปลดปริมาตรให้เหลือประมาณ 5 มล.

สำหรับตัวอย่างน้ำทะเลไม่ต้องผ่านขั้นตอนการย่อยด้วยกรดไฮโดรคลอริก

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

การวิเคราะห์

☐ นำตัวอย่างที่สกัดได้ไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC-FPD โดยการเปรียบเทียบเวลาที่พีค (peak) ของสารตัวอย่างถูกชะออกจากคอลัมน์กับเวลาที่พีคของสารมาตรฐานถูกชะออกจากคอลัมน์ซึ่งทราบแล้วว่าแต่ละพีคเป็นสารมาตรฐานชนิด ถ้าพีคของสารตัวอย่างใช้เวลาในการชะออกจากคอลัมน์ตรงกับพีคของสารมาตรฐานชนิดใด แสดงว่าเป็นสารชนิดเดียวกัน

4. การสังเกตการเจริญเติบโตและการเปลี่ยนแปลงทางสรีระของหอยหวาน

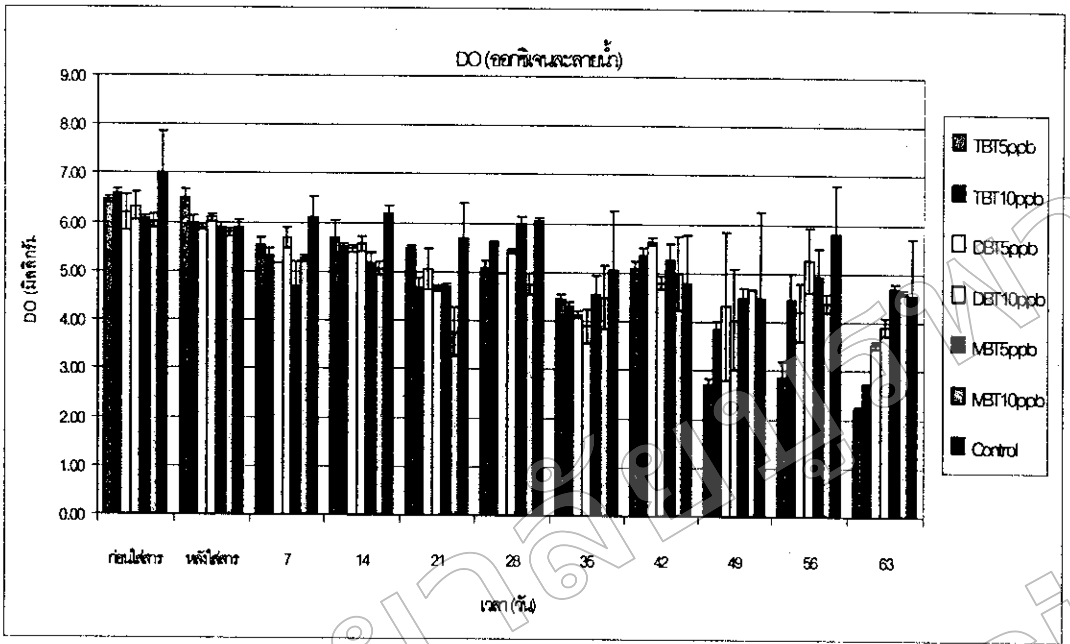
นำตัวอย่างหอยหวานที่เก็บตามระยะเวลาที่เหมาะสมมาสังเกตการเปลี่ยนแปลงของหอยหวานโดยการใช้ callipers วัดความยาวของเปลือกหอยหวานตั้งแต่ยอดเปลือกหอย (apex) จนถึงร่องท่อน้ำ (siphonal canal) และสังเกตการเปลี่ยนแปลงทางสรีระของหอยโดยนำเนื้อเยื่อหอยมาส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์ ว่าหอยเพศเมียตัวใดมี pseudo penis แสดงว่าหอยตัวนั้นเกิด Imposex

รูปที่ 4 การสุ่มตัวอย่างมาชั่งน้ำหนักและวัดความยาว

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

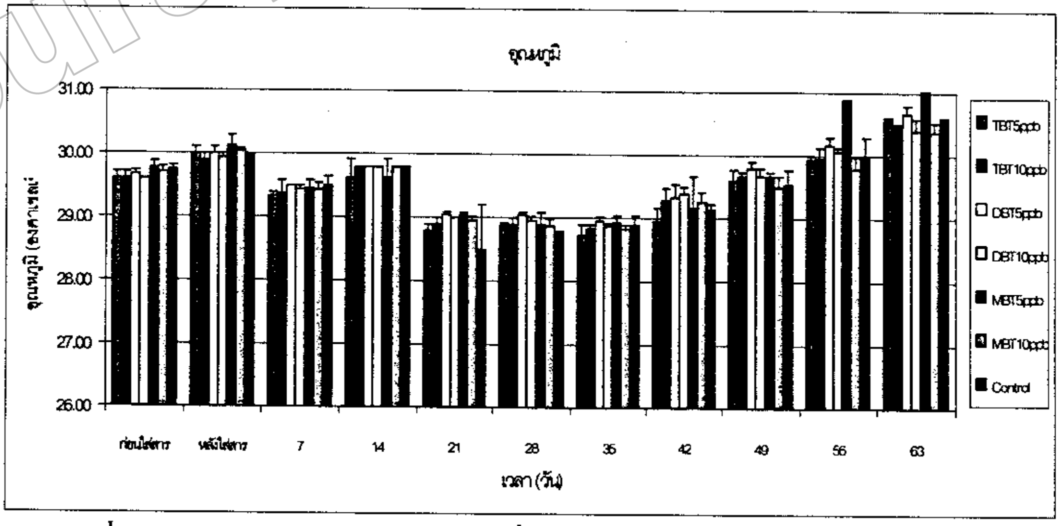
ผลการทดลอง

1. คุณภาพน้ำ



รูปที่ 5 การเปรียบเทียบปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำในตู้ที่มี TBT, DBT และ MBT จำนวน 5 และ 10 ppb

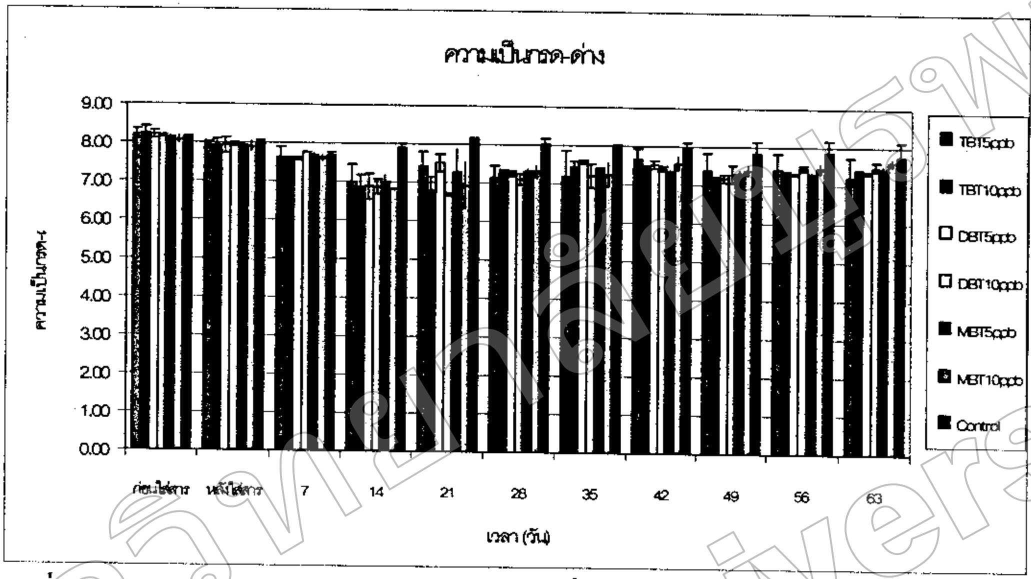
จากผลการทดลองในตู้ทดลองที่มีปริมาณสาร TBT, DBT และ MBT จำนวน 5 และ 10 ppb ปนเปื้อนอยู่นั้นจะมีปริมาณของก๊าซออกซิเจนที่ละลายอยู่ในน้ำลดลงตามระยะเวลาที่ทำการศึกษา โดยที่ตู้ที่มีการปนเปื้อนด้วยสาร TBT นั้นจะมีปริมาณการลดลงของก๊าซออกซิเจนที่ละลายอยู่ในน้ำมากกว่าตู้อื่นๆ และรองลงมาคือตู้ที่มีสาร DBT ส่วนตู้ที่มี MBT และตู้ควบคุมนั้นไม่ค่อยลดลงมากนักเมื่อเปรียบเทียบกับตู้อื่นๆ



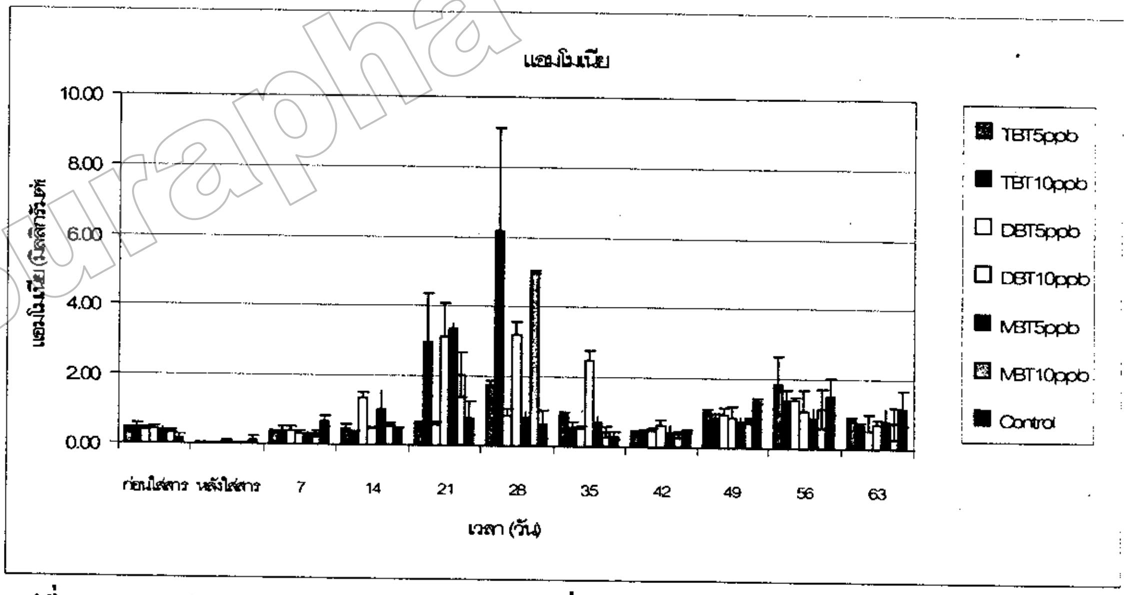
รูปที่ 6 การเปรียบเทียบอุณหภูมิในตู้ที่มี TBT, DBT และ MBT จำนวน 5 และ 10 ppb

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ส่วนอุณหภูมิและความเป็นกรด-ด่างในตู้ทั้งหมดมีการเปลี่ยนแปลงที่เหมือนกันโดยที่มีการเปลี่ยนแปลงจากอุณหภูมิจากอุณหภูมิประมาณ 29-30.5 °C (รูปที่ 6) ซึ่งอาจจะเกิดจากการเปลี่ยนแปลงตามอุณหภูมิของบรรยากาศในห้องทดลองและมีการเปลี่ยนแปลงอยู่ในระหว่างพีเอช คือ 7-8 (รูปที่ 7)



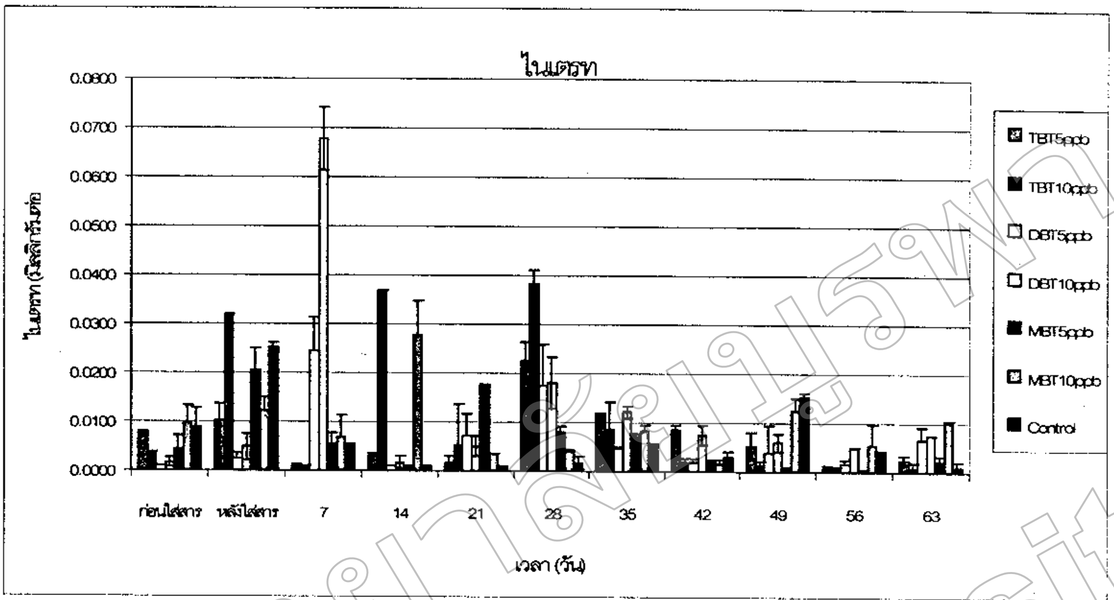
รูปที่ 7 การเปรียบเทียบความเป็นกรด-ด่างในตู้ที่มี TBT, DBT และ MBT จำนวน 5 และ 10 ppb



รูปที่ 8 การเปรียบเทียบปริมาณแอมโมเนียในตู้ที่มี TBT, DBT และ MBT จำนวน 5 และ 10 ppb

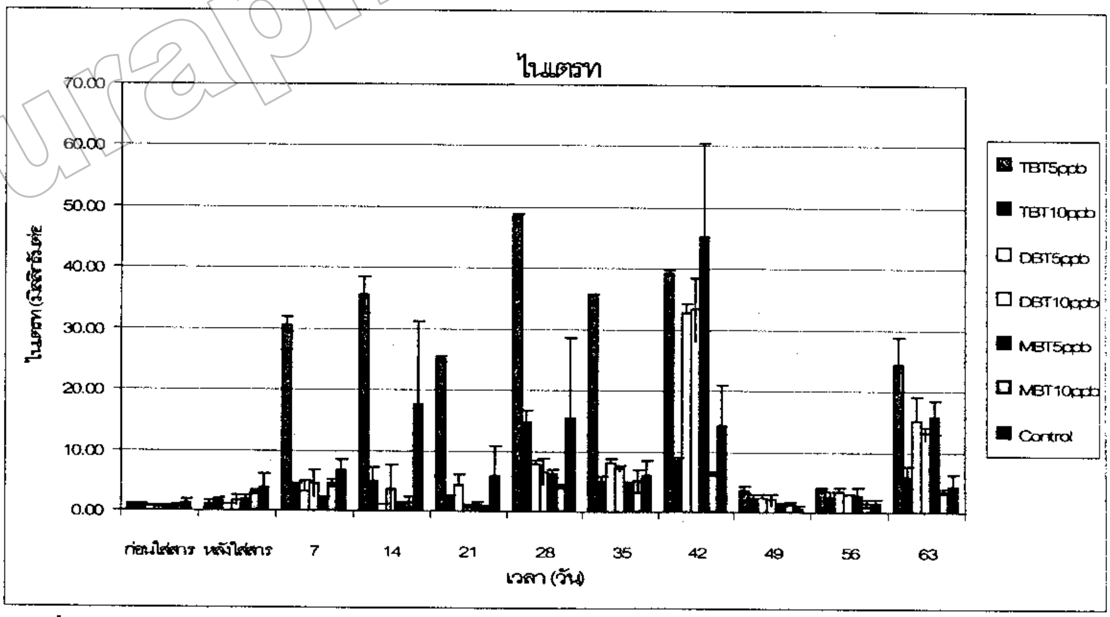
มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

จากตู้ควบคุมนั้นมีการเปลี่ยนแปลงปริมาณของแอมโมเนียเล็กน้อยเมื่อเปรียบเทียบกับตู้ที่มีการปนเปื้อนด้วย TBT, DBT และ MBT ที่มีการเปลี่ยนแปลงมากช่วงวันที่ 21 ถึงวันที่ 28



รูปที่ 9 **การเปรียบเทียบปริมาณของไนไตรต์ในตู้ที่มี TBT, DBT และ MBT จำนวน 5 และ 10 ppb**

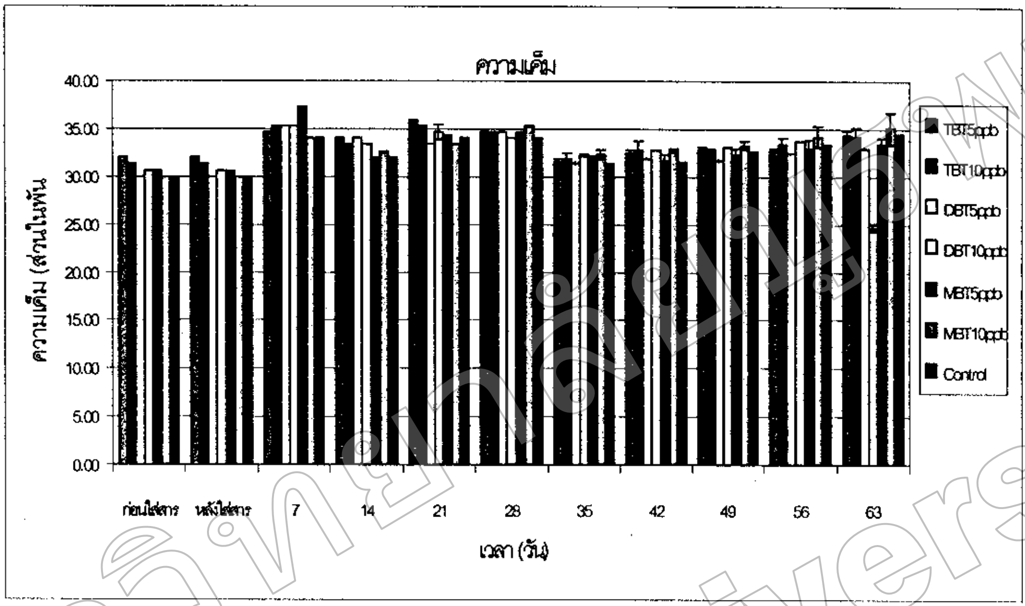
การเปลี่ยนแปลงปริมาณของไนไตรต์ในตู้ทดลองทุกตู้รวมทั้งตู้ควบคุมมีการเปลี่ยนแปลงตามระยะเวลาในการทดลองโดยมีค่าสูงสุดไม่เกิน 0.08 มิลลิกรัมต่อลิตร (รูปที่ 9)



รูปที่ 10 **การเปรียบเทียบปริมาณไนเตรตในตู้ที่มี TBT, DBT และ MBT จำนวน 5 และ 10 ppb**

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

การเปลี่ยนแปลงปริมาณของไนเตรตในตู้ทดลองทุกตู้รวมทั้งตู้ควบคุมมีการเปลี่ยนแปลงตามระยะเวลาในการทดลอง โดยตู้ที่มีการปนเปื้อนด้วยสาร TBT มีการเปลี่ยนแปลงมากที่สุดดังแสดงในรูปที่ 10 และวันที่ 42 มีการเปลี่ยนแปลงในตู้ทดลองมากที่สุด

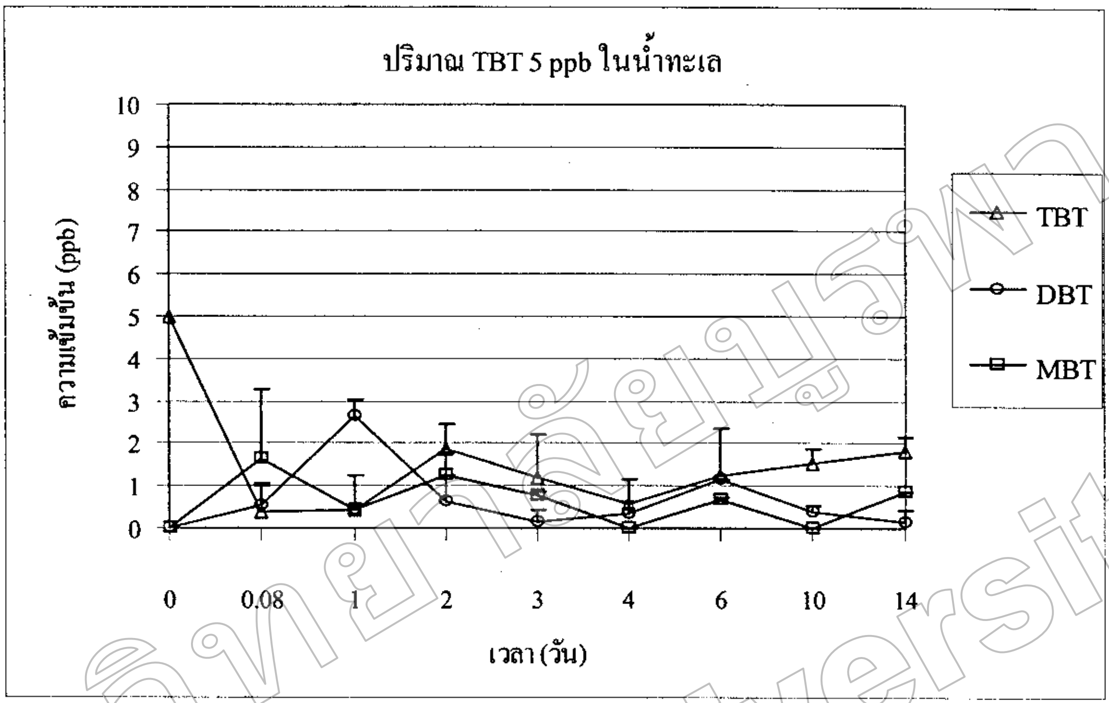


รูปที่ 11 การเปรียบเทียบความเค็มในตู้ที่มี TBT, DBT และ MBT จำนวน 5 และ 10 ppb

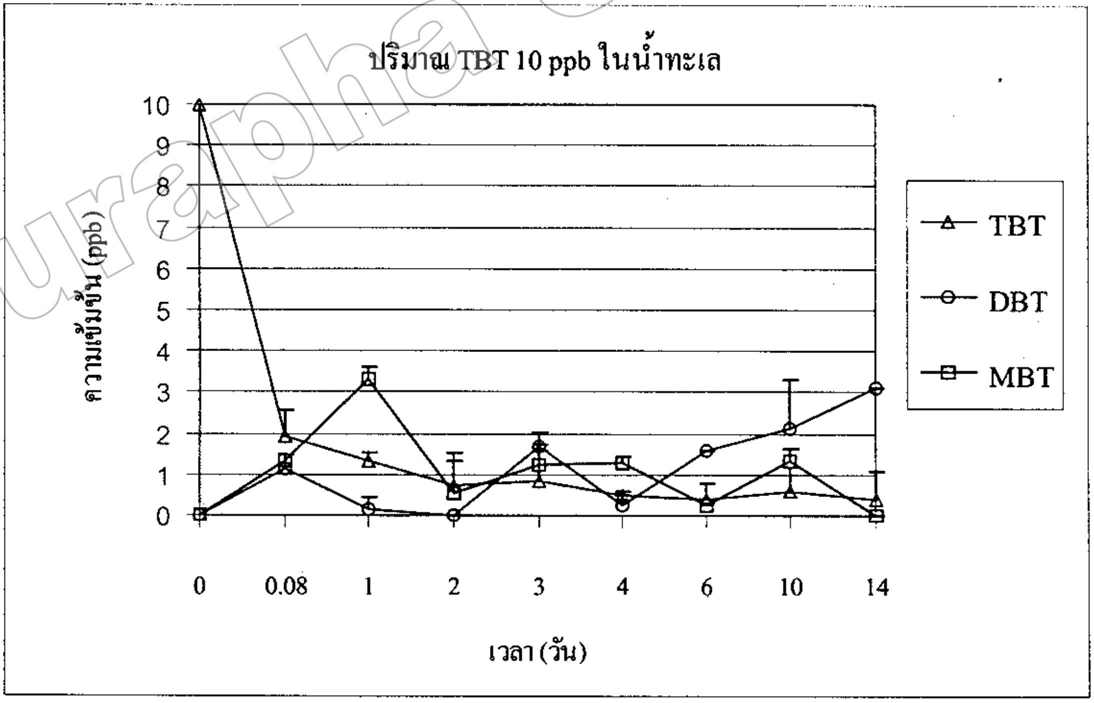
ความเค็มในทุกตู้มีการเปลี่ยนแปลงที่เหมือนกันโดยที่มีการเปลี่ยนแปลงเล็กน้อยคือเปลี่ยนแปลงอยู่ในช่วง 30-35 ppt (รูปที่ 11)

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

2. ปริมาณสาร TBT, DBT และ MBT ในน้ำทะเล

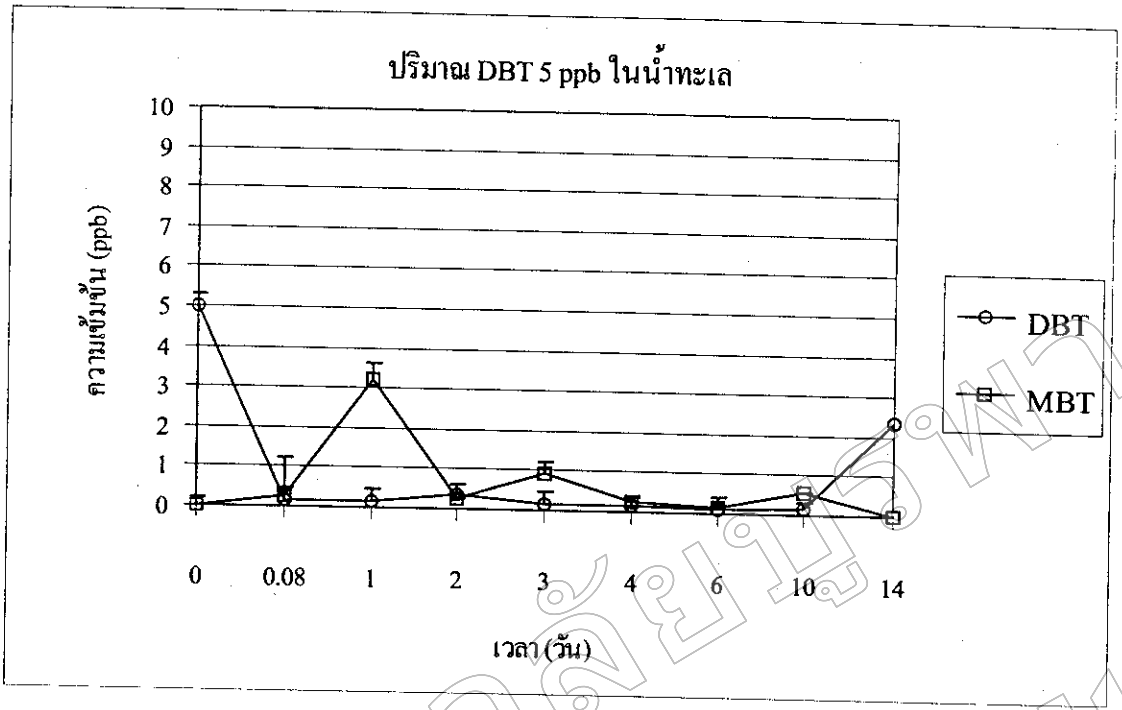


รูปที่ 12 ปริมาณของสาร TBT, DBT และ MBT ในตู้ทดลองที่มีการเติม TBT 5 ug/L

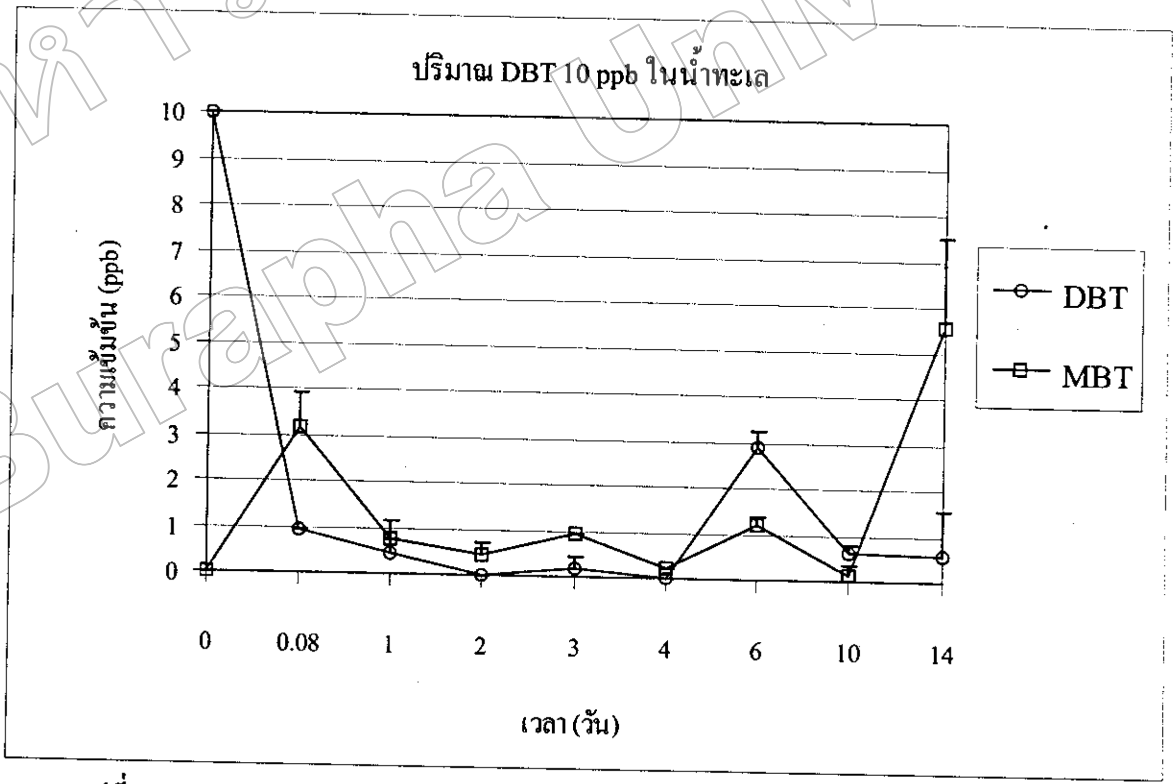


รูปที่ 13 ปริมาณของสาร TBT, DBT และ MBT ในตู้ทดลองที่มีการเติม TBT 10 ug/L

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

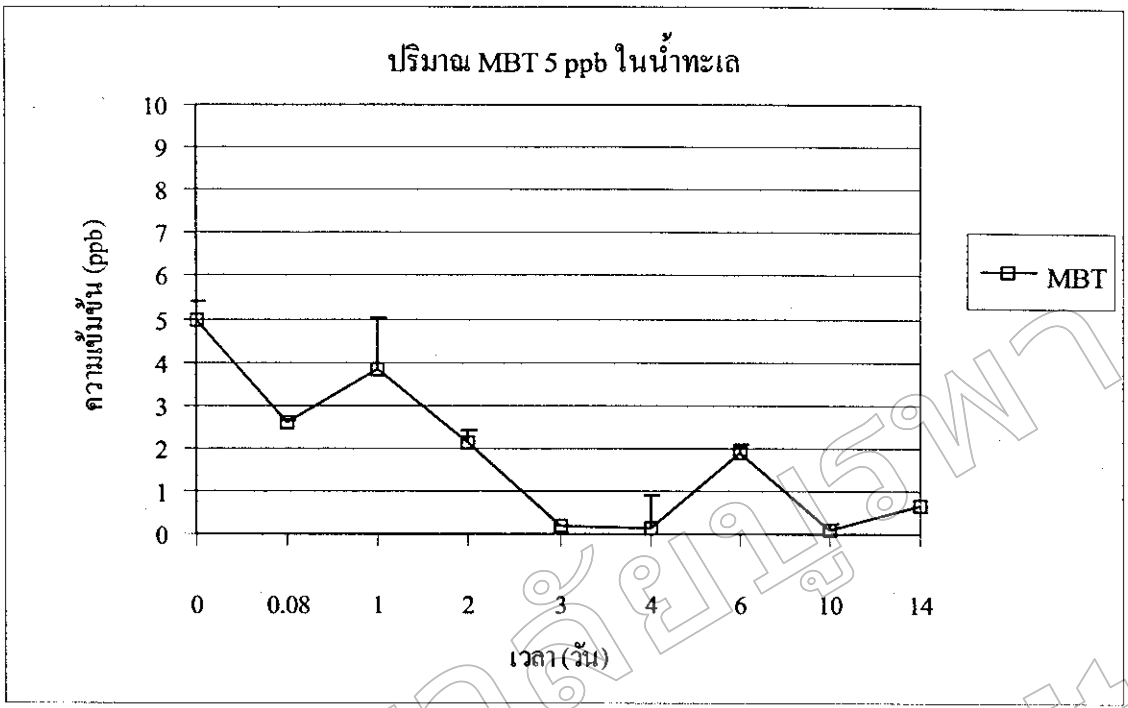


รูปที่ 14 ปริมาณของสาร TBT, DBT และ MBT ในตู้ทดลองที่มีการเติม DBT 5 ug/L

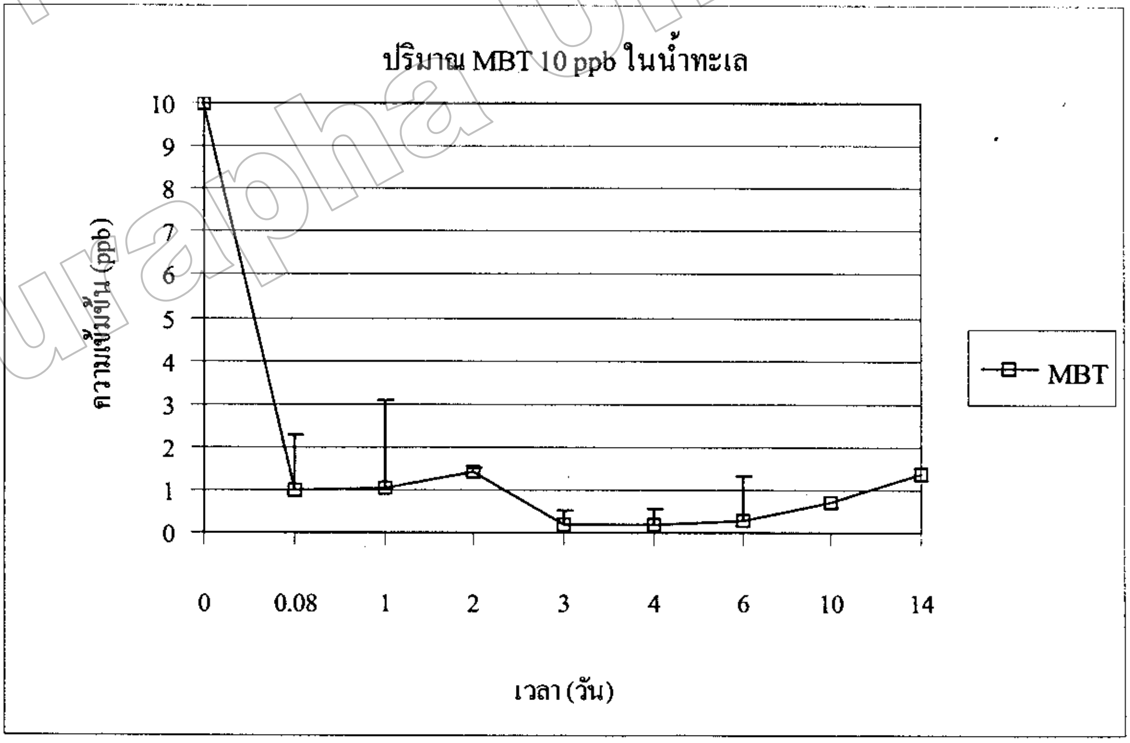


รูปที่ 15 ปริมาณของสาร TBT, DBT และ MBT ในตู้ทดลองที่มีการเติม DBT 10 ug/L

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University



รูปที่ 16 ปริมาณของสาร TBT, DBT และ MBT ในตู้ทดลองที่มีการเติม MBT 5 ug/L



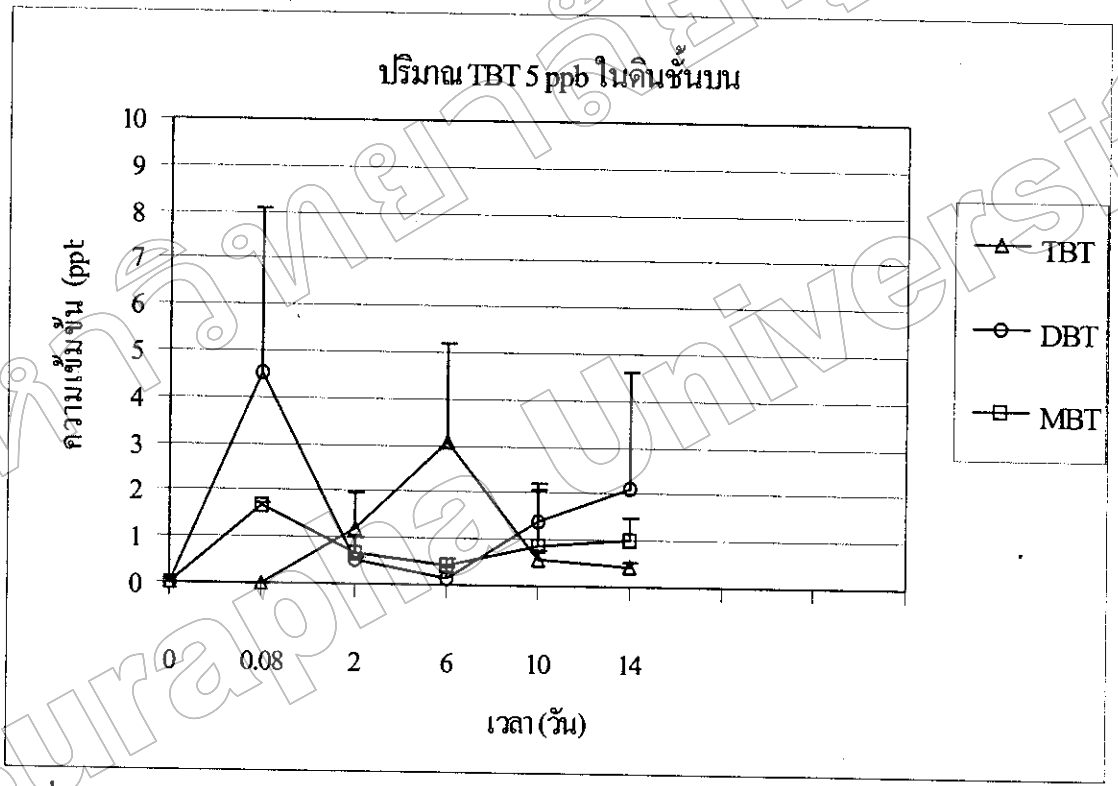
รูปที่ 17 ปริมาณของสาร TBT, DBT และ MBT ในตู้ทดลองที่มีการเติม MBT 10 ug/L

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ปริมาณของสาร TBT, DBT และ MBT ในตู้ทดลองที่มีการเติมสารในปริมาณ 5 และ 10 ug/L (รูปที่ 12-17) พบว่าสารทั้ง 3 ชนิดเกิดการย่อยสลายได้อย่างรวดเร็ว (ประมาณ 0.04 วัน) ยกเว้นในตู้ที่มี MBT 5 ug/L พบว่าสาร MBT เกิดการย่อยสลายได้ช้ากว่าสาร TBT, DBT และ MBT ในความเข้มข้นที่สูง (10 ug/L)

นอกจากนั้นพบว่าในน้ำทะเลได้เกิดการย่อยสลายสาร TBT ให้เปลี่ยนเป็นสาร DBT และ MBT ส่วนสาร DBT ได้เกิดการย่อยสลายเปลี่ยนเป็นสาร MBT

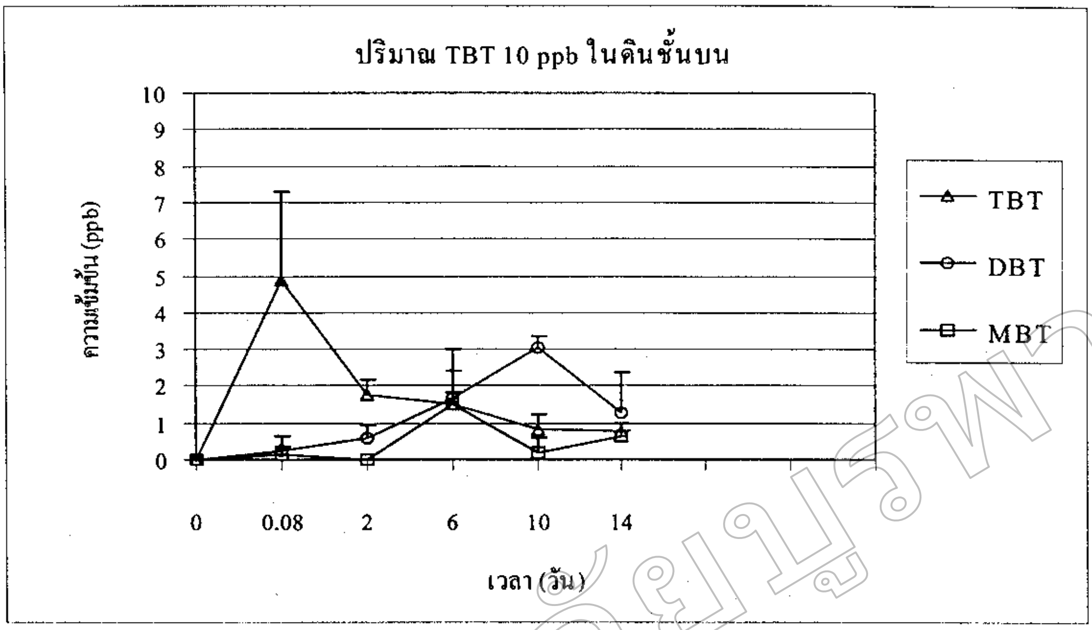
3. ปริมาณสาร TBT, DBT และ MBT ในดินตะกอนชั้นบน



รูปที่ 18 ปริมาณของสาร TBT, DBT และ MBT ในดินตะกอนชั้นบนในตู้ทดลองที่มีการเติม TBT 5 ug/L

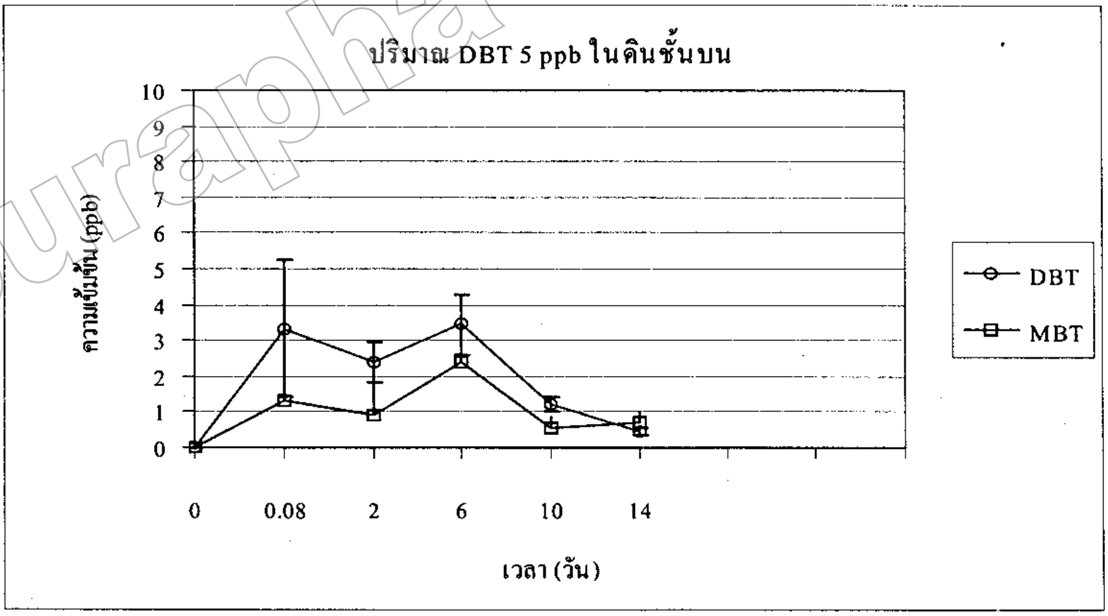
จากผลการทดลองในรูปที่ 18 พบว่าเกิดการสะสมสาร TBT หลังจาก 0.08 วันเป็นต้นไป ส่วนสาร DBT เกิดการสะสมในดินชั้นบนสูงที่สุดและรองลงมาคือสะสมสาร MBT ตั้งแต่เริ่มเติมสาร TBT ในปริมาณความเข้มข้น 5 ug/L

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University



รูปที่ 19 ปริมาณของสาร TBT, DBT และ MBT ในดินตะกอนชั้นบนในตู้ทดลองที่มีการเติม TBT 10 ug/L

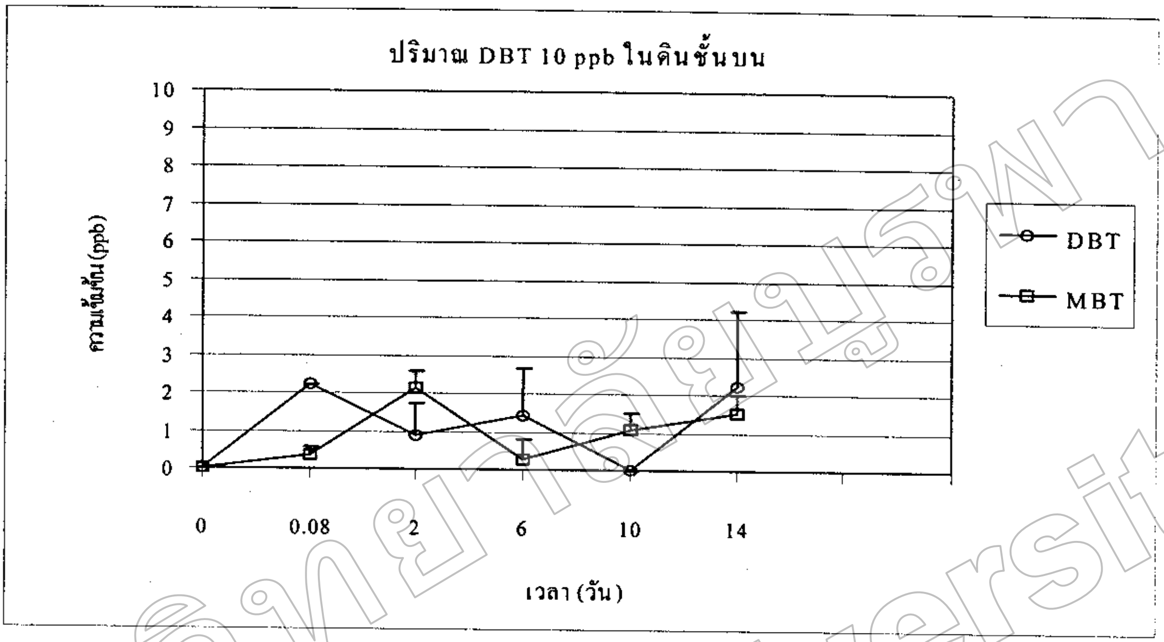
สำหรับการเติมสาร TBT ในปริมาณที่สูงขึ้นคือ 10 ug/L พบว่ามีการสะสมของสาร TBT ในช่วงเริ่มต้นการทดลองสูงที่สุดและค่อยๆ ลดต่ำลงเมื่อเวลาผ่านไป ส่วนสาร metabolites ของ TBT คือสาร DBT และ MBT เกิดการสะสมในดินชั้นบนเมื่อหลังจาก 0.08 วันและเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ ขณะที่สาร TBT ลดลง



รูปที่ 20 ปริมาณของสาร TBT, DBT และ MBT ในดินตะกอนชั้นบนในตู้ทดลองที่มีการเติม DBT 5 ug/L

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

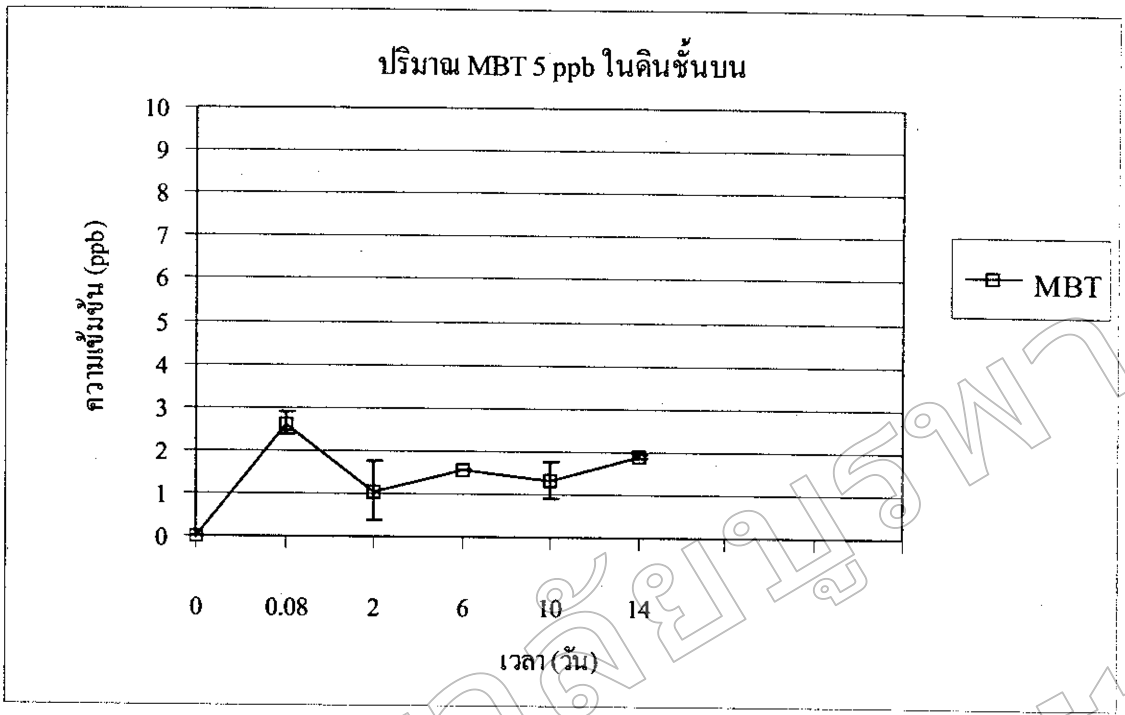
สาร DBT และ MBT ในดินชั้นบนเกิดการสะสมในตู้ที่มีการเติม DBT 5 ug/L ในปริมาณที่สูงโดยที่มีการสะสมของสารตั้งต้น DBT ในปริมาณที่สูงกว่าสาร metabolite คือ MBT (รูปที่ 20)



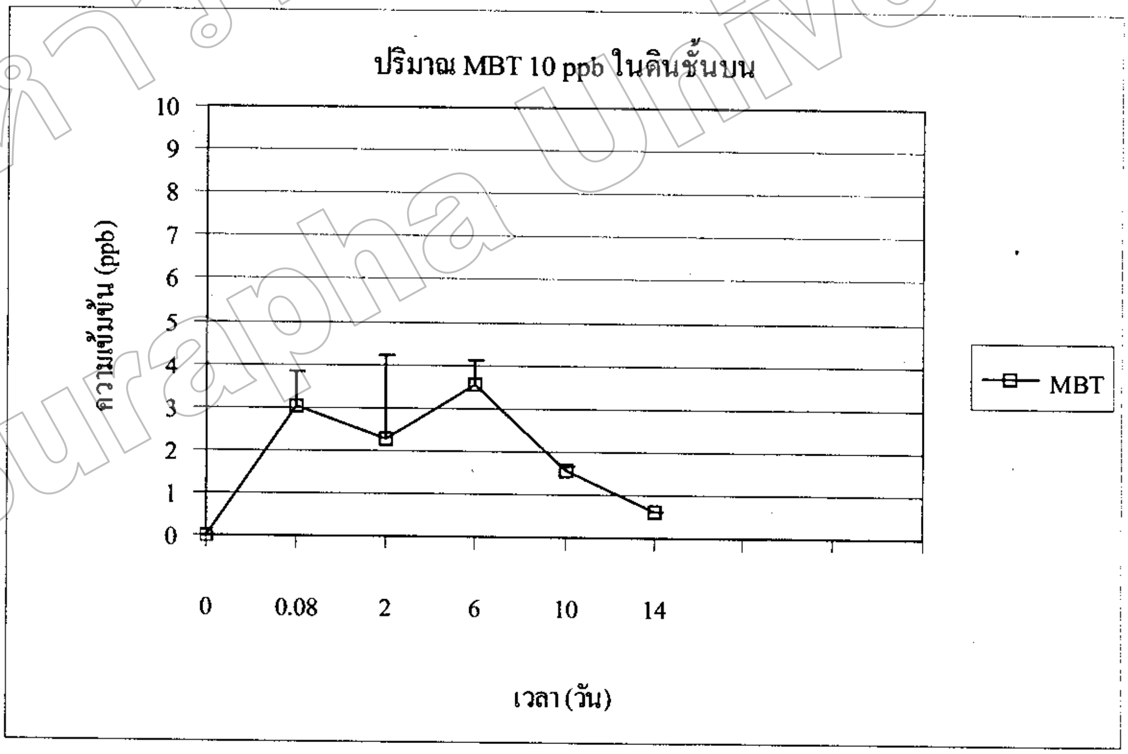
รูปที่ 21 ปริมาณของสาร TBT, DBT และ MBT ในดินตะกอนชั้นบนในตู้ทดลองที่มีการเติม DBT 10 ug/L

ส่วนดินตะกอนชั้นบนของตู้ทดลองที่มีการเติมสาร DBT 10 ug/L พบการสะสมของสาร DBT ในปริมาณที่สูงในช่วงวันที่ 0.08 แต่สาร MBT จะเริ่มสะสมในปริมาณที่น้อยในวันที่ 0.08 หลังจากนั้นสารทั้ง 2 ชนิดมีการเปลี่ยนแปลงโดยมีแนวโน้มที่จะมีค่าขึ้นๆ ลงๆ (รูปที่ 21)

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University



รูปที่ 22 ปริมาณของสาร TBT, DBT และ MBT ในดินตะกอนชั้นบนในตู้ทดลองที่มีการเติม MBT 5 ug/L

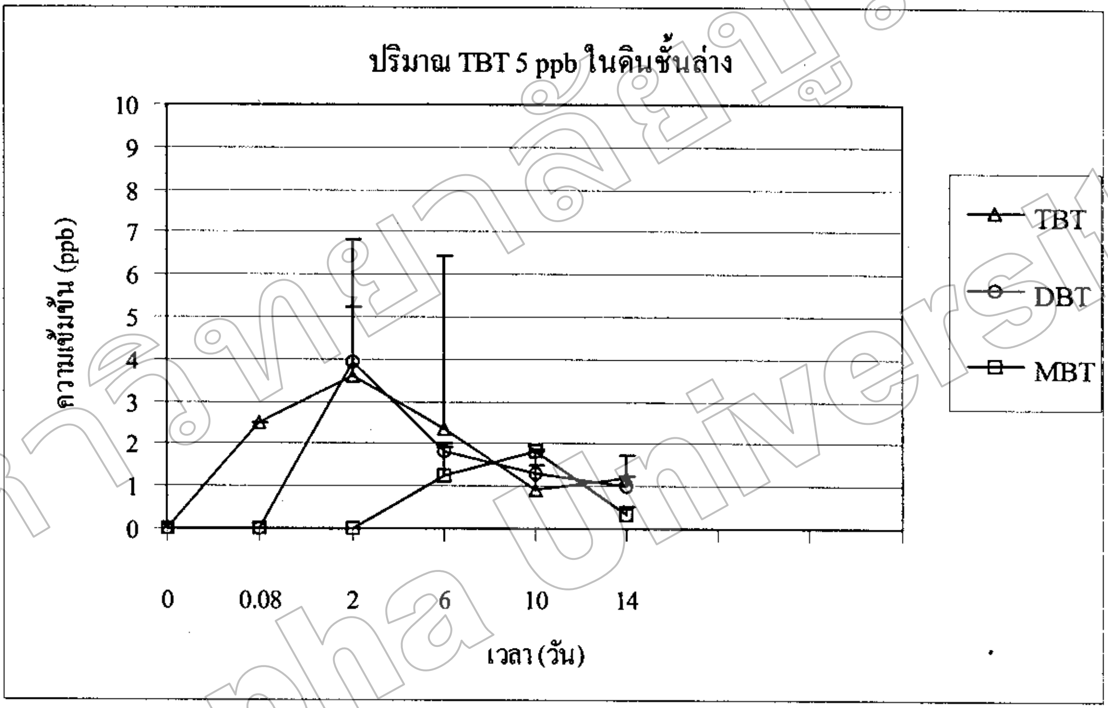


รูปที่ 23 ปริมาณของสาร TBT, DBT และ MBT ในดินตะกอนชั้นบน ในตู้ทดลองที่มีการเติม MBT 10 ug/L

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

จากรูปที่ 22 และ 23 พบว่าปริมาณของสาร TBT, DBT และ MBT ในตู้ทดลองที่มีการเติมสารในปริมาณ 5 และ 10 ug/L ในดินตะกอนชั้นบนพบว่าสารทั้ง 3 ชนิดเกิดการสะสมในวันที่ 0.08 และเพิ่มขึ้นบ้างและถูกย่อยสลายต่อไป เช่น สาร TBT เปลี่ยนไปเป็นสาร DBT และ MBT ส่วน DBT ทั้ง 2 ความเข้มข้นเกิดการสะสมในดินตะกอนในวันที่ 0.08 และเกิดการย่อยสลายต่อไปเป็นสาร MBT และกรณีเดียวกันสาร MBT เกิดการสะสมเช่นเดียวกับสาร TBT และ DBT และถูกเปลี่ยนเป็นสารอื่น

2. ปริมาณสาร TBT, DBT และ MBT ในดินตะกอนชั้นล่าง

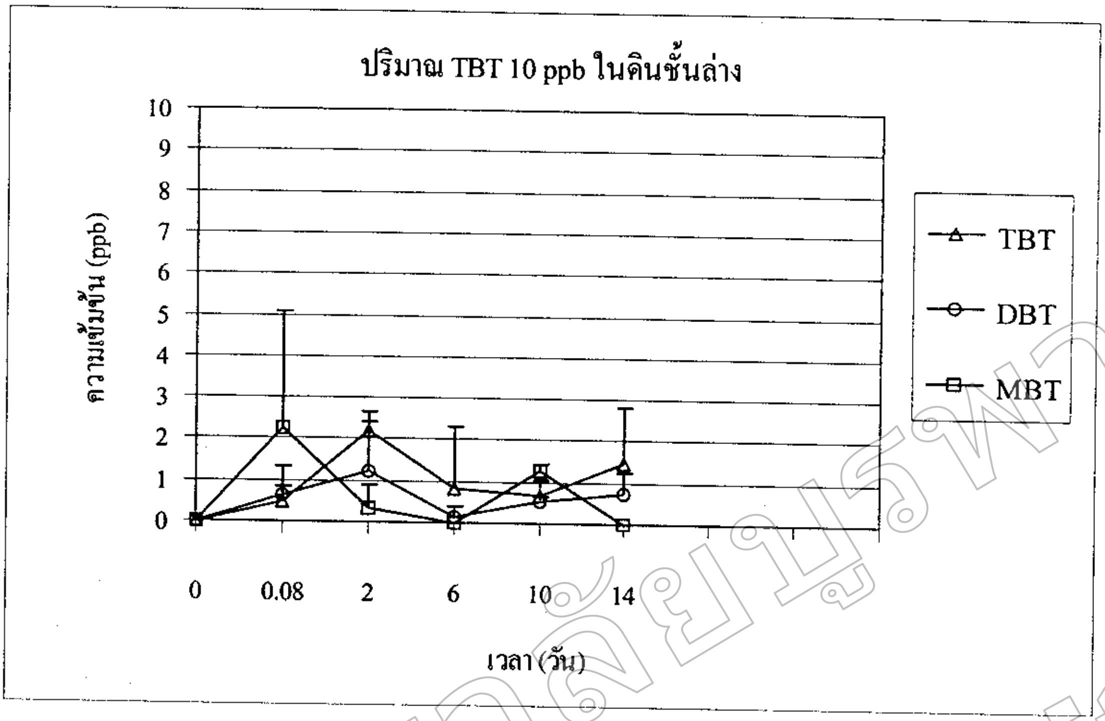


รูปที่ 24 ปริมาณของสาร TBT, DBT และ MBT ในดินตะกอนชั้นล่างในตู้ทดลองที่มีการเติม TBT 5 ug/L

ผลการทดลองของการสะสมสาร TBT และสาร metabolites ของ TBT คือ DBT และ MBT ในดินตะกอนชั้นล่างพบว่ามีการสะสมสาร TBT ในดินตะกอนชั้นล่างในปริมาณที่สูงมากและค่อยๆ ลดลง ส่วนสาร DBT เริ่มมีการสะสมในดินตะกอนชั้นล่างสูงมากในวันที่ 2 และค่อยๆ ลดลงในวันต่อๆ มาส่วนสาร MBT พบได้ในปริมาณที่สูงในวันที่ 10 นั้นแสดงถึงการเกิดการเปลี่ยนแปลงของสาร TBT เป็นสาร DBT และ MBT อย่างชัดเจน (รูปที่ 24)

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

สำนักหอสมุด มหาวิทยาลัยบูรพา
ต.แสนสุข อ.เมือง จ.ชลบุรี 20131

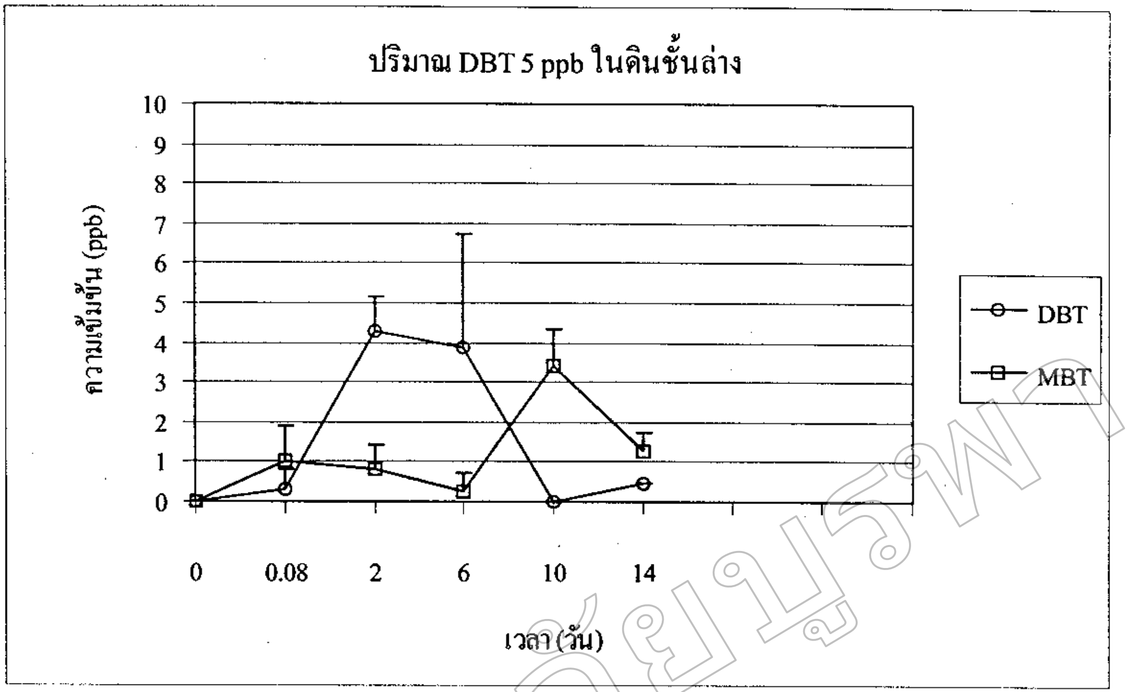


รูปที่ 25 ปริมาณของสาร TBT, DBT และ MBT ในดินตะกอนชั้นล่างในตู้ทดลองที่มีการเติม TBT 10 ug/L

จากผลการทดลองจากรูปที่ 25 พบว่าเมื่อมีการเติมสาร TBT ในปริมาณที่สูง (10 ug/L) นั้น พบว่ามีการสะสมของสาร TBT ในปริมาณที่น้อยกว่าตู้ที่มีการเติมสาร TBT ในปริมาณต่ำ (5 ug/L) และพบการสะสมของสาร MBT สูงมากในวันแรกๆ ของการทดลองและสาร DBT จะค่อยๆ สะสมตั้งแต่วันที่ 2 (รูปที่ 25)

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

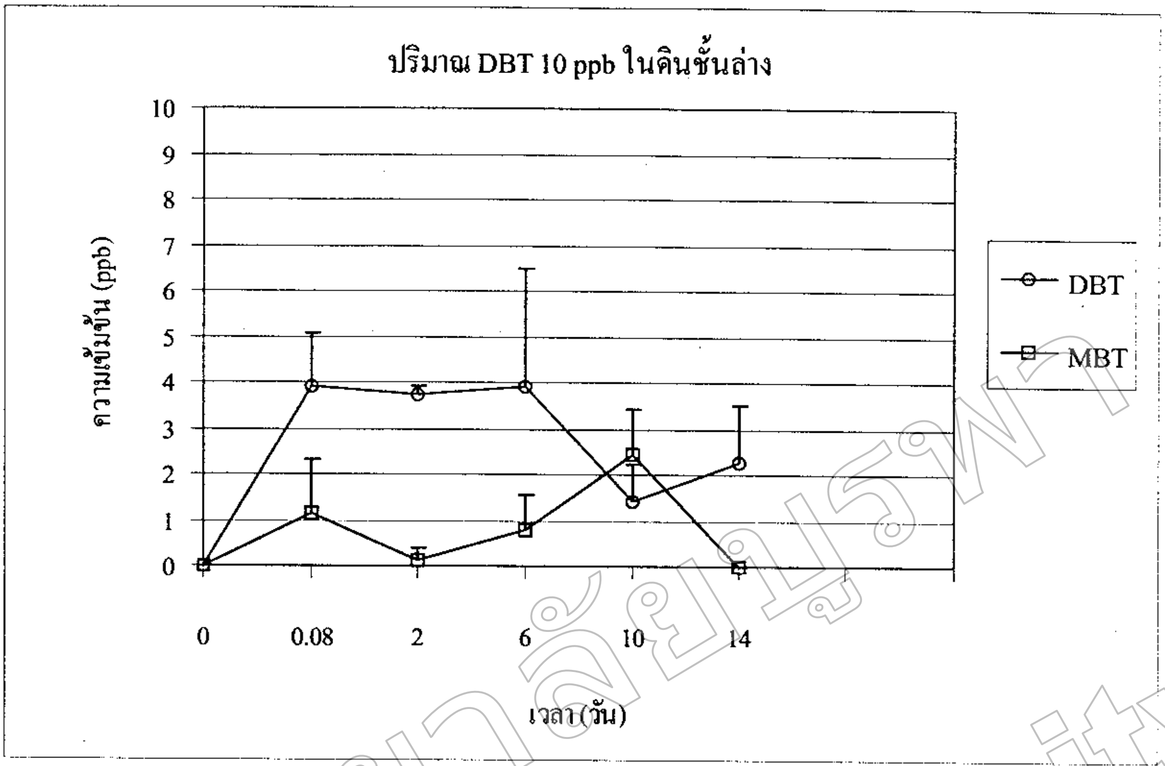
190654



รูปที่ 26 ปริมาณของสาร TBT, DBT และ MBT ในดินตะกอนชั้นล่างในตู้ทดลองที่มีการเติม DBT 5 ug/L

ส่วนในตู้การทดลองที่มีการเติม DBT 5 ug/L จะพบการสะสมของ MBT ซึ่งเป็นสาร metabolite ในวันที่ 0.08 และจะสะสมในปริมาณสูงสุดในวันที่ 10 ของการทดลอง ส่วนสารตั้งต้น DBT จะมีการสะสมในวันที่ 0.08 และสะสมสูงมากในวันที่ 2 และวันที่ 6 และจะค่อยๆ ลดลงในวันที่ 10 และ 14 (รูปที่ 26)

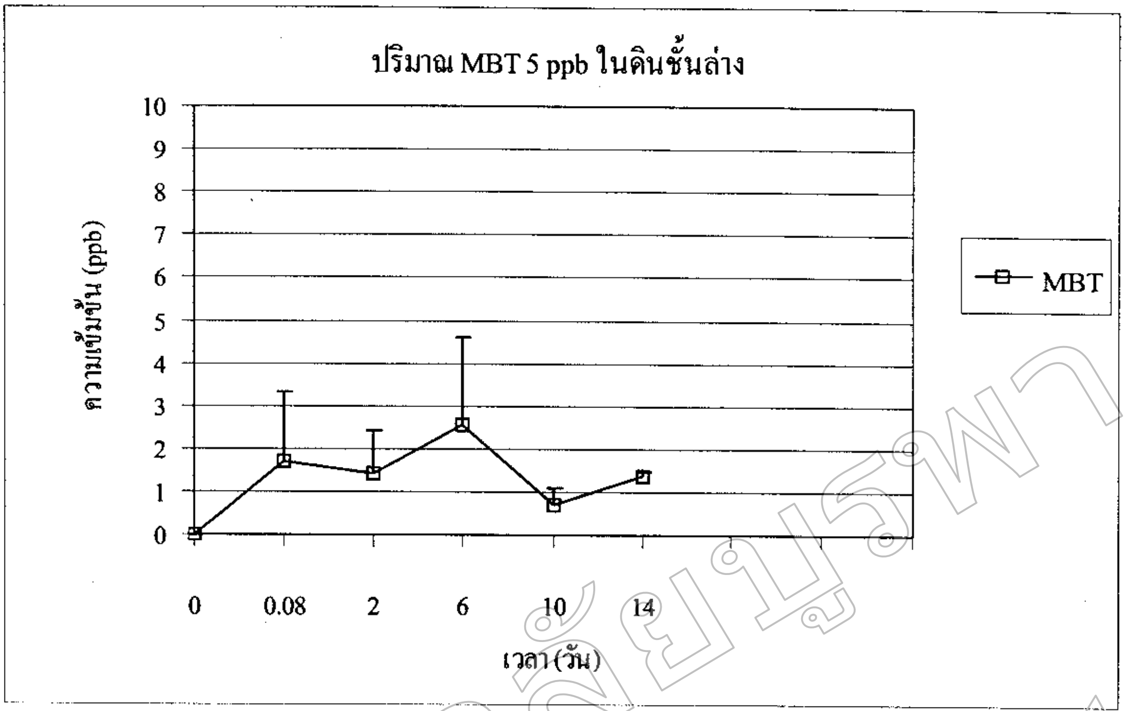
มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University



รูปที่ 27 ปริมาณของสาร TBT, DBT และ MBT ในดินตะกอนชั้นล่างในตู้ทดลองที่มีการเติม DBT 10 ug/L

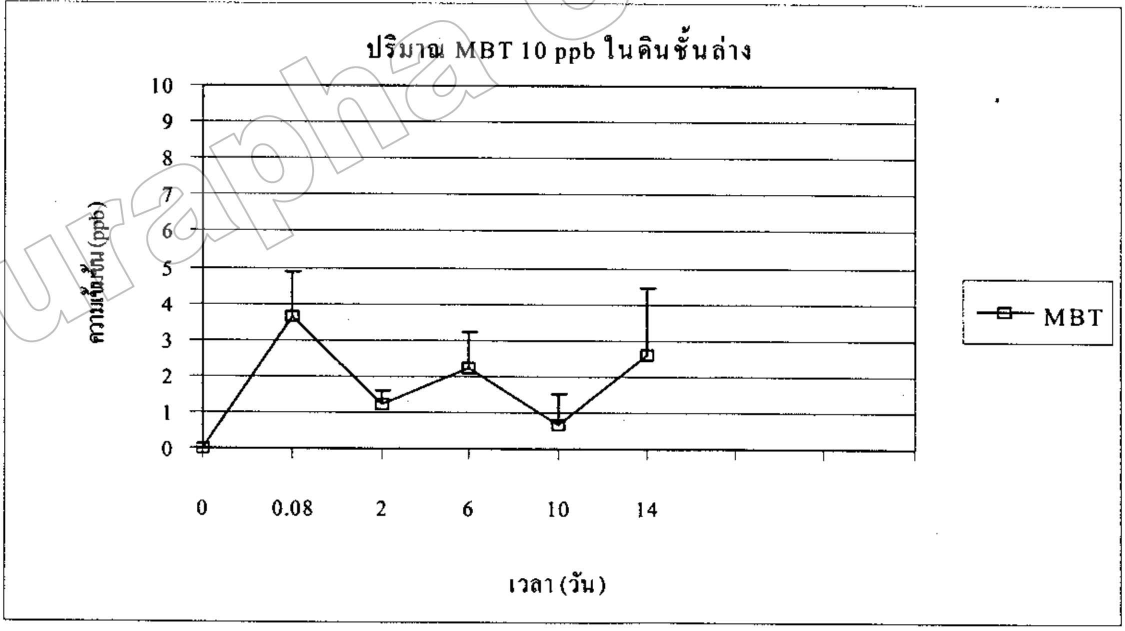
ส่วนตู้ที่มีการเติมสาร DBT 10 ug/L พบว่ามีการสะสม DBT ในปริมาณที่สูงตั้งแต่วันที่ 0.08 จนถึงวันที่ 6 และค่อยๆ ลดลงในวันที่ 14 แต่สาร metabolite MBT มีการสะสมในดินชั้นล่างในปริมาณที่น้อยกว่าสารตั้งต้นมากในวันที่เริ่มเติมจนถึงวันที่ 10 และถูกย่อยสลายหายไปในวันที่ 14 (รูปที่ 27)

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University



รูปที่ 28 ปริมาณของสาร MBT ในดินตะกอนชั้นล่างในตู้ทดลองที่มีการเติม MBT 5 ug/L

ในรูปที่ 28 พบว่าเกิดการสะสมของสาร MBT ในดินตะกอนชั้นล่างในปริมาณที่ค่อนข้างจะคงที่ในปริมาณ 1-2 ug/L

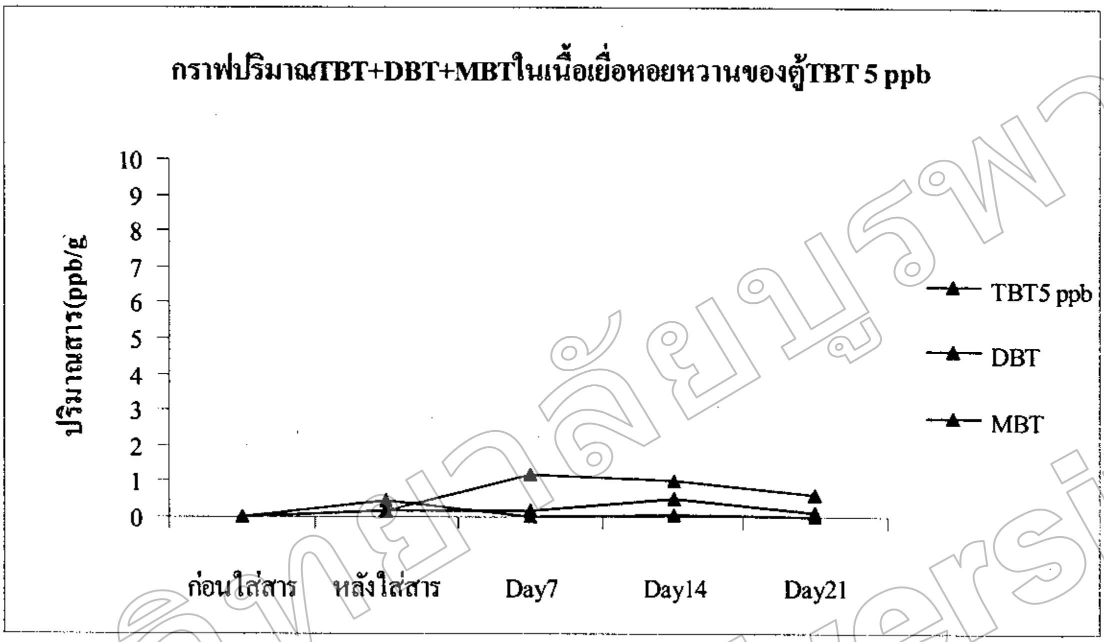


รูปที่ 29 ปริมาณของสาร MBT ในดินตะกอนชั้นล่างในตู้ทดลองที่มีการเติม MBT 10 ug/L

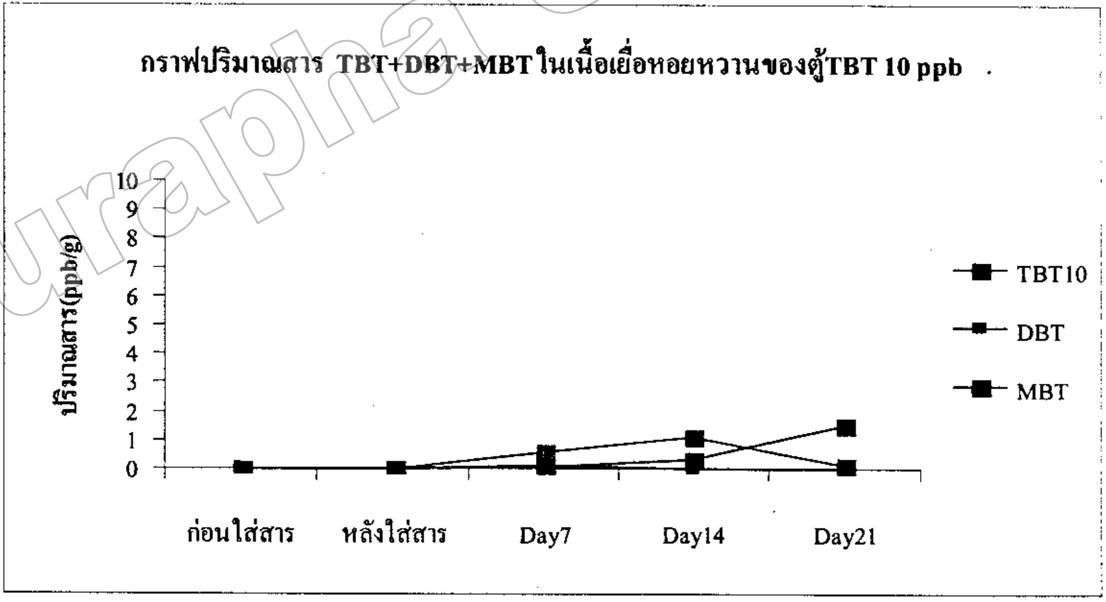
มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

จากผลการทดลองจากการเติมสาร MBT 10 ug/L พบว่ามีการสะสมของสาร MBT ในดินตะกอนชั้นล่างในปริมาณที่ไม่ค่อยเปลี่ยนแปลงคืออยู่ในช่วง 1-4 ug/L (รูปที่ 29)

5. ปริมาณ TBT, DBT และ MBT ในเนื้อเยื่อหอยหวานของตู้ที่เติม TBT 10 ppb



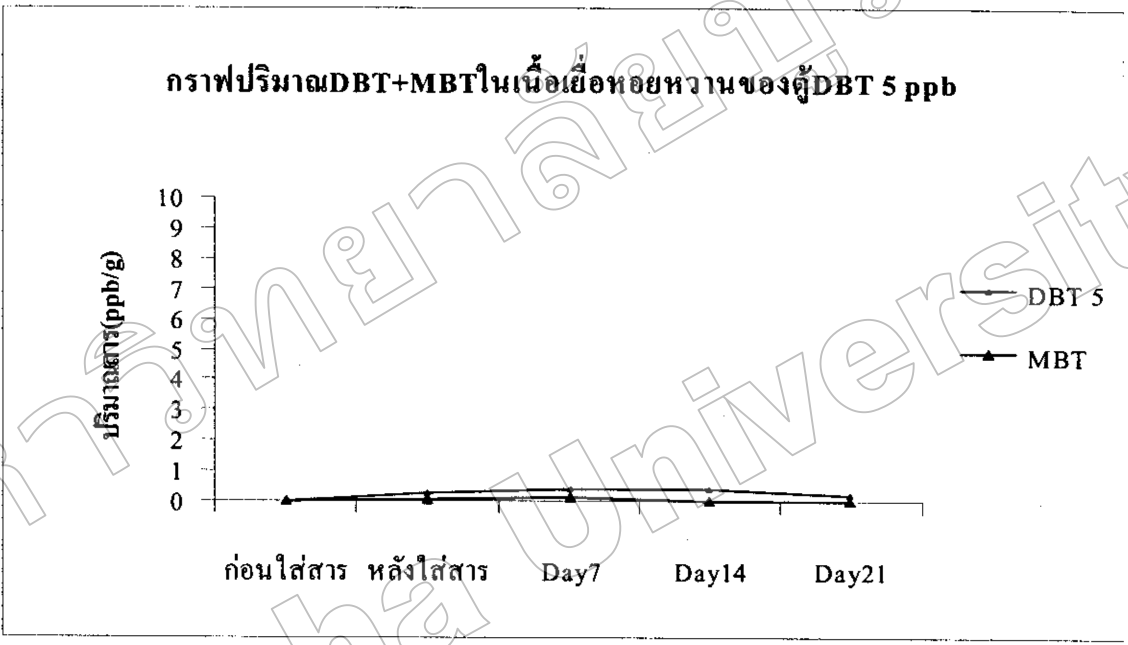
รูปที่ 30 ปริมาณของสาร TBT, DBT และ MBT ในเนื้อเยื่อหอยหวานในตู้ทดลองที่มีการเติม TBT 5 ug/L



รูปที่ 31 ปริมาณของสาร TBT, DBT และ MBT ในเนื้อเยื่อหอยหวานในตู้ทดลองที่มีการเติม TBT 10 ug/L

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

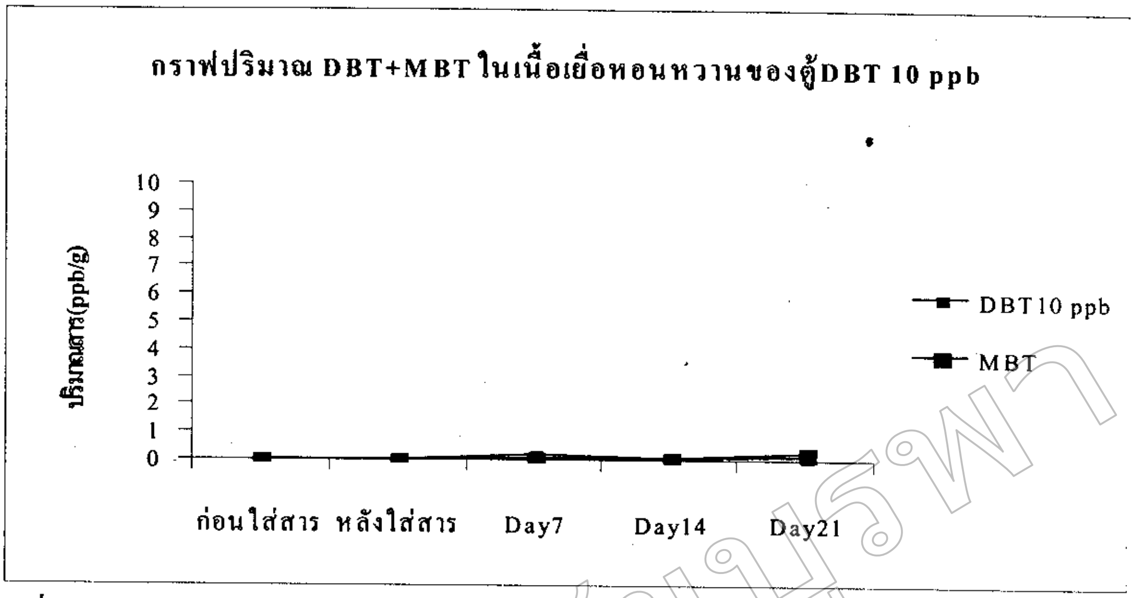
จากรูปที่ 30 แสดงให้เห็นว่ามีการสะสมของสาร TBT ในเนื้อหอยหวานในตู้ทดลองที่มีการเติม TBT 5 ug/L ในวันที่ 7 และยังมีการสะสมในวันที่ 14 และ 21 นอกจากนั้นเกิดการสะสมสาร metabolites DBT และ MBT ในวันที่เริ่มใส่สารโดยที่มีการสะสมของสาร MBT ในปริมาณที่สูงกว่าสาร DBT ส่วนในรูปที่ 31 ได้แสดงถึงการเติมสาร TBT ในปริมาณที่สูงขึ้นเป็น 10 ug/L จะมีการสะสม TBT ในวันที่ 7 และ 14 และมีการสะสมสาร metabolites MBT ในวันที่ 3 และเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ จนถึงวันที่ 21 ส่วนDBT มีการสะสมในเนื้อเยื่อหอยหวานในปริมาณที่น้อยมากจนถึง no detectable value



รูปที่ 32 ปริมาณของสาร TBT, DBT และ MBT ในเนื้อเยื่อหอยหวานในตู้ทดลองที่มีการเติม DBT 5 ug/L

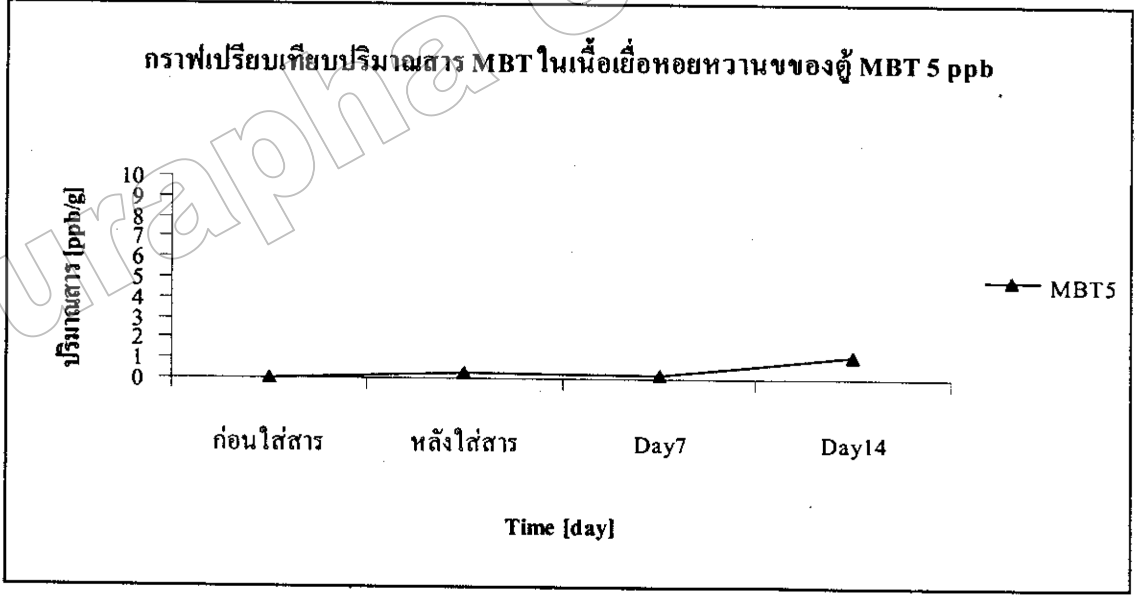
ส่วนในตู้การทดลองที่มีการเติมสาร DBT ลงไปในปริมาณ 5 ug/L จะพบว่ามีปริมาณของการสะสมในเนื้อเยื่อหอยหวานที่น้อยตั้งแต่การเติมสารจนถึงวันที่ 21 และพบว่ามีการสะสม MBT ซึ่งเป็นสาร metabolites ในปริมาณที่น้อยมาและมีการสะสมภายใน 7 วันเท่านั้น (รูปที่ 32)

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University



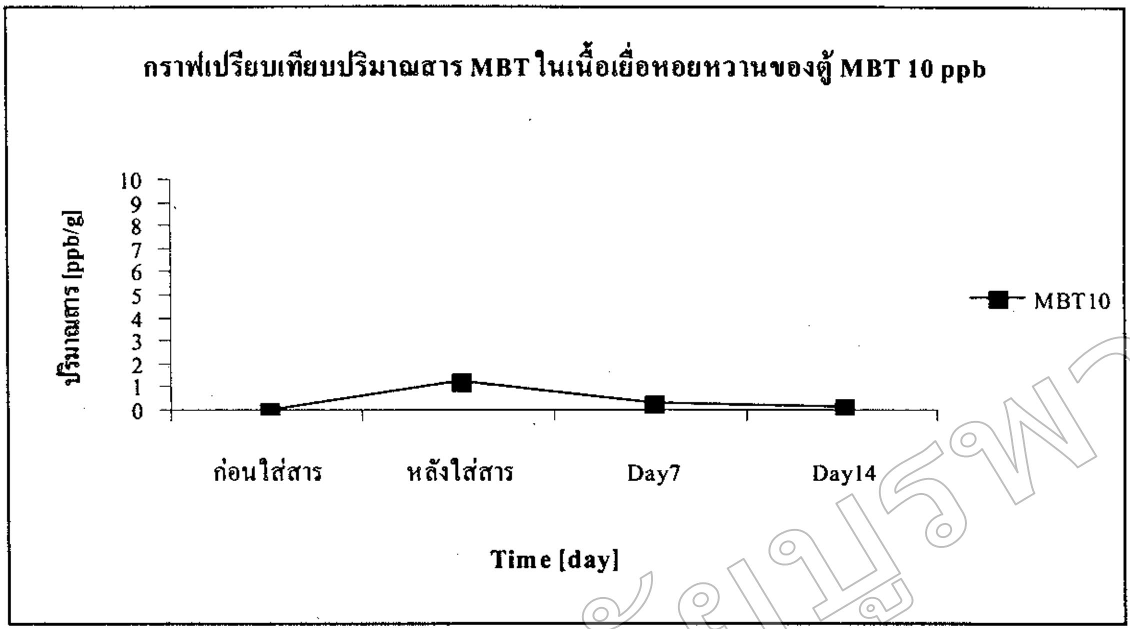
รูปที่ 33 ปริมาณของสาร TBT, DBT และ MBT ในเนื้อเยื่อหอยหวานในตู้ทดลองที่มีการเติม DBT 10 ug/L

ส่วนในรูปที่ 33 ที่มีการเติมสาร DBT ในปริมาณที่สูงขึ้นเป็น 10 ug/L นั้นพบว่ามีการสะสมทั้งสารตั้งต้น DBT และ MBT ในปริมาณที่น้อยมากเมื่อเปรียบเทียบกับตู้ที่มีการเติมสาร DBT ในปริมาณที่ต่ำ (5 ug/L)



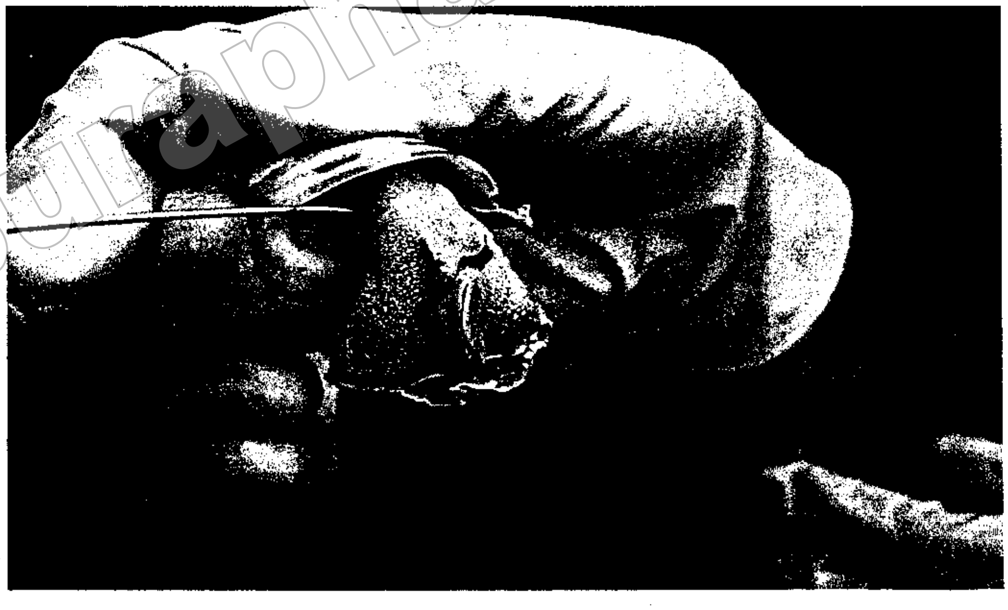
รูปที่ 34 ปริมาณของสาร TBT, DBT และ MBT ในเนื้อเยื่อหอยหวานในตู้ทดลองที่มีการเติม MBT 5 ug/L

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University



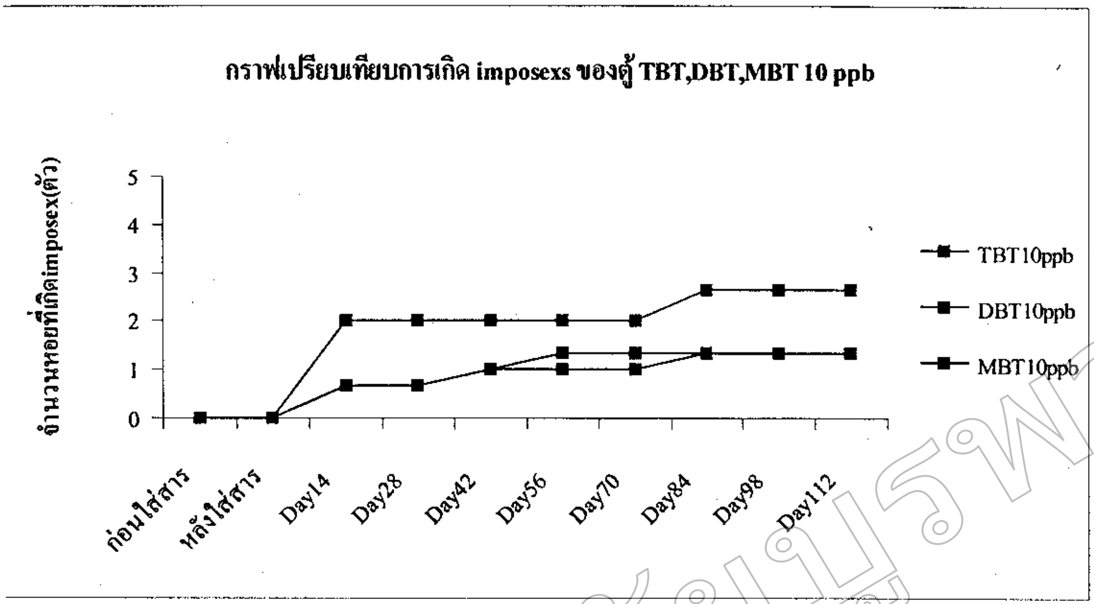
รูปที่ 35 ปริมาณของสาร TBT, DBT และ MBT ในเนื้อเยื่อหอยหวานในตู้ทดลองที่มีการเติม MBT 10 ug/L

ในรูปที่ 34 และ 35 พบว่ามีการสะสมสาร MBT ในตู้ที่ทำการใส่สาร MBT ทั้ง 2 ความเข้มข้นในปริมาณที่น้อย



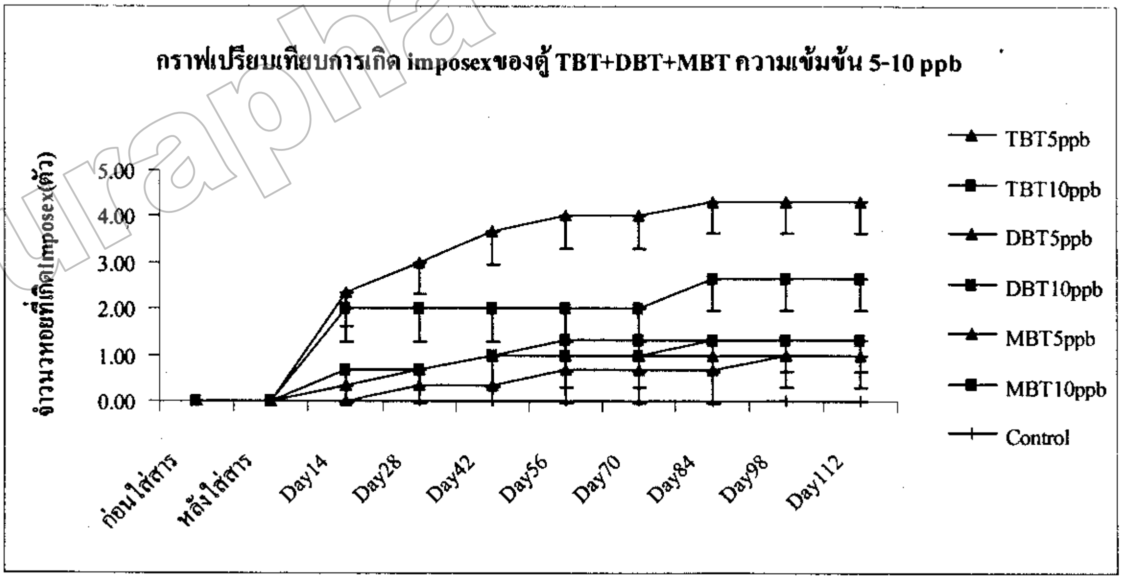
รูปที่ 36 การเกิด imposex ในหอยหวาน

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University



รูปที่ 37 การเปรียบเทียบการเกิด imposex ในตู้ทดลองที่ใส่ TBT, DBT และ MBT ในความเข้มข้น 10 ppb

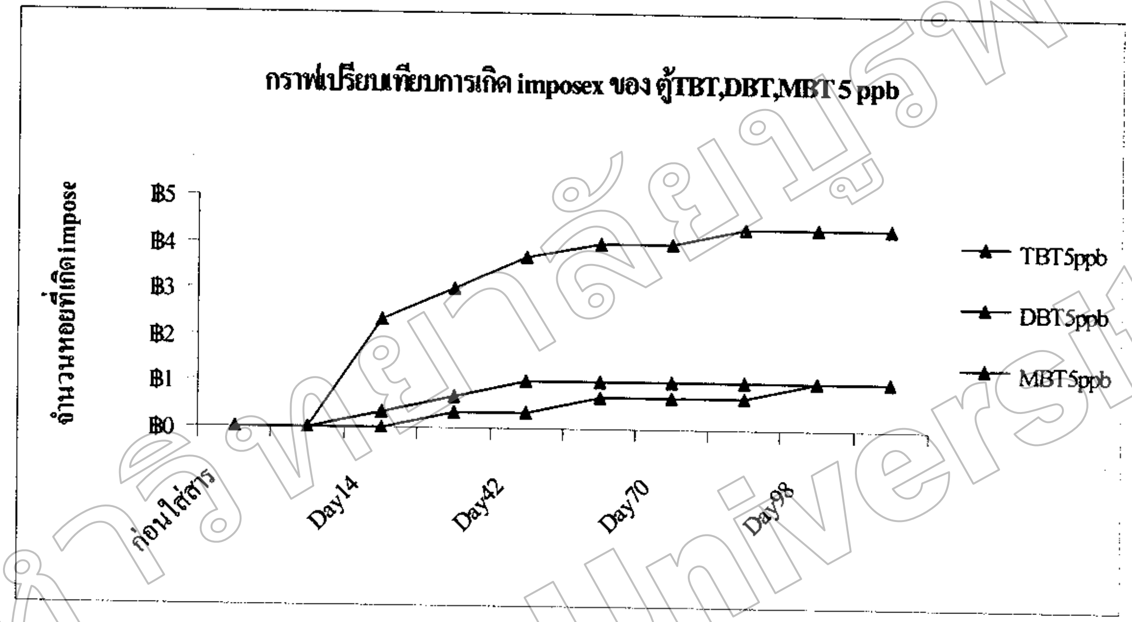
จากผลการทดลองที่แสดงในรูปที่ 37 พบว่า ณ ที่ความเข้มข้นเท่ากันนั้นสาร TBT เป็นสารที่ทำให้เกิด imposex สูงกว่าสาร DBT และ MBT ส่วนสาร DBT และ MBT นั้นทำให้เกิด imposex ในปริมาณที่เท่าๆ กัน



รูปที่ 38 การเปรียบเทียบการเกิด imposex ในตู้ทดลองที่ใส่ TBT, DBT และ MBT ในความเข้มข้น 5 และ 10 ppb

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

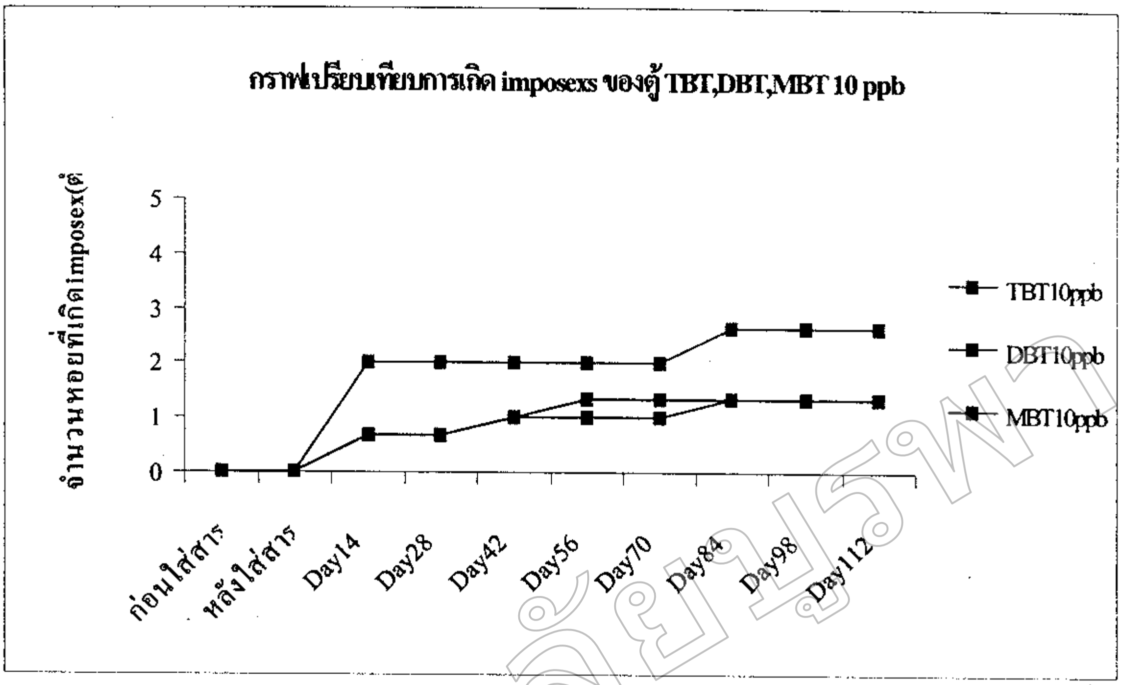
เมื่อทำการเปรียบเทียบสารทั้ง 3 ชนิดใน 2 ความเข้มข้นที่สูงและต่ำพบว่าสาร TBT ในความเข้มข้นต่ำแต่ทำให้เกิด imposex ในหอยหวานในปริมาณที่สูงกว่าสาร TBT ที่มีความเข้มข้นที่สูง (10 ug/L) และสาร MBT ทั้ง 2 ความเข้มข้นไม่ทำให้เกิด imposex ในปริมาณที่แตกต่างกัน แต่ทำให้เกิด imposex ที่มีปริมาณที่ต่ำกว่าสาร TBT แต่สูงกว่าสาร DBT นอกจากนั้นสาร DBT ทั้ง 2 ความเข้มข้นไม่ทำให้เกิด imposex ในปริมาณที่แตกต่างกัน



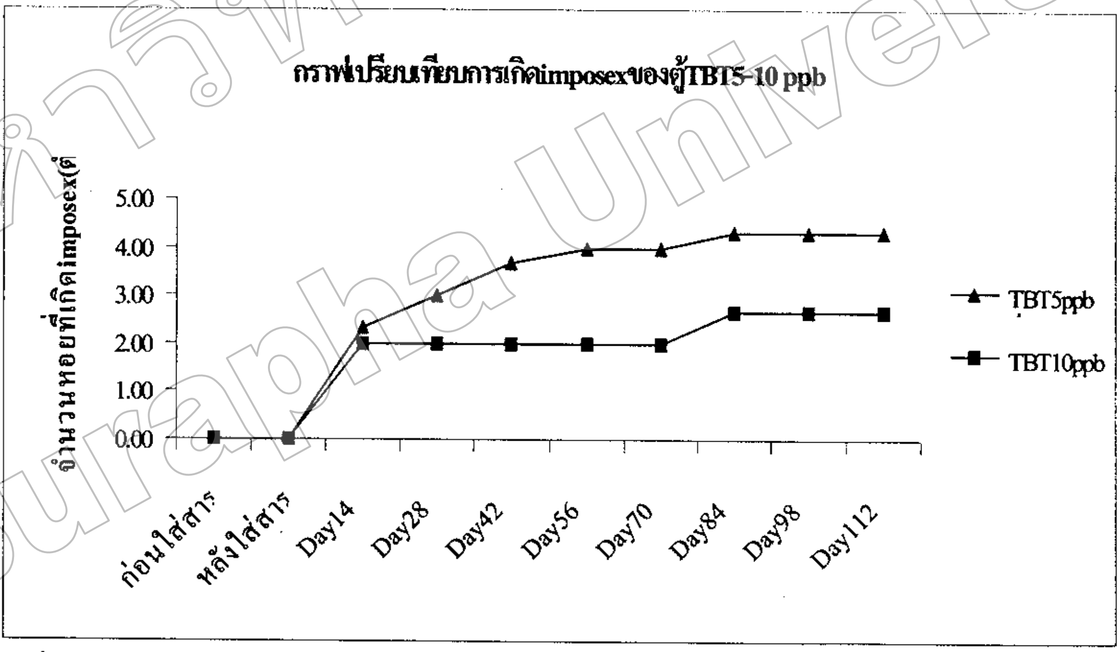
รูปที่ 39 การเปรียบเทียบการเกิด imposex ในตู้ทดลองที่ใส่ TBT, DBT และ MBT ในความเข้มข้น 5 ppb

จากรูปที่ 39 นั้นพบว่าในความเข้มข้นที่เท่ากันสาร TBT จะทำให้เกิด imposex ในปริมาณที่สูงกว่าในถังที่มีสาร DBT และ MBT ส่วนสาร DBT ปรากฏว่าทำให้เกิด imposex ได้น้อยกว่าสาร MBT ในความเข้มข้นที่เท่ากัน

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University



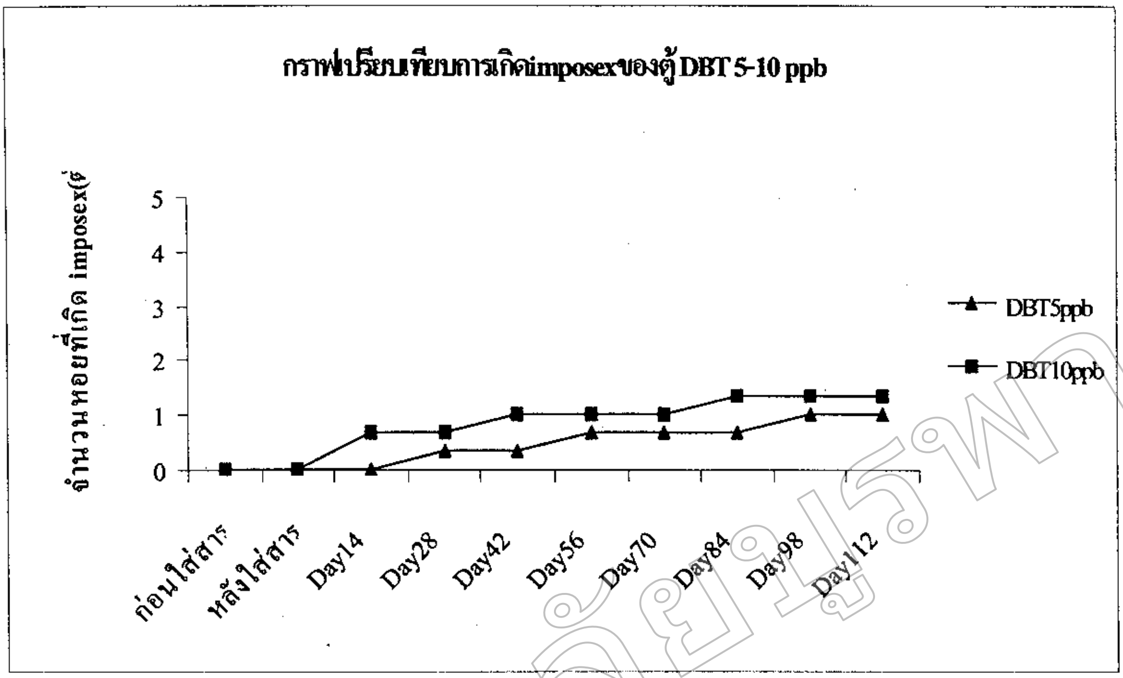
รูปที่ 40 การเปรียบเทียบการเกิด imposex ในตู้ทดลองที่ใส่ TBT, DBT และ MBT ในความเข้มข้น 10 ppb



รูปที่ 41 การเปรียบเทียบการเกิด imposex ในตู้ทดลองที่ใส่ TBTในความเข้มข้น 5 และ 10 ppb

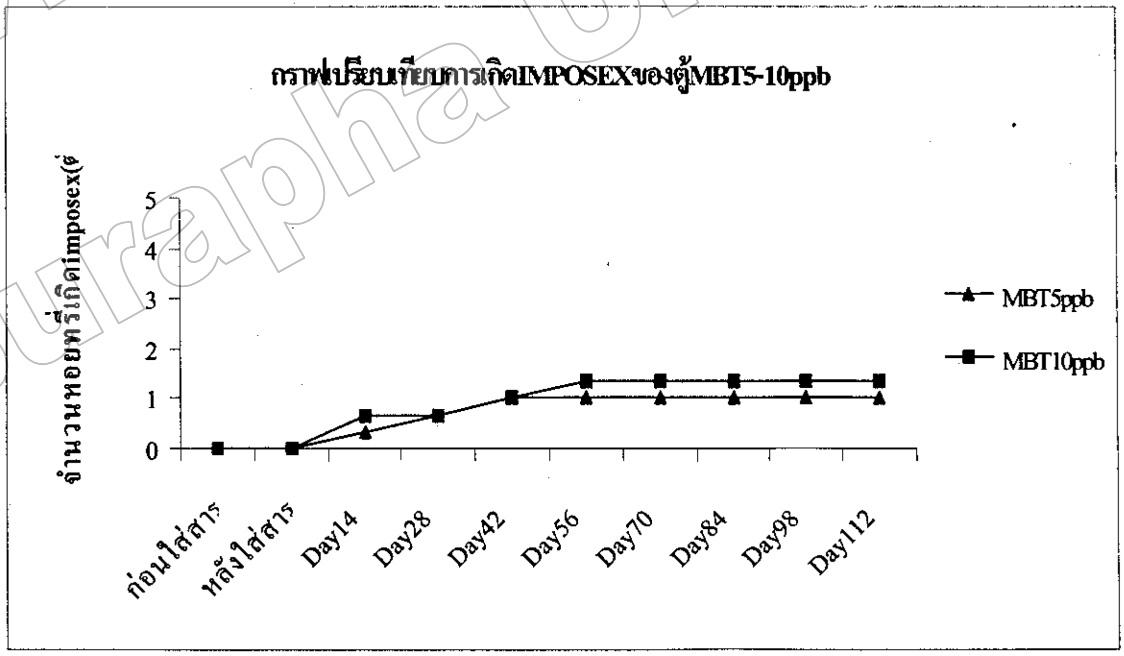
รูปที่ 41 ได้แสดงให้เห็นว่าปริมาณ TBT ณ ที่ความเข้มข้น 5 และ 10 ug/L นั้นทำให้เกิด imposex ในปริมาณที่แตกต่างกันอย่างเห็นได้ชัดเจน

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University



รูปที่ 42 **การเปรียบเทียบการเกิด imposex ในตู้ทดลองที่ใส่ DBT ในความเข้มข้น 5 และ10 ppb**

รูปที่ 42 ได้แสดงให้เห็นว่าปริมาณ DBT ณ ที่ความเข้มข้น 5 และ 10 ug/L นั้นทำให้เกิด imposex ในปริมาณที่แตกต่างกันเพียงเล็กน้อย



รูปที่ 43 **การเปรียบเทียบการเกิด imposex ในตู้ทดลองที่ใส่ MBT ในความเข้มข้น 5 และ10 ppb**

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

รูปที่ 43 ได้แสดงให้เห็นว่าปริมาณ MBT ณ ที่ความเข้มข้น 5 และ 10 ug/L นั้นไม่ทำให้เกิด imposex ในปริมาณที่แตกต่างกัน

สรุปและอภิปรายผลการทดลอง

จากผลการทดลองพบว่าจากการเติมสาร TBT, DBT และ MBT ในระดับ 2 ความเข้มข้นคือ 5 และ 10 ug/L ไม่ทำให้คุณภาพน้ำเปลี่ยนแปลงเมื่อเปรียบเทียบกับตู้ควบคุมที่ไม่มีการใส่สารพิษดังกล่าวคือ ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำ อุณหภูมิ ความเป็นกรด-ด่างและความเค็มในทุกชุดการทดลองและชุดควบคุมอยู่ในเกณฑ์ที่ดีและมีการเปลี่ยนแปลงที่ไปในทิศทางเดียวกัน ส่วนสารไนไตรต์ ไนเตรตและก๊าซแอมโมเนียมีการเปลี่ยนแปลงแตกต่างกันบ้างในแต่ละตู้ทดลองแต่ยังมีปริมาณที่ไม่ทำให้เกิดผลกระทบต่อการเจริญและการตายของหอยหวานในการทดลองดังกล่าว

ส่วนการเปลี่ยนแปลงของปริมาณสารพิษที่เติมลงไปในแต่ละตู้ภายในน้ำทะเล ดินตะกอนส่วนบนและตะกอนส่วนล่าง รวมทั้งการสะสมและการย่อยสลายในหอยหวานเมื่อทำการทดลองใส่สาร TBT, DBT หรือ MBT ที่ความเข้มข้นที่แตกต่างกันคือ 5 หรือ 10 ug/L พบว่า TBT ทั้ง 2 ความเข้มข้นเกิดการย่อยสลายและเคลื่อนย้ายจากในน้ำทะเลไปยังส่วนดินตะกอนส่วนบนหรือดินตะกอนส่วนล่างโดยผลการทดลองที่พบคือมีปริมาณสารที่ลดลงอย่างรวดเร็วและเกิดการสะสมของสาร metabolites คือ DBT และ MBT ดังแสดงในรูปที่ 12 และ 13 ส่วนตู้ที่เติมสาร DBT ในความเข้มข้นที่แตกต่างกันจะพบการย่อยสลายหรือการเคลื่อนย้ายสาร DBT ไปจากน้ำทะเลโดยจะพบการลดลงของสาร DBT ที่รวดเร็วและเกิดการสะสมของสาร MBT ดังแสดงในรูปที่ 14 และ 15 ในตู้ที่ใส่สาร MBT ในความเข้มข้นที่สูงคือ 10 ug/L จะพบว่าเกิดลดลงของสาร MBT ได้รวดเร็วกว่าในตู้ที่ใส่สาร MBT ในความเข้มข้นต่ำ (5 ug/L) ดังนั้นสรุปได้ว่าสาร TBT, DBT และ MBT มีความคงทนในน้ำทะเลได้น้อยและเกิดการย่อยสลายได้รวดเร็วกว่าการย่อยสลายจากการศึกษาของ Bryan และ Gibbs (1991) ที่ทำการศึกษาถึงค่าครึ่งชีวิตของสารประกอบไตรบิวทิลทินในน้ำทะเลนั้นจะมีค่า 3-8 วันในที่มีแสงและ 7-13 วันในที่มืด นอกจากนั้นยังพบว่าค่าครึ่งชีวิตของสารประกอบไตรบิวทิลทินมีแนวโน้มที่ยาวนานขึ้นเมื่ออุณหภูมิต่ำลงคือมีค่า 60 วันที่ 5 องศาเซลเซียส

ส่วนในชั้นดินตะกอนชั้นบนและชั้นล่างพบการสะสมของสารทั้ง 3 ชนิดโดยเริ่มต้นจากปริมาณที่ค่อนข้างสูงและค่อยๆ ลดลงตามระยะเวลาการทดลอง อาจจะเนื่องมาจากเกิดการย่อยสลายสารดังกล่าวในดินทั้งชั้นบนและชั้นล่างดังรายงานของ Dobson (1990) และเมื่อเปรียบเทียบการย่อยสลายของสาร TBT ในดินตะกอนพบว่าในการทดลองในครั้งนี้มีการย่อยสลายที่รวดเร็วกว่ารายงานของ Emund (1988) ที่พบว่าค่าครึ่งชีวิตของสารประกอบไตรบิวทิลทินในดินตะกอนในน้ำจืดมีค่าประมาณ 16 สัปดาห์ และ 23 สัปดาห์ สำหรับในน้ำเค็ม นอกจากนี้การย่อย

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

สลายของสารประกอบไตรบิวทิลทินในน้ำทะเลนั้นจะถูกสลายโดยแสงร่วมกับสารประกอบไนเตรตโดยค่าครึ่งชีวิตของสารประกอบไตรบิวทิลทินจะมีค่าประมาณ 3-8 วัน ในที่ที่มีแสงและประมาณ 7-13 วันในที่มืด ค่าครึ่งชีวิตมีแนวโน้มที่ยาวนานขึ้นเมื่ออุณหภูมิต่ำลงคือมีค่าประมาณ 60 วัน ณ ที่ 5 องศาเซลเซียส (Bryan และ Gibbs, 1991)

การสะสมของสารทั้ง 3 ชนิดนี้ในหอยหวานที่ทดลองก็พบว่ามีการสะสมในปริมาณที่น้อยมากเมื่อเปรียบเทียบกับปริมาณที่สะสมในดินตะกอนชั้นบนและชั้นล่างรวมทั้งในน้ำทะเล ซึ่งสอดคล้องกับ Alzicu et al. (1989) ที่พบปริมาณบิวทิลทิน ณ บริเวณท่าเรือชายฝั่งแอตแลนติกของประเทศฝรั่งเศส ในปี ค.ศ. 1986-1987 ในหอยนางรมและบริเวณพื้นที่ที่ทำการเพาะเลี้ยงที่พบว่าปริมาณ TBT ตั้งแต่น้อยกว่า 2-1,500 ng l^{-1} DBT ตั้งแต่น้อยกว่า 1-194 ng l^{-1}และ MBT ตั้งแต่น้อยกว่า 1-200 ng l^{-1} รวมทั้งKan-atireklap et al. (1997) พบว่ามีการปนเปื้อนของสารประกอบบิวทิลทินในหอยแมลงภู่ (*Perna viridis*) จากบริเวณชายฝั่งทะเลประเทศไทยในช่วง ปี ค.ศ. 1994-1995 พบสารประกอบ TBT, DBT, MBT ในหอย 2 ฝา ในปริมาณ 4-800 ng g^{-1}(wet weight) โดยพบว่าปริมาณ TBT > DBT > MBT

ในขณะเดียวกันสาร TBT, DBT และ MBT สามารถทำให้เกิด imposex ในหอยหวานได้แต่แตกต่างกันขึ้นอยู่กับชนิดของสาร จากการเปรียบเทียบพบว่าสาร TBT มีความเป็นพิษที่ทำให้เกิด imposex ได้สูงสุดและรองลงมาคือสาร MBT และ DBT ซึ่งสอดคล้องกับรายงานที่ผ่านมาพบว่าสาร TBT ในปริมาณน้อยๆ ก็สามารถทำให้เกิด imposex ในสัตว์ชนิดต่างๆ (Birchenough et al., 2002) ยกตัวอย่างเช่น ทำให้เกิด imposex ใน *Nucella lapillus* (L.) (Bryan et al., 1986) dogwhelk *Lepsiella scobina* (Smith, 1996) และใน commercial snail *Bolinus brandaris* ที่พบในเขตตะวันตกเฉียงเหนือในทะเลเมดิเตอร์เรเนียน (Solé et al., 1998)

จากการทดลองในครั้งนี้ได้ทำการศึกษาโดยใช้ความเข้มข้น 5 และ 10 ug/L และพบว่าทั้ง 2 ความเข้มข้นนี้สามารถทำให้เกิด imposex ได้เนื่องจากสาเหตุของการ Imposex เกิดจากการได้รับสารประกอบบิวทิลทินเข้าไปในจำนวนหนึ่งเป็นเวลานาน ทำให้เกิดความผิดปกติเกิดมี Pseudo penis ในหอยเพศเมียและยังพบการเกิด imposex ในหอยชนิดอื่น ยกตัวอย่างเช่น จากการรายงานของ Bryan et al. (1986) พบการ Imposex ในหอยทาก (*Nucella lapillus*) บริเวณพื้นที่ที่อยู่ใกล้ท่าเรือหรือบริเวณที่มีกิจกรรมทางเรือ ส่วน Tan (1997) ได้รายงานว่าพบการ Imposex ในหอยถึง 3 species ในประเทศสิงคโปร์ คือ *Thais bitubercularis* , *T. clavigera* และ *T. jubilaea*

สาร TBT ในความเข้มข้นต่ำจะทำให้เกิด imposex ได้มากกว่าสาร TBT ในความเข้มข้นสูงกว่าซึ่งผลการทดลองที่ได้เช่นนี้ทำให้เกิดความกังวลเกี่ยวกับปริมาณของสาร TBT และสาร metabolites ที่พบในสิ่งแวดล้อมในทะเลโดยเฉพาะอย่างยิ่งในบางบริเวณของทะเลที่พบสาร

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ดังกล่าว ยกตัวอย่างเช่น Kan-Atireklap et al. (1997) ได้รายงานว่าพบการปนเปื้อนของสารประกอบไตรบิวทิลทิน, ไดบิวทิลทินและโมโนบิวทิลทินในดินตะกอนบริเวณชายฝั่งทะเลของประเทศไทยในปริมาณ 7-410, 2-1,900 และ 4-4,500 ng g^{-1} (น้ำหนักแห้ง) ตามลำดับ นอกจากนั้นพบว่าความเข้มข้นของสาร DBT และ MBT ที่แตกต่างกันในการทดลองนี้ต่างก็สามารถกระตุ้นให้หอยหวานเกิด imposex ในอัตราที่ไม่แตกต่างกัน

ดังนั้นสามารถสรุปได้ว่าจากตู้ทดลองที่มีการปนเปื้อนด้วยสาร TBT, DBT หรือ MBT จะพบว่าเกิดการสะสมอยู่ในส่วนดินตะกอนในชั้นบนและล่างได้มากกว่าการสะสมในน้ำทะเลและสะสมน้อยมากในเนื้อหอย ซึ่งสารดังกล่าวน่าจะมีความสามารถในการดูดซับกับส่วนประกอบของดินและดินตะกอน (Kram et al., 1989; Langson and Pope, 1995; Hoch et al., 2002) ส่วน clay minerals (Weidenhaupt et al., 1997) หรือส่วนออกไซด์และไฮดรอกไซด์ (Randall and Weber, 1986) รวมทั้งสารอินทรีย์ในดิน (Poerschmann et al., 1997; Arnold et al., 1998) และสามารถสรุป fate ของ TBT ในทะเลได้คือ เกิดการเปลี่ยนเป็นสาร DBT และต่อไปเป็นสาร MBT ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Hoch et al. (2003)

จากผลการทดลองในครั้งนี้ทำให้ต้องตระหนักถึงการปนเปื้อนของสารกลุ่ม TBT, DBT และ MBT ในแหล่งน้ำทะเลหรือแหล่งน้ำจืดเนื่องจากสารทั้ง 3 ชนิดเกิดการย่อยสลายในน้ำทะเลและในดินตะกอนทั้งชั้นบนและชั้นล่างก็ตามแต่ยังมีการสะสมในหอยหวานและทำให้เกิด imposex ซึ่งอาจจะก่อให้เกิดผลกระทบต่อจำนวนของหอยหวานที่เป็นอาหารของมนุษย์ รวมทั้งอาจจะทำให้เกิดผลกระทบในระยะยาวต่อคนที่บริโภคหอยหวานดังกล่าว นอกจากนั้นน่าจะทำให้ตระหนักต่อไปยังผลกระทบต่อสัตว์น้ำชนิดอื่นๆ ซึ่งจะทำให้เกิดผลกระทบต่อมนุษย์ทั้งทางตรงและทางอ้อมในที่สุด ดังนั้นน่าจะมีมาตรการณ์ในการป้องกันและแก้ไขปัญหาดังกล่าวก่อนที่จะเกิดผลเสียที่ยากต่อการแก้ไขในอนาคตต่อไป

เอกสารอ้างอิง (References)

นิพนธ์ ศิริพันธ์ และจรัญ วงษ์วิวัฒนาวุฒิ. 2543. วารสารการประมง. ปีที่ 53 ฉบับที่ 4 เดือนกรกฎาคม- สิงหาคม. หน้า 348-361.

Alzieu,Cl., Sanjuan, J., Michel, P., Borel, M. and Dreno, J.P. 1989. Monitoring and Assessment of Butyltins in Atlantic Coastal Waters. Marine Pollution Bulletin 20(1) : 22-25.

Arnold, C.G., Ciani, A., Müller, S.R., Amirbahman, A. and Schwarzenbach, R.P., 1998. Association of triorganotin compounds with dissolved humic acids. Environmental Science and Technology 32: 2976–2983

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

Bech, M. 1999. Increasing levels of Tributyltin-induced Imposex in Muricid Gastropods at Phuket Island, Thailand. Applied Organometallic Chemistry. 13 : 799-804.

Birchenough, A. C, S. M. Evans, C. Moss and R. Welch. 2002 Re-colonisation and recovery of populations of dogwhelks *Nucella lapillus* (L.) on shores formerly subject to severe TBT contamination. Marine Pollution Bulletin 44 (7): 652-659.

Bryan, G.W. and Gibbs, P.E. 1991. Impact of low concentration of tributyltin (TBT) on marine organisms :A Review. Metal Ecotoxicology : Concept and Application. Eds M.C. Newman & A.W. Mclntosh, Lewis Publisher Inc. Boston. 323-361.

Bryan G.W., P.E. Gibbs, L.G. Hummerstone and G.R. Burt. 1986 The decline of the gastropod Nucella lapillus around South-West England: evidence for the effect of tributyltin from antifouling paints. Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom 66: 611–640.

Cockerham, L.G., and Shane, B.S. 1994. Impacts of Xenobiotics on Estuarine Ecosystems : Basic Environmental Toxicology. CRC Press, Inc. USA. 385-409.

Connell, D., Lam,P., Richardson, B. and Wu, R. 1999. Ecotoxicology and Management of Chemicals : Introduction to Ecotoxicology. Blackwell Science Ltd. Australia. 156-164.

Dobson, S. 1990. Tribtyltin compounds. World Health Organization. Finland. pp. 273

Emund, M.N. 1988. Ambient water quality criteria for tributyltin center for Lake Superior Environmental Studies , University of Wiscosin-Suprior Environmental Studies. pp. 71.

Hoch, M., Alonso-Azcarate, J. and Lischick, M., 2002. Adsorption behavior of toxic tributyltin to clay-rich sediments on various environmental conditions. Environmental Toxicology and Chemistry 21: 1390–1397

Hoch, M., Alonso-Azcarate, J. and Lischick, M., 2003. Assessment of adsorption behavior of dibutyltin (DBT) to clay-rich sediments in comparison to the highly toxic tributyltin (TBT). Environmental Pollution 123(2) : 217-227.

Harino, H., Fukushima, M., Kurokawa, Y. and Kawai, S. 1998. Degradation of the tributyltin compounds by the microorganisms in water and sediment collected from the harbour area of Osaka city, Japan. Environmental Pollution 98(2) : 163-167.

Iwata, H., Tanabe, S., Miyazaki, N. and Tatsukawa, R. 1994. Detection of butyltin compound

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

residues in the blubble of marine mammals. Marine Pollution Bulletin 28(10) : 607-612.

Kan-artireklap, S., Tanabe, S., Sanguansin , J., Tabucanon, M.S. and Hungspreugs, M. 1997. Contamination by butyltin compounds and organochlorine residues in green mussel (*Perna viridis*, L.) from Thailand coastal waters. Environmental Pollution 97(1-2) : 79-89.

Kim G.B, S. Tanabe, R. Iwakiri, R. Tatsukawa, M. Amono, N. Miyazaki and H. Tanaka. 1996 Accumulation of butyltin compounds in Risso's dolphin (Grampus griseus) from the Pacific Coast of Japan: comparison with organochlorine residue pattern. Environmental Science and Technology 30: 2620–2625.

Kram M.L., Stang, P.M. and Seligman, P.F., 1989. Adsorption and desorption of tributyltin in sediments of San Diego Bay and Pearl Harbor. Applied Organometallic Chemistry 3: 523–536.

Langston, W.J. and Pope, N.D., 1995. Determinants of TBT adsorption and desorption in estuarine sediments. Marine Pollution Bulletin 31: 32–43

Lee, R.F., Aldis, O.V. and Peter, F.S. 1987. Fate of tributyltin in esturine waters. Oceans 87 Proceedings. Washington D.C. 1411-1415.

Poerschmann, J., Kopinke, F.D. and Pawliszyn, J., 1997. Solid phase microextraction to study the sorption of organotin compounds onto particulate and dissolved humic organic matter. Environmental Science and Technology 31, pp. 3629–3636

Randall, L. and Weber, J.H., 1986. Adsorptive behavior of butyltin compounds under simulated estuarine conditions. Science of the Total Environment 57: 191–203

Smith, PJ. 1996 Selective decline in Imposex levels in the dogwhelk Lepsiella scobina following a ban on the use of TBT antifoulants in New Zealand. Mar Pollut Bull 32: 362–365.

Solé M, Y. Morcillo and C. Porte. 1998 Imposex in the commercial snail Bolinus brandaris in the northwestern Mediterranean. Environ Pollut 99 (2): 241–246.

Tan, K.S. 1997. Imposex in Three Species of *Thais* From Singapore, with Additional Observations on *T. clavigera* (Kuster) from Japan. Marine Pollution Bulletin. 34(7) : 577-581.

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

Thain, J.E., Waldock, M.J. and Waite, M.E. 1987. Toxicity and degradation studies of tributyltin (TBT) and Dibutyltin (DBT) in the aquatic environment. Oceans 87 Proceedings. Washington D.C. 1398-1404.

Waldock, M.J., Thain, J.E., Smith, D. and Mitton, S. 1990. The degradation of TBT in estuarine sediment. Proceedings of the 3[th] international organotin symposium. Monaco. 46-48.

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ภาคผนวก ก
สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

1. สารเคมีที่ใช้วิเคราะห์แอมโมเนีย

1.1 Alkaline stock solution

ใช้ Sodium citrate 100 กรัม กับ Sodium hydroxide (NaOH) 5 กรัม ละลายในน้ำกลั่น จนได้ปริมาตรครบ 0.5 ลิตร

1.2 Oxidizing reagent

ใช้ Alkaline stock solution 4 ส่วน ผสมกับ Hypochlorite stock 1 ส่วน สารละลายนี้เตรียมเมื่อต้องการจะใช้ในแต่ละครั้ง แล้วเก็บไว้ในขวดทึบแสงปิดฝาให้สนิทจนกระทั่งถึงเวลาใช้

1.3 Sodium nitroprusside reagent

ใช้ Sodium nitroprusside 1 กรัม ละลายในน้ำกลั่น จนได้ปริมาตร 0.2 ลิตร

1.4 Phenol reagent

ใช้ Phenol 100 กรัม ละลายในเอทธิลแอลกอฮอล์ 95% จนได้ปริมาตรครบ 1 ลิตร

2. สารเคมีที่ใช้วิเคราะห์ไนไตรท์

2.1 Sulphanilamide solution

ค่อยๆ รินกรด HCL เข้มข้น 0.1 ลิตร ลงในบีกเกอร์ที่มีน้ำกลั่น 0.3 ลิตร คนให้เข้ากัน ชั่ง Sulphanilamide 5 กรัม แล้วนำมาละลายในสารละลายกรด แล้วเติมน้ำกลั่นจนได้ปริมาตรครบ 0.5 ลิตร

2.2 N – 1 – (naphthyl) ethylenediamine dihydrochloride (NNED)

ใช้ NNED 0.5 กรัม ละลายในน้ำกลั่น จนได้ปริมาตรครบ 0.5 ลิตร จะได้สารละลายสีชมพูจางๆ หรือไม่มีสี เก็บสารละลายในขวดสีน้ำตาล ถ้าสารละลายเปลี่ยนสีชมพู หรือน้ำตาลเข้มต้องเตรียมใหม่

3. สารเคมีที่ใช้วิเคราะห์ไนเตรท

3.1 สารละลายโซเดียมอาร์เซไนต์

ละลายโซเดียมอาร์เซไนต์ 5 กรัม ในน้ำกลั่นแล้วเติมน้ำกลั่นจนได้ปริมาณเป็น 1 ลิตร

3.2 สารละลายบรูซีน – กรดซัลฟานิลิก

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ละลายบรูซีน 1 กรัม และกรดซัลฟานิลิก 0.1 กรัม ในน้ำร้อนประมาณ 70 ml แล้วใส่กรดเกลือเข้มข้น 3 ml ทิ้งให้เย็น เติมน้ำกลั่นจนได้ปริมาตรเป็น 100 ml สารละลายนี้จะคงตัวอยู่ได้นานหลายเดือน ถ้ามีสีชมพูขึ้นก็ไม่กระทบกระเทือนต่อปฏิกิริยา

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ภาคผนวก ข
การเตรียมสารละลายมาตรฐานแอมโมเนียและกราฟมาตรฐาน

การเตรียมสารละลายแอมโมเนียมาตรฐาน เตรียมในขวดปรับปริมาตร 100 มิลลิลิตร โดยนำ Ammoniam chloride ไปเตรียมสารละลายสต๊อกแอมโมเนีย โดยละลายแอมโมเนียมคลอไรด์ 3.818 กรัม ในน้ำกลั่นจนได้ปริมาตรครบ 1 ลิตร ไปเตรียมสารละลายที่ความเข้มข้นต่างๆ

ตารางที่ 1 แสดงการเตรียมสารละลายมาตรฐานแอมโมเนียที่ความเข้มข้นต่างกันปริมาตร 100 ml จากสารละลายสต๊อกแอมโมเนีย

ความเข้มข้น (ppb)	ปริมาตรสารละลายแอมโมเนีย (ml)
100	0.01
200	0.02
500	0.05
700	0.07
900	0.09

เติมลงในขวดปรับปริมาตรและเติมน้ำกลั่นจนมีปริมาตรเป็น 100 ml นำสารละลายมาตรฐานแอมโมเนียที่ได้ไปวิเคราะห์หาปริมาณของแอมโมเนียตามวิธีของไมตรี และจารุวรรณ และนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 640 นาโนเมตร แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของแอมโมเนียและค่าการดูดกลืนแสงดังตารางที่ 3

ตารางที่ 2 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของแอมโมเนียและค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาว
คลื่น 640 นาโนเมตร

ความเข้มข้นของแอมโมเนีย (ppb)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น (640 nm)
100	0.059
200	0.127
500	0.428
700	0.556
900	0.856

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

การเตรียมสารละลายมาตรฐานไนไตรท์และกราฟมาตรฐาน

การเตรียมสารละลายไนไตรท์มาตรฐาน เตรียมในขวดปรับปริมาตร 100 มิลลิลิตร โดยนำ Sodium nitrite ไปเตรียมสารละลายสต๊อกไนไตรท์ โดยละลาย Sodium nitrite 0.4926 กรัม ในน้ำกลั่นจนได้ปริมาตรครบ 1 ลิตร ไปเตรียมสารละลายที่ความเข้มข้นต่างๆ

ตารางที่ 3 แสดงการเตรียมสารละลายมาตรฐานไนไตรท์ ที่ความเข้มข้นต่างกันปริมาตร 100 ml จากสารละลายสต๊อกไนไตรท์

ความเข้มข้น (ppb)	ปริมาตรสารละลายไนไตรท์ (ml)
10	0.01
20	0.02
50	0.05
100	0.1
200	0.2

เติมลงในขวดปรับปริมาตรและเติมน้ำกลั่นจนมีปริมาตรเป็น 100 ml นำสารละลายมาตรฐานไนไตรท์ ที่ได้ไปวิเคราะห์หาปริมาณของไนไตรท์ ตามวิธีของไมตรี และจารุวรรณ และนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 543 นาโนเมตร แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของไนไตรท์ และค่าการดูดกลืนแสงดังตารางที่ 5

ตารางที่ 4 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของไนไตรท์ และค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาว

คลื่น 543 นาโนเมตร

ความเข้มข้นของไนไตรท์ (ppb)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น (543 nm)
10	0.075
20	0.10
50	0.295
100	0.355
200	0.68

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

190654

การเตรียมสารละลายมาตรฐานไนเตรทและกราฟมาตรฐาน

การเตรียมสารละลายไนเตรทมาตรฐาน เตรียมในขวดปรับปริมาตร 250 มิลลิลิตร โดยนำ Potassium nitrate ไปเตรียมสารละลายสต๊อกไนเตรท โดยละลาย Potassium nitrate 0.2528 กรัม ในน้ำกลั่นจนได้ปริมาตรครบ 250 มิลลิลิตร ไปเตรียมสารละลายที่ความเข้มข้นต่างๆ

ตารางที่ 5 แสดงการเตรียมสารละลายมาตรฐานไนเตรท ที่ความเข้มข้นต่างกันปริมาตร 250 ml จากสารละลายสต๊อกไนเตรท

ความเข้มข้น (ไมโครกรัม)	ปริมาตรสารละลายไนเตรท (ml)
2	0.01
4	0.02
6	0.05
8	0.1
10	0.2

เติมลงในขวดปรับปริมาตรและเติมน้ำกลั่นจนมีปริมาตรเป็น 250 ml นำสารละลายมาตรฐานไนเตรท ที่ได้ไปวิเคราะห์หาปริมาณของไนเตรท ตามวิธีของธงชัย และอุษา (2535) และนำไปวัดค่า %T ที่ 410 นาโนเมตร แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของไนเตรท และค่าการดูดกลืนแสงดังตารางที่ 7

ตารางที่ 6 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของไนเตรท และค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 410 นาโนเมตร

ความเข้มข้นของไนเตรท (ppb)	%T (410 nm)
2	96.37
4	88.23
6	79.07
8	78.4
10	73.63

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University