ใบรับรองวิทยานิพนธ์
บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เทคโนโลยีและการจัดการสิ่งแวดล้อม)

ปริญญา

เทคโนโลยีและการจัดการสิ่งแวดล้อม | เทคโนโลยีและการจัดการสิ่งแวดล้อม

สาขา | **ภาควิชา**

เรื่อง ผลของอนุภาคเงินขนาดนาโนและซิลเวอร์ไนเทรตต่อการงอกของเมล็ดและการเจริญเติบโตของถั่วเขียว (*Vigna radiata* (L.) R. Wilczek) พันธุ์ชัยนาท 72

Effects of Silver Nanoparticles and Silver Nitrate on Seed Germination and Growth of Mung Bean (*Vigna radiata* (L.) R. Wilczek) cv. Chai Nat 72

นามผู้วิจัย นางสาวอรปวีณ์ กูลศิริศรีตระกูล

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก ....

(รองศาสตราจารย์ตุลวิทย์ สถาปนจารุ, Ph.D.)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ....

(อาจารย์จตุพร กุลอึ้ง, Ph.D.)

หัวหน้าภาควิชา ....

(รองศาสตราจารย์ตุลวิทย์ สถาปนจารุ, Ph.D.)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์รับรองแล้ว

....

(รองศาสตราจารย์กัญจนา ธีระกุล, D.Agr.)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่ .... **เดือน** .... **พ.ศ.** ....

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยานิพนธ์

เรื่อง

ผลของอนุภาคเงินขนาดนาโนและซิลเวอร์ไนเทรตต่อการงอกของเมล็ดและการเจริญเติบโตของถั่วเขียว (*Vigna radiata* (L.) R. Wilczek) พันธุ์ชัยนาท 72

Effects of Silver Nanoparticles and Silver Nitrate on Seed Germination and Growth of Mung Bean (*Vigna radiata* (L.) R. Wilczek) cv. Chai Nat 72

โดย

นางสาวอรปวีณ์ กูลศิริศรีตระกูล

เสนอ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เทคโนโลยีและการจัดการสิ่งแวดล้อม)
พ.ศ. 2557

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

อรปวีณ์ กูลศิริศรีตระกูล 2557: ผลของอนุภาคเงินขนาดนาโนและซิลเวอร์ไนเทรตต่อการงอกของเมล็ดและการเจริญเติบโตของถั่วเขียว (*Vigna radiata* (L.) R. Wilczek) พันธุ์ชัยนาท 72 ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เทคโนโลยีและการจัดการสิ่งแวดล้อม) สาขาเทคโนโลยีและการจัดการสิ่งแวดล้อม ภาควิชาเทคโนโลยีและการจัดการสิ่งแวดล้อม อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: รองศาสตราจารย์ตุลวิทย์ สถาปนจารุ, Ph.D. 82 หน้า

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาผลของอนุภาคเงินขนาดนาโน (AgNPs) และซิลเวอร์ไนเทรต ($AgNO_3$) ต่อการงอกของเมล็ดและการเจริญเติบโตของถั่วเขียว (*Vigna radiata* (L.) R. Wilczek) พันธุ์ชัยนาท 72 ผลการทดสอบการงอกของเมล็ดที่แช่ในน้ำกลั่น น้ำกลั่นผสม AgNPs ที่ความเข้มข้น 1-2000 mg/L และสารละลาย $AgNO_3$ ที่ความเข้มข้น 1-30 mg/L เป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่าดัชนีการงอกของเมล็ดลดลงเมื่อความเข้มข้นของ AgNPs และ $AgNO_3$ เพิ่มขึ้น ยิ่งไปกว่านั้น $AgNO_3$ ยังส่งผลต่อการงอกของเมล็ดและลักษณะสัณฐานวิทยาของต้นอ่อนได้มากกว่า AgNPs ในการทดสอบการเจริญเติบโตของต้นถั่วเขียวจากเมล็ดที่แช่ในน้ำกลั่นเปรียบเทียบกับเมล็ดที่แช่ในน้ำกลั่นผสม AgNPs ที่ความเข้มข้น 30-200 mg/L เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 65 วัน พบว่าการเจริญเติบโตมีแนวโน้มลดลงในชุดทดลองถั่วเขียวปลูกจากเมล็ดที่แช่ในความเข้มข้นของ AgNPs ที่เพิ่มขึ้น อีกทั้งพบการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยา การลดลงของมวลชีวภาพ และการสะสมธาตุเงินมากที่สุดในส่วนของราก และเมื่อทดสอบการเจริญเติบโตของต้นถั่วเขียวที่ปลูกในทรายคัดขนาด และทรายคัดขนาดผสม AgNPs หรือ $AgNO_3$ ที่ความเข้มข้น 0.5-15 mg/kg พบว่า การเจริญเติบโตมีแนวโน้มลดลงเมื่อปลูกในทรายคัดขนาดปนเปื้อนที่มีความเข้มข้นของ AgNPs หรือ $AgNO_3$ ที่สูงขึ้น และพบการสะสมของธาตุเงินในรากสูงที่สุดในทั้งสองชุดการทดลอง

______________________ ลายมือชื่อนิสิต

______________________ ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

___/___/___

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Onpawee Kulsirisretrakul 2014: Effects of Silver Nanoparticles and Silver Nitrate on Seed Germination and Growth of Mung Bean (*Vigna radiata* (L.) R. Wilczek) cv. Chai Nat 72. Master of Science (Environmental Technology and Management), Major Field: Environmental Technology and Management, Department of Environmental Technology and Management. Thesis Advisor: Associate Professor Tunlawit Satapanajaru, Ph.D. 82 pages.

This research was to study the effects of silver nanoparticles (AgNPs) and silver nitrate ($AgNO_3$) on seed germination and growth of mung bean (*Vigna radiata* (L.) R. Wilczek) cv. Chai Nat 72. The results of the test of seed germination from seeds soaked in distilled water, AgNPs (1-2000 mg/L) and $AgNO_3$ (1-30 mg/L) had shown that the germination index decreased as the concentrations of AgNPs and $AgNO_3$ increased. In addition, seed germination, and morphology of mung bean seedling were more affected by $AgNO_3$. The test of growth of mung bean from seeds soaked in distilled water or AgNPs (30-200 mg/L) for 24 hours was performed for 65 days. The results indicated that the growth of mung bean from seeds soaked in AgNPs trended to decrease in the treatments that mung beans were planted by seeds soaked at higher concentration. Moreover, the changed of morphology, decrease of biomass and the maximum accumulation of silver were found in the mung bean root. The test of the growth of mung bean planted in sand and sand mixed with AgNPs or $AgNO_3$ (0.5-15 mg/kg) was done. The results showed that the growth of mung bean decreased at higher concentration of AgNPs and $AgNO_3$. The maximum silver accumulation was found in the mung bean root in both treatments.

________________________ ________________________ ___/___/___

Student’s signature Thesis Advisor’s signature

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณ รศ.ดร.ตุลวิทย์ สถาปนจารุ อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก และดร.จตุพร กุลอึ้ง อาจารย์ที่ปรึกษาร่วมที่ให้คำปรึกษาในเรื่องการเรียน การค้นคว้าวิจัย คำแนะนำเกี่ยวกับงานวิจัยในเรื่องต่างๆ ตลอดจนการตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์จนกระทั่งเสร็จสมบูรณ์

ขอขอบคุณบัณฑิตวิทยาลัยและภาควิชาเทคโนโลยีและการจัดการสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ที่มอบทุนสำหรับงานวิจัย และขอขอบคุณคณะวิทยาศาสตร์ที่เอื้อเฟื้อสถานที่และอุปกรณ์ รวมทั้งเจ้าหน้าที่ประจำห้องปฏิบัติการที่คอยให้คำแนะนำและความช่วยเหลือในการดำเนินงานวิจัย

ด้วยความดีหรือประโยชน์อันใดเนื่องจากวิทยานิพนธ์เล่มนี้ขอมอบแด่คุณพ่อ คุณแม่ที่ได้อบรมและให้กำลังใจผู้วิจัยมาตลอดในทุกเรื่อง

อรปวีณ์ กูลศิริศรีตระกูล

ธันวาคม 2557

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สารบัญ

หน้า

สารบัญ	(1)
สารบัญตาราง	(2)
สารบัญภาพ	(3)
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	3
การตรวจเอกสาร	4
อุปกรณ์และวิธีการ	25
อุปกรณ์	25
วิธีการ	27
ผลและวิจารณ์	34
สรุปและข้อเสนอแนะ	63
สรุป	63
ข้อเสนอแนะ	65
เอกสารและสิ่งอ้างอิง	66
ภาคผนวก	76
ประวัติการศึกษาและการทำงาน	82

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	ผลของอนุภาคเงินขนาดนาโนที่ความเข้มข้นต่างๆ ต่อการงอกสัมพัทธ์ ความยาวรากสัมพัทธ์ และดัชนีการงอกของเมล็ดถั่วเขียวพันธุ์ชัยนาท 72 ที่ 5 วัน	35
2	ผลของซิลเวอร์ไนเทรตที่ความเข้มข้นต่างๆ ต่อการงอกสัมพัทธ์ ความยาวรากสัมพัทธ์ และดัชนีการงอกของเมล็ดถั่วเขียวพันธุ์ชัยนาท 72 ที่ 5 วัน	39
3	ปริมาณของธาตุเงิน (Ag) ที่สะสมในส่วนต่างๆ ของต้นถั่วเขียว อายุ 65 วัน ที่เจริญจากเมล็ดที่แช่ในน้ำกลั่นผสมอนุภาคเงินขนาดนาโนความเข้มข้น 200 mg/L	48
4	ปริมาณของธาตุเงิน (Ag) ที่สะสมในส่วนต่างๆ ของต้นถั่วเขียว อายุ 65 วัน ที่ปลูกในทรายคัดขนาดผสมอนุภาคเงินขนาดนาโนความเข้มข้น 15 mg/kg	55
5	ปริมาณของธาตุเงิน (Ag) ที่สะสมในส่วนต่างๆ ของต้นถั่วเขียว อายุ 65 วัน ที่ปลูกในทรายคัดขนาดผสมซิลเวอร์ไนเทรตความเข้มข้น 15 mg/kg	60
6	ปัจจัยการลำเลียงของธาตุเงิน (Ag) ของส่วนต่างๆ ของต้นถั่วเขียว อายุ 65 วัน ที่ปลูกในทรายคัดขนาดผสมอนุภาคเงินขนาดนาโน (AgNPs) และ ปลูกในทรายคัดขนาดผสมซิลเวอร์ไนเทรต ($AgNO_3$) ความเข้มข้น 15 mg/kg	62

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	โครงสร้างของเมล็ดถั่วเขียว	16
2	การงอกแบบใบเลี้ยงอยู่เหนือดิน (epigeal germination) ของเมล็ดถั่วเขียว	17
3	ส่วนประกอบของใบถั่วเขียวพันธุ์ชัยนาท 72	17
4	ส่วนประกอบของดอกถั่วเขียวพันธุ์ชัยนาท 72	18
5	ลักษณะของฝักถั่วเขียวพันธุ์ชัยนาท 72	19
6	การวัดความยาวราก ลำต้น และใบของต้นถั่วเขียว อายุ 5 วัน	28
7	ลักษณะต้นกล้าของเมล็ดถั่วเขียวที่งอก (ก) และเมล็ดถั่วเขียวที่ไม่งอก (ข)	28
8	Lethal Concentration, 50 Percent (LC_{50}) การงอกของเมล็ดถั่วเขียวพันธุ์ชัยนาท 72 โดยแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าโปรบิทและความเข้มข้นของอนุภาคเงินขนาดนาโน	36
9	Lethal Concentration, 50 Percent (LC_{50}) ดัชนีการงอกของต้นถั่วเขียวพันธุ์ชัยนาท 72 โดยแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าโปรบิทและความเข้มข้นของอนุภาคเงินขนาดนาโน	36
10	ลักษณะสัณฐานวิทยาของต้นถั่วเขียว อายุ 5 วัน ที่เจริญจากเมล็ดที่ผ่านการแช่ในน้ำกลั่น (control) และในน้ำกลั่นผสมอนุภาคเงินขนาดนาโน (AgNPs) ที่ความเข้มข้น 1 30 200 800 1600 1800 และ 2000 mg/L	37
11	Lethal Concentration, 50 Percent (LC_{50}) การงอกของเมล็ดถั่วเขียวพันธุ์ชัยนาท 72 โดยแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าโปรบิทและความเข้มข้นของซิลเวอร์ไนเทรต	40
12	Lethal Concentration, 50 Percent (LC_{50}) ดัชนีการงอกของต้นถั่วเขียวพันธุ์ชัยนาท 72 โดยแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าโปรบิทและความเข้มข้นของซิลเวอร์ไนเทรต	40
13	ลักษณะสัณฐานวิทยาของต้นถั่วเขียว อายุ 5 วัน ที่เจริญจากเมล็ดที่ผ่านการแช่ในน้ำกลั่น (control) และในน้ำกลั่นผสมซิลเวอร์ไนเทรต ($AgNO_3$) ที่ความเข้มข้น 1 5 10 15 และ 30 mg/L	41

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
14	รากของต้นถั่วเขียว อายุ 65 วัน ที่เจริญจากเมล็ดที่ผ่านการแช่ในน้ำกลั่น (control) และในน้ำกลั่นผสมอนุภาคเงินขนาดนาโน (AgNPs) ที่ความเข้มข้น 200 mg/L	44
15	มวลชีวภาพของส่วนต่างๆ ของต้นถั่วเขียวที่เจริญจากเมล็ดที่ผ่านการแช่ในน้ำกลั่น (control) และที่เจริญจากเมล็ดที่ผ่านการแช่ในน้ำกลั่นผสมอนุภาคเงินขนาดนาโน (AgNPs) ความเข้มข้น 30 45 60 100 และ 200 mg/L ที่เพาะเลี้ยงนาน 65 วัน (ก) ราก (ข) ลำต้น (ค) ใบ (ง) ยอด และ (จ) เมล็ด	46
16	ความสูงของต้นถั่วเขียวพันธุ์ชัยนาท 72 อายุ 65 วัน ที่เจริญจากเมล็ดที่ผ่านการแช่ในน้ำกลั่น (control) และในน้ำกลั่นผสมอนุภาคเงินขนาดนาโน (AgNPs) ที่ความเข้มข้น 30 45 60 100 และ 200 mg/L	47
17	รากของต้นถั่วเขียว อายุ 65 วัน ที่ปลูกในทรายคัดขนาด (control) และปลูกในทรายคัดขนาดผสมอนุภาคเงินขนาดนาโน (AgNPs) หรือซิลเวอร์ไนเทรต ($AgNO_3$) ที่ความเข้มข้น 15 mg/kg	50
18	มวลชีวภาพของส่วนต่างๆ ของต้นถั่วเขียวที่ปลูกในทรายคัดขนาด (control) และปลูกในทรายคัดขนาดผสมอนุภาคเงินขนาดนาโน (AgNPs) ความเข้มข้น 0.5 1 5 10 และ 15 mg/kg ที่เพาะเลี้ยงนาน 65 วัน (ก) ราก (ข) ลำต้น (ค) ใบ (ง) ยอด และ (จ) เมล็ด	52
19	ความสูงของต้นถั่วเขียวพันธุ์ชัยนาท 72 อายุ 65 วัน ที่ปลูกในทรายคัดขนาด (control) และปลูกในทรายคัดขนาดผสมอนุภาคเงินขนาดนาโน (AgNPs) ความเข้มข้น 0.5 1 5 10 และ 15 mg/kg	53
20	มวลชีวภาพของส่วนต่างๆ ของต้นถั่วเขียวที่ปลูกในทรายคัดขนาด (control) และปลูกในทรายคัดขนาดผสมซิลเวอร์ไนเทรต ($AgNO_3$) ความเข้มข้น 0.5 1 5 10 และ 15 mg/kg ที่เพาะเลี้ยงนาน 65 วัน (ก) ราก (ข) ลำต้น (ค) ใบ (ง) ยอด และ (จ) เมล็ด	57

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่ **หน้า**

21 ความสูงของต้นถั่วเขียวพันธุ์ชัยนาท 72 อายุ 65 วัน ที่ปลูกในทรายคัดขนาด (control) และปลูกในทรายคัดขนาดผสมซิลเวอร์ไนเทรต ($AgNO_3$) ความเข้มข้น 0.5 1 5 10 และ 15 mg/kg 58

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ผลของอนุภาคเงินขนาดนาโนและซิลเวอร์ไนเทรตต่อการงอกของเมล็ดและการเจริญเติบโตของถั่วเขียว (*Vigna radiata* (L.) R. Wilczek) พันธุ์ชัยนาท 72

Effects of Silver Nanoparticles and Silver Nitrate on Seed Germination and Growth of Mung Bean (*Vigna radiata* (L.) R. Wilczek) cv. Chai Nat 72

คำนำ

จากการพัฒนาทางอุตสาหกรรมทำให้อนุภาคขนาดนาโนมีบทบาทมากขึ้นโดยถูกประยุกต์ใช้ในกระบวนการผลิตทางอุตสาหกรรมหลายประเภท เช่น อุตสาหกรรมอิเล็กทรอนิกส์ อุตสาหกรรมสิ่งทอ อุตสาหกรรมเครื่องสำอาง และอุตสาหกรรมการแพทย์ เป็นต้น ซึ่งคาดว่าในปีพ.ศ. 2556 มูลค่าของผลิตภัณฑ์ที่เกี่ยวข้องกับนาโนเทคโนโลยีมีประมาณ 120000 ล้านบาท และมูลค่ารวมของผลิตภัณฑ์นาโนเทคโนโลยีในอีก 10 ปี ข้างหน้าจะสูงกว่า 40 ล้านล้านบาท (วิสันติ, ม.ป.ป.) จากแนวโน้มการพัฒนากระบวนการการผลิตที่เกี่ยวกับอนุภาคขนาดนาโนที่ขยายตัวเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วอาจส่งผลกระทบต่อเศรษฐกิจ สังคม สุขภาพ และก่อให้เกิดการปนเปื้อนสู่สิ่งแวดล้อม แต่การศึกษาความเป็นพิษของอนุภาคขนาดนาโนในประเทศไทยยังมีอยู่อย่างจำกัดและขาดมาตรการควบคุมผลิตภัณฑ์ที่มีอนุภาคขนาดนาโนเป็นส่วนประกอบ

นาโนเทคโนโลยีเป็นการนำอนุภาคขนาดนาโนหลากหลายรูปแบบมาใช้ให้เกิดประโยชน์ ซึ่งในปัจจุบันอนุภาคขนาดนาโนที่นิยมใช้มากที่สุด คือ อนุภาคเงินขนาดนาโน (Rajeski and Lekas, 2008) โดยอนุภาคเงินขนาดนาโนนิยมใช้เป็นสารต้านเชื้อจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์ต่างๆ โดยในขั้นตอนกระบวนการผลิต การนำไปใช้ หรือการกำจัดอนุภาคเงินขนาดนาโนซึ่งอาจถูกปนเปื้อนในดินหรือน้ำใต้ดิน (Zhang, 2003) ซึ่งมีผลกระทบโดยตรงต่อพืชเนื่องจากพืชเป็นผู้ผลิตขั้นต้นที่มีความสำคัญต่อระบบนิเวศ ทำให้พืชอาจเป็นทางผ่านสำหรับการลำเลียงและทำให้เกิดการสะสมอนุภาคเงินขนาดนาโนในสิ่งมีชีวิตภายในห่วงโซ่อาหาร (Zhu *et al*., 2008) เนื่องจากพืชอาจดูดน้ำ (uptake) ที่มีการปนเปื้อนของอนุภาคเงินขนาดนาโนไปเลี้ยงลำต้นและใบ เช่น ในการศึกษาของ Yin *et al*. (2011) พบว่าความเป็นพิษของอนุภาคเงินขนาดนาโนที่ความเข้มข้น 1-40 mg/L ส่งผลทำให้ความยาวและน้ำหนักรากของหญ้าไรน์ (*Lolium multiflurum*) ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ (P<0.05) อีกทั้งทำให้น้ำหนักยอดและรากลดลงถึง 24.6% และ 74.3% ตามลำดับ นอกจากนี้ความเป็นพิษ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ของอนุภาคเงินขนาดนาโนสามารถแสดงในระดับพันธุกรรม เช่น จากการศึกษาโครโมโซมบริเวณปลายรากของหอมหัวใหญ่ (*Allium cepa*) เมื่อรากสัมผัสกับอนุภาคเงินขนาดนาโนที่ความเข้มข้น 50 mg/L ทำให้บริเวณดังกล่าวเกิด chromosome bridge stickness และ disturbed metaphase อนุภาคเงินขนาดนาโนที่ความเข้มข้น 70 mg/L ทำให้เกิด multiple chromosome และอนุภาคเงินขนาดนาโนที่ความเข้มข้น 100 mg/L ทำให้เกิด cell wall disintegration (Kumari *et al*., 2009) ซึ่งที่สำคัญอนุภาคเงินขนาดนาโนและซิลเวอร์ไนเทรตสามารถส่งผลกระทบเชิงลบต่อสุขภาพของมนุษย์ เช่น จากการรายงานข่าวในประเทศสหรัฐอเมริกาพบผู้ป่วยเป็นโรค argyria เนื่องจากผู้ป่วยดังกล่าวดื่มน้ำซึ่งมีการปนเปื้อนของซิลเวอร์ไนเทรตทำให้ผิวหนังเปลี่ยนเป็นสีเงิน (Angier, 2008) อีกทั้งจากการศึกษาของ Choi and Hu (2008) รวมทั้ง Kim *et al*. (2009) พบว่าอนุภาคเงินขนาดนาโนสามารถกระตุ้นเซลล์ของสิ่งมีชีวิตให้ผลิต reactive oxygen species (ROS) ซึ่งเป็นอนุมูลอิสระที่ก่อให้เกิด oxidative stress และการตายของเซลล์ (Yin *et al*., 2006) เป็นสาเหตุทำให้เกิดโรคเรื้อรังต่างๆ เช่น โรคหลอดเลือดหัวใจแข็งตัว โรคลมปัจจุบัน ข้อต่ออักเสบ การแข็งตัวของเนื้อเยื่อซ้ำซ้อน และโรคอัลไซเมอร์ เป็นต้น (Adnan, 2010)

ถั่วเขียวเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศไทยอีกชนิดหนึ่ง โดยในปีพ.ศ. 2556 (ม.ค.-ก.ค.) ประเทศไทยมีการส่งออกถั่วเขียวประมาณ 527.57 ton หรือคิดเป็นมูลค่า 15.26 ล้านบาท ซึ่งส่วนใหญ่ส่งออกไปยังประเทศฟิลิปปินส์ อินเดีย และสิงคโปร์ ตามลำดับ (สำนักมาตรฐานสินค้านำเข้าส่งออก กรมการค้าต่างประเทศ, 2556) โดยถั่วเขียวถูกรับรองโดย Organization for Economic Co-operation and Development (OECD) และ American Society for Testing Materials (ASTM) ให้เป็นพืชที่เหมาะสมสำหรับการทดสอบความเป็นพิษเนื่องจากมีความอ่อนไหวต่อการปนเปื้อนความเป็นพิษ สามารถปลูกและดูแลได้ง่าย และมีระยะเวลาการเพาะปลูกค่อนข้างสั้น (Lee *et al*., 2012) ดังนั้นถั่วเขียวจึงถูกนำมาศึกษาผลของอนุภาคเงินขนาดนาโนและซิลเวอร์ไนเทรตต่อการงอกของเมล็ด การเจริญเติบโตของถั่วเขียวโดยเปรียบเทียบกับชุดควบคุมเพื่อสังเกตถึงการเปลี่ยนแปลง ซึ่งจากการศึกษาชี้ให้เห็นว่าถั่วเขียวเป็นพืชที่มีความสำคัญของห่วงโซ่อาหาร ดังนั้นจึงต้องมีการประเมินความเป็นพิษของอนุภาคเงินขนาดนาโนและซิลเวอร์ไนเทรตที่จะส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วัตถุประสงค์

เพื่อศึกษาความเป็นพิษของอนุภาคเงินขนาดนาโนและสารละลายซิลเวอร์ไนเทรตต่อการงอกของเมล็ด การเจริญเติบโต และลักษณะความผิดปกติทางสัณฐานวิทยาของถั่วเขียว (*Vigna radiata* (L.) R. Wilczek) พันธุ์ชัยนาท 72

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

การตรวจเอกสาร

1. สารพิษ

กรมควบคุมมลพิษ (2552) ให้ความหมายของสารพิษว่าเป็นสารหรือก๊าซใดๆ รวมทั้งแร่ธาตุหรือสารประกอบทางเคมีที่เกิดขึ้นเองตามธรรมชาติหรือจากการสังเคราะห์โดยมนุษย์ที่เมื่อเข้าสู่ร่างกายหรือสัมผัสผิวหนังหรืออวัยวะในปริมาณที่เพียงพอแล้วทำอันตรายต่อโครงสร้างและหน้าที่ของอวัยวะในร่างกาย โดยอันตรายมากหรือน้อยขึ้นอยู่กับชนิดของสารพิษ ปริมาณของสารพิษ อวัยวะที่ได้รับสารพิษ และสภาพร่างกายของผู้ที่ได้รับสารพิษ ซึ่งสามารถสรุปผลเสียที่เกิดขึ้นจากสารพิษ ดังนี้

1.1 ผลเสียต่อธรรมชาติซึ่งเป็นผลเสียต่อคุณภาพของพืชพรรณ สัตว์ ดิน และน้ำ

1.2 ผลเสียต่อทัศนียภาพของธรรมชาติเนื่องมาจากการเกิดควัน ฝุ่นผงของสารเคมี เสียง ขยะ และสิ่งปฏิกูล

1.3 ผลเสียต่อสุขภาพอนามัยของมนุษย์ในระยะยาวที่เกิดจากสารเคมีปนเปื้อนในดิน อากาศ น้ำ กระทั่งเกิดการสะสมสารพิษเข้าสู่ร่างกายมนุษย์ เช่น การเกิดมะเร็ง การเสื่อมสมรรถนะของร่างกาย

2. นาโนเทคโนโลยี

เชิดศักดิ์ (2549) ได้กล่าวถึงความหมายของนาโนเทคโนโลยี (nanotechnology) ซึ่งถูกนิยามขึ้นโดยมูลนิธิวิทยาศาสตร์แห่งชาติ (national science foundation, NSF) ของสหรัฐอเมริกาว่าเป็นการวิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีในระดับอะตอม โมเลกุล หรือโมเลกุลมหภาค (macromolecule) ที่มีขนาดอนุภาคในช่วง 1 ถึง 100 นาโนเมตร หรือเป็นการสร้างและการใช้ประโยชน์จากโครงสร้าง อุปกรณ์ หรือระบบต่างๆ ที่มีสมบัติและหน้าที่ใหม่ๆ อันเนื่องมาจากขนาดที่เล็กในระดับนาโน (nanoscale) ของสิ่งนั้นๆ หรือในมุมมองที่กล่าวว่านาโนเทคโนโลยีเป็นความสามารถในการควบคุมและจัดการได้อย่างถูกต้องและแม่นยำในระดับอะตอม

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ดังนั้นความหมายโดยรวมของนาโนเทคโนโลยี คือ สาขาวิชาที่ผสมผสานระหว่างศิลปะและวิทยาศาสตร์ที่มนุษย์เข้าไปเจาะจงจัดเรียงอะตอมและโมเลกุลใหม่เพื่อการออกแบบประดิษฐ์ การสร้างหรือการสังเคราะห์วัสดุ อุปกรณ์ ระบบหรือผลิตภัณฑ์ใหม่ที่มีโครงสร้างขนาดในระดับนาโนเมตรเพื่อให้ผลิตภัณฑ์เหล่านั้นมีสมบัติที่พิเศษขึ้น ทำให้เกิดประโยชน์ต่อผู้ใช้สอยและเพิ่มมูลค่าทางเศรษฐกิจ เช่น การจัดอะตอมและโมเลกุลในตำแหน่งที่ต้องการได้อย่างถูกต้อง ส่งผลให้โครงสร้างของวัสดุมีคุณสมบัติพิเศษทั้งทางด้านฟิสิกส์ เคมี หรือชีวภาพ (เพ็ญจันทร์, 2547; กรรณิการ์, 2554; United States Environmental Protection Agency, 2007)

นาโนเทคโนโลยีกับการเกษตร เป็นนาโนเทคโนโลยีที่ถูกนำมาใช้เพื่อช่วยเพิ่มผลผลิตทางการเกษตร เช่น การพัฒนาเซ็นเซอร์นาโนแบบไร้สายสำหรับติดตามเฝ้าดูสภาพแวดล้อมในฟาร์มสัตว์ โดยใช้เซ็นเซอร์นาโนในการเก็บข้อมูลความชื้นของดิน อุณหภูมิ ค่าความเป็นกรดด่าง ปริมาณไนโตรเจน โรคพืช และโรคสัตว์ (Opara, 2004; Joseph and Morrison, 2006) อีกทั้งมีการนำนาโนเทคโนโลยีมาผลิตเป็นสารกำจัดศัตรูพืช สารควบคุมการเติบโตของพืช และปุ๋ยเคมี (Bath and Turberfield, 2007) ซึ่งจากการพัฒนาของเทคโนโลยีอย่างรวดเร็วรวมทั้งการใช้นาโนเทคโนโลยีอย่างไม่ยั้งคิดอาจทำให้อนุภาคขนาดนาโนเกิดการปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อมได้ แต่ยังคงเป็นสิ่งที่หลายๆ คนยังคงมองข้ามถึงผลกระทบด้านลบที่จะตามมา งานวิจัยฉบับนี้จึงนำเสนอถึงผลของอนุภาคเงินขนาดนาโนและซิลเวอร์ไนเทรตที่ส่งผลต่อการงอกของเมล็ดและการเจริญเติบโตของถั่วเขียวเพื่อใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานสำหรับการศึกษาและเพิ่มความตระหนักถึงอันตรายจากอนุภาคเงินขนาดนาโนและซิลเวอร์ไนเทรตที่อาจส่งผลต่อมนุษย์

3. อนุภาคขนาดนาโน

เพ็ญจันทร์ (2547) ได้กล่าวว่า นาโน (nanos) มาจากภาษากรีก แปลว่า เล็ก ซึ่งหมายถึงเศษหนึ่งส่วนพันล้านส่วน โดยใช้เป็นหน่วยวัดนาโนเมตรกับสิ่งที่มีขนาดตั้งแต่ 0.1 นาโนเมตร ถึง 100 นาโนเมตรเท่านั้น ซึ่งในปีพ.ศ. 2528 ได้มีการค้นพบโครงสร้างคาร์บอนที่ประกอบด้วยคาร์บอน 60 อะตอม เรียกว่า ฟูลเลอรีนส์ (fullerenes) หรือบัคกี้บอลส์ (buckyballs) ต่อมาในปีพ.ศ. 2534 ได้มีการสังเคราะห์ท่อนาโนคาร์บอน (carbon nanotube) โดยได้ค้นพบว่าท่อนาโนคาร์บอนมีความแข็งแรงอีกทั้งมีคุณสมบัติเด่น คือ สามารถทนความร้อนและนำไฟฟ้าได้ดีกว่าเหล็กทั่วไปถึง 100 เท่า ทำให้ในปัจจุบันมีการนำอนุภาคขนาดนาโนมาใช้เป็นวัสดุหรือวัตถุดิบในผลิตภัณฑ์ต่างๆ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

4. สมบัติของวัสดุขนาดนาโน

วัสดุขนาดนาโนเป็นการสร้างเพื่อนำไปใช้ประโยชน์ การทำให้มีขนาดเล็กมากอาจส่งให้วัสดุเกิดการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติบางอย่างหรืออาจมีความเป็นพิษในรูปแบบใหม่ เนื่องด้วยวัสดุขนาดนาโนมีขนาดเล็กมากจึงมีพื้นที่ผิวสัมผัสมากเช่นกัน ส่งผลทำให้เกิดปฏิกิริยาทางเคมี กิจกรรมทางชีวภาพและความเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา (Nel *et al*., 2006; Garnett and Kallinteri, 2006; Limbach *et al*., 2007) อีกทั้งยังทำให้วัสดุขนาดนาโนอาจมี Bioavailability หรือความสามารถในการถูกดูดซึมเข้าสู่เซลล์ เนื้อเยื่อ หรืออวัยวะมากกว่าวัสดุชนิดเดียวกันที่มีขนาดใหญ่กว่า Garnett and Kallinteri (2006) กล่าวไว้ว่าวัสดุที่มีขนาดเล็กกว่า 300 นาโนเมตร สามารถเข้าสู่เซลล์ได้ อีกทั้ง Li *et al*. (2003); Chen and Mikecz (2005); Geiser *et al*. (2005) กล่าวว่าหากวัสดุมีขนาดเล็กกว่า 70 นาโนเมตร จะมีขนาดเล็กพอที่สามารถเข้าสู่นิวเคลียสและอาจทำลายนิวเคลียสภายในเซลล์ทำให้เซลล์นั้นเกิดความผิดปกติได้

นอกจากขนาดที่เล็กของวัสดุขนาดนาโนจะส่งผลต่อความเป็นพิษที่รุนแรงกว่าวัสดุชนิดเดียวกันที่มีขนาดใหญ่กว่าหากเปรียบเทียบในปริมาณที่เท่ากันแล้ว ยังคงขึ้นอยู่กับปัจจัยอื่น เช่น องค์ประกอบทางเคมี รูปทรง โครงสร้างของผิว ประจุ ความเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา การเกาะกลุ่มกันหรือการแตกกระจายของอนุภาค และสารเคมีอื่นๆ ที่เกาะกับวัสดุขนาดนาโน เป็นต้น (Sayes *et al*., 2004; Brunner *et al*., 2006; Magrez *et al*., 2006)

5. รูปแบบการสร้างวัตถุขนาดนาโน

โครงสร้างวัตถุขนาดนาโนสามารถเกิดได้ 2 รูปแบบ คือ

5.1 การสร้างวัตถุแบบหยาบไปละเอียด (top-down approach) เป็นการสร้างวัตถุโดยการตัด เฉือน หรือการกระทำใดๆ กับวัตถุขนาดใหญ่ให้มีขนาดเล็กลงตามต้องการ เช่น การใช้เทคนิคนาโนลิโธกราฟฟี (nanolithographic techniques) ส่วนใหญ่นิยมนำไปสร้างชิ้นส่วนอิเล็กทรอนิกส์

5.2 การสร้างวัตถุแบบละเอียดไปหยาบ (bottom-up Approach) เป็นการสร้างวัตถุจากอนุภาคขนาดเล็ก เช่น จากหลายๆ อะตอมหรือหลายๆ โมเลกุลมารวมกันจนเป็นโครงสร้างขนาดใหญ่ ตัวอย่างเช่น การรวมตัวโดยตัวเอง (self-assembly) ซึ่งเป็นการรวมตัวของสสารด้วยพันธะ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เคมีของวัตถุที่มีโครงสร้างระดับนาโนจนเกิดเป็นโครงสร้างขนาดใหญ่ ดังเช่นการรวมตัวของสารคอลลอยด์ ได้แก่ เกลือแกง แพลงก์ตอน และไมโอซิน เป็นต้น (ศรัญญา, 2554)

6. โลหะเงิน

เงิน หรือ silver หรือสัญลักษณ์คือ Ag (เป็นตัวย่อมาจากคำในภาษาละตินว่า argentum) เป็นธาตุทรานซิชันสีขาวเงิน มีสมบัติการนำความร้อนและไฟฟ้าได้ดีมาก มีความหนาแน่น 10.5 kg/m^3 และมีจุดหลอมเหลวที่ 960°C ด้วยคุณสมบัติที่โลหะเงินจะไม่ทำปฏิกิริยากับอาหารและกรดอินทรีย์จึงทำให้โลหะเงินถูกนำมาใช้เป็นเครื่องประดับ งานชุบเงิน เครื่องใช้ในครัวเรือน เงินตรา และใช้ผสมกับโลหะอื่นๆ เป็นต้น (วีระ, 2552)

นอกจากนี้โลหะเงินยังมีคุณสมบัติในการต่อต้านเชื้อจุลินทรีย์ มีการค้นพบว่าโลหะเงินสามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้ถึง 650 ชนิด เช่น *Streptococcus* sp. และ *Lactobacillus* sp. ที่พบในนมเปรี้ยว รวมทั้งแบคทีเรีย *Staphylococcus* sp. และ *Escherichia coli* ที่พบในอาหารเน่าเสียทำให้มีการพัฒนานำโลหะเงินมาผสมในส่วนประกอบของน้ำยาบ้วนปากสำหรับใช้ฆ่าเชื้อแบคทีเรียหรือนำโลหะเงินเป็นวัตถุดิบสำหรับการผลิตหน้ากากปิดปากหรือผ้าเช็ดหน้า (ศูนย์นาโนเทคโนโลยีแห่งชาติ, 2554)

7. อนุภาคเงินขนาดนาโน

อนุภาคเงินขนาดนาโนมีขนาดอยู่ในช่วง 5-50 นาโนเมตร ซึ่งอนุภาคเงินขนาดนาโนที่นิยมนำมาใช้ประโยชน์มีหลากหลายรูปแบบแต่โดยส่วนใหญ่มีรูปร่างเป็นทรงกลม ซึ่งถูกทำขึ้นจากหลายๆ วิธี เช่น spark discharging electrochemical reduction solution irradiation และ cryochemical synthesis (Chen and Schluesener, 2008) โดยจะมีรูปทรงที่แตกต่างกัน เช่น ทรงกลม แท่ง ลูกเต๋า เส้นลวด หรือแผ่นฟิล์ม (Wijnhoven *et al*., 2009)

7.1 วิธีสังเคราะห์อนุภาคเงินขนาดนาโน

การสังเคราะห์อนุภาคเงินขนาดนาโนสามารถทำได้ด้วยการรีดิวซ์สารซิลเวอร์ไนเตรต ($AgNO_3$) ด้วยการใส่สารโซเดียมโบโรไฮไดรด์ ($NaBH_4$) ซึ่งเป็น reducing agent และสารโพลีไว

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

นิลแอลกอฮอล์ (PVA) ลงในซิลเวอร์ไนเทรต โดย PVA จะเป็นสารที่ควบคุมการกลายเป็นผลึกนาโนและป้องกันการรวมตัวของอนุภาคขนาดนาโน

จากนั้นนำอนุภาคเงินขนาดนาโนที่สังเคราะห์ได้มาทำการทดสอบเพื่อหาขนาด ลักษณะ และประสิทธิภาพในการยับยั้งแบคทีเรีย โดยพบว่าขนาดที่เหมาะสำหรับการนำไปใช้ประโยชน์จะอยู่ในช่วง 1-10 นาโนเมตร (Choi *et al.*, 2008)

7.2 กลไกการทำลายแบคทีเรียของอนุภาคเงินขนาดนาโน

คุณสมบัติการต่อต้านจุลินทรีย์ของอนุภาคเงินขนาดนาโนนั้นจะขึ้นอยู่กับปริมาณของอนุภาคเงินและอัตราการปลดปล่อยอนุภาคเงิน โดยปกติอนุภาคเงินเป็นโลหะเฉื่อยแต่เมื่อทำปฏิกิริยากับความชื้นจะเกิดการแตกตัวเป็นไอออน ซึ่งอนุภาคเงินในรูปไอออนจะมีความไวในการทำปฏิกิริยาสูง ซึ่งส่งผลทำให้เซลล์และเยื่อหุ้มนิวเคลียสของแบคทีเรียเปลี่ยนแปลง โดยประสิทธิภาพการทำลายแบคทีเรียของอนุภาคเงินขนาดนาโนสามารถฆ่าแบคทีเรียได้เกือบทุกชนิดทั้งที่ก่อให้เกิดโรคและแบคทีเรียที่มีประโยชน์ ซึ่งอาจส่งผลกระทบต่อสิ่งมีชีวิตรวมทั้งมนุษย์ได้

Feng *et al.* (2000) ได้ทดลองใช้ไอออนเงินอิสระ (Ag^+) กับแบคทีเรียแกรมบวก คือ *Staphylococcus aureus* และแบคทีเรียแกรมลบ คือ *Escherichia coli* พบว่า Ag^+ สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตและฆ่าแบคทีเรียทั้งสองชนิดได้ และจากผลการทดลองยังพบว่า Ag^+ จะกระจายอยู่ตามผนังเซลล์และสามารถแทรกเข้าสู่ภายในเซลล์ของแบคทีเรียได้ จึงคาดได้ว่า Ag^+ จะไปจับกับโปรตีนที่ผนังเซลล์ของแบคทีเรียที่หมู่ Thiol (-SH) และ Ag^+ จะทำให้โปรตีนแปรสภาพ ซึ่งส่งผลทำให้การควบคุมการขนส่งสารเข้าและออกจากเซลล์ผิดปกติโดยอาจทำให้เซลล์แตกซึ่งส่งผลทำให้แบคทีเรียอาจตายได้ จากการที่ Ag^+ สามารถแทรกเข้าสู่เซลล์ได้จะทำให้ DNA ซึ่งประกอบด้วยฟอสฟอรัสเป็นสำคัญเกิดการรวมตัวและสูญเสียความสามารถในการเพิ่มจำนวน ดังนั้นแบคทีเรียจึงไม่สามารถเพิ่มจำนวนได้ นอกจากนั้น Ag^+ ยังไปจับกับโปรตีนที่สำคัญอื่นๆ เช่น โปรตีนที่เกี่ยวกับการหายใจระดับเซลล์ซึ่งส่งผลทำให้เซลล์ไม่สามารถทำงานได้ตามปกติและแบคทีเรียก็ตายในที่สุด โดยกลไกการทำงานของ Ag^+ นั้นจะมีประสิทธิภาพสูงกับแบคทีเรียแกรมลบมากกว่าแบคทีเรียแกรมบวก เนื่องจากแบคทีเรียแกรมลบมีชั้น Peptidoglycan หนาเพียง 2-3 นาโนเมตร ในขณะที่แบคทีเรียแกรมบวกหนาประมาณ 30 นาโนเมตร โดยอนุภาคเงินขนาดนาโนจะมีประสิทธิภาพในการฆ่าแบคทีเรียอยู่ในช่วง 1-10 นาโนเมตร เนื่องจากอนุภาคขนาดเล็กจะแสดง

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

อิทธิพลของ electronic effect ได้ดียิ่งขึ้น ดังนั้นพื้นที่ผิวที่เพิ่มขึ้นจะช่วยเพิ่มความว่องไวของการเกิดปฏิกิริยาและเพิ่มความแข็งแรงในการจับของอนุภาคเงินขนาดนาโนกับแบคทีเรีย ซึ่งพร้อมพงศ์ (2551) ได้สรุปกลไกที่ทำให้อนุภาคเงินขนาดนาโนสามารถต่อต้านแบคทีเรียได้ดี คือ

7.2.1 อนุภาคเงินขนาดนาโนในช่วง 1-10 นาโนเมตร สามารถจับกับเยื่อหุ้มเซลล์ของแบคทีเรียและรบกวนการทำงานระดับเซลล์ของแบคทีเรีย เช่น การขนส่งสารเข้าออกจากเซลล์และกระบวรการหายใจของเซลล์

7.2.2 อนุภาคเงินขนาดนาโนสามารถแทรกเข้าสู่ภายในเซลล์ของแบคทีเรียและรบกวนการทำงานระดับโมเลกุล โดยจับกับสารที่มีกำมะถันและฟอสฟอรัสเป็นองค์ประกอบ เช่น โปรตีน และ DNA เป็นต้น

7.2.3 อนุภาคเงินขนาดนาโนเกิดการละลายและปลดปล่อย Ag^{+} เนื่องจากอนุภาคเงินขนาดนาโนมีขนาดเล็กทำให้สามารถปล่อย Ag^{+} ที่มีความเข้มข้นสูง จึงทำให้สามารถฆ่าแบคทีเรียได้อย่างรวดเร็ว

Feng *et al*. (2000); Dibrov *et al*. (2002); Lansdown (2002); Holt and Bard (2005) ได้กล่าวว่าไอออนเงินอิสระ (Ag^{+}) มีความเป็นพิษต่อแบคทีเรียได้หลากหลายชนิด เนื่องจากมีผลต่อกระบวนการถ่ายทอดอิเล็กตรอนในกระบวนการหายใจและองค์ประกอบในกระบวนการจำลองตัวเองของ DNA จึงทำให้โลหะเงินสามารถต้านทานแบคทีเรียได้

7.3 ประสิทธิภาพการยับยั้งจุลินทรีย์ของอนุภาคเงินขนาดนาโน

Colman *et al*. (2009) ทำการศึกษาผลของอนุภาคเงินขนาดนาโนต่อกิจกรรมของจุลินทรีย์ในพื้นที่ชุ่มน้ำ (wetlands) และลำธาร (streams) โดยใส่อนุภาคเงินขนาดนาโนรูปต่างๆ ที่ผ่านกรรมวิธีการผลิตอนุภาคแตกต่างกันและดูผลกระทบต่อน้ำในลำธาร ตะกอน และดิน อีกทั้งทำการวัดกิจกรรมของจุลินทรีย์จากกิจกรรมการหายใจ มวลชีวภาพ และกิจกรรมของเอนไซม์ ซึ่งนักวิจัยทำการใส่อนุภาคเงินขนาดนาโน 250 mg/L ลงในพื้นที่ชุ่มน้ำ พบว่าอนุภาคเงินขนาดนาโนไม่มีผลต่อมวลชีวภาพและการหายใจของจุลินทรีย์ เนื่องจากผลกระทบของอนุภาคเงินขนาดนาโนจะขึ้นอยู่กับลักษณะรูปแบบของอนุภาคเงินขนาดนาโนและสภาพแวดล้อมนั้นๆ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Kim *et al*. (2009) ได้ทำการศึกษาผลกระทบของอนุภาคเงินขนาดนาโนต่อเนื้อเยื่อของเชื้อราซึ่งได้จากเม็ดเลือดแดงของมนุษย์ โดยศึกษาจากการทำงานของอนุภาคเงินขนาดนาโน ภูมิคุ้มกันของร่างกาย ระดับน้ำตาลในเลือด (glucose-release test) การส่องกล้อง transmission electron microscopy (TEM) และใช้ 1,6-diphenyl-1,3,5-hexatriene (DPH) เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงเยื่อหุ้มเซลล์ของ *Candida albicans* ซึ่งนักวิจัยพบว่า อนุภาคเงินขนาดนาโนอาจส่งผลต่อต้านกิจกรรมของเชื้อราโดยไปทำลายโครงสร้างของเยื่อหุ้มเซลล์และยับยั้งกระบวนการแตกหน่อทำให้เชื้อราไม่สามารถเจริญเติบโตได้อย่างสมบูรณ์ ซึ่งจากการทดลองนักวิจัยสรุปว่าอนุภาคเงินขนาดนาโนสามารถต่อต้านการเจริญเติบโตของเชื้อราได้เป็นอย่างดี

Soltani *et al*. (2009) ทำการศึกษาผลการต่อต้านของอนุภาคเงินขนาดนาโนต่อเชื้อแบคทีเรียซึ่งก่อให้เกิดโรคในปลา คือ *Streptococcus iniae Lactococcus garvieae Yersinia ruckeri* และ *Aeromonas hydrophila* โดยใช้วิธี liquid dilution ในการหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารที่สามารถฆ่าเชื้อได้ (minimum bactericidal concentration: MBC) จากการเพาะเชื้อ 30-90 นาที พบว่าเชื้อแบคทีเรียชนิด *Streptococcus iniae* มีค่า MBCs เท่ากับ 5-0.15 μg/ml เชื้อแบคทีเรียชนิด *Lactococcus garvieae* มีค่า MBCs เท่ากับ 10-0.62 μg/ml เชื้อแบคทีเรียชนิด *Yersinia ruckeri* มีค่า MBCs เท่ากับ 2.5-0.62 μg/ml และเชื้อแบคทีเรียชนิด *Aeromonas hydrophila* มีค่า MBCs เท่ากับ 0.31 μg/ml ถึงน้อยกว่า 0.15 μg/ml ซึ่งจากผลการศึกษาโดยรวมพบว่าหลังจากที่เชื้อแบคทีเรียได้สัมผัสกับอนุภาคเงินขนาดนาโน การเจริญเติบโตของแบคทีเรียเหล่านี้จะลดลง 10 cell/ml เปรียบเทียบกับปริมาณเชื้อเริ่มต้น คือ 10^7 cell/ml จนกระทั่งเชื้อแบคทีเรียเหล่านี้ไม่เจริญเติบโตเมื่อระยะเวลาการเพาะเชื้อผ่านไป 90 นาที ซึ่งเห็นได้อย่างชัดเจนว่าอนุภาคเงินขนาดนาโนสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียชนิดข้างต้นนี้ได้

Xia *et al*. (2014) ทำการศึกษาคุณสมบัติของเชื้อราชนิด *Trichosporon asahii* ที่สัมผัสกับอนุภาคเงินขนาดนาโน โดยศึกษาถึงการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Trichosporon asahii* ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ potato dextrose agar ซึ่งมีความเข้มข้นของอนุภาคเงินขนาดนาโนแตกต่างกัน โดยใช้ค่าของความเข้มข้นต่ำสุดของสารที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ (minimum inhibitory concentration) รวมทั้งใช้กล้องจุลทรรศน์แบบ scanning และ transmission electron microscopy เพื่อศึกษาลักษณะของเชื้อราที่เปลี่ยนแปลงไป ซึ่งนักวิจัยพบว่าอนุภาคเงินขนาดนาโนที่ความเข้มข้น 0.5 mg/mL ส่งผลยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ซึ่งจากการสังเกตโดยกล้องจุลทรรศน์ทำให้ทราบว่าอนุภาคเงินขนาดนา

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

โนสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Trichosporon asahii* โดยอนุภาคเงินขนาดนาโนจะซึมผ่านเซลล์ของเชื้อราส่งผลทำให้ผนังเซลล์แตกหัก ส่วนประกอบของเซลล์ เยื่อหุ้มเซลล์ ไมโตรคอนเดรีย โครมาติน และไรโบโซมของเชื้อราเกิดความผิดปกติ

อนุภาคเงินขนาดนาโนนอกจากจะสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียและเชื้อราได้แล้วยังสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของไวรัสชนิดที่ในปัจจุบันนี้ยังไม่มียาใดฆ่าให้ตายได้เนื่องจากไวรัสมีความสามารถในการกลายพันธุ์สูงมากทำให้ง่ายต่อการดื้อยา แต่อนุภาคเงินขนาดนาโนสามารถเข้าไปจับกับสารที่มีกำมะถันและฟอสฟอรัสเป็นองค์ประกอบ ได้แก่ โปรตีน DNA และ RNA ซึ่งมีตำแหน่งของการเกิดปฏิกิริยาจำนวนมากทำให้อนุภาคเงินขนาดนาโนสามารถเข้าจับได้พร้อมๆ กันหลายจุด (พร้อมพงศ์, 2551) ดังนั้นถึงแม้ไวรัสจะกลายพันธุ์ก็ไม่ส่งผลต่อประสิทธิภาพของอนุภาคเงินขนาดนาโนในการยับยั้งเชื้อไวรัสนั้นๆ ซึ่ง Elechiguerra *et al*. (2005) ได้ทดสอบการต้านเชื้อไวรัสของอนุภาคเงินขนาดนาโนกับเชื้อ HIV-1 ซึ่งมีลักษณะเป็น enveloped virus โดยมีไกลโคโปรตีนอยู่บนเยื่อหุ้มเซลล์ จากการศึกษาพบว่า อนุภาคเงินขนาดนาโนสามารถยับยั้งการทำงานของเชื้อไวรัส HIV-1 ได้อย่างมีประสิทธิภาพ เพราะไกลโคโปรตีนของ HIV-1 มีพันธะไดซัลไฟด์ซึ่งสามารถจับกับอนุภาคเงินขนาดนาโนได้ ทำให้โครงสร้างของไกลโคโปรตีนแปลงสภาพส่งผลทำให้ไกลโคโปรตีนไม่สามารถเข้าจับกับเซลล์เจ้าบ้านได้จึงทำให้เชื้อไวรัส HIV-1 ไม่สามารถเพิ่มจำนวนและตายในที่สุด

7.4 การประยุกต์ใช้อนุภาคเงินขนาดนาโน (วนิดา, 2550; Amendola *et al*., 2007; Thomas *et al*., 2007; Fernandez *et al*., 2008; Navaladian *et al*., 2008)

อย่างที่ทราบกันดีว่าอนุภาคเงินขนาดนาโนมีคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย เชื้อรา รวมทั้งไวรัส ดังนั้นจึงนิยมนำอนุภาคเงินขนาดนาโนมาเป็นส่วนประกอบของผลิตภัณฑ์ต่างๆ เช่น

7.4.1 อุตสาหกรรมสิ่งทอ เป็นการออกแบบผลิตภัณฑ์ผ้าที่มีสารฆ่าเชื้อแบคทีเรียอยู่บนเนื้อผ้า สารเหล่านี้จะทำงานเมื่อถูกกระตุ้นด้วยแสง จากผลการวิจัยพบว่าอนุภาคเงินขนาดนาโนสามารถย่อยสลายอนุภาคได้ทั้งสารอินทรีย์และอนินทรีย์ รวมถึงกำจัดกลิ่นที่ไม่พึงประสงค์ เพราะสามารถฆ่าแบคทีเรีย เช่น *Staphylococcus aureus* *Streptococcus pneumococcus* *Escherichia coli* และ Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) ซึ่งเป็นสาเหตุทำให้

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เกิดสิว ฝี และการติดเชื้อที่บาดแผล ซึ่งการนำอนุภาคเงินขนาดนาโนมาประยุกต์ใช้กับสิ่งทอมีหลายรูปแบบ เช่น

7.4.1.1 water repellent เป็นการเคลือบสิ่งทอด้วยฟิล์มบางๆ ด้วยสารเคมีหรืออนุภาคเงินขนาดนาโน ทำให้เส้นใยหรือผ้ามีคุณสมบัติกันน้ำหรือสิ่งสกปรก ซึ่งเหมาะสำหรับผลิตภัณฑ์ที่ไม่ต้องการซักบ่อยหรือต้องการถนอมเป็นพิเศษ เช่น เสื้อแจ๊กเก็ต สูท ผ้าบุเฟอนิเจอร์ หรือผ้าม่าน เป็นต้น

7.4.1.2 anti-microbial เป็นการใช้อนุภาคเงินขนาดนาโน (รวมทั้งไททาเนียมไดออกไซด์และซิงค์ออกไซด์) เคลือบบนสิ่งทอทำให้มีคุณสมบัติต่อต้านเชื้อโรค ระงับกลิ่น เหมาะสำหรับชุดกีฬา สิ่งทอที่ใช้ในโรงพยาบาลหรือสถานที่ปลอดเชื้อ เป็นต้น

7.4.1.3 quick dry เป็นการนำอนุภาคเงินขนาดนาโนรวมทั้งสารเคมีมาเคลือบวัสดุ ผลิตภัณฑ์ต่างๆ หรือเสื้อผ้า เพื่อทำให้สิ่งเหล่านั้นแห้งเร็วและระบายเหงื่อได้ดี ซึ่งส่วนใหญ่นิยมใช้กับเสื้อผ้ากีฬาจึงทำให้ผู้ใส่รู้สึกใส่สบาย

7.4.2 การแพทย์ การใช้อนุภาคเงินขนาดนาโนเพื่อตรวจเชื้อ *Escherichia coli* ซึ่งส่วนใหญ่เชื้อชนิดนี้จะปนเปื้อนในน้ำ อาหารสดต่างๆ จากการตรวจและวิเคราะห์โดยใช้อนุภาคขนาดเล็กระดับนาโนเคลือบกับสารเรืองแสงที่มีแอนติบอดีสามารถทำปฏิกิริยากับแอนติเจนของเซลล์แบคทีเรียที่พบในอาหาร ทำให้ทราบปริมาณของแบคทีเรียในอาหาร

7.4.2.1 การผลิตพลาสเตอร์ยา เส้นใยนาโนผสมยาปฏิชีวนะรักษาแผลเบาหวาน โดยใช้เส้นใยนาโนในพอลิเมอร์ชนิดโพลีวินีลแอลกอฮอล์ (poly vinyl alcohol: PVA) นำมาผ่านกระบวนการปั่นเส้นใยด้วยไฟฟ้าสถิตให้เส้นใยมีขนาดเล็กประมาณ 100-150 นาโนเมตร จากนั้นนำมาผสมกับยาปฏิชีวนะซีฟาเล็คซิน (cephalexin) ทำให้พลาสเตอร์มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียและช่วยลดการติดเชื้อทางบาดแผล โดยเฉพาะผู้ป่วยโรคเบาหวาน

7.4.2.2 การผลิตยาต้านเชื้อรา เป็นการพัฒนาผลิตภัณฑ์ยาต้านเชื้อราโดยใช้ระบบนาโนในรูปแบบผลึกเหลวสังเคราะห์ เพื่อเพิ่มค่าการละลายของตัวยาและทำให้ยาสามารถ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ออกฤทธิ์ฆ่าเชื้อราได้อย่างมีประสิทธิภาพแม้จะใช้ยาในปริมาณที่น้อย ซึ่งสามารถลดผลข้างเคียงจากการใช้ยาได้เป็นอย่างดี

7.4.3 อุตสาหกรรมรถยนต์ ใช้อนุภาคเงินขนาดนาโนและอนุภาคของไททาเนียมไดออกไซด์เคลือบเบาะรถยนต์เพื่อฆ่าเชื้อโรค เนื่องจากเบาะรถยนต์เป็นอุปกรณ์ที่ไม่ค่อยได้ทำความสะอาด

7.4.4 เครื่องสุขภัณฑ์ ใช้อนุภาคเงินขนาดนาโนและอนุภาคของไททาเนียมไดออกไซด์เคลือบบริเวณผิวของสุขภัณฑ์ พบว่าสามารถยับยั้งแบคทีเรียได้เป็นอย่างดี

7.4.5 อุตสาหกรรมเครื่องสำอาง ใช้อนุภาคเงินขนาดนาโนซึ่งจะมีสาร Coenzyme Q10 มาเป็นส่วนผสมในเครื่องสำอาง โดยอนุภาคเงินขนาดนาโนจะมีบทบาทในกระบวนการถ่ายทอดอิเล็กตรอนสร้างพลังงาน ซึ่งเป็นกระบวนการสำคัญในการซ่อมแซม ฟื้นฟูสภาพผิวหนังและเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ

ดังนั้นการใช้ประโยชน์จากอนุภาคเงินขนาดนาโนในผลิตภัณฑ์ต่างๆ จึงควรศึกษาข้อมูลให้ครบถ้วนทุกด้าน เช่น ด้านพิษวิทยาหรือด้านผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมเพื่อให้เกิดความรู้และความเข้าใจในการใช้ประโยชน์ต่อไป

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

8. ลักษณะทั่วไปของถั่วเขียว

8.1 อนุกรมวิธานของถั่วเขียว

Kingdom	: Plant
Division	: Spermatophyta
Class	: Angiospermae
Subclass	: Dicotyledoneae
Order	: Leguminales
Family	: Leguminosae
Subfamily	: Papilionoideae
Genus	: *Vigna*
Species	: *radiata*

มีชื่อวิทยาศาสตร์ (Scientific name) คือ *Vigna radiata* (L.) Wilczek และมีชื่อสามัญ (common name) เช่น mung bean green bean golden gram หรือ green gram (กรมวิชาการเกษตร, 2543)

ถั่วเขียวเป็นพืชตระกูลถั่วที่อายุสั้นสามารถปลูกได้ตลอดทั้งปี เนื่องจากเป็นพืชที่ต้องการน้ำน้อยกว่าพืชไร่ชนิดอื่นจึงนิยมปลูกเป็นพืชหมุนเวียน คือ ใช้ปลูกก่อนหรือหลังการทำนา หรือทำไร่เพื่อตัดวงจรการระบาดของศัตรูพืช ช่วยบำรุงรักษาความอุดมสมบูรณ์ของดิน และใช้เป็นปุ๋ยพืชสดเนื่องจากถั่วเขียวสามารถตรึงไนโตรเจนได้ดี ปริมาณความต้องการการบริโภคถั่วเขียวในประเทศไทยเริ่มเพิ่มมากขึ้นโดยในช่วงปีพ.ศ. 2541–2545 มีปริมาณความต้องการเพิ่มขึ้นปีละ 3.5% ปริมาณรวมประมาณ 234000 ton (สถาบันวิจัยพืชไร่, 2549)

ถั่วเขียวประกอบด้วยแป้ง 40–45% โปรตีน 20–25% เส้นใย 20–30% และความชื้น 10% ผลผลิตจากถั่วเขียวนอกจากจะสามารถบริโภคได้โดยตรงแล้วยังมีการนำถั่วเขียวมาแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ต่างๆ เช่น วุ้นเส้น การผลิตแป้งถั่วเขียว และขนมหวาน เป็นต้น (สถาบันวิจัยพืชไร่, 2549) ชนิดพันธุ์ถั่วเขียวในประเทศไทยมีหลากหลายพันธุ์ เช่น พันธุ์ชัยนาท 36 พันธุ์ชัยนาท 60

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

พันธุ์ชัยนาท 72 พันธุ์กำแพงแสน 1 (มก.) พันธุ์กำแพงแสน 2 (มก.) พันธุ์พิษณุโลก 2 พันธุ์มทส.1 และพันธุ์อู่ทอง 1 เป็นต้น (กรมวิชาการเกษตร, 2543)

9. ถั่วเขียวพันธุ์ชัยนาท 72 (Chai Nat 72)

กรมวิชาการเกษตร (2543) ได้กล่าวว่าถั่วเขียวพันธุ์ชัยนาท 72 เป็นชนิดพันธุ์ที่กลายพันธุ์ (โดยรังสีแกมมา) จากถั่วเขียวพันธุ์กำแพงแสน 2 ตามขั้นตอนของการปรับปรุงพันธุ์ (เปรียบเทียบมาตรฐานเบื้องต้นในท้องถิ่นและทดสอบในไร่เกษตรกร) ฝักแรกแก่เมื่ออายุ 50 วัน และเก็บเกี่ยวได้เมื่ออายุ 63 วัน ซึ่งชนิดพันธุ์นี้ถูกขึ้นทะเบียนเลขที่ 172/2543 เมื่อวันที่ 7 มิถุนายน พ.ศ. 2543 และเป็นพันธุ์พืชรับรองเลขที่ 121/2543 เมื่อวันที่ 29 กันยายน พ.ศ. 2543 โดยกรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์

9.1 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของถั่วเขียวพันธุ์ชัยนาท 72 จากเอกสารของกรมวิชาการเกษตร (2543, ม.ป.ป.)

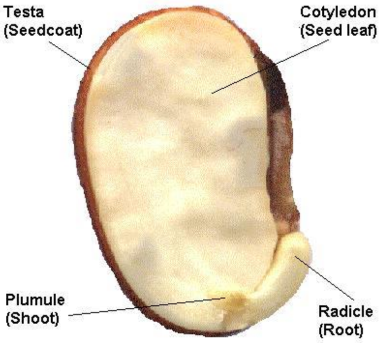
9.1.1 เมล็ด (seed) มีรูปร่างค่อนข้างกลม ขนาดเล็ก ผิวเมล็ดมีสีเขียวและเป็นมัน มีน้ำหนักประมาณ 4-8 g ภายในเมล็ดประกอบด้วยใบเลี้ยง (cotyledon) 2 อัน ทำหน้าที่ในการสะสมอาหาร โดยเมล็ดมีปริมาณแป้ง 45.0% และโปรตีน 21.6% เมล็ดพันธุ์หนึ่งหน่วยเมล็ด (seed unit) ประกอบด้วย

9.1.1.1 เปลือกนอกเมล็ด (testa) ทำหน้าที่ป้องกันอันตรายให้กับส่วนประกอบอื่นๆ ที่อยู่ภายในเมล็ดและทำหน้าที่ควบคุมการดูดซึมน้ำ อากาศ และป้องกันไม่ให้เชื้อโรคและแมลงเข้าทำลายเมล็ด ด้านหนึ่งของเมล็ดมีรอยแผล (hilum) ลักษณะยาวแบนมีสีขาว

9.1.1.2 plumule ซึ่งเป็นตาอ่อน (embryonic bud) มีสีขาว ประกอบด้วยเนื้อเยื่อเจริญปลายยอด (apical meristem) จะเจริญเป็นส่วนยอดและใบจริงคู่แรก 2 ใบ (primary leaf หรือ unifoliate leaf) (ภาพที่ 1)

9.1.1.3 hypocotyl-radicle axis เป็นแถบกลางของต้นอ่อนในเมล็ด มี 1 อัน เมื่อเมล็ดงอกจะเจริญเป็นรากและส่วนของลำต้นที่อยู่ใต้ใบเลี้ยง

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพที่ 1 โครงสร้างของเมล็ดถั่วเขียว

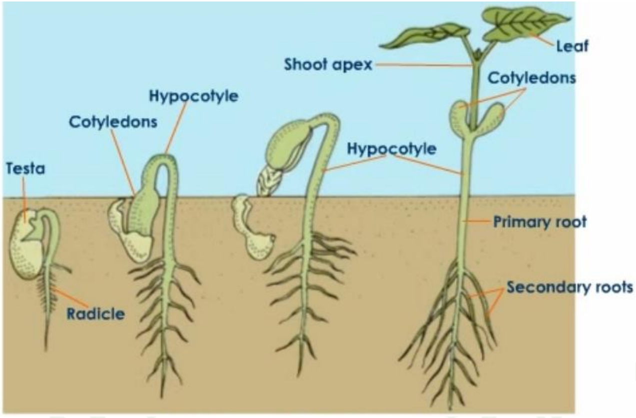
ที่มา: Tamil Nadu Agricultural University (2008)

9.1.2 ราก (root) ถั่วเขียวมีรากแบบระบบรากแก้ว (tap root system) รากอันแรกจะเจริญออกมาจากรากแรกเกิด (radicle) ซึ่งอยู่ภายในเมล็ด เรียกว่า รากแก้ว (primary root หรือ tap root) รากที่แตกแยกออกมาจากรากแก้วเรียกว่า รากแขนง (secondary root) ซึ่งบริเวณรากแขนงจะมีขนราก (root hair หรือ adventitious root) เจริญออกมาทำหน้าที่ดูดซึมธาตุอาหาร โดยรากของถั่วเขียวจะมีปม (nodule) ซึ่งเกิดจากแบคทีเรียพวกไรโซเบียม (*Rhizobium sp.*) เข้าไปอาศัยในรากทำให้รากถั่วเขียวสามารถตรึงไนโตรเจนจากอากาศและเปลี่ยนรูปเป็นสารประกอบไนโตรเจนที่ถั่วเขียวนำมาใช้ประโยชน์ได้ ซึ่งการอยู่ร่วมกันระหว่างถั่วเขียวกับแบคทีเรียเรียกว่า symbiosis

9.1.3 ลำต้น (stem) ถั่วเขียวเป็นพืชล้มลุก มีลักษณะลำต้นตั้งตรง โปร่ง ไม่เลื้อย โคนต้นมีสีเขียว ความสูงเมื่อแก่ประมาณ 66 cm ลำต้นมีการแตกกิ่งแขนง การเจริญเติบโตของต้นถั่วเขียวพันธุ์ชัยนาท 72 เป็นแบบ indeterminate growth คือ หลังออกดอกแล้วยังคงมีการเจริญเติบโตทางด้านลำต้นต่อไปอีกระยะหนึ่ง บริเวณส่วนต่าง ๆ ของลำต้นมีขนอ่อนปกคลุม

9.1.4 ใบ (leaf) มีลักษณะเป็นแบบใบประกอบ (compound leaves) มีใบย่อย (leaflet) 3 ใบ (trifoliate leaves) เมื่อถั่วเขียวเริ่มงอกบริเวณข้อแรกของลำต้นเป็นบริเวณที่ใบเลี้ยง (cotyledon) งอกซึ่งมี 2 ใบ ข้อถัดไปเกิดใบจริงคู่แรก (unifoliate leaves) มี 2 ใบโดยจะอยู่ตรงข้ามกัน ใบจริงคู่แรกจะปรากฏอยู่ภายในเมล็ดและเมื่อเมล็ดงอกใบจริงจะแผ่ขยายออก ข้อถัดไปจากใบจริงคู่แรกเป็นใบประกอบ มีใบย่อย 3 ใบ เกิดสลับบนลำต้น (alternate leaves) แต่ละใบย่อยมีความกว้าง 1.5-12.0 cm และยาว 2-10 cm รูปร่างของใบกว้าง สีเขียวอ่อน มีขนปกคลุมทั่วใบ (ภาพที่ 2)

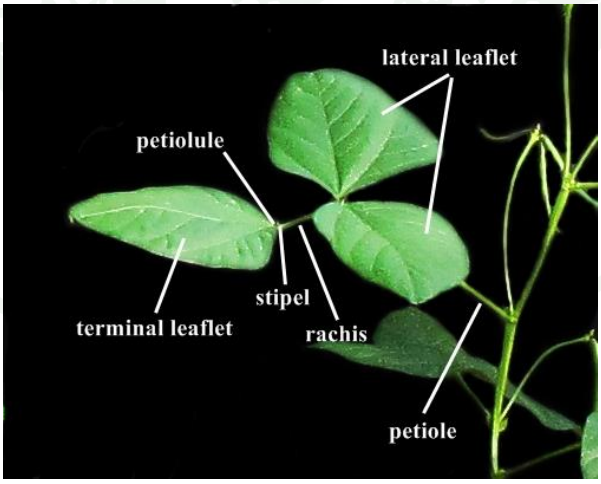
ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพที่ 2 การงอกแบบใบเลี้ยงอยู่เหนือดิน (epigeal germination) ของเมล็ดถั่วเขียว

ที่มา: Tutor Vista (2010)

ใบประกอบของถั่วเขียวประกอบด้วย ก้านใบรวม (petiole) ซึ่งบริเวณโคนก้านใบรวมมีหูใบ (stipule) 2 อัน บริเวณใบย่อย (terminal leaflet) มีก้านใบย่อย (petiolule) และมีหูใบย่อย (stipel) ที่โคน 2 อัน บริเวณใบย่อยด้านข้าง (lateral leaflet) มีก้านใบสั้นมากและมีหูใบที่โคนข้างละ 1 อัน บริเวณโคนก้านใบรวมและก้านใบย่อยมีข้อที่เรียกว่า pulvinus (ภาพที่ 3)



ภาพที่ 3 ส่วนประกอบของใบถั่วเขียวพันธุ์ชัยนาท 72

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

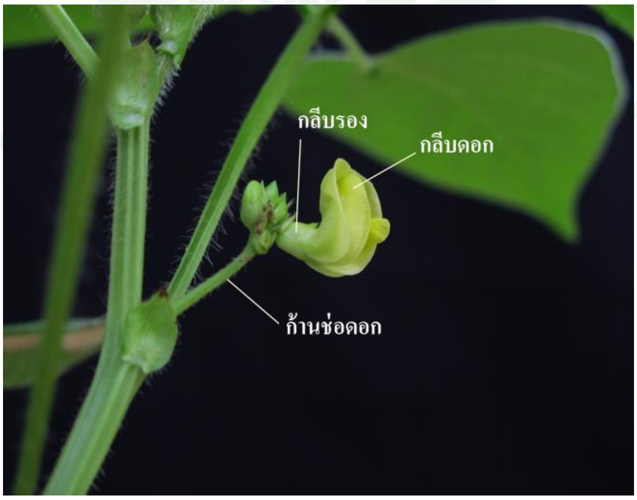
9.1.5 ดอก (flower) เป็นดอกสมบูรณ์เพศ (perfect flower) คือ เกสรตัวผู้และเกสรตัวเมียอยู่ในดอกเดียวกัน มักจะผสมตัวเองก่อนดอกบาน (cleistogamy) ดอกมีสีเหลืองอ่อน ลักษณะดอกเป็นช่อ (inflorescent) (ภาพที่ 4) การเรียงของดอกเป็นแบบช่อกระจะ (raceme) แต่ละช่อดอกมีดอกย่อยประมาณ 10-20 ดอก ดอกจะแตกออกจากตาระหว่างมุมใบ (axillary bud) และตาที่ปลายยอด (terminal bud) ดอกจะบานจากส่วนล่างของลำต้นขึ้นไปข้างบน ดอกแรกบานเมื่ออายุ 32 วัน ส่วนประกอบของดอกถั่วเขียวมีดังนี้

9.1.5.1 ก้านช่อดอก (peduncle) มีความยาวประมาณ 2-13 cm มีขนปกคลุม

9.1.5.2 กลีบเลี้ยง (bracteole) มี 2 กลีบ อยู่นอกสุดของดอก มีขนาดเล็ก สีเขียว และมีขนปกคลุม

9.1.5.3 กลีบรอง (calyx) อยู่ชั้นถัดเข้าไป ด้านล่างมีลักษณะเป็นหลอด เรียกว่า tubular calyx ด้านบนมีลักษณะเป็นแฉก 5 แฉก กลีบรองมีสีเขียวและมีขนปกคลุม

9.1.5.4 กลีบดอก (corolla หรือ petal) มีกลีบดอก 5 กลีบ ไม่มีขน กลีบนอกสุดมีกลีบเดียว เรียกว่า standard petal มีขนาดใหญ่ที่สุดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 1.0-1.7 cm ชั้นถัดเข้าไปเป็น wing petals มีจำนวน 2 กลีบ ประกบกันอยู่ และกลีบดอกชั้นในสุด เรียกว่า keel petals มีจำนวน 2 กลีบ ประกบกัน มีขนาดเล็กที่สุด ทำหน้าที่ห่อหุ้มรังไข่ เกสรตัวผู้และเกสรตัวเมีย



ภาพที่ 4 ส่วนประกอบของดอกถั่วเขียวพันธุ์ชัยนาท 72

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

9.1.5.5 เกสรตัวผู้ (stamen) ประกอบด้วย ก้านชูเกสรตัวผู้ (filament) และอับเกสรตัวผู้ (anther) ก้านชูเกสรตัวผู้มีจำนวน 10 อัน เป็นแบบ diadelphous stamen คือ ก้านชูเกสรตัวผู้จะรวมกันเป็นแผ่นหุ้มรังไข่

9.1.5.6 เกสรตัวเมีย (pistil) ประกอบด้วย ก้านชูเกสรตัวเมีย (style) และรังไข่ (ovary) ส่วนยอดของก้านชูเกสรตัวเมีย เรียกว่า stigma เมื่อดอกได้รับการผสมแล้วไข่อ่อนจะเจริญเป็นเมล็ดและรังไข่เจริญเป็นฝัก

9.1.6 ฝัก (pod)

ถั่วเขียวมีฝักรูปร่างเรียวยาว ส่วนปลายโค้งงอเล็กน้อย มีขนปกคลุม เปลือกของฝักเรียกว่า pericarp ฝักอ่อนมีสีเขียวส่วนฝักแก่มีสีดำ ความยาวฝักประมาณ 5-10 cm โดยเฉลี่ยมีจำนวน 15 ฝักต่อต้น แต่ละฝักมีเมล็ดประมาณ 10-15 เมล็ด (ภาพที่ 5)

ภาพที่ 5 ลักษณะของฝักถั่วเขียวพันธุ์ชัยนาท 72

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

10. ผลกระทบของอนุภาคเงินขนาดนาโน (เชิดศักดิ์, 2549)

10.1 ด้านสุขภาพ

อนุภาคเงินขนาดนาโนสามารถเข้าสู่ร่างกายมนุษย์ได้ทางจมูกซึ่งเกิดจากการหายใจหรือสูดดม ทางปากโดยการกิน ทางผิวหนังโดยการซึมผ่านโดยตรง และจากการฉีดเข้ากระแสเลือด เนื่องจากอนุภาคเงินขนาดนาโนมีขนาดที่เล็กมากจึงทำให้ว่องไวต่อการเกิดปฏิกิริยาเคมี ดังนั้นเมื่ออนุภาคเงินขนาดนาโนเข้าสู่ร่างกาย อวัยวะ เนื้อเยื่อ หรือเซลล์ต่างๆ จะส่งผลต่อการทำงานของเซลล์และหากอนุภาคเงินขนาดนาโนเข้าสู่กระแสเลือด เซลล์เม็ดเลือดขาวอาจเห็นอนุภาคเงินขนาดนาโนเป็นสิ่งแปลกปลอมจึงทำให้ร่างกายพยายามสร้างเม็ดเลือดขาวเพิ่มขึ้นเพื่อที่จะให้เพียงพอต่อการกำจัดอนุภาคเงินขนาดนาโน ซึ่งส่งผลทำให้ความต้านทานโรคของร่างกายอ่อนแอลงได้ หรือหากอนุภาคเงินขนาดนาโนซึมผ่านผิวหนังอาจรบกวนการทำงานของโปรตีน เซลล์ หรืออวัยวะเล็กๆ ภายในเซลล์ ซึ่งอาจส่งผลทำให้อวัยวะเหล่านั้นทำงานผิดปกติ หรือเมื่อมนุษย์หายใจเอาอากาศที่มีการปนเปื้อนของอนุภาคเงินขนาดนาโนเข้าสู่ปอด อาจทำให้ปอดทำงานผิดปกติจนกลายเป็นมะเร็งได้

มีการทดสอบความเป็นพิษของอนุภาคเงินขนาดนาโนเมื่อสัมผัสกับผิวหนังโดยใช้ผ้าปิดแผลซึ่งมีอนุภาคเงินขนาดนาโนเป็นองค์ประกอบกับคนไข้แผลไฟไหม้ ผลการทดสอบแสดงให้เห็นว่าผ้าปิดแผลที่มีอนุภาคเงินขนาดนาโนจะให้ผลการรักษาแผลไฟไหม้ได้ดีกว่ายาปฏิชีวนะพวก amoxicillin และ metronidazole อย่างไรก็ตามผลข้างเคียงที่พบจากการใช้ผ้าปิดแผลที่มีอนุภาคเงินขนาดนาโน คือ เกิดสีเทาที่ผิวหนังหรือเรียกว่า อาร์ไจเรีย (argyria) (Trop *et al.*, 2006) ซึ่งเป็นปัญหาที่พบบ่อยเมื่อใช้ผลิตภัณฑ์ที่มีอนุภาคเงินขนาดนาโนเป็นองค์ประกอบ

การรับเอาอนุภาคเงินขนาดนาโนเข้าสู่ร่างกายในปริมาณที่มากเกินไปอาจทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของสีบริเวณผิวหนัง โดยอนุภาคเงินขนาดนาโนจะถูกร่างกายดูดซับและตกค้างอยู่ตามเนื้อเยื่อต่างๆ ของร่างกาย เมื่อซิลเวอร์ไอออนที่อยู่ใต้ผิวหนังได้รับแสงยูวีจะทำให้เกิดกระบวนการโฟโตรีดักชันเปลี่ยนเป็นโลหะเงิน จึงส่งผลทำให้สีของผิวหนังเปลี่ยนเป็นสีเทาหรือสีน้ำเงิน (Chang *et al.*, 2006) ดังเช่นกรณีของ Paul Karason เป็นชายอายุ 40 ปี จากรัฐออริกอน ประเทศสหรัฐอเมริกา ชายผู้นี้ได้ดื่มน้ำที่ผสมอนุภาคเงินเพื่อบำรุงสุขภาพโดยดื่มทุกวัน วันละ 300 ml ในช่วงหนึ่งเดือนแรกหลังการดื่มไม่พบการเปลี่ยนแปลงเกี่ยวกับผิวหนังของเขา แต่กลับพบว่า

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สุขภาพร่างกายของเขาแข็งแรงขึ้น เช่น ปัญหากระเพาะอาหารอักเสบเนื่องจากกรดในกระเพาะดีขึ้น และข้ออักเสบที่หัวไหล่ได้หายหลังจากที่เขาดื่มอนุภาคเงิน ซึ่งทำให้ Paul มั่นใจว่าอนุภาคเงินช่วยรักษาจากอาการที่เป็นดังกล่าวได้ แต่เมื่อ Paul ได้ดื่มน้ำที่ผสมอนุภาคเงินต่อไปอีกหลายสิบปีพบว่าผิวหนังของเขากลายเป็นสีน้ำเงิน อย่างไรก็ตามในปัจจุบัน Paul ยังคงดื่มน้ำที่ผสมอนุภาคเงินเดือนละหนึ่งครั้งเพราะเขาเชื่อว่าอนุภาคเงินสามารถช่วยให้เขามีสุขภาพที่ดีขึ้น ถึงแม้ว่าเขาจะมีผิวหนังสีน้ำเงินก็ตาม (Angier, 2008)

อีกทั้งอนุภาคเงินขนาดนาโนยังคงถูกนำมาเสนอในการรักษาโรคเอดส์ โรคมะเร็ง และยังคงมีงานวิจัยหลากหลายงานที่นำอนุภาคเงินขนาดนาโนมาใช้ อย่างไรก็ตามการควบคุมการปนเปื้อนและปริมาณการใช้เป็นสิ่งที่ต้องพึงระวังและควรให้ความสำคัญเป็นอย่างมาก เพื่อไม่ให้อนุภาคเงินขนาดนาโนเกิดอันตรายต่อผู้ใช้และสิ่งแวดล้อม

10.2 ด้านสังคม

นาโนเทคโนโลยีเข้าไปมีส่วนร่วมช่วยส่งเสริมเทคโนโลยีสารสนเทศโดยพัฒนานาโนเทคโนโลยีเป็นอุปกรณ์ที่เรียกว่า เซ็นเซอร์ ซึ่งมีขนาดเล็กระดับนาโนเมตรและสามารถเชื่อมโยงเป็นเครือข่ายได้ทุกแห่ง จึงทำให้ทุกคนสามารถเชื่อมโยงเข้าสู่เครือข่ายเพื่อแลกเปลี่ยนข้อมูลกับบุคคลอื่นได้อย่างสะดวก ซึ่งการแลกเปลี่ยนจะเกิดขึ้นตลอดเวลาจนอาจรบกวนความเป็นส่วนตัว นอกจากนั้นนาโนเทคโนโลยียังทำให้เกิดความไม่เท่าเทียมกันของสังคม ทำให้เกิดช่องว่างระหว่างบุคคลและเกิดช่องว่างระหว่างประเทศที่ร่ำรวยและยากจนได้

11. ความเป็นพิษของอนุภาคเงินขนาดนาโนต่อสิ่งแวดล้อม

โลหะเงินเป็นสารที่ไม่เป็นพิษ โดยในสมัยโบราณถูกนำมาใช้เป็นอุปกรณ์เครื่องใช้ต่างๆ เนื่องจากพบว่าโลหะเงินสามารถฆ่าแบคทีเรียได้ เช่น ชาวอียิปต์ใช้ภาชนะที่ทำด้วยโลหะเงินใส่อาหาร ชาวกรีกใช้ภาชนะที่ทำด้วยโลหะเงินกับน้ำดื่ม อีกทั้งมีการใช้โลหะเงินเป็นสารปฏิชีวนะธรรมชาติเพื่อป้องกันการติดเชื้อหรือเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา แต่เมื่อโลหะเงินกลายเป็นอนุภาคที่มีขนาดระดับนาโนเมตรทำให้คุณสมบัติของโลหะเงินเปลี่ยนแปลงไป ซึ่งอาจเป็นพิษหรือทำลายสิ่งมีชีวิตได้ โดยพบว่าในปัจจุบันเริ่มมีการนำอนุภาคเงินขนาดนาโนมาใช้ในชีวิตประจำวันและมี

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

การปรับปรุงพัฒนาอย่างต่อเนื่องจนทำให้หน่วยงานทางด้านสิ่งแวดล้อมเริ่มตระหนักถึงความเสี่ยงของอนุภาคเงินขนาดนาโนต่อสุขภาพของมนุษย์และสิ่งแวดล้อม (กรรณิการ์, 2554)

ในประเทศเกาหลีได้มีการนำอนุภาคเงินขนาดนาโนมาใช้เพื่อการผลิตทางการเกษตร โดยมีวัตถุประสงค์หลักในการควบคุมศัตรูพืช (biocide) เนื่องด้วยเหตุที่อนุภาคเงินขนาดนาโนมีประสิทธิภาพในการฆ่าจุลินทรีย์หลายชนิดรวมถึงจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ต่อระบบนิเวศ เช่น แบคทีเรียที่มีบทบาทสำคัญในการตรึงไนโตรเจนและย่อยสลายอินทรียวัตถุ แบคทีเรียที่มีความสัมพันธ์แบบพึ่งพาอาศัยกับสิ่งมีชีวิต แบคทีเรียที่อยู่ในร่างกายของสิ่งมีชีวิตที่ช่วยในระบบย่อยอาหาร แบคทีเรียที่ผลิตสารปฏิชีวนะซึ่งช่วยป้องกันโรคที่เกิดจากรา และจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดกระบวนการดีไนตริฟิเคชัน ซึ่งนอกจากอนุภาคเงินขนาดนาโนจะมีผลต่อการทำลายแบคทีเรียแล้ว ยังมีผลต่อการทำลายราและไวรัสอีกด้วย (Sondi and Salopek-Sondi, 2004; Baker *et al*., 2005; Silver *et al*., 2006; Lok *et al*., 2007; Choi and Hu, 2008; Kim, 2009)

Lee *et al*. (2012) ทำการศึกษาความเป็นพิษของอนุภาคเงินขนาดนาโนต่อการเจริญเติบโต ประสิทธิภาพการดูดซึมของเซลล์พืช และการขนส่งของอนุภาคเงินขนาดนาโนในต้นอ่อนของถั่วเขียว (*Phaseolus radiatus*) และข้าวฟ่าง (*Sorghum bicolor*) จากการศึกษาพบว่า อนุภาคเงินขนาดนาโนที่ความเข้มข้น 40 mg/L ส่งผลทำให้การเจริญเติบโตต้นอ่อนของถั่วเขียวและข้าวฟ่างลดลง 20 และ 47% ตามลำดับ นอกจากนั้นอนุภาคเงินขนาดนาโนทำให้ลักษณะสัณฐานวิทยาบริเวณปลายรากของต้นถั่วเขียวและข้าวฟ่างเปลี่ยนแปลงไป คือ รากสั้น ไม่แข็งแรง สีน้ำตาลเข้มและดำบางส่วน รวมทั้งรากเกิดการตายเฉพาะส่วน และเมื่อนำเซลล์ปลายรากไปส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์ชนิด transmission electron microscopy (TEM) พบการสะสมของอนุภาคเงินขนาดนาโนในเซลล์ และพบว่าอนุภาคเงินขนาดนาโนส่งผลทำให้เซลล์เกิดการเปลี่ยนแปลง เช่น เนื้อเยื่อในส่วน epidermis มีสีน้ำตาลเข้ม บางส่วนเว้าหรือเนื้อเยื่อขาดหายไป ส่วน cortex เซลล์มีลักษณะโป่งเป็นตุ่ม ไม่เรียบ และเมื่อคำนวณหาค่า effective concentration, 50 percent (EC_{50}) ที่ 2 วัน พบว่าในชุดการทดลองที่ปลูกในอาหารสังเคราะห์ความเข้มข้นที่ส่งผลทำให้การเจริญเติบโตต้นอ่อนของต้นถั่วเขียวและต้นข้าวฟ่างลดลง 50% คือ 13 และ 26 mg/L ส่วนในชุดการทดลองที่ปลูกในดินความเข้มข้นที่ส่งผลทำให้การเจริญเติบโตต้นอ่อนของต้นถั่วเขียวและต้นข้าวฟ่างลดลง 50% คือความเข้มข้นที่มากกว่า 2000 mg/kg ซึ่งจากการศึกษาเบื้องต้นนักวิจัยพบว่าอนุภาคเงินขนาดนาโนมีการสะสมอยู่ในเซลล์ต่างๆ ของพืช

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Yin *et al*. (2011) ทำการศึกษาการดูดซับและความเป็นพิษของอนุภาคเงินขนาดนาโนต่อรากและยอดของหญ้าไรน์ (*Lolium multiflorum*) โดยใช้อนุภาคเงินขนาดนาโน (AgNPs) และซิลเวอร์ไนเทรต ($AgNO_3$) ที่ความเข้มข้น 1-40 mg/L พบว่าเมื่อความเข้มข้นของอนุภาคเงินขนาดนาโนเพิ่มขึ้น มวลชีวภาพของรากจะลดลงจาก 18.6±1.3 เป็น 4.7±0.7 mg และความยาวรากจะลดลงจาก 7±0.6 เป็น 0.7±0.08 cm และพบว่าอนุภาคเงินขนาดนาโนที่ความเข้มข้น 40 mg/L ซึ่งมีขนาดเท่ากับ 25 นาโนเมตร ไม่ส่งผลต่อความยาวและน้ำหนักของรากอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% แต่เมื่ออนุภาคเงินขนาดนาโนมีขนาดเท่ากับ 6 นาโนเมตร พบว่าอนุภาคเงินขนาดนาโนส่งผลทำให้ความยาวรากลดลงอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% อีกทั้งพบว่าอนุภาคเงินขนาดนาโนส่งผลต่อมวลชีวภาพของรากมากกว่าส่วนยอด คือ อนุภาคเงินขนาดนาโนทำให้มวลชีวภาพของรากลดลง 74.3% และทำให้มวลชีวภาพของยอดลดลง 24.6% นอกจากนั้นเมื่อนำรากไปส่องกล้องจุลทรรศน์พบว่ารากที่สัมผัสกับซิลเวอร์ไนเทรตบริเวณ cortex จะเกิดเป็นช่องว่างและมีการยุบของเซลล์ ส่วน epidermis และ root cap เกิดการแตกหักบางส่วน ซึ่งจากการศึกษานักวิจัยกล่าวว่าความเป็นพิษของอนุภาคเงินขนาดนาโนต่อรากและยอดของหญ้านั้นขึ้นอยู่กับรูปแบบของธาตุและขนาดของอนุภาค โดยซิลเวอร์ไนเทรตเป็นพิษต่อพืชมากกว่าอนุภาคเงินขนาดนาโนและอนุภาคเงินขนาดนาโนที่มีขนาดเล็กจะส่งผลกระทบต่อการเจริญเติบโตของหญ้ามากกว่าอนุภาคเงินขนาดนาโนขนาดใหญ่ อีกทั้งความเป็นพิษของอนุภาคเงินขนาดนาโนจะขึ้นอยู่กับส่วนของพืชที่สัมผัส โดยรากจะถูกยับยั้งการเจริญเติบโตมากกว่าส่วนยอด

Kumari *et al*. (2009) ทำการศึกษาความเป็นพิษของอนุภาคเงินขนาดนาโนต่อโครงสร้างเซลล์ (cytotoxic) และสารพันธุกรรม (genotoxic) ในเซลล์ปลายรากของหัวหอม (*Allium cepa*) โดยใช้อนุภาคเงินขนาดนาโนขนาดเล็กกว่า 100 นาโนเมตร ที่ความเข้มข้น 20 25 75 และ 100 mg/L เพื่อศึกษาดัชนีการแบ่งเซลล์ (mitotic index: MI) ความผิดปกติของโครโมโซม ผนังเซลล์และการยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์หัวหอม พบว่า อนุภาคเงินขนาดนาโนส่งผลทำให้ค่า MI ลดลงอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% คือ ค่า MI ลดลงจาก 60.3% ในชุดควบคุม เป็น 27.62% ในชุดที่สัมผัสกับอนุภาคเงินขนาดนาโนที่ความเข้มข้น 100 mg/L อีกทั้งอนุภาคเงินขนาดนาโนที่ความเข้มข้น 50 mg/L ทำให้เกิด chromosome bridge stickiness และ disturbed metaphase อนุภาคเงินขนาดนาโนที่ความเข้มข้น 70 mg/L ทำให้เกิด multiple chromosome และอนุภาคเงินขนาดนาโนที่ความเข้มข้น 100 mg/L จะทำให้ผนังเซลล์แตกทำให้เซลล์นั้นตายได้

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ความเป็นพิษของอนุภาคเงินขนาดนาโนจะส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมในปริมาณที่สูงหรือต่ำนั้นจะขึ้นอยู่กับองค์ประกอบทางเคมี ขนาด และรูปร่างของอนุภาค รวมทั้งขึ้นอยู่กับชนิดพันธุ์ของพืช ตัวกลางการสัมผัส ชนิดหรือลักษณะของอนุภาคเงินขนาดนาโน และความเข้มข้นของอนุภาคเงินขนาดนาโน เป็นต้น

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. เครื่องมือและอุปกรณ์ในการทดลอง

- เมล็ดถั่วเขียวพันธุ์ชัยนาท 72 จากศูนย์วิจัยพืชไร่ชัยนาท อำเภอสรรพยา จังหวัดชัยนาท
- กระดาษกรอง (gel-blotting-paper GB 003) ยี่ห้อ SCHLEICHER & SCHUELL
- กระดาษกรองยี่ห้อ WHATMAN เบอร์ 42
- กระถางปลูกต้นไม้เส้นผ่านศูนย์กลาง 6 inch
- ขวดปรับปริมาตร ขนาด 50 ml
- ขวดปรับปริมาตร ขนาด 125 ml
- บีกเกอร์ ขนาด 250 ml
- กล่องพลาสติก ขนาด 5x7 inch
- ถ้วยเผา (crucible)
- ตะแกรง (seive) ขนาด 1.00 mm
- ตะแกรง (seive) ขนาด 2.00 mm
- ตู้อบลมร้อน (hot air oven)
- ทรายคัดขนาด 1.00-2.00 mm
- เทอร์โมมิเตอร์
- ไม้บรรทัด
- เครื่องชั่งดิจิตอล ทศนิยม 4 ตำแหน่ง
- ตู้อบลมร้อน (hot air oven)
- เตาเผา (muffle furnaces)
- เครื่อง ultrasound sonicator bath
- เครื่อง atomic absorption spectrophotometer ยี่ห้อ Perkin-Elmer AAnalyst 800 รุ่น WFX-210

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

2. สารเคมี

- กรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 37%
- ซิลเวอร์ไนเทรต (silver nitrate analytical reagent) (VWR Prolabo BDH Chemicals)
- อนุภาคเงินขนาดนาโน (silver nanoparticle) ขนาดอนุภาค 20 nm ซื้อจาก Dongyang (HK) International group limited, Hong Kong, CHINA
- สารละลายธาตุอาหาร (12:24:12) ซื้อจากร้านขายอุปกรณ์การเกษตร

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิธีการ

การทดลองที่ 1 ผลของอนุภาคเงินขนาดนาโน (AgNPs) และซิลเวอร์ไนเทรต ($AgNO_3$) ต่อการงอกของเมล็ดถั่วเขียวพันธุ์ชัยนาท 72

1. เตรียมน้ำกลั่น น้ำกลั่นผสมอนุภาคเงินขนาดนาโนความเข้มข้น 1 5 10 15 30 60 100 200 400 800 1600 1800 และ 2000 mg/L ตามวิธีการในภาคผนวกที่ 1 และสารละลายซิลเวอร์ไนเทรตความเข้มข้น 1 5 10 15 20 25 และ 30 mg/L อย่างละ 50 ml ตามวิธีการในภาคผนวกที่ 2 ใส่ในกล่องพลาสติก

2. นำเมล็ดถั่วเขียวแช่ในสารที่เตรียมไว้ในข้อ 1 เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ซึ่งในแต่ละชุดการทดลองใช้เมล็ดจำนวน 30 เมล็ด โดยทำการทดลองชุดละ 3 ซ้ำ

3. นำเมล็ดที่ผ่านการแช่แล้ววางบนกระดาษทิชชูในกล่องพลาสติก นำกระดาษทิชชูคลุมทับเมล็ดเหล่านั้นอีกชั้น ใส่น้ำกลั่นพอประมาณจนกระดาษทิชชูชุ่ม เพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิห้อง ในที่มืดเป็นเวลา 48 ชั่วโมง หลังจากนั้นให้แสง 12 ชั่วโมงต่อวัน (กรมวิชาการเกษตร, ม.ป.ป.)

4. ทำการบันทึกข้อมูลจำนวนเมล็ดที่งอก วัดความยาวรากด้วยไม้บรรทัด (ภาพที่ 6) และสังเกตลักษณะสัณฐานวิทยาของต้นอ่อนในวันที่ 6 หลังจากการเพาะเมล็ด โดยเมล็ดที่งอกจะพิจารณาจากลักษณะของต้นกล้า ดังนี้

4.1 ราก มีความยาวไม่น้อยกว่า 1 cm มีสีน้ำตาลอ่อนหรือสีเหลืองอ่อน บริเวณปลายรากไม่เป็นสีน้ำตาลเข้มหรือดำ รากไม่หงิกงอ

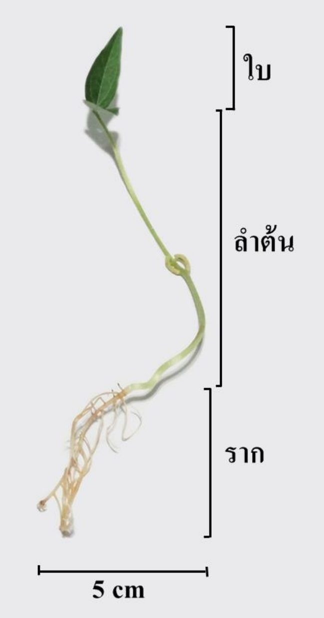
4.2 ลำต้น มีความยาวไม่น้อยกว่า 4 cm มีสีขาวขุ่นหรือสีเหลืองอ่อน ลำต้นตั้งตรงไม่บิดงอหรือมีรอยแหว่ง

4.3 ใบเลี้ยง ไม่ลีบหรือมีสีน้ำตาลเข้มหรือดำ ไม่หลุดหาย

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

4.4 ใบแรกเริ่ม มีจำนวนครบ 2 ใบ มีสีเขียวอ่อน ลักษณะของใบไม่แหว่งหรือขาดหาย (ภาพที่ 7 ก)

เมล็ดที่ไม่งอก หมายถึงต้นกล้าที่รากมีความยาวน้อยกว่า 1 cm หรือรากมีสีน้ำตาลเข้มถึงสีดำ ลำต้นแคระแกร็น ไม่มีใบแรกเริ่ม และไม่มียอด (ภาพที่ 7ข)



ภาพที่ 6 การวัดความยาวราก ลำต้น และใบของต้นถั่วเขียว อายุ 5 วัน

ภาพที่ 7 ลักษณะต้นกล้าของเมล็ดถั่วเขียวที่งอก (ก) และเมล็ดถั่วเขียวที่ไม่งอก (ข)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

5. วิเคราะห์ผลการทดลอง

5.1 คำนวณหาการงอกสัมพัทธ์ (relative seed germination; RSG) ความยาวรากสัมพัทธ์ (relative root growth; RRG) และดัชนีการงอก (germination index; GI) ตามสมการที่ 1 2 และ 3 (Hoekstra *et al*., 2002)

$$RSG\ (\%) = \frac{\text{จำนวนเมล็ดที่งอก}}{\text{จำนวนเมล็ดที่งอกในชุดควบคุม}} \times 100 \qquad (1)$$

$$RRG\ (\%) = \frac{\text{ค่าเฉลี่ยของความยาวราก}}{\text{ค่าเฉลี่ยของความยาวรากในชุดควบคุม}} \times 100 \quad \ldots \qquad (2)$$

$$GI = \frac{\%\ RSG \times \%\ RRG}{100} \qquad (3)$$

5.2 วิเคราะห์หาความเข้มข้นของอนุภาคเงินขนาดนาโนและซิลเวอร์ไนเทรตที่ทำให้เมล็ดถั่วเขียวมีอัตราการตายและดัชนีการงอกที่ 50% (median lethal concentration; LC_{50}) โดยใช้การวิเคราะห์แบบโปรบิท (probit analysis) คำนวณอัตราการตายและดัชนีการงอกของเมล็ดถั่วเขียว (%) และแปลงเป็นค่าโปรบิทโดยประมาณค่าโปรบิทจากตารางของ Finney (Finney, 1952) (ภาพภาคผนวกที่ 1) และนำไปเขียนกราฟแสดงความเข้มข้นของสารต่อค่าโปรบิท

5.3 เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยจำนวนเมล็ดที่งอกระหว่างชุดทดลอง โดยการวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance; ANOVA) และTukey โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูปทางสถิติ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

การทดลองที่ 2 ผลของการสัมผัสอนุภาคเงินขนาดนาโน (AgNPs) ในระยะเมล็ดต่อการเจริญเติบโตของต้นถั่วเขียวพันธุ์ชัยนาท 72

1. เตรียมน้ำกลั่น และน้ำกลั่นผสมอนุภาคเงินขนาดนาโนความเข้มข้น 30 45 60 100 และ 200 mg/L ปริมาตร 50 ml ตามวิธีการในภาคผนวกที่ 1 ใส่ในกล่องพลาสติก

2. นำเมล็ดถั่วเขียวแช่ในสารที่เตรียมไว้ในข้อ 1 เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ซึ่งในแต่ละชุดการทดลองใช้เมล็ดจำนวน 30 เมล็ด

3. นำเมล็ดที่ผ่านการแช่แล้ววางบนกระดาษทิชชูในกล่องพลาสติก นำกระดาษทิชชูคลุมทับเมล็ดเหล่านั้นอีกชั้น ใส่น้ำกลั่นพอประมาณจนกระดาษทิชชูชุ่ม เพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิห้อง ในที่มืดเป็นเวลา 48 ชั่วโมง หลังจากนั้นให้แสง 12 ชั่วโมงต่อวัน (กรมวิชาการเกษตร, ม.ป.ป.)

4. เลือกต้นกล้าอายุ 5 วันที่แข็งแรง จำนวน 5 ต้นต่อชุดการทดลอง ไปปลูกในทรายคัดขนาด (ภาคผนวกที่ 3) ที่แช่สารละลายธาตุอาหารจนอิ่มตัวแล้ว

5. ปลูกต้นถั่วเขียวในโรงเรือนที่มีหลังคา ให้สารละลายธาตุอาหารปริมาตร 20 ml โดยรดลงในทราย ด้วยความถี่ 2 วันต่อครั้ง

6. เมื่อต้นถั่วเขียวอายุ 65 วัน วัดความยาวของลำต้นด้วยไม้บรรทัด

7. แยกส่วนราก ลำต้น ใบ เมล็ด และยอด นำแต่ละส่วนไปชั่งน้ำหนักและบันทึกผล (น้ำหนักสด) แล้วนำไปอบที่อุณหภูมิ 105 °C เป็นเวลา 3 วัน ชั่งน้ำหนักของแต่ละส่วนอีกครั้ง (น้ำหนักแห้ง) นำข้อมูลน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งไปวิเคราะห์หาความชื้น (moisture) และมวลชีวภาพ (biomass) ตามสมการที่ 4 และ 5 (นาฏสุดา ภูมิจำนงค์, 2551)

$$\text{ความชื้น (\%)} = \frac{\text{น้ำหนักสด} - \text{น้ำหนักแห้ง} \times 100}{\text{น้ำหนักแห้ง}} \qquad (4)$$

$$\text{มวลชีวภาพ} = \frac{100 \times \text{น้ำหนักสด}}{\text{ความชื้น} + 100} \qquad (5)$$

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

8. วิเคราะห์หาปริมาณธาตุเงิน (Ag) ที่สะสมในราก ลำต้น ใบ เมล็ด และยอดของต้นถั่วเขียว โดยใช้ต้นถั่วเขียวจากชุดทดลองที่เมล็ดแช่ในน้ำผสมอนุภาคเงินขนาดนาโนความเข้มข้น 200 mg/L ด้วยวิธี dry ashing (จงรักษ์ และคณะ, 2543) ซึ่งมีวิธีการดังนี้

8.1 ชั่งตัวอย่างแห้งของราก ลำต้น ใบ เมล็ด และยอดส่วนละ 0.5 g

8.2 ใส่ตัวอย่างต้นถั่วเขียวในถ้วยเผา จากนั้นนำไปเผาในเตาเผาความร้อนสูง ที่อุณหภูมิ 500°C เป็นเวลา 3 ชั่วโมง

8.3 ตั้งทิ้งไว้ให้เย็นแล้วเติม $HCl:HNO_3$ (3:1) ปริมาณ 10 ml

8.4 กรองด้วยกระดาษกรอง whatman เบอร์ 42 แล้วล้างตะกอนด้วยน้ำกลั่น 40 ml

8.5 นำสารละลายที่ได้จากการกรองไปวิเคราะห์หาปริมาณธาตุเงินด้วยเครื่อง atomic absorption spectrophotometry (AAS) รุ่น WFX-210

8.6 คำนวณหาปัจจัยการลำเลียง (translocation factor) ตามสมการที่ 6 (Singh, 2010)

$$\text{ปัจจัยการลำเลียง} = \frac{\text{ความเข้มข้นของ Ag ในส่วนต่างๆ}}{\text{ความเข้มข้นของ Ag ในราก (ชุดเดียวกัน)}} \qquad (6)$$

9. สังเกตลักษณะทางสัณฐานวิทยาของต้นถั่วเขียวในชุดทดลองเปรียบเทียบกับชุดควบคุม ดังนี้

9.1 ราก ลักษณะที่ศึกษา คือ ความยาว สี รูปร่างของรากแก้ว จำนวนของรากฝอย

9.2 ลำต้น ลักษณะที่ศึกษา คือ ความสูง สีของลำต้น

9.3 แผ่นใบ ลักษณะที่ศึกษา คือ รูปร่างของแผ่นใบ ความกว้าง และความยาวของใบย่อย

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

9.4 ดอก ลักษณะที่ศึกษา คือ รูปร่าง สีของกลีบดอก

9.5 ยอด ลักษณะที่ศึกษา คือ รูปร่าง สีของยอด

9.6 ฝักและเมล็ด ลักษณะที่ศึกษา คือ รูปร่าง จำนวน สีของฝักและเมล็ด

10. เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของความยาวลำต้น มวลชีวภาพ และการสะสมของธาตุเงินในส่วนต่างๆ ของต้นถั่วเขียว ด้วยการวิเคราะห์ความแปรปรวน (analysis of variance; ANOVA) และ Tukey โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูปทางสถิติ

การทดลองที่ 3 ผลของการปลูกถั่วเขียวในทรายปนเปื้อนอนุภาคเงินขนาดนาโน (AgNPs) และซิลเวอร์ไนเทรต ($AgNO_3$) ต่อการเจริญเติบโตของต้นถั่วเขียวพันธุ์ชัยนาท 72

1. นำเมล็ดถั่วเขียวจำนวน 30 เมล็ด แช่ในน้ำกลั่น ปริมาตร 50 ml เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

2. นำเมล็ดที่ผ่านการแช่แล้ววางบนกระดาษทิชชูในกล่องพลาสติก นำกระดาษทิชชูคลุมทับเมล็ดเหล่านั้นอีกชั้น ใส่น้ำกลั่นพอประมาณจนกระดาษทิชชูชุ่ม เพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิห้อง ในที่มืดเป็นเวลา 48 ชั่วโมง หลังจากนั้นให้แสง 12 ชั่วโมงต่อวัน (กรมวิชาการเกษตร, ม.ป.ป.)

3. เลือกต้นกล้าอายุ 5 วัน ที่แข็งแรง จำนวน 5 ต้นต่อชุดการทดลอง ไปปลูกในทรายคัดขนาดที่ผสมอนุภาคเงินขนาดนาโนหรือซิลเวอร์ไนเทรตความเข้มข้น 0 0.5 1 5 10 และ 15 mg/kg (ภาคผนวกที่ 4 และ 5) และผ่านการแช่สารละลายธาตุอาหารจนอิ่มตัว

4. ปลูกต้นถั่วเขียวในโรงเรือนที่มีหลังคา ให้สารละลายธาตุอาหารปริมาตร 20 ml โดยรดลงในทราย ด้วยความถี่ 2 วันต่อครั้ง

5. เมื่อต้นถั่วเขียวอายุ 65 วัน วัดความยาวของลำต้นด้วยไม้บรรทัด

6. หาน้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง คำนวณหาความชื้น (moisture) และมวลชีวภาพ (biomass) ในราก ลำต้น ใบ เมล็ด และยอด ตามวิธีการในการทดลองที่ 2 ข้อ 7

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

7. วิเคราะห์หาปริมาณธาตุเงิน (Ag) ที่สะสมในราก ลำต้น ใบ เมล็ด และยอดของต้นถั่วเขียว รวมทั้งปัจจัยการลำเลียงจากรากโดยใช้ต้นถั่วเขียวจากชุดทดลองที่ปลูกในทรายผสมอนุภาคเงินขนาดนาโนและจากชุดทดลองที่ปลูกในทรายผสมซิลเวอร์ไนเทรตที่ความเข้มข้น 15 mg/kg ตามวิธีการในการทดลองที่ 2 ข้อ 8

8. สังเกตลักษณะทางสัณฐานวิทยาของต้นถั่วเขียวในชุดทดลองโดยเปรียบเทียบกับชุดควบคุม ลักษณะที่ศึกษาเช่นเดียวกับการทดลองที่ 2 ข้อ 9

9. เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของความยาวราก ความยาวลำต้น มวลชีวภาพ และการสะสมของธาตุเงินในส่วนต่างๆ ของต้นถั่วเขียว ด้วยการวิเคราะห์ความแปรปรวน (analysis of variance; ANOVA) และ Tukey โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูปทางสถิติ

สถานที่ทำการทดลอง

ห้องปฏิบัติการภาควิชาเทคโนโลยีและการจัดการสิ่งแวดล้อม คณะสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ บางเขน

ระยะเวลาที่ทำการวิจัย

เดือนกุมภาพันธ์ พ.ศ. 2555 ถึงเดือนมิถุนายน พ.ศ. 2557

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ผลและวิจารณ์

การทดลองที่ 1 ผลของอนุภาคเงินขนาดนาโน (AgNPs) และซิลเวอร์ไนเทรต ($AgNO_3$) ต่อการงอกของเมล็ดถั่วเขียวพันธุ์ชัยนาท 72 ที่เพาะนาน 5 วัน

1. ผลของอนุภาคเงินขนาดนาโนต่อการงอกสัมพัทธ์ (relative seed germination; RSG) ความยาวรากสัมพัทธ์ (relative root growth; RRG) และดัชนีการงอก (germination index; GI)

จากการทดสอบการงอกของเมล็ดที่ผ่านการแช่ในน้ำกลั่น (ชุดควบคุม) น้ำกลั่นผสมอนุภาคเงินขนาดนาโนที่ความเข้มข้น 1 5 10 15 30 60 100 200 400 800 1600 1800 และ 2000 mg/L เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 5 วัน พบว่า

การงอกสัมพัทธ์ของเมล็ดถั่วเขียวที่ผ่านการแช่ในน้ำกลั่นผสมอนุภาคเงินขนาดนาโนที่ความเข้มข้น 1-200 mg/L ไม่มีความแตกต่างทางสถิติจากการงอกสัมพัทธ์ของเมล็ดถั่วเขียวที่แช่ในน้ำกลั่น (P<0.05) เนื่องจากอนุภาคเงินขนาดนาโนมีลักษณะเป็นอนุภาคของแข็งแขวนลอยขนาดเล็กและเบา ทำให้อนุภาคลอยบริเวณผิวน้ำขณะนำเมล็ดแช่ในน้ำกลั่นผสมอนุภาคเงินขนาดนาโน ซึ่งทำให้อนุภาคเงินขนาดนาโนไม่สามารถสัมผัสกับเมล็ดได้อย่างเต็มที่ จึงอาจเป็นสาเหตุทำให้อนุภาคเงินขนาดนาโนที่ความเข้มข้นต่ำไม่ส่งผลต่อการงอกสัมพันธ์ของเมล็ด แต่ที่ความเข้มข้นของอนุภาคเงินขนาดนาโนตั้งแต่ 400 mg/L ขึ้นไป มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม (P<0.05) โดยการงอกสัมพัทธ์ของเมล็ดจะลดลงเมื่อความเข้มข้นของอนุภาคเงินขนาดนาโนเพิ่มขึ้น (การงอกสัมพัทธ์เท่ากับ 82.22 68.89 44.44 34.44 และ 0.00% ที่ความเข้มข้น 400 600 800 1600 1800 และ 2000 mg/L ตามลำดับ) (ตารางที่ 1) ความเข้มข้นของอนุภาคเงินขนาดนาโนที่ทำให้มีอัตราการตายของเมล็ด 50% (LC_{50}) เท่ากับ 1267 mg/L (ภาพที่ 8)

ดัชนีการงอกของเมล็ดที่ผ่านการแช่ในน้ำผสมอนุภาคเงินขนาดนาโนที่ความเข้มข้น 1-10 mg/L ไม่มีความแตกต่างทางสถิติจากดัชนีการงอกของเมล็ดถั่วเขียวที่แช่ในน้ำกลั่น (P<0.05) แต่ที่ความเข้มข้นของอนุภาคเงินขนาดนาโนตั้งแต่ 15 mg/L มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจากดัชนีการงอกของเมล็ดถั่วเขียวที่แช่ในน้ำกลั่น (P<0.05) โดยดัชนีการงอกของเมล็ดมีแนวโน้มลดลงเมื่อความเข้มข้นของอนุภาคเงินขนาดนาโนเพิ่มสูงขึ้น (ดัชนีการงอกเท่ากับ 86.52 87.11 85.57 74.47 77.86 60.19 33.96 19.73 10.72 และ 0.00% ที่ความเข้มข้น 15 30 60 100 200

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

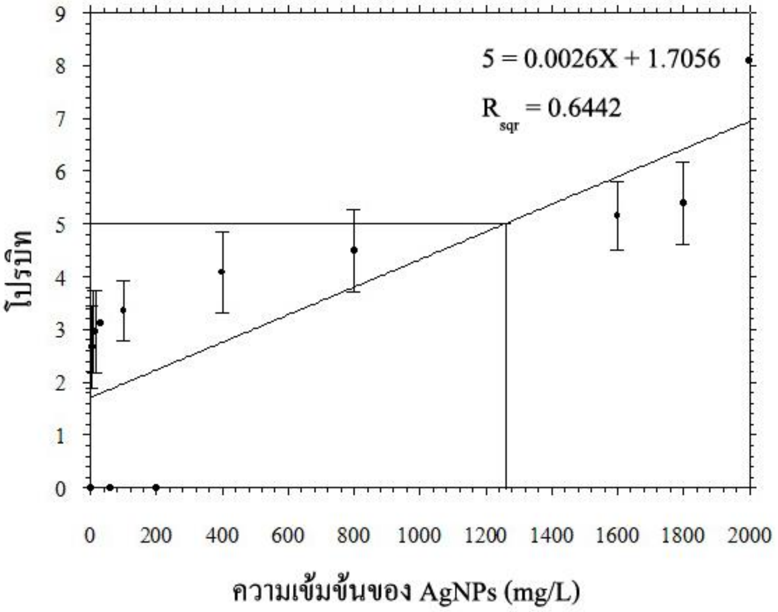
400 800 1600 1800 และ 2000 mg/L ตามลำดับ) (ตารางที่ 1) ความเข้มข้นของอนุภาคเงินขนาดนาโนที่ทำให้มีดัชนีการงอกของเมล็ด 50% (LC_{50}) เท่ากับ 829 mg/L (ภาพที่ 9)

ตารางที่ 1 ผลของอนุภาคเงินขนาดนาโนที่ความเข้มข้นต่างๆ ต่อการงอกสัมพัทธ์ ความยาวรากสัมพัทธ์ และดัชนีการงอกของเมล็ดถั่วเขียวพันธุ์ชัยนาท 72 ที่ 5 วัน

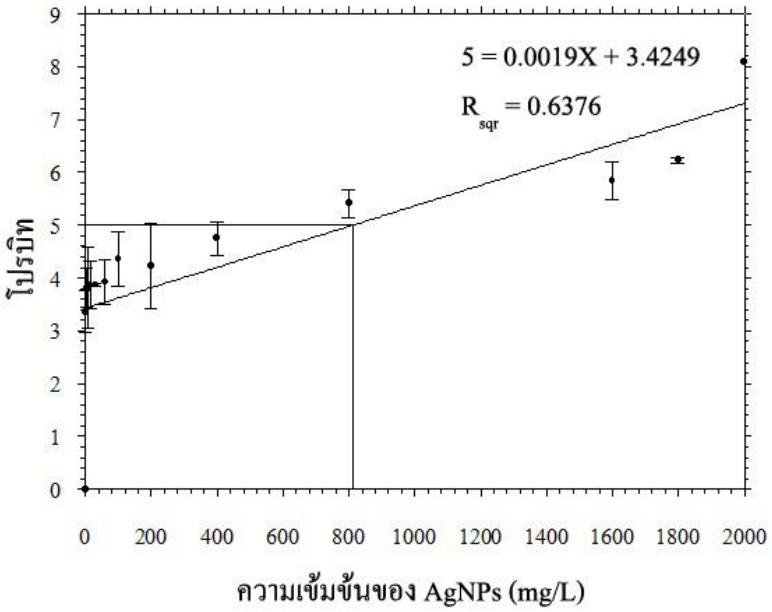
ความเข้มข้น (mg/L)	การงอกสัมพัทธ์ของเมล็ด[1/] (%)	ความยาวรากสัมพัทธ์[1/] (%)	ดัชนีการงอก[1/]
0	100.00 ± 0.00[ก]	100.00 ± 0.00[ก]	100.00 ± 0.00[ก]
1	100.00 ± 0.00[ก]	102.37 ± 19.34[กข]	102.37 ± 19.34[กข]
5	98.89 ± 4.78[ก]	89.27 ± 6.33[กขคง]	88.31 ± 10.37[กขค]
10	97.78 ± 4.78[ก]	90.45 ± 13.24[กขค]	88.40 ± 10.76[กขค]
15	97.78 ± 4.78[ก]	88.47 ± 2.38[กขคง]	86.52 ± 6.46[ขค]
30	96.67 ± 0.00[ก]	90.11 ± 2.11[กขค]	87.11 ± 2.03[ขค]
60	100.00 ± 0.00[ก]	85.57 ± 19.43[ขคง]	85.57 ± 19.43[ขคง]
100	94.45 ± 9.57[ก]	78.82 ± 4.00[คงจ]	74.47 ± 10.52[ง]
200	100.00 ± 0.00[ก]	77.86 ± 1.81[งจ]	77.86 ± 1.81[คง]
400	82.22 ± 4.78[ข]	73.18 ± 6.73[จ]	60.19 ± 8.32[จ]
800	68.89 ± 4.78[ค]	49.30 ± 3.91[ฉ]	33.96 ± 4.27[ฉ]
1600	44.44 ± 12.65[ง]	44.07 ± 8.63[ฉ]	19.73 ± 7.35[ช]
1800	34.44 ± 4.79[จ]	30.51 ± 8.70[ช]	10.72 ± 2.06[ช]
2000	0.00 ± 0.00[ฉ]	0.00 ± 0.00[ซ]	0.00 ± 0.00[ซ]

หมายเหตุ [1/] ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรต่างกันในแต่ละคอลัมน์มีความแตกต่างกันที่ความเชื่อมั่นเท่ากับ 95% ($P<0.05$) ทดสอบความแตกต่างโดยการวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance; ANOVA) และ Tukey

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพที่ 8 Lethal Concentration, 50 Percent (LC_{50}) การงอกของเมล็ดถั่วเขียวพันธุ์ชัยนาท 72 โดยแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าโปรบิทและความเข้มข้นของอนุภาคเงินขนาดนาโน



ภาพที่ 9 Lethal Concentration, 50 Percent (LC_{50}) ดัชนีการงอกของต้นถั่วเขียวพันธุ์ชัยนาท 72 โดยแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าโปรบิทและความเข้มข้นของอนุภาคเงินขนาดนาโน

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เมื่อพิจารณาลักษณะสัณฐานวิทยาของต้นอ่อนจากเมล็ดที่แช่ในน้ำกลั่น พบว่า มีความยาวรากเฉลี่ย 5.9 cm สีน้ำตาลอ่อน รากแก้วและรากฝอยแข็งแรง ลำต้นมีความสูงเฉลี่ย 8.2 cm สีขาวขุ่น ใบเลี้ยงมีครบทั้ง 2 ใบ สีน้ำตาล ไม่ลีบ และใบแรกเริ่มมีความยาวเฉลี่ย 2.4 cm มีจำนวนครบทั้ง 2 ใบ สีเขียว ไม่ขาดแหว่ง

ต้นอ่อนจากเมล็ดที่แช่ในน้ำกลั่นผสมอนุภาคเงินขนาดนาโนที่ความเข้มข้นต่ำ (1-60 mg/L) พบว่ามีลักษณะโดยทั่วไปคล้ายกับต้นอ่อนจากเมล็ดที่แช่ในน้ำกลั่นแต่รากจะสั้นกว่าโดยมีความยาวเฉลี่ย 5.5 cm ลำต้นมีความสูงเฉลี่ย 6 cm และใบแรกเริ่มมีความยาวเฉลี่ย 2 cm และต้นอ่อนจากเมล็ดที่แช่ในน้ำกลั่นผสมอนุภาคเงินขนาดนาโนที่ความเข้มข้นสูง (100 -2000 mg/L) พบว่ามีลักษณะต่างจากต้นอ่อนที่เมล็ดแช่ในน้ำกลั่นอย่างชัดเจน คือ ปลายรากมีสีน้ำตาลเข้มถึงดำ รากแก้วเล็กไม่แข็งแรง รากฝอยมีจำนวนน้อยหรือไม่มี ลำต้นมีสีขาวขุ่น ลำต้นส่วนที่อยู่เหนือใบเลี้ยง (epicotyl) สั้น ลำต้นหงิกงอและแคระแกรน ใบเลี้ยงสีน้ำตาลถึงดำ ลีบ ใบเลี้ยงของบางต้นหลุดหาย และใบแรกเริ่มมีขนาดเล็กลง ใบของบางต้นหลุดหายหรือขาดแหว่ง มีสีเขียวซีดถึงสีเหลืองอ่อน จำนวนและลักษณะดังกล่าวจะพบมากขึ้นและรุนแรงขึ้นเมื่อความเข้มข้นของอนุภาคเงินขนาดนาโนเพิ่มขึ้น และที่ความเข้มข้น 2000 mg/L จะมีเพียงรากสั้นๆ ที่งอกจากเมล็ด (ภาพที่ 10)

ภาพที่ 10 ลักษณะสัณฐานวิทยาของต้นถั่วเขียว อายุ 5 วัน ที่เจริญจากเมล็ดที่ผ่านการแช่ในน้ำกลั่น (control) และในน้ำกลั่นผสมอนุภาคเงินขนาดนาโน (AgNPs) ที่ความเข้มข้น 1 30 200 800 1600 1800 และ 2000 mg/L

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

2. ผลของซิลเวอร์ไนเทรตต่อการงอกสัมพัทธ์ (relative seed germination; RSG) ความยาวรากสัมพัทธ์ (relative root growth; RRG) และดัชนีการงอก (germination index; GI)

จากการทดสอบการงอกของเมล็ดที่ผ่านการแช่ในน้ำกลั่น (ชุดควบคุม) น้ำกลั่นผสมซิลเวอร์ไนเทรตที่ความเข้มข้น 1 5 10 15 20 25 และ 30 mg/L เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 5 วัน พบว่า

การงอกสัมพัทธ์ของเมล็ดถั่วเขียวที่ผ่านการแช่ในน้ำกลั่นผสมซิลเวอร์ไนเทรตที่ความเข้มข้น 1 mg/L ไม่มีความแตกต่างทางสถิติจากการงอกสัมพัทธ์ของเมล็ดถั่วเขียวที่แช่ในน้ำกลั่น ($P<0.05$) แต่ที่ความเข้มข้นของซิลเวอร์ไนเทรตตั้งแต่ 5 mg/L ขึ้นไป มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม ($P<0.05$) โดยการงอกสัมพัทธ์ของเมล็ดจะลดลงเมื่อความเข้มข้นของซิลเวอร์ไนเทรตเพิ่มสูงขึ้น (การงอกสัมพัทธ์เท่ากับ 83.33 56.67 47.78 36.67 26.67 และ 0.00% ที่ความเข้มข้น 5 10 15 20 25 และ 30 mg/L ตามลำดับ) (ตารางที่ 2) ความเข้มข้นของซิลเวอร์ไนเทรตที่ทำให้มีอัตราการตายของเมล็ด 50% (LC_{50}) เท่ากับ 17 mg/L (ภาพที่ 11)

ดัชนีการงอกของเมล็ดที่ผ่านการแช่ในน้ำกลั่นผสมซิลเวอร์ไนเทรตที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 1 mg/L แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจากดัชนีการงอกของเมล็ดถั่วเขียวที่แช่ในน้ำกลั่น ($P<0.05$) โดยดัชนีการงอกของเมล็ดมีแนวโน้มลดลงเมื่อความเข้มข้นของซิลเวอร์ไนเทรตเพิ่มสูงขึ้น (ดัชนีการงอกเท่ากับ 60.68 34.77 18.20 13.83 8.46 5.62 และ 0.00% ที่ความเข้มข้น 1 5 10 15 20 25 และ 30 mg/L ตามลำดับ) (ตารางที่ 2) ความเข้มข้นของซิลเวอร์ไนเทรตที่ทำให้มีดัชนีการงอกของเมล็ด 50% (LC_{50}) เท่ากับ 11 mg/L (ภาพที่ 12)

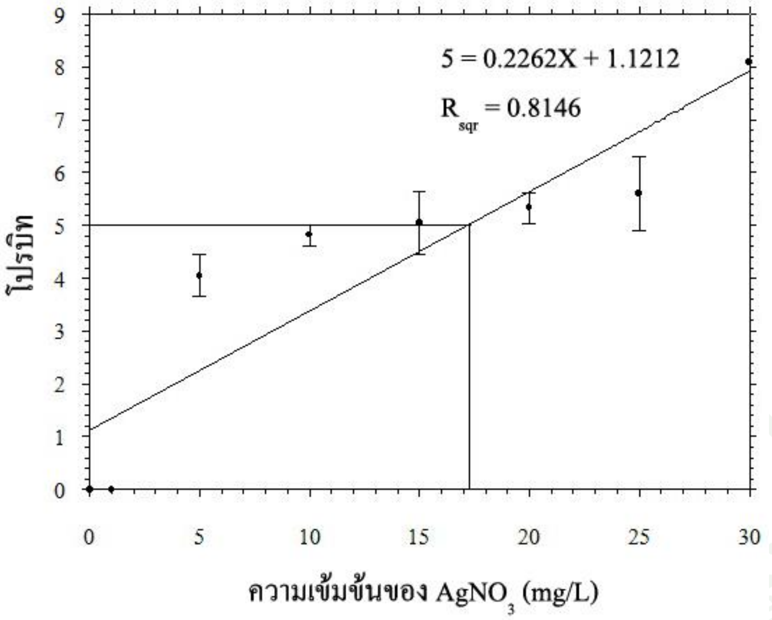
ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 2 ผลของซิลเวอร์ไนเทรตที่ความเข้มข้นต่างๆ ต่อการงอกสัมพัทธ์ ความยาวรากสัมพัทธ์ และดัชนีการงอกของเมล็ดถั่วเขียวพันธุ์ชัยนาท 72 ที่ 5 วัน

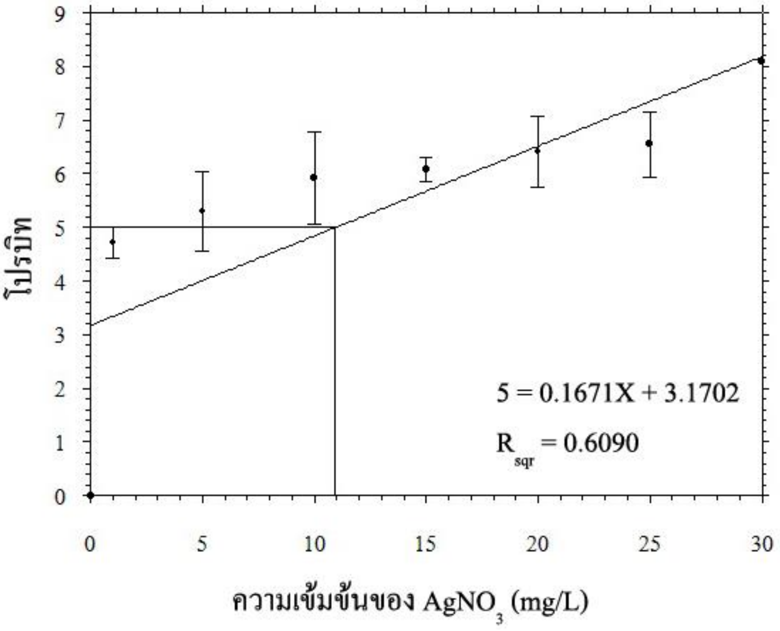
ความเข้มข้น (mg/L)	**การงอกสัมพัทธ์ของเมล็ด[1/] (%)**	**ความยาวรากสัมพัทธ์[1/] (%)**	**ดัชนีการงอก[1/]**
0	100.00 ± 0.00[ก]	100.00 ± 0.00[ก]	100.00 ± 0.00[ก]
1	100.00 ± 0.00[ก]	60.68 ± 2.33[ข]	60.68 ± 2.33[ข]
5	83.33 ± 8.28[ข]	41.88 ± 28.50[ค]	34.77 ± 21.73[ค]
10	56.67 ± 8.28[ค]	32.14 ± 4.18[คง]	18.20 ± 2.85[ง]
15	47.78 ± 12.65[ค]	29.01 ± 4.46[ง]	13.83 ± 3.23[งจ]
20	36.67 ± 0.00[ง]	23.08 ± 7.27[ง]	8.46 ± 2.66[จ]
25	26.67 ± 16.56[จ]	21.03 ± 1.97[ง]	5.62 ± 3.61[จ]
30	0.00 ± 0.00[ฉ]	0.00 ± 0.00[จ]	0.00 ± 0.00[ฉ]

หมายเหตุ [1/] ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรต่างกันในแต่ละคอลัมน์มีความแตกต่างกันที่ความเชื่อมั่นเท่ากับ 95% (P<0.05) ทดสอบความแตกต่างโดยการวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance; ANOVA) และ Tukey

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



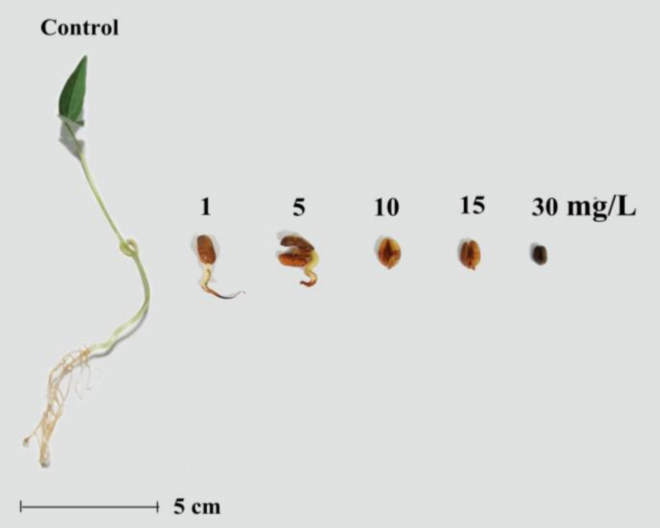
ภาพที่ 11 Lethal Concentration, 50 Percent (LC_{50}) การงอกของเมล็ดถั่วเขียวพันธุ์ชัยนาท 72 โดยแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าโปรบิทและความเข้มข้นของซิลเวอร์ไนเทรต



ภาพที่ 12 Lethal Concentration, 50 Percent (LC_{50}) ดัชนีการงอกของต้นถั่วเขียวพันธุ์ชัยนาท 72 โดยแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าโปรบิทและความเข้มข้นของซิลเวอร์ไนเทรต

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ต้นอ่อนจากเมล็ดที่แช่ในน้ำกลั่นผสมซิลเวอร์ไนเทรตมีลักษณะสัณฐานวิทยาของต้นอ่อนต่างจากต้นอ่อนที่แช่ในน้ำกลั่นอย่างชัดเจน จากการศึกษาพบว่า ต้นอ่อนที่แช่ด้วยน้ำกลั่นผสมซิลเวอร์ไนเทรตมีความยาวรากเฉลี่ย 2.5 cm สีน้ำตาลอ่อน ปลายรากแก้วสีน้ำตาลเข้มถึงดำ รากแก้วสั้น รากฝอยมีจำนวนน้อยหรือไม่มี ลำต้นมีความสูงเฉลี่ย 4.8 cm สีน้ำตาลถึงดำ ส่วนใหญ่ไม่มีลำต้นส่วนที่อยู่เหนือใบเลี้ยง (epicotyl) ลำต้นสั้น แคระแกรน ใบเลี้ยงมีความยาวเฉลี่ย 2.4 cm สีน้ำตาลถึงดำ ลีบ ขนาดเล็ก ส่วนใหญ่เมล็ดจะถูกยับยั้งการเจริญเติบโตจนไม่มีลำต้น ราก และใบ ลักษณะดังกล่าวจะพบมากขึ้นและรุนแรงขึ้นเมื่อความเข้มข้นของซิลเวอร์ไนเทรตเพิ่มขึ้น และที่ความเข้มข้น 30 mg/L จะไม่มีรากงอกจากเมล็ด (ภาพที่ 13)



ภาพที่ 13 ลักษณะสัณฐานวิทยาของต้นถั่วเขียว อายุ 5 วัน ที่เจริญจากเมล็ดที่ผ่านการแช่ในน้ำกลั่น (control) และในน้ำกลั่นผสมซิลเวอร์ไนเทรต ($AgNO_3$) ที่ความเข้มข้น 1 5 10 15 และ 30 mg/L

อนุภาคเงินขนาดนาโนและซิลเวอร์ไนเทรตส่งผลต่อดัชนีการงอกของเมล็ดในความเข้มข้นที่น้อยกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับการงอกสัมพัทธ์ของเมล็ด เนื่องจากดัชนีการงอกของเมล็ดเป็นการประเมินความแข็งแรงของเมล็ดซึ่งคำนึงถึงจำนวนเมล็ดที่งอกและความยาวรากที่แข็งแรง ดังนั้นหากเมล็ดงอกแต่รากไม่แข็งแรกก็จะส่งผลทำให้ดัชนีการงอกของเมล็ดลดลง ซึ่งแสดงให้เห็นว่าการเจริญเติบโตของรากไวต่อการตอบสนองของสารมากกว่าการงอกของเมล็ด ซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษาของ Yin *et al.* (2012); Ruffini and Gremonini (2009) ที่รายงานว่าอนุภาคเงินขนาดนาโนส่งผลกระทบต่อการงอกของเมล็ดน้อยกว่าการเจริญเติบโตของราก อีกทั้งเมล็ดถั่วเขียวมีเมล็ด

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ลักษณะแบบแข็งและส่วนเปลือกหุ้มเมล็ด (seed coat) จะไม่ยอมให้น้ำซึมผ่าน (impermeability) (จวงจันทร์, 2521) ทำให้อัตราการซึมผ่านเยื่อหุ้มเมล็ดมีน้อย ซึ่ง Wierzbicka and Obidzinska (1998) ได้อธิบายถึงกลไกการซึมผ่านของสารละลายตะกั่วต่อการงอกของเมล็ดและการเจริญเติบโตของพืชวงศ์ย่อยของถั่ว (Papilionaceae) ว่า เปลือกหุ้มเมล็ดมีผลต่อการซึมผ่านของสารละลายตะกั่ว โดยระยะแรกของการดูดน้ำของพืช (water uptake) เมล็ดจะเริ่มดูดซึมน้ำด้วยวิธีการดูดอุ้ม (imbibition) โดยเปลือกหุ้มเมล็ดจะคอยป้องกันไม่ให้สารละลายตะกั่วซึมผ่าน และในระยะต่อมาเป็นระยะที่เมล็ดเริ่มมีการเปลี่ยนแปลงทางเคมี สารละลายตะกั่วจึงมีโอกาสซึมผ่านเปลือกหุ้มเมล็ด เมื่อสารละลายตะกั่วผ่านเข้าสู่เมล็ดจะส่งผลต่อต้นอ่อนซึ่งจะส่งผลกระทบต่อรากในลำดับต่อไป

Yin *et al*. (2011) ได้อธิบายถึงการเปลี่ยนแปลงของรากเมื่อตอบสนองต่อสิ่งเร้าภายนอก 2 แบบ คือ 1) “Escape Strategy” รากจะเจริญเติบโตอย่างรวดเร็วเนื่องจากถูกกระตุ้นจากสารที่ถูกสัมผัส และ 2) “Quiescence Strategy” รากจะมีลักษณะทางกายภาพที่ผิดปกติ เช่น บิด โค้ง หรืองอ ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลอง การตอบสนองของรากที่เกิดขึ้นอาจขึ้นอยู่กับระดับความเข้มข้นของสารที่สัมผัส หากสารที่ซึมผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ของรากมีความเข้มข้นน้อยก็อาจจะกระตุ้นการเจริญเติบโตของราก แต่หากมีความเข้มข้นมากก็จะส่งผลทำให้การงอกของเมล็ดลดลง และต้นอ่อนเกิดความผิดปกติมากขึ้น

ซิลเวอร์ไนเทรตส่งผลต่อการงอกของเมล็ดถั่วเขียวและลักษณะสัณฐานวิทยาของต้นอ่อนถั่วเขียวได้มากกว่าอนุภาคเงินขนาดนาโน เนื่องจากซิลเวอร์ไนเทรตอยู่ในรูปไอออนที่ไวต่อการเกิดปฏิกิริยาและสามารถผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ของเมล็ดถั่วเขียวได้ดีกว่าอนุภาคเงินขนาดนาโน เพราะอนุภาคเงินขนาดนาโนอยู่ในสภาพของแข็งขนาดเล็กและแขวนลอย (Wright *et al*., 1998) โดยเปลือกหุ้มเมล็ดทำหน้าที่คัดการซึมผ่านและมีความสำคัญต่อการป้องกันต้นอ่อนให้ปลอดภัยจากปัจจัยภายนอก โดยอนุภาคเงินขนาดนาโนอาจไม่ส่งผลต่อการงอกของเมล็ดหากสารนั้นไม่สามารถผ่านเปลือกหุ้มเมล็ดได้ อีกทั้งขนาดและลักษณะรูบริเวณพื้นผิวของเมล็ดก็มีความสำคัญต่อการคัดผ่านของสาร หากอนุภาคเงินขนาดนาโนมีขนาดใหญ่กว่ารูบริเวณพื้นผิวของเมล็ด สารก็จะผ่านเข้าสู่เซลล์ได้น้อย (Ma *et al*., 2010) ดังนั้นอนุภาคเงินขนาดนาโนจึงไม่ส่งผลต่อการงอกของเมล็ดและลักษณะสัณฐานวิทยาของต้นอ่อนถั่วเขียวที่ความเข้มข้นต่ำ

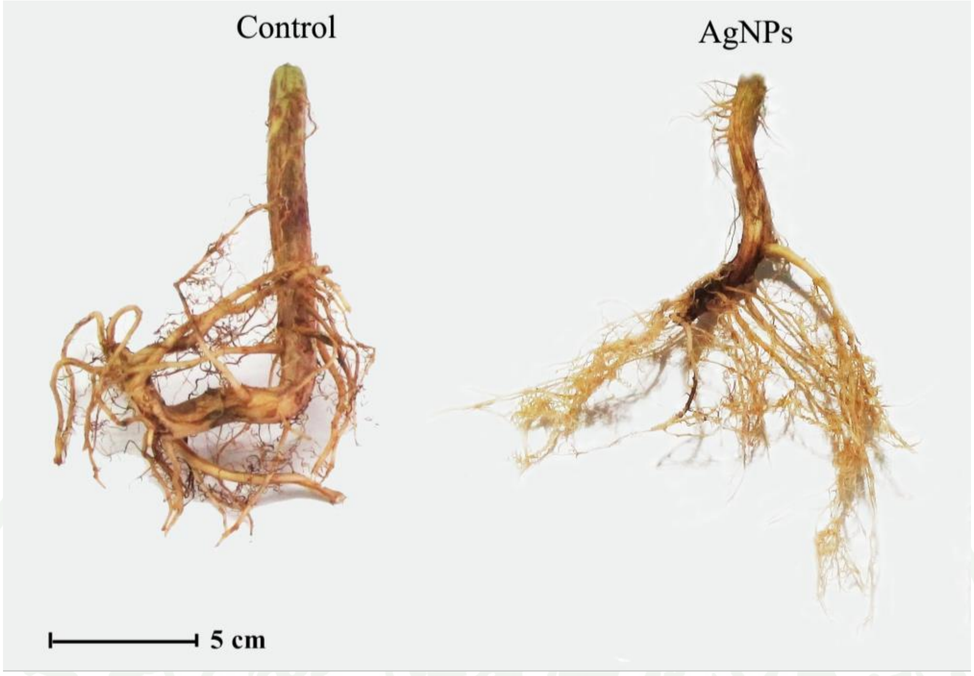
ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

การทดลองที่ 2 ผลของการสัมผัสอนุภาคเงินขนาดนาโน (AgNPs) ในระยะเมล็ดต่อการเจริญเติบโตของต้นถั่วเขียวพันธุ์ชัยนาท 72 ที่ 65 วัน

จากการทดสอบการเจริญเติบโตของต้นถั่วเขียวที่เมล็ดผ่านการแช่ในน้ำกลั่น (ชุดควบคุม) และในน้ำกลั่นผสมอนุภาคเงินขนาดนาโนที่ความเข้มข้น 30 45 60 100 และ 200 mg/L เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และปลูกในทรายคัดขนาด เป็นเวลา 65 วัน พบว่า ต้นถั่วเขียวจากเมล็ดที่ผ่านการแช่ในน้ำกลั่น รากแก้วมีขนาดใหญ่ สีน้ำตาล มีความยาวเฉลี่ย 11 cm รากแขนงและรากฝอยสีน้ำตาลหรือน้ำตาลอ่อน รากแขนงแข็งแรง ค่อนข้างยาว รากฝอยยาวและมีจำนวนมาก (ภาพที่ 14) ลำต้นตั้งตรงและมีสีน้ำตาลอ่อน มีขนปกคลุมเล็กน้อย มีความสูงเฉลี่ย 61 cm ใบมีสีเขียวอ่อนถึงเข้ม มีขนปกคลุมทั่วใบ ใบที่โตเต็มที่มีความกว้างและยาว 8 และ 11 cm ตามลำดับ ยอดมีสีเหลืองหรือน้ำตาลอ่อน มีความยาวเฉลี่ย 1.5 cm มีขนปกคลุม เริ่มมีฝักแรกเมื่ออายุประมาณ 37 วัน ฝักอ่อนมีสีเขียวเข้มแต่เมื่อแก่จะเปลี่ยนเป็นสีดำ จำนวนเฉลี่ย 13 ฝักต่อต้น แต่ละฝักจะมีเมล็ดเฉลี่ย 10 เมล็ด เมล็ดมีลักษณะกลม สีดำ ดอกมีสีเหลืองอ่อน กลีบรองดอกสีเขียว กลีบดอกสมบูรณ์ไม่แหว่งหรือขาดหาย ดอกแรกบานเมื่ออายุประมาณ 30 วัน มีดอกย่อยเฉลี่ย 15 ดอกต่อต้น

รากของต้นถั่วเขียวจากเมล็ดที่ผ่านการแช่ในน้ำกลั่นผสมอนุภาคเงินขนาดนาโนมีลักษณะรากแก้วสั้นและหงิกงอ โคนของรากแก้วมีสีน้ำตาลเข้มแต่บริเวณปลายรากแก้วจะมีสีน้ำตาลเข้มถึงดำ รากแขนงและรากฝอยมีขนาดเล็ก สั้น และมีจำนวนน้อยกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับรากของต้นถั่วเขียวของชุดควบคุม (ภาพที่ 14) โดยขนาดของรากจะสั้นลงและสีของรากเข้มขึ้นเมื่ออนุภาคเงินขนาดนาโนมีความเข้มข้นเพิ่มขึ้นซึ่งรากแก้วมีความยาวเฉลี่ย 11.0 10.4 8.9 6.3 และ 5.1 cm ที่ความเข้มข้น 30 45 60 100 และ 200 mg/L ตามลำดับ มวลชีวภาพของรากในทุกชุดทดลองมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจากชุดควบคุม ($P<0.05$) โดยมวลชีวภาพของรากจะลดลงเมื่อความเข้มข้นของอนุภาคเงินขนาดนาโนเพิ่มขึ้น (มวลชีวภาพเท่ากับ 63.58 60.40 55.02 24.73 และ 20.00% ที่ความเข้มข้น 30 45 60 100 และ 200 mg/L ตามลำดับ) (ภาพที่ 15ก)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพที่ 14 รากของต้นถั่วเขียว อายุ 65 วัน ที่เจริญจากเมล็ดที่ผ่านการแช่ในน้ำกลั่น (control) และในน้ำกลั่นผสมอนุภาคเงินขนาดนาโน (AgNPs) ที่ความเข้มข้น 200 mg/L

ลำต้นของต้นถั่วเขียวจากเมล็ดที่ผ่านการแช่ในน้ำกลั่นผสมอนุภาคเงินขนาดนาโนทุกความเข้มข้นมีลำต้นตั้งตรงและสีน้ำตาลอ่อน มีขนปกคลุมเล็กน้อย มีความสูงเฉลี่ย 78 72 75 75 และ 68 cm ที่ความเข้มข้น 30 45 60 100 และ 200 mg/L ตามลำดับ ซึ่งสูงและมีลักษณะผอมกว่าต้นถั่วเขียวของชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) (ภาพที่ 16) อย่างไรก็ตามมวลชีวภาพของลำต้นจากชุดทดลองที่ความเข้มข้นของอนุภาคเงินขนาดนาโน 30 mg/L ไม่แตกต่างทางสถิติจากชุดควบคุม และที่ความเข้มข้น 45 60 100 และ 200 mg/L มวลชีวภาพของลำต้นมีแนวโน้มลดลงเมื่อความเข้มข้นของอนุภาคเงินขนาดนาโนเพิ่มขึ้น 97.97 90.87 85.83 และ 83.71% ตามลำดับ (ภาพที่ 15ข)

ใบของต้นถั่วเขียวจากเมล็ดที่ผ่านการแช่ในน้ำกลั่นผสมอนุภาคเงินขนาดนาโนทุกความเข้มข้นมีรูปร่างและสีไม่แตกต่างจากใบของชุดควบคุม มีความยาวเฉลี่ย 15.7 13.5 9.6 7.1 และ 6.8 cm ที่ความเข้มข้น 30 45 60 100 และ 200 mg/L ตามลำดับ มวลชีวภาพของใบจากต้นถั่วเขียวในทุกชุดทดลองแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจากชุดควบคุม ($P<0.05$) โดยที่ความเข้มข้นของอนุภาคเงินขนาดนาโน 30 และ 45 mg/L มีมวลชีวภาพสูงกว่าชุดควบคุม (112.49 และ 104.90%

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

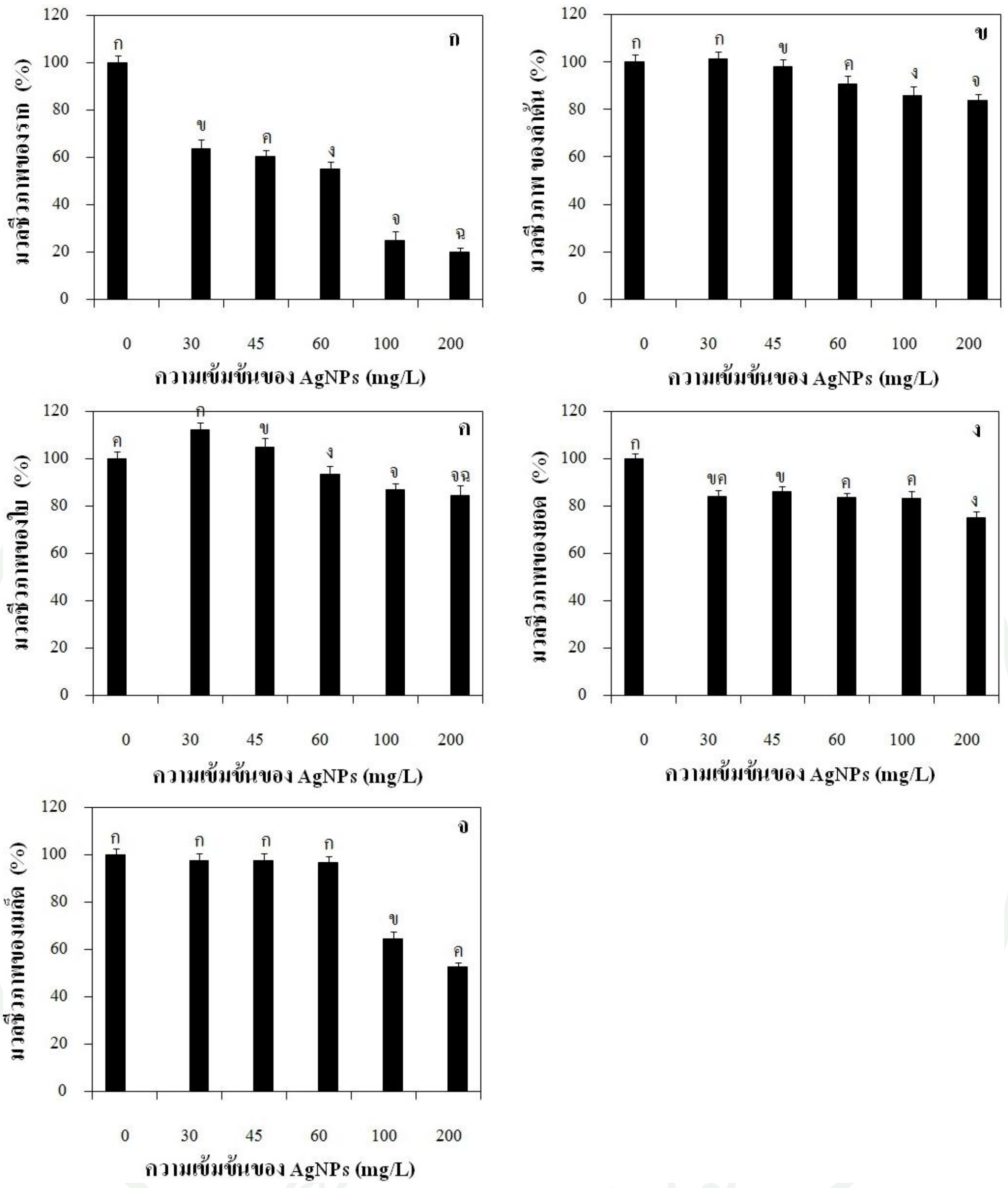
ตามลำดับ) และที่ความเข้มข้น 60 100 และ 200 mg/L มีมวลชีวภาพต่ำกว่าชุดควบคุมและมีแนวโน้มลดลงเมื่อความเข้มข้นของอนุภาคเงินขนาดนาโนเพิ่มขึ้น (93.34 86.92 และ 84.73% ตามลำดับ) (ภาพที่ 15ค)

ยอดของต้นถั่วเขียวจากเมล็ดที่ผ่านการแช่ในน้ำกลั่นผสมอนุภาคเงินขนาดนาโนทุกความเข้มข้นมีลักษณะไม่แตกต่างจากยอดของชุดควบคุม มีขนาดเฉลี่ย 1.2 1 0.7 0.5 และ 0.4 cm ที่ความเข้มข้น 30 45 60 100 และ 200 mg/L ตามลำดับ มวลชีวภาพของยอดในทุกชุดทดลองมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจากชุดควบคุม (P<0.05) โดยมวลชีวภาพของยอดจะลดลงเมื่อความเข้มข้นของอนุภาคเงินขนาดนาโนเพิ่มขึ้น (มวลชีวภาพเท่ากับ 84.24 86.32 83.61 83.33 และ 75.12% ที่ความเข้มข้น 30 45 60 100 และ 200 mg/L ตามลำดับ) (ภาพที่ 15ง)

ฝักและเมล็ดของต้นถั่วเขียวจากเมล็ดที่ผ่านการแช่ในน้ำกลั่นผสมอนุภาคเงินขนาดนาโนที่ความเข้มข้นน้อย (30 45 และ 60 mg/L) มีฝักอ่อนสีเขียวเข้มและเปลี่ยนเป็นสีดำเมื่อฝักแก่ แต่เมื่อความเข้มข้นมากขึ้น คือ 100 และ 200 mg/L พบว่าบางฝักจะมีลักษณะลีบ มีขนาดเล็ก โดยมีจำนวนฝักเฉลี่ย 14 13 11 10 และ 7 ฝักต่อต้น ที่ความเข้มข้น 30 45 และ 60 100 และ 200 mg/L ตามลำดับ และลักษณะของเมล็ดที่ความเข้มข้น 30 45 และ 60 mg/L มีลักษณะกลม สีเขียวเข้ม แต่ที่ความเข้มข้น 100 และ 200 mg/L เมล็ดส่วนใหญ่มีลักษณะลีบ บางเมล็ดมีสีดำ ซึ่งในทุกความเข้มข้นแต่ละฝักมีจำนวนเมล็ดเฉลี่ย 4-6 เมล็ด โดยลักษณะสัณฐานวิทยาของเมล็ดสอดคล้องกับมวลชีวภาพของเมล็ดจากชุดทดลองที่ความเข้มข้นของอนุภาคเงินขนาดนาโน 30 45 และ 60 mg/L ที่ไม่แตกต่างทางสถิติจากชุดควบคุม และที่ความเข้มข้น 100 และ 200 mg/L มีมวลชีวภาพของเมล็ดแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจากชุดควบคุม (P<0.05) (มวลชีวภาพเท่ากับ 97.58 97.51 96.87 64.59 และ 52.71% ที่ความเข้มข้น 30 45 60 100 และ 200 mg/L ตามลำดับ) (ภาพที่ 15จ)

ดอกของต้นถั่วเขียวจากเมล็ดที่ผ่านการแช่ในน้ำกลั่นผสมอนุภาคเงินขนาดนาโนในทุกความเข้มข้นมีลักษณะคล้ายดอกของชุดควบคุมโดยมีกลีบดอกสมบูรณ์ ไม่แหว่ง หรือขาดหาย สีเหลืองอ่อน ดอกแรกบานเมื่ออายุประมาณ 33 วัน มีกลีบรองดอกสีเขียว แต่มีจำนวนดอกย่อยในแต่ละต้นน้อยกว่าโดยแต่ละต้นมีดอกย่อยเฉลี่ย 9-13 ดอก

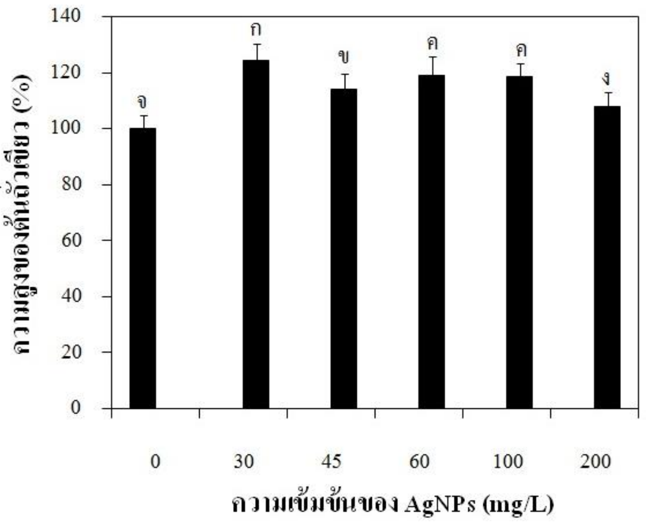
ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพที่ 15 มวลชีวภาพของส่วนต่างๆ ของต้นถั่วเขียวที่เจริญจากเมล็ดที่ผ่านการแช่ในน้ำกลั่น (control) และที่เจริญจากเมล็ดที่ผ่านการแช่ในน้ำกลั่นผสมอนุภาคเงินขนาดนาโน (AgNPs) ความเข้มข้น 30 45 60 100 และ 200 mg/L ที่เพาะเลี้ยงนาน 65 วัน (ก) ราก (ข) ลำต้น (ค) ใบ (ง) ยอด และ (จ) เมล็ด

หมายเหตุ ตัวอักษรต่างกันในแต่ละกราฟมีความแตกต่างกันที่ความเชื่อมั่นเท่ากับ 95% (P<0.05) ทดสอบความแตกต่างโดยการวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance; ANOVA) และ Tukey

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพที่ 16 ความสูงของต้นถั่วเขียวพันธุ์ชัยนาท 72 อายุ 65 วัน ที่เจริญจากเมล็ดที่ผ่านการแช่ในน้ำกลั่น (control) และในน้ำกลั่นผสมอนุภาคเงินขนาดนาโน (AgNPs) ที่ความเข้มข้น 30 45 60 100 และ 200 mg/L

หมายเหตุ ตัวอักษรต่างกันในแต่ละกราฟมีความแตกต่างกันที่ความเชื่อมั่นเท่ากับ 95% (P<0.05) ทดสอบความแตกต่างโดยการวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance; ANOVA) และ Tukey

เมื่อนำต้นถั่วเขียวที่เจริญจากเมล็ดที่แช่ในน้ำกลั่นผสมอนุภาคเงินขนาดนาโนที่ความเข้มข้น 200 mg/L ไปวิเคราะห์หาปริมาณธาตุเงิน (Ag) ในส่วนราก ลำต้น ใบ ยอด และเมล็ด (น้ำหนักแห้ง) พบว่า มีการสะสมของธาตุเงินอยู่ที่รากมากที่สุด (0.2093 mg/g) และมีการสะสมของธาตุเงินในลำต้น ใบ ยอด และเมล็ดเช่นกันแต่ในปริมาณที่ต่ำกว่าราก (แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ P<0.05) โดยพบการสะสมในลำต้นมากกว่าใบ ยอด และเมล็ด (ตารางที่ 3)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 3 ปริมาณของธาตุเงิน (Ag) ที่สะสมในส่วนต่างๆ ของต้นถั่วเขียว อายุ 65 วัน ที่เจริญจากเมล็ดที่แช่ในน้ำกลั่นผสมอนุภาคเงินขนาดนาโนความเข้มข้น 200 mg/L

ส่วนต่างๆ ของต้นถั่วเขียว	ปริมาณของ Ag (mg/g)[1/]
ราก	0.2093 ± 0.0348[ก]
ลำต้น	0.0630 ± 0.0010[ข]
ใบ	0.0179 ± 0.0037[ค]
เมล็ด	0.0131 ± 0.0044[ค]
ยอด	0.0122 ± 0.0011[ค]

หมายเหตุ [1/] ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรต่างกันในแต่ละคอลัมน์มีความแตกต่างกันที่ความเชื่อมั่นเท่ากับ 95% ($P<0.05$) ทดสอบความแตกต่างโดยการวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance; ANOVA) และ Tukey

เมื่อเปรียบเทียบส่วนต่างๆ ของต้นถั่วเขียวที่เจริญจากเมล็ดที่ผ่านการแช่ในน้ำกลั่นผสมอนุภาคเงินขนาดนาโน พบว่า อนุภาคเงินขนาดนาโนที่ได้รับในระยะเมล็ดมีผลต่อการเจริญเติบโตของต้นถั่วเขียว โดยการเจริญเติบโตมีแนวโน้มลดลงเมื่อความเข้มข้นของอนุภาคเงินขนาดนาโนเพิ่มขึ้น แม้ว่าการใช้อนุภาคเงินขนาดนาโนที่ความเข้มข้นต่ำอาจกระตุ้นมวลชีวภาพของลำต้นและใบได้ (ภาพที่ 15ข และ ค) จากมวลชีวภาพที่ลดลงอย่างมีนัยสำคัญในทุกๆ ส่วนโดยเฉพาะอย่างยิ่งในราก ซึ่งเป็นส่วนที่มีมวลชีวภาพลดลงมากที่สุด (ภาพที่ 15ก) ทั้งนี้ เป็นเพราะรากเป็นส่วนที่งอกออกจากเมล็ดก่อนส่วนอื่นๆ และเป็นส่วนที่สัมผัสกับอนุภาคเงินขนาดนาโนโดยตรง Lee *et al.* (2008) ได้รายงานว่าการซึมผ่านและการสะสมของอนุภาคขนาดนาโนจะขึ้นอยู่กับลักษณะผิวและจำนวนรากในพืชแต่ละชนิด ซึ่งรากแรกเริ่มของต้นถั่วเขียวพันธุ์ชัยนาท 72 ที่ใช้ในการทดลอง มีลักษณะเล็กและบาง จึงอาจทำให้ธาตุเงินสามารถซึมผ่านรากของถั่วเขียวได้ง่ายและมีการสะสมได้ตั้งแต่มีการแช่เมล็ด ธาตุเงินที่สะสมอยู่ในรากมากกว่าส่วนอื่นๆ จึงทำให้เห็นความแตกต่างของลักษณะทางสัณฐานวิทยาและมวลชีวภาพของรากได้มากกว่าในส่วนอื่นๆ ธาตุเงินจากรากจะถูกลำเลียงผ่านลำต้นและส่งต่อไปยังส่วนอื่นๆ แต่ในปริมาณน้อย (Ma *et al.*, 2010) ซึ่งอาจเป็นสาเหตุที่ทำให้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและมวลชีวภาพของลำต้น ใบ ยอด ฝักและเมล็ดไม่ได้แตกต่างมากนักเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

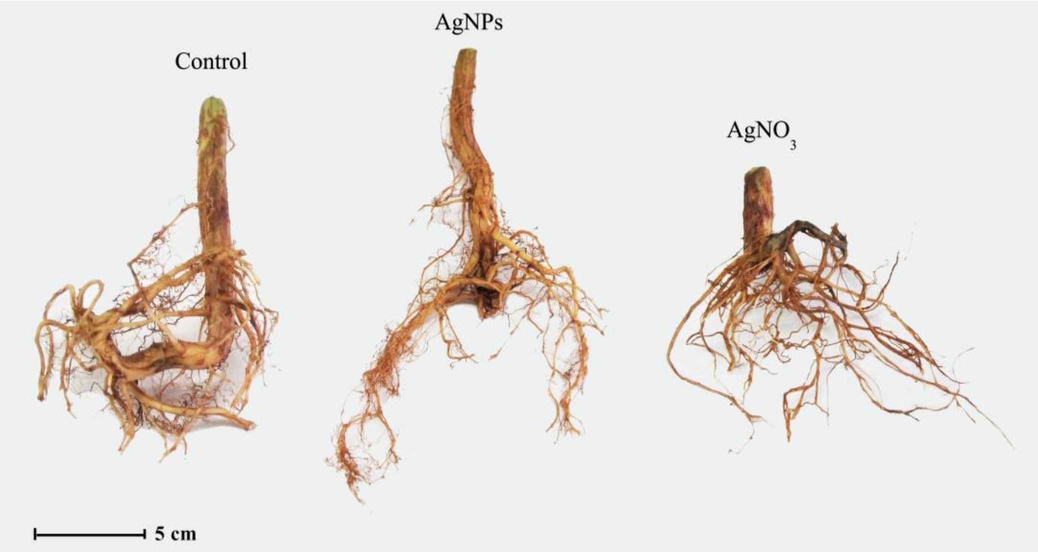
การทดลองที่ 3 ผลของการปลูกถั่วเขียวในทรายปนเปื้อนอนุภาคเงินขนาดนาโน (AgNPs) หรือซิลเวอร์ไนเตรต ($AgNO_3$) ต่อการเจริญเติบโตของต้นถั่วเขียวพันธุ์ชัยนาท 72

จากการทดสอบการเจริญเติบโตของต้นถั่วเขียวที่เมล็ดแช่ในน้ำกลั่นเป็นเวลา 24 ชั่วโมง และนำไปปลูกในทรายคัดขนาดที่ไม่ปนเปื้อน (ชุดควบคุม) เปรียบเทียบกับต้นถั่วเขียวที่ปลูกในทรายคัดขนาดผสมอนุภาคเงินขนาดนาโนหรือซิลเวอร์ไนเตรตที่ความเข้มข้น 0.5 1 5 10 และ 15 mg/kg เป็นเวลา 65 วัน พบว่า ต้นถั่วเขียวจากเมล็ดที่ผ่านการแช่ในน้ำกลั่น รากแก้วมีขนาดใหญ่ สีน้ำตาล มีความยาวเฉลี่ย 11 cm รากแขนงและรากฝอยสีน้ำตาลหรือน้ำตาลอ่อน รากแขนงแข็งแรงค่อนข้างยาว รากฝอยยาวและมีจำนวนมาก (ภาพที่ 17) ลำต้นตั้งตรงและมีสีน้ำตาลอ่อน มีขนปกคลุมเล็กน้อย มีความสูงเฉลี่ย 61 cm ใบมีสีเขียวอ่อนถึงเข้ม มีขนปกคลุมทั่วใบ ใบที่โตเต็มที่มีความกว้างและยาว 8 และ 11 cm ตามลำดับ ยอดมีสีเหลืองหรือน้ำตาลอ่อน มีความยาวเฉลี่ย 1.5 cm มีขนปกคลุม เริ่มมีฝักแรกเมื่ออายุประมาณ 37 วัน ฝักอ่อนมีสีเขียวเข้มแต่เมื่อแก่จะเปลี่ยนเป็นสีดำ จำนวนเฉลี่ย 13 ฝักต่อต้น แต่ละฝักจะมีเมล็ดเฉลี่ย 10 เมล็ด เมล็ดมีลักษณะกลม สีดำ ดอกมีสีเหลืองอ่อน กลีบรองดอกสีเขียว กลีบดอกสมบูรณ์ไม่แหว่งหรือขาดหาย ดอกแรกบานเมื่ออายุประมาณ 30 วัน มีดอกย่อยเฉลี่ย 15 ดอกต่อต้น

1. การเจริญเติบโตของต้นถั่วเขียวพันธุ์ชัยนาท 72 ที่ปลูกในทรายคัดขนาดผสมอนุภาคเงินขนาดนาโน

รากของต้นถั่วเขียวจากที่ปลูกในทรายคัดขนาดผสมอนุภาคเงินขนาดนาโนมีลักษณะรากแก้วสั้น แคระแกรน ปลายรากแก้วมีสีน้ำตาลเข้มถึงดำ รากแขนงและรากฝอยแข็งแรง (ภาพที่ 17) โดยขนาดของรากจะสั้นลงเมื่ออนุภาคเงินขนาดนาโนมีความเข้มข้นเพิ่มขึ้น ซึ่งรากแก้วมีความยาวเฉลี่ย 11.2 10.0 9.3 7.6 และ 4.4 cm ที่ความเข้มข้น 0.5 1 5 10 และ 15 mg/kg ตามลำดับ มวลชีวภาพของรากในทุกชุดทดลองมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจากชุดควบคุม ($P<0.05$) โดยมวลชีวภาพของรากจะลดลงเมื่อความเข้มข้นของอนุภาคเงินขนาดนาโนเพิ่มขึ้น (มวลชีวภาพเท่ากับ 115.90 110.70 94.10 82.09 และ 80.54% ที่ความเข้มข้น 0.5 1 5 10 และ 15 mg/kg ตามลำดับ) (ภาพที่ 18ก)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพที่ 17 รากของต้นถั่วเขียว อายุ 65 วัน ที่ปลูกในทรายคัดขนาด (control) และปลูกในทรายคัดขนาดผสมอนุภาคเงินขนาดนาโน (AgNPs) หรือซิลเวอร์ไนเตรต ($AgNO_3$) ที่ความเข้มข้น 15 mg/kg

ลำต้นของต้นถั่วเขียวจากที่ปลูกในทรายคัดขนาดผสมอนุภาคเงินขนาดนาโนมีลักษณะลำต้นตั้งตรง สีน้ำตาลอ่อน มีขนปกคลุมเล็กน้อย มีความสูงเฉลี่ย 60.0 57.3 56.1 55.7 และ 50.4 cm ที่ความเข้มข้น 0.5 1 5 10 และ 15 mg/kg ตามลำดับ ซึ่งมีเพียงที่ความเข้มข้น 15 mg/kg ที่ส่งผลต่อความสูงของต้นถั่วเขียวเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม (ภาพที่ 19) อย่างไรก็ตามมวลชีวภาพของลำต้นที่ความเข้มข้น 0.5 และ 5 mg/kg แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจากชุดควบคุม (P<0.05) (มวลชีวภาพเท่ากับ 111.63 และ 103.03% ตามลำดับ) และที่ความเข้มข้น 1 10 และ 15 mg/kg มวลชีวภาพของลำต้นมีแนวโน้มลดลงเมื่อความเข้มข้นของอนุภาคเงินขนาดนาโนเพิ่มขึ้นแต่ไม่แตกต่างทางสถิติจากชุดควบคุม (มวลชีวภาพเท่ากับ 103.03 97.74 และ 94.24% ตามลำดับ) (ภาพที่ 18ข)

ใบของต้นถั่วเขียวจากที่ปลูกในทรายคัดขนาดผสมอนุภาคเงินขนาดนาโนมีลักษณะคล้ายกับใบของชุดควบคุม คือ ในสีเขียวอ่อน สีขนปกคลุมทั่วใบ มีความยาวเฉลี่ย 15.0 12.1 9.9 7.2 และ 6.1 cm ที่ความเข้มข้น 0.5 1 5 10 และ 15 mg/kg ตามลำดับ ซึ่งมวลชีวภาพของใบจากต้นถั่วเขียวที่ความเข้มข้น 0.5 และ 10 mg/kg แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจากชุดควบคุม (P<0.05) โดยอนุภาคเงินขนาดนาโนที่ความเข้มข้น 0.5 mg/kg มีมวลชีวภาพสูงกว่าชุดควบคุม (108.90%) และที่ความเข้มข้น 10 mg/kg มีมวลชีวภาพต่ำกว่าชุดควบคุมค่อนข้างมาก (29.51%) เนื่องจากมีการปลูกถั่วเขียวในระบบเปิด (ปลูกในโรงเรือน) ทำให้ต้นถั่วเขียวถูกรบกวนจากสภาพแวดล้อมได้ง่าย

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

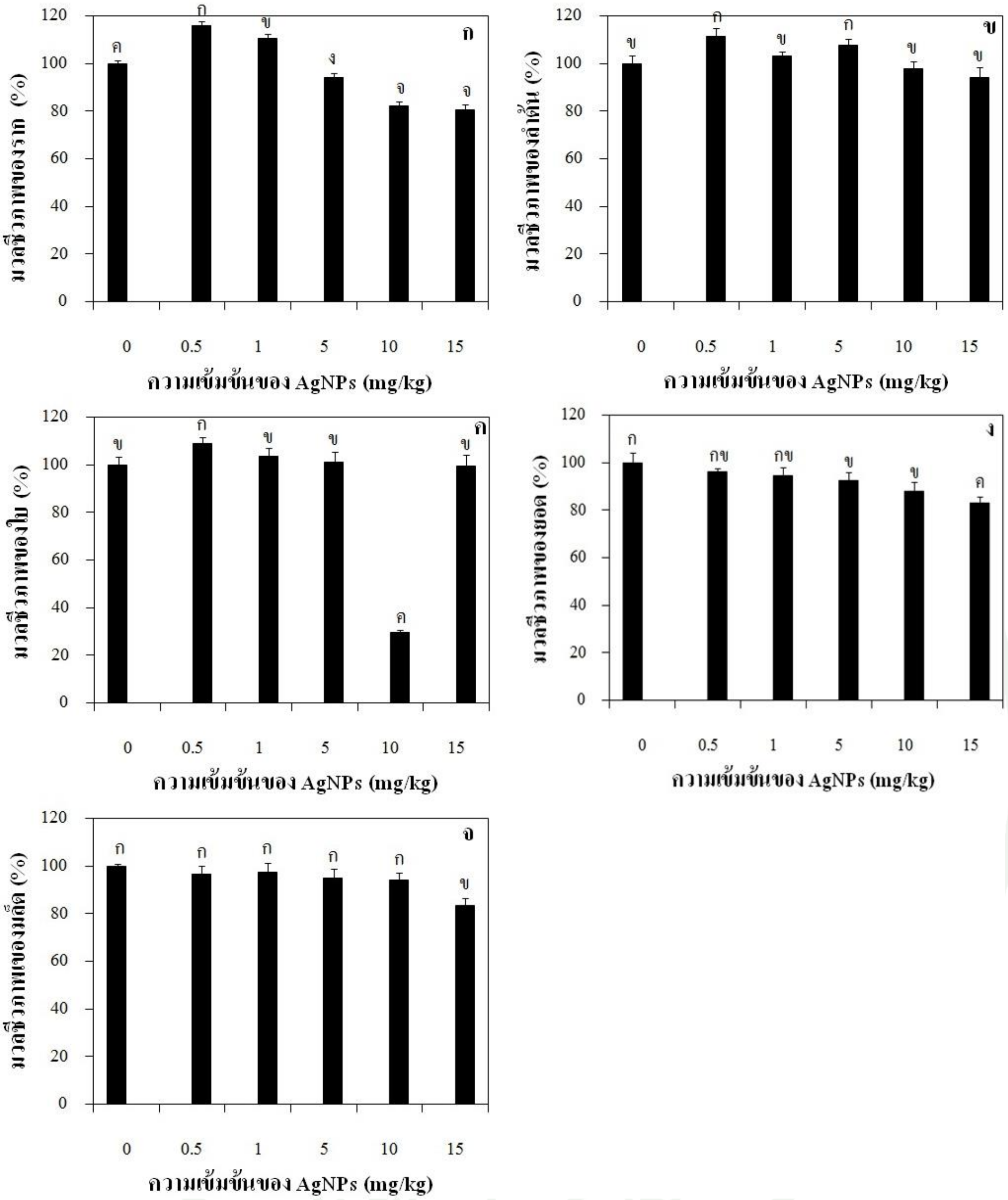
และยากต่อการควบคุม ซึ่งในช่วงเวลาดังกล่าวมีการรบกวนจากศัตรูพืชจึงทำให้ต้องกำจัดใบที่ติดเชื้อทิ้ง จึงส่งผลทำให้เปอร์เซ็นต์มวลชีวภาพของใบในการทดลองนี้มีค่าน้อยมากเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม และมวลชีวภาพของใบจากต้นถั่วเขียวที่ความเข้มข้น 1 5 และ 15 mg/kg ไม่แตกต่างทางสถิติจากชุดควบคุม (มวลชีวภาพเท่ากับ 103.50 100.90 และ 99.55% ตามลำดับ) (ภาพที่ 18ค)

ยอดของต้นถั่วเขียวจากที่ปลูกในทรายคัดขนาดผสมอนุภาคเงินขนาดนาโนมีลักษณะสมบูรณ์แข็งแรง มีขนปกคลุม สีเหลืองถึงน้ำตาลอ่อน มีขนาดเฉลี่ย 1.4 1.3 1.1 1.0 และ 0.7 cm ที่ความเข้มข้น 0.5 1 5 10 และ 15 mg/kg ตามลำดับ มวลชีวภาพของยอดจะลดลงเมื่อความเข้มข้นของอนุภาคเงินขนาดนาโนเพิ่มขึ้น โดยที่ความเข้มข้น 0.5 และ 1 mg/kg มวลชีวภาพของยอดไม่แตกต่างทางสถิติจากชุดควบคุม (มวลชีวภาพเท่ากับ 96.07 และ 94.68% ตามลำดับ) แต่ที่ความเข้มข้น 5 10 และ 15 mg/kg แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจากชุดควบคุม (P<0.05) (มวลชีวภาพเท่ากับ 92.29 87.76 และ 82.85% ตามลำดับ) (ภาพที่ 18ง)

ฝักและเมล็ดของต้นถั่วเขียวจากที่ปลูกในทรายคัดขนาดผสมอนุภาคเงินขนาดนาโนที่ความเข้มข้น 0.5 1 5 และ 10 mg/kg ฝักอ่อนสีเขียวเข้มและเปลี่ยนเป็นสีดำเมื่อฝักแก่ ลักษณะฝักเรียวยาว และเริ่มมีฝักแรกเมื่ออายุประมาณ 37 วัน ส่วนอนุภาคเงินขนาดนาโนที่ความเข้มข้น 15 mg/kg ฝักจะมีขนาดเล็ก ลีบ และเริ่มมีฝักแรกช้ากว่า คือเริ่มมีฝักเมื่ออายุประมาณ 40 วัน โดยมีจำนวนฝักเฉลี่ย 14 15 13 12 และ 9 ฝักต่อต้น ที่ความเข้มข้น 0.5 1 5 10 และ 15 mg/kg ตามลำดับ และลักษณะของเมล็ดที่ความเข้มข้น 0.5 1 5 และ 10 mg/kg มีลักษณะกลม สีเขียวเข้ม แต่ที่ความเข้มข้น 15 mg/kg เมล็ดจะลีบ บางเมล็ดสีดำ ในทุกความเข้มข้นแต่ละฝักมีจำนวนเมล็ดเฉลี่ย 5-8 เมล็ด ซึ่งลักษณะมวลชีวภาพของเมล็ดจะสอดคล้องกับลักษณะสัณฐานวิทยาของเมล็ด คือ มวลชีวภาพของเมล็ดที่ความเข้มข้น 0.5 1 5 และ 10 mg/kg ไม่แตกต่างทางสถิติจากชุดควบคุม (มวลชีวภาพเท่ากับ 96.50 97.51 94.87 และ 94.29% ตามลำดับ) ซึ่งมีเพียงที่ความเข้มข้น 15 mg/kg ที่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจากชุดควบคุม (P<0.05) โดยมีมวลชีวภาพเท่ากับ 83.39% (ภาพที่ 18จ)

ดอกของต้นถั่วเขียวจากที่ปลูกในทรายคัดขนาดผสมอนุภาคเงินขนาดนาโนในทุกความเข้มข้นกลีบดอกมีลักษณะสมบูรณ์ ไม่แหว่ง สีเหลืองอ่อน ดอกแรกบานเมื่ออายุประมาณ 29 วัน ซึ่งแต่ละต้นมีดอกย่อยเฉลี่ย 10-15 ดอก

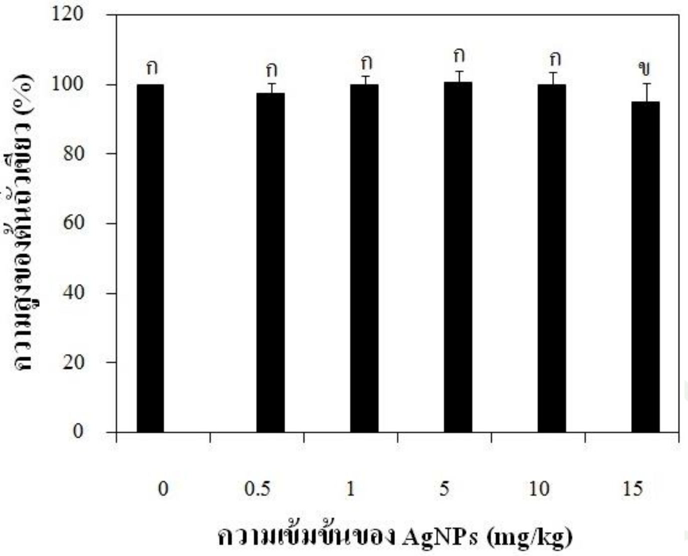
ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพที่ 18 มวลชีวภาพของส่วนต่างๆ ของต้นถั่วเขียวที่ปลูกในทรายคัดขนาด (control) และปลูกในทรายคัดขนาดผสมอนุภาคเงินขนาดนาโน (AgNPs) ความเข้มข้น 0.5 1 5 10 และ 15 mg/kg ที่เพาะเลี้ยงนาน 65 วัน (ก) ราก (ข) ลำต้น (ค) ใบ (ง) ยอด และ (จ) เมล็ด

หมายเหตุ ตัวอักษรต่างกันในแต่ละกราฟมีความแตกต่างกันที่ความเชื่อมั่นเท่ากับ 95% (*P*<0.05) ทดสอบความแตกต่างโดยการวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance; ANOVA) และ Tukey

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพที่ 19 ความสูงของต้นถั่วเขียวพันธุ์ชัยนาท 72 อายุ 65 วัน ที่ปลูกในทรายคัดขนาด (control) และปลูกในทรายคัดขนาดผสมอนุภาคเงินขนาดนาโน (AgNPs) ความเข้มข้น 0.5 1 5 10 และ 15 mg/kg

หมายเหตุ ตัวอักษรต่างกันในแต่ละกราฟมีความแตกต่างกันที่ความเชื่อมั่นเท่ากับ 95% ($P<0.05$) ทดสอบความแตกต่างโดยการวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance; ANOVA) และ Tukey

เมื่อนำต้นถั่วเขียวที่ปลูกจากทรายคัดขนาดผสมอนุภาคเงินขนาดนาโนความเข้มข้น 15 mg/kg ไปวิเคราะห์หาปริมาณธาตุเงิน (Ag) ในส่วนราก ลำต้น ใบ ยอด และเมล็ด พบว่ามีการสะสมของธาตุเงินอยู่ที่รากมากที่สุด (0.0968 mg/g) และมีการสะสมของธาตุเงินในลำต้น ใบ ยอด และเมล็ดเช่นกันแต่ในปริมาณที่ต่ำกว่าราก (แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ $P<0.05$) โดยพบการสะสมในใบมากกว่าลำต้น ยอด และเมล็ด (ตารางที่ 4)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 4 ปริมาณของธาตุเงิน (Ag) ที่สะสมในส่วนต่างๆ ของต้นถั่วเขียว อายุ 65 วัน ที่ปลูกในทรายคัดขนาดผสมอนุภาคเงินขนาดนาโนความเข้มข้น 15 mg/kg

ส่วนต่างๆ ของต้นถั่วเขียว	ปริมาณของ Ag (mg/g)[1/]
ราก	0.0968 ± 0.0032[ก]
ลำต้น	0.0132 ± 0.0014[ค]
ใบ	0.0155 ± 0.0007[ข]
ยอด	0.0115 ± 0.0001[ค]
เมล็ด	0.0109 ± 0.0004[ค]

หมายเหตุ [1/] ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรต่างกันในแต่ละคอลัมน์มีความแตกต่างกันที่ความเชื่อมั่นเท่ากับ 95% (P<0.05) ทดสอบความแตกต่างโดยการวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance; ANOVA) และ Tukey

2. การเจริญเติบโตของต้นถั่วเขียวพันธุ์ชัยนาท 72 ที่ปลูกในทรายคัดขนาดผสมซิลเวอร์ไนเตรต

รากของต้นถั่วเขียวจากที่ปลูกในทรายคัดขนาดผสมซิลเวอร์ไนเตรตมีลักษณะรากแก้วสั้น หงิกงอ เล็ก ลีบ แคระแกรน ไม่สมบูรณ์ สีน้ำตาลอ่อนและเข้มเล็กน้อย แต่บริเวณปลายรากแก้วจะมีสีน้ำตาลเข้มถึงดำ มีรากแขนงจำนวนหนึ่งแต่รากฝอยมีจำนวนน้อยและสั้น (ภาพที่ 17) โดยขนาดของรากจะสั้นลงเมื่อซิลเวอร์ไนเตรตมีความเข้มข้นเพิ่มขึ้น ซึ่งรากแก้วมีความยาวเฉลี่ย 9.7 8.4 8.0 6.6 และ 4.9 cm ที่ความเข้มข้น 0.5 1 5 10 และ 15 mg/kg ตามลำดับ มวลชีวภาพของรากในทุกชุดทดลองมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจากชุดควบคุม (P<0.05) โดยมวลชีวภาพของรากจะลดลงเมื่อความเข้มข้นของซิลเวอร์ไนเตรตเพิ่มขึ้น (มวลชีวภาพเท่ากับ 88.16 85.47 81.37 71.16 และ 61.37% ที่ความเข้มข้น 0.5 1 5 10 และ 15 mg/kg ตามลำดับ) (ภาพที่ 20 ก)

ลำต้นของต้นถั่วเขียวจากที่ปลูกในทรายคัดขนาดผสมซิลเวอร์ไนเตรตมีลักษณะลำต้นค่อนข้างเล็ก ลีบ สีน้ำตาลอ่อนถึงเข้ม มีความสูงเฉลี่ย 60.5 57.1 55.7 53.9 และ 49.1 cm ที่ความเข้มข้น 0.5 1 5 10 และ 15 mg/kg ตามลำดับ ซึ่งที่ความเข้มข้น 1 5 10 และ 15 mg/kg ส่งผลต่อความสูงของต้นถั่วเขียวเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม (ภาพที่ 21) โดยความสูงของต้นถั่วเขียวที่ลดลงสอดคล้องกับมวลชีวภาพของลำต้นที่ลดลงเมื่อความเข้มข้นของซิลเวอร์ไนเตรตเพิ่มขึ้น โดย

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

มีมวลชีวภาพของลำต้นที่ความเข้มข้น 1 mg/kg ไม่แตกต่างทางสถิติจากชุดควบคุม (มวลชีวภาพเท่ากับ 97.37%) และที่ความเข้มข้น 0.5 5 10 และ 15 mg/kg มวลชีวภาพแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจากชุดควบคุม (P<0.05) (มวลชีวภาพเท่ากับ 105.66 95.30 90.12 และ 85.30% ตามลำดับ) (ภาพที่ 20ข)

ใบของต้นถั่วเขียวจากที่ปลูกในทรายคัดขนาดผสมซิลเวอร์ไนเทรตมีลักษณะใบขนาดเล็ก มีขนปกคลุม บางใบสีเหลือง มีความยาวเฉลี่ย 12.1 9.3 8.2 6.1 และ 5.5 cm ที่ความเข้มข้น 0.5 1 5 10 และ 15 mg/kg ตามลำดับ มวลชีวภาพของใบจากชุดทดลองที่ความเข้มข้นของซิลเวอร์ไนเทรต 0.5 mg/kg ไม่แตกต่างทางสถิติจากชุดควบคุม และที่ความเข้มข้น 1 5 10 และ 15 mg/kg มวลชีวภาพของใบมีแนวโน้มลดลงเมื่อความเข้มข้นของซิลเวอร์ไนเทรตเพิ่มขึ้น 90.66 84.62 81.62 และ 81.51% ตามลำดับ (ภาพที่ 20ค)

ยอดของต้นถั่วเขียวจากที่ปลูกในทรายคัดขนาดผสมผสมซิลเวอร์ไนเทรตมีขนาดเล็ก บางต้นบริเวณปลายยอดมีสีน้ำตาลอ่อนถึงเข้ม มีขนาดเฉลี่ย 1.1 1.0 0.9 0.7 และ 0.6 cm ที่ความเข้มข้น 0.5 1 5 10 และ 15 mg/kg ตามลำดับ มวลชีวภาพของยอดที่ความเข้มข้น 0.5 และ 1 mg/kg ไม่แตกต่างทางสถิติจากชุดควบคุม (มวลชีวภาพเท่ากับ 98.42 และ 99.06% ตามลำดับ) ความเข้มข้น 5 10 และ 15 mg/kg มวลชีวภาพของยอดจะลดลงเมื่อความเข้มข้นของซิลเวอร์ไนเทรคเพิ่มขึ้นและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจากชุดควบคุม (P<0.05) (มวลชีวภาพเท่ากับ 91.70 67.93 และ 51.88% ตามลำดับ) (ภาพที่ 20ง)

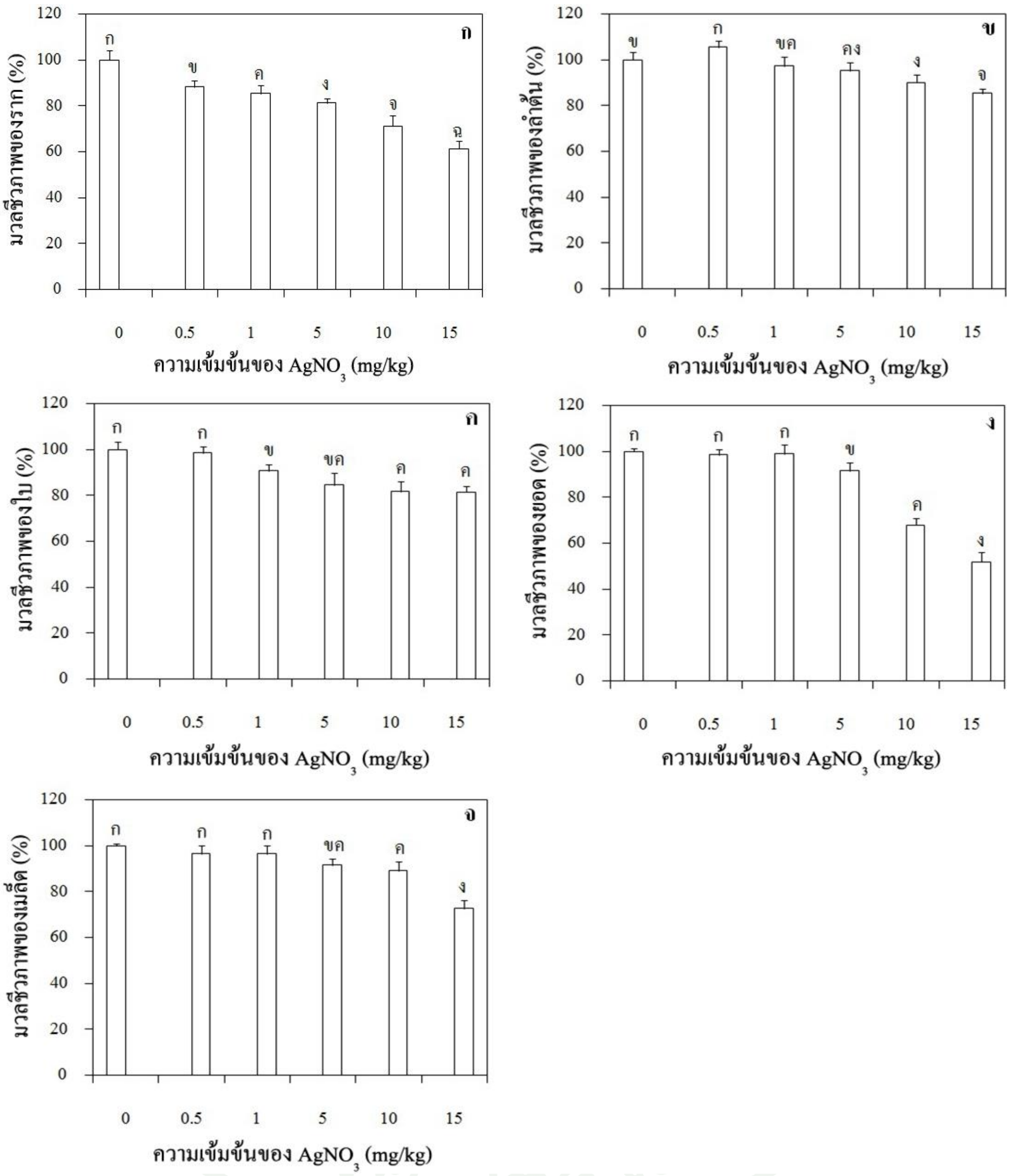
ฝักและเมล็ดของต้นถั่วเขียวจากที่ปลูกในทรายคัดขนาดผสมซิลเวอร์ไนเทรตที่ความเข้มข้น 0.5 และ 1 mg/kg ลักษณะฝักคล้ายกับชุดควบคุมและเริ่มมีฝักแรกเมื่ออายุประมาณ 41 วัน ส่วนซิลเวอร์ไนเทรตที่ความเข้มข้น 5 10 และ 15 mg/kg ฝักมีขนาดเล็ก ลีบ และเริ่มมีฝักแรกเมื่ออายุประมาณ 48 วัน โดยมีจำนวนฝักเฉลี่ย 9 7 5 4 และ 3 ฝักต่อต้น ที่ความเข้มข้น 0.5 1 5 10 และ 15 mg/kg ตามลำดับ และลักษณะของเมล็ดที่ความเข้มข้น 0.5 และ 1 mg/kg มีลักษณะกลม สีเขียวเข้มคล้ายกับชุดควบคุม แต่ที่ความเข้มข้น 5 10 และ 15 mg/kg เมล็ดจะลีบ แห้ง สีดำ โดยมีจำนวนเมล็ดเฉลี่ย 8 7 5 4 และ 2 เมล็ดต่อฝัก จำนวนของฝักและเมล็ดจะน้อยลงเมื่อความเข้มข้นของซิลเวอร์ไนเทรตเพิ่มขึ้นซึ่งสอดคล้องกับมวลชีวภาพของเมล็ด คือ มีมวลชีวภาพของเมล็ดเท่ากับ 96.48 96.55 91.53 89.09 และ 72.69 mg/kg ที่ความเข้มข้น 0.5 1 5 10 และ 15 mg/kg ตามลำดับ โดยซิลเวอร์ไนเทรตที่ความเข้มข้น 0.5 และ 1 mg/kg มวลชีวภาพของเมล็ดไม่แตกต่าง

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ทางสถิติจากชุดควบคุม และความเข้มข้น 5 10 และ 15 mg/kg แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจากชุดควบคุม (*P*<0.05) (ภาพที่ 20จ)

ดอกของต้นถั่วเขียวจากที่ปลูกในทรายคัดขนาดผสมซิลเวอร์ไนเตรตที่ความเข้มข้น 0.5 1 5 และ 10 mg/kg มีลักษณะคล้ายกับดอกในชุดควบคุม แต่ที่ความเข้มข้น 15 mg/L ดอกจะมีขนาดเล็กกว่า บางดอกร่วงก่อนกลายเป็นฝักที่สมบูรณ์ ดอกแรกบานเมื่ออายุประมาณ 49 วัน แต่ละต้นมีจำนวนดอกย่อยเฉลี่ย 10 9 7 6 และ 3 ดอก ที่ความเข้มข้น 0.5 1 5 10 และ 15 mg/kg ตามลำดับ

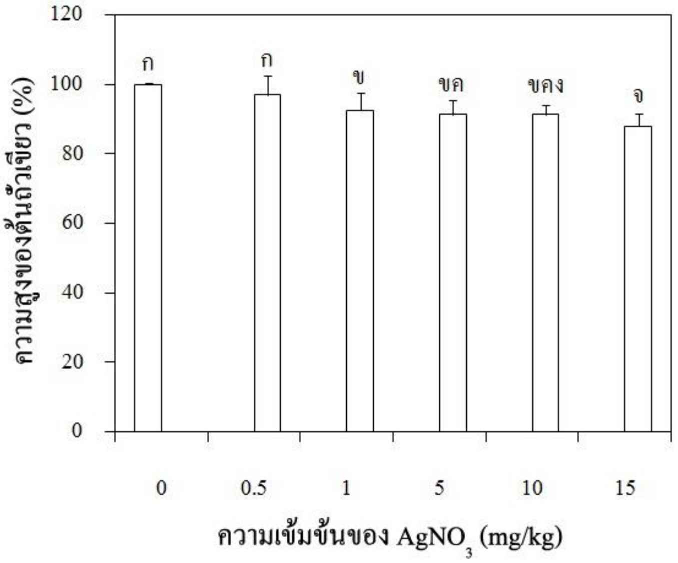
ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพที่ 20 มวลชีวภาพของส่วนต่างๆ ของต้นถั่วเขียวที่ปลูกในทรายคัดขนาด (control) และปลูกในทรายคัดขนาดผสมซิลเวอร์ไนเทรต ($AgNO_3$) ความเข้มข้น 0.5 1 5 10 และ 15 mg/kg ที่เพาะเลี้ยงนาน 65 วัน (ก) ราก (ข) ลำต้น (ค) ใบ (ง) ยอด และ (จ) เมล็ด

หมายเหตุ ตัวอักษรต่างกันในแต่ละกราฟมีความแตกต่างกันที่ความเชื่อมั่นเท่ากับ 95% (P<0.05) ทดสอบความแตกต่างโดยการวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance; ANOVA) และ Tukey

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพที่ 21 ความสูงของต้นถั่วเขียวพันธุ์ชัยนาท 72 อายุ 65 วัน ที่ปลูกในทรายคัดขนาด (control) และปลูกในทรายคัดขนาดผสมซิลเวอร์ไนเตรต ($AgNO_3$) ความเข้มข้น 0.5 1 5 10 และ 15 mg/kg

หมายเหตุ ตัวอักษรต่างกันในแต่ละกราฟมีความแตกต่างกันที่ความเชื่อมั่นเท่ากับ 95% ($P<0.05$) ทดสอบความแตกต่างโดยการวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance; ANOVA) และ Tukey

เมื่อนำต้นถั่วเขียวที่ปลูกจากทรายคัดขนาดผสมซิลเวอร์ไนเตรตความเข้มข้น 15 mg/kg ไปวิเคราะห์หาปริมาณธาตุเงิน (Ag) ในส่วนราก ลำต้น ใบ ยอด และเมล็ด (น้ำหนักแห้ง) พบว่ามีการสะสมของธาตุเงินอยู่ที่รากมากที่สุด (0.1235 mg/g) และมีการสะสมของธาตุเงินในลำต้น ใบ ยอด และเมล็ดเช่นกันแต่ในปริมาณที่ต่ำกว่าราก (แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ $P<0.05$) โดยพบการสะสมในใบมากกว่าลำต้น ยอด และเมล็ด (ตารางที่ 5)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 5 ปริมาณของธาตุเงิน (Ag) ที่สะสมในส่วนต่างๆ ของต้นถั่วเขียว อายุ 65 วัน ที่ปลูกในทรายคัดขนาดผสมซิลเวอร์ไนเทรตความเข้มข้น 15 mg/kg

ส่วนต่างๆ ของต้นถั่วเขียว	ปริมาณของ Ag (mg/g)[1/]
ราก	0.1235 ± 0.0078[ก]
ลำต้น	0.0153 ± 0.0001[ข]
ใบ	0.0158 ± 0.0001[ข]
ยอด	0.0138 ± 0.0002[ข]
เมล็ด	0.0157 ± 0.0001[ข]

หมายเหตุ [1/] ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรต่างกันในแต่ละคอลัมน์มีความแตกต่างกันที่ความเชื่อมั่นเท่ากับ 95% (*P*<0.05) ทดสอบความแตกต่างโดยการวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance; ANOVA) และ Tukey

เมื่อเปรียบเทียบส่วนต่างๆ ของต้นถั่วเขียวที่ปลูกจากทรายคัดขนาดผสมอนุภาคเงินขนาดนาโนและต้นถั่วที่ปลูกในทรายคัดขนาดผสมซิลเวอร์ไนเทรต พบว่า ลักษณะสัณฐานวิทยาของราก ลำต้น ใบ ยอดฝัก เมล็ด และดอก มีลักษณะที่เปลี่ยนแปลงไปเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม โดยลักษณะสัณฐานวิทยาของรากมีแนวโน้มแสดงให้เห็นถึงการเปลี่ยนแปลงอย่างชัดเจนเมื่อปลูกในทรายคัดขนาดที่มีความเข้มข้นของอนุภาคเงินขนาดนาโนและซิลเวอร์ไนเทรตที่สูงขึ้น โดยต้นถั่วเขียวที่ปลูกในทรายคัดขนาดผสมอนุภาคเงินขนาดนาโนและต้นถั่วที่ปลูกในทรายคัดขนาดผสมซิลเวอร์ไนเทรตที่ความเข้มข้น 15 mg/kg พบว่า บริเวณปลายรากของต้นถั่วเขียวจากทั้งสองชุดการทดลองจะมีลักษณะสีน้ำตาลเข้มถึงดำและมีการตายของเซลล์บางส่วน ซึ่งมีลักษณะสอดคล้องกับงานวิจัยของ Yin *et al*. (2011) ที่พบลักษณะดังกล่าวในรากของหญ้าไรย์ (*Lolium multiflorum*) โดยอนุภาคเงินขนาดนาโนจะถูกดูดซึมและสะสมบริเวณราก ซึ่งทำให้เซลล์บริเวณหมวกราก (root cap) ได้รับความเสียหายและอนุภาคเงินขนาดนาโนสามารถกระตุ้นเซลล์ของหญ้าไรย์ทำให้เกิดอนุมูลอิสระ (reactive oxygen species; ROS) และ oxidative stress ซึ่งทำให้เกิดการตายของเซลล์ (cell apoptosis) โดยอนุภาคเงินขนาดนาโนอาจไปรบกวนการลำเลียงออกซิน (auxin transport) คือทำให้การลำเลียงสารอาหารจากรากไปสู่ปลายยอดผิดปกติ ส่งผลทำให้การเจริญเติบโตลดลง และรากเป็นส่วนที่สัมผัสกับอนุภาคเงินขนาดนาโนโดยตรงจึงส่งผลทำให้โครงสร้างของเซลล์และลักษณะสัณฐานวิทยาของรากมีการเปลี่ยนแปลงอย่างชัดเจนกว่าส่วนอื่นๆ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เมื่อศึกษาความสูงของต้นถั่วเขียวพบว่าความสูงของต้นถั่วเขียวมีแนวโน้มลดลงในชุดการทดลองที่มีความเข้มข้นของอนุภาคเงินขนาดนาโนและซิลเวอร์ไนเทรตเพิ่มขึ้น แต่กลับพบว่าในชุดการทดลองที่มีอนุภาคเงินขนาดนาโนที่ความเข้มข้น 0.5 1 5 10 และ 15 mg/kg และซิลเวอร์ไนเทรตที่ความเข้มข้น 0.5 mg/kg (ภาพที่ 19 และ 21) ไม่ส่งผลต่อความสูงของต้นถั่วเขียวอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจากชุดควบคุม (P<0.05) ซึ่ง Lee *et al*. (2012) ได้รายงานว่าอนุภาคเงินขนาดนาโนจะไม่ยับยั้งการเจริญเติบโตของพืชซึ่งปลูกในดินถึงแม้จะอยู่ในช่วงที่มีความเข้มข้นสูง ซึ่งอาจเป็นเพราะการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติทางกายภาพ-เคมี (physicochemical) ของอนุภาคเงินขนาดนาโน โดยน้ำในดินทำให้ช่วง electrolytes เพิ่มสูงขึ้น และจากการรวมตัวของอนุภาคเงินขนาดนาโนส่งผลทำให้ความจุบัฟเฟอร์ (buffer capacity) ในดินสูงขึ้น ซึ่งอาจทำให้อนุภาคเงินขนาดนาโนรวมตัวกันจนมีขนาดใหญ่กว่ารูของเซลล์รากพืช และหากขนาดของอนุภาคเงินขนาดนาโนมีขนาดใหญ่ประมาณไมโครเมตร อนุภาคก็ไม่สามารถผ่านสู่เซลล์พืชได้ซึ่งเป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้ความเป็นพิษของอนุภาคเงินขนาดนาโนลดลง อีกทั้ง Singh *et al*. (2003); Singh *et al*. (2010) พบว่าเมื่อพืชได้รับโลหะหนักหรือสารปนเปื้อนที่เป็นพิษ พืชจะเกิดการตอบสนองต่อสิ่งเหล่านั้นโดยการปรับตัว อีกทั้งจากโครงสร้างที่ซับซ้อนของพันธะเปบไทด์ของโลหะ metallothioneins หรือ phytochelatins อาจช่วยลดความเป็นพิษของโลหะหนักในพืช ทำให้ความเป็นพิษของโลหะหนักภายในเซลล์ลดลงทำให้ไม่กระทบต่อการเจริญเติบโตของพืชมากนัก

อย่างไรก็ตามในชุดการทดลองที่มีอนุภาคเงินขนาดนาโนและซิลเวอร์ไนเทรตที่ความเข้มข้นต่ำจะไม่ส่งผลต่อความสูงของต้นถั่วเขียวแต่พบว่ามวลชีวภาพของราก ลำต้น และใบเพิ่มขึ้นในชุดการทดลองที่ปลูกในอนุภาคเงินขนาดนาโน (ภาพที่ 18ก ข และ ค ตามลำดับ) และมวลชีวภาพของลำต้นเพิ่มขึ้นในชุดการทดลองที่ปลูกในซิลเวอร์ไนเทรต (ภาพที่ 20ข) เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม อีกทั้งยังพบการสะสมธาตุเงินในส่วนต่างๆ ของต้นถั่วเขียวจากทั้งสองชุดการทดลอง โดยการสะสมธาตุเงินในส่วนของรากมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับส่วนของลำต้น ใบ เมล็ด และยอด (P<0.05) ซึ่งรากเป็นส่วนที่มีการสะสมธาตุเงินมากที่สุด โดยธาตุเงินที่สะสมในส่วนต่างๆ จากต้นถั่วเขียวที่ปลูกในทรายผสมอนุภาคเงินขนาดนาโนมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจากต้นถั่วเขียวที่ปลูกในทรายผสมซิลเวอร์ไนเทรต (P<0.05) (ตารางที่ 4 และ 5)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

จากการคำนวณปัจจัยการลำเลียงของธาตุเงินของต้นถั่วเขียวที่ปลูกในทรายคัดขนาดผสมอนุภาคเงินขนาดนาโนหรือซิลเวอร์ไนเตรตจากรากไปยังส่วนต่างๆ พบว่า ปัจจัยการลำเลียงจากรากไปยังลำต้น ใบ เมล็ด และยอดมีความแตกต่างกันในทุกๆ ส่วน (P<0.05) ซึ่งจากทั้งสองชุดการทดลอง ใบเป็นส่วนที่มีการลำเลียงของธาตุเงินมากที่สุด (ตารางที่ 6) สอดคล้องกับงานวิจัยของ Mousny *et al*. (1979) ที่พบการลำเลียงของธาตุเทคนีเซียม (Tc) จากรากไปสู่ใบของถั่วลันเตา (*Pisum sativum*) มาก ซึ่งปัจจัยที่ทำให้ธาตุเทคนีเซียมถูกลำเลียงจากรากไปยังส่วนของใบได้มากนั้นเกี่ยวข้องกับการดูดซับและการเปลี่ยนไอออนของผนังเซลล์ของท่อลำเลียงน้ำ (Bowling, 1976) อีกทั้ง Singh *et al*. (2010) ได้อธิบายถึงการลำเลียงของโลหะหนักจากดินสู่รากของพืชว่า โลหะหนักจะเคลื่อนที่จากดินสู่รากของพืชโดยผ่านผนังเซลล์ จากนั้นโลหะหนักจะผ่านเยื่อหุ้มพลาสมาโดยอาศัย ATP-depended proton pump โดยมี H^+ เป็นตัวกระตุ้นพร้อมทั้งอาศัยสารอาหารที่มีประจุบวกและกระบวนการขนส่งของพืชช่วยในการลำเลียงความเป็นพิษของโลหะหนักไปยังส่วนต่างๆ

ตารางที่ 6 ปัจจัยการลำเลียงของธาตุเงิน (Ag) ของส่วนต่างๆ ของต้นถั่วเขียว อายุ 65 วัน ที่ปลูกในทรายคัดขนาดผสมอนุภาคเงินขนาดนาโน (AgNPs) และปลูกในทรายคัดขนาดผสมซิลเวอร์ไนเตรต ($AgNO_3$) ความเข้มข้น 15 mg/kg

ส่วนต่างๆ ของต้นถั่วเขียว	**ปัจจัยการลำเลียง**	
	AgNPs[1/]	**$AgNO_3$**[1/]
ราก	1.0000 ± 0.0000[ก]	1.0000 ± 0.0000[ก]
ลำต้น	0.1364 ± 0.0036[ข]	0.1239 ± 0.0003[ข]
ใบ	0.1601 ± 0.0037[ค]	0.1279 ± 0.0003[ค]
เมล็ด	0.1126 ± 0.0021[ง]	0.1271 ± 0.0002[ง]
ยอด	0.1188 ± 0.0011[จ]	0.1117 ± 0.0002[จ]

หมายเหตุ [1/] ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรต่างกันในแต่ละคอลัมน์มีความแตกต่างกันที่ความเชื่อมั่นเท่ากับ 95% (P<0.05) ทดสอบความแตกต่างโดยการวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance; ANOVA) และ Tukey

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

จากผลการทดลองข้างต้นพบว่าซิลเวอร์ไนเทรตอาจจะส่งผลต่อลักษณะสัณฐานวิทยา ยับยั้งความสูง ยับยั้งมวลชีวภาพในบางส่วน และมีการสะสมธาตุเงินในส่วนต่างๆ ของต้นถั่วเขียวได้มากกว่าอนุภาคเงินขนาดนาโน โดย Navarro (2008) กล่าวว่าการที่อนุภาคเงินขนาดนาโนสามารถผ่านเข้าสู่เซลล์พืชได้นั้นผนังเซลล์เป็นส่วนที่มีความสำคัญในการคัดเลือกอนุภาคเหล่านั้น โดยผนังเซลล์ของพืชเป็นแบบเนื้อเยื่อเลือกผ่าน (semi permeability) ซึ่งจะคัดเลือกให้อนุภาคที่มีโมเลกุลขนาดเล็กกว่ารูผนังเซลล์ผ่านเข้าสู่เซลล์ได้ โดยอนุภาคเงินขนาดนาโนอยู่ในสภาพของแข็งขนาดเล็กและแขวนลอย และอาจเกิดการเกาะกลุ่ม (agglomeration) ทำให้มีขนาดใหญ่ขึ้น ยากต่อการเคลื่อนที่ผ่านผนังเซลล์ แต่ซิลเวอร์ไนเทรตอยู่ในรูปไอออน (Ag^{+}) ที่ไวต่อการเกิดปฏิกิริยาและละลายน้ำได้ดีจึงผ่านเข้าสู่เซลล์ไปพร้อมกับน้ำและธาตุอาหารอื่นๆที่พืชดูด (uptake) ไปใช้ได้อย่างดี ดังนั้นจึงเห็นผลกระทบที่เกิดขึ้นกับต้นถั่วเขียวอย่างชัดเจนกว่า

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สรุปและข้อเสนอแนะ

สรุป

อนุภาคเงินขนาดนาโนถูกนำมาใช้ประโยชน์อย่างแพร่หลายในหลายๆ ด้านแต่ยังขาดการศึกษาถึงความเป็นพิษต่อสิ่งแวดล้อม งานวิจัยชิ้นนี้จึงได้ทำการศึกษาผลของอนุภาคเงินขนาดนาโนและซิลเวอร์ไนเทรตต่อการงอกของเมล็ดและการเจริญเติบโตของถั่วเขียวพันธุ์ชัยนาท 72 โดยเปรียบเทียบกับชุดควบคุม

จากการทดสอบการงอกของเมล็ดที่ผ่านการแช่ในน้ำกลั่น (ชุดควบคุม) น้ำกลั่นผสมอนุภาคเงินขนาดนาโนที่ความเข้มข้น 1 5 10 15 30 60 100 200 400 800 1600 1800 และ 2000 mg/L และน้ำกลั่นผสมสารละลายซิลเวอร์ไนเทรตความเข้มข้น 1 5 10 15 20 25 และ 30 mg/L เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 5 วัน พบว่าอนุภาคเงินขนาดนาโนและซิลเวอร์ไนเทรตส่งผลต่อดัชนีการงอกของเมล็ดในความเข้มข้นที่น้อยกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับการงอกสัมพัทธ์ของเมล็ด เนื่องจากการเจริญเติบโตของรากไวต่อการตอบสนองของสารมากกว่าการงอกของเมล็ด และซิลเวอร์ไนเทรตส่งผลต่อการงอกของเมล็ดถั่วเขียวและลักษณะสัณฐานวิทยาของต้นอ่อนถั่วเขียวได้มากกว่าอนุภาคเงินขนาดนาโน เนื่องจากซิลเวอร์ไนเทรตอยู่ในรูปไอออนที่ไวต่อการเกิดปฏิกิริยาและสามารถผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ของเมล็ดถั่วเขียวได้ดีกว่าอนุภาคเงินขนาดนาโน

จากการทดสอบการเจริญเติบโตของต้นถั่วเขียวที่เมล็ดผ่านการแช่ในน้ำกลั่น (ชุดควบคุม) และในน้ำกลั่นผสมอนุภาคเงินขนาดนาโนที่ความเข้มข้น 30 45 60 100 และ 200 mg/L เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และปลูกในทรายคัดขนาด เป็นเวลา 65 วัน พบว่า การเจริญเติบโตมีแนวโน้มลดลงเมื่อความเข้มข้นของอนุภาคเงินขนาดนาโนเพิ่มขึ้น อีกทั้งพบการเปลี่ยนแปลงของลักษณะทางสัณฐานวิทยา การลดลงของมวลชีวภาพ และการสะสมธาตุเงินมากที่สุดในส่วนของราก เนื่องจากรากเป็นส่วนที่งอกออกจากเมล็ดก่อนส่วนอื่นๆ และสัมผัสกับอนุภาคเงินขนาดนาโนโดยตรง

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

จากการทดสอบการเจริญเติบโตของต้นถั่วเขียวที่เมล็ดแช่ในน้ำกลั่นเป็นเวลา 24 ชั่วโมง และนำไปปลูกในทรายคัดขนาดที่ไม่ปนเปื้อน (ชุดควบคุม) ปลูกในทรายคัดขนาดผสมอนุภาคเงินขนาดนาโนหรือซิลเวอร์ไนเตรตที่ความเข้มข้น 0.5 1 5 10 และ 15 mg/kg เป็นเวลา 65 วัน พบว่า การเจริญเติบโตมีแนวโน้มลดลงเมื่อความเข้มข้นของอนุภาคเงินขนาดนาโนและซิลเวอร์ไนเตรตเพิ่มขึ้น อนุภาคเงินขนาดนาโนจะกระตุ้นมวลชีวภาพของราก ลำต้น และใบ ส่วนซิลเวอร์ไนเตรตจะกระตุ้นมวลชีวภาพของลำต้นเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม อีกทั้งรากเป็นส่วนที่มีการเปลี่ยนแปลงของลักษณะทางสัณฐานวิทยา การลดลงของมวลชีวภาพ และการสะสมธาตุเงินมากที่สุด นอกจากนั้นพบว่า ซิลเวอร์ไนเตรตจะส่งผลต่อลักษณะสัณฐานวิทยา ยับยั้งความสูงของต้นถั่วเขียว ยับยั้งมวลชีวภาพ และมีการสะสมธาตุเงินในส่วนต่างๆ ของต้นถั่วเขียวได้มากกว่าอนุภาคเงินขนาดนาโน เนื่องจากซิลเวอร์ไนเตรตอยู่ในรูปไอออนเงินจึงทำให้พืชสามารถดูดซึม (uptake) ผ่านเยื่อหุ้มเซลล์และส่งผลทำให้เกิดความเป็นพิษมากกว่าอนุภาคเงินขนาดนาโนซึ่งอยู่ในรูปของแข็งแขวนลอย

จากผลการทดลองข้างต้นแสดงให้เห็นว่าอนุภาคเงินขนาดนาโนและซิลเวอร์ไนเตรตส่งผลต่อการเจริญเติบโตของถั่วเขียวพันธุ์ชัยนาท 72 โดยซิลเวอร์ไนเตรตจะส่งผลกระทบต่อการงอกของเมล็ดและการเจริญเติบโตของต้นถั่วเขียวที่รุนแรงกว่าอนุภาคเงินขนาดนาโน อีกทั้งความเป็นพิษจะเพิ่มมากขึ้นตามความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้น ซึ่งถั่วเขียวจัดเป็นผู้ผลิตในห่วงโซ่อาหารและเป็นพืชที่มนุษย์นิยมนำมาใช้ประโยชน์ การสะสมความเป็นพิษของอนุภาคเงินขนาดนาโนในถั่วเขียวอาจถ่ายทอดตามลำดับขั้นมาสู่มนุษย์ ดังนั้นมนุษย์ควรเพิ่มความตระหนักถึงการนำอนุภาคเงินขนาดนาโนและซิลเวอร์ไนเตรตมาประยุกต์ใช้และควรคำนึงถึงการปนเปื้อนของอนุภาคเหล่านี้ในสิ่งแวดล้อมอีกด้วย

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ข้อเสนอแนะ

1. ควรมีการศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาของต้นถั่วเขียวที่เปลี่ยนแปลงเมื่อสัมผัสกับอนุภาคเงินขนาดนาโนและซิลเวอร์ไนเทรตในระดับเซลล์

2. ในลำดับต่อไปควรศึกษาความเป็นพิษของอนุภาคเงินขนาดนาโนและซิลเวอร์ไนเทรตต่อการเจริญเติบโตของถั่วเขียวในรุ่นลูก เนื่องจากการวิเคราะห์หาปริมาณธาตุเงิน (Ag) พบการสะสมของธาตุเงินในส่วนของเมล็ด

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เอกสารและสิ่งอ้างอิง

กรมควบคุมมลพิษ. 2552. **พระราชบัญญัติส่งเสริมและรักษาคุณภาพสิ่งแวดล้อมแห่งชาติ พ.ศ. 2535.** แห่งที่มา: http://infofile.pcd.go.th/law/NEQA2535v4.pdf?CFID=1192756 &CFTOKEN=87799651, 3 มิถุนายน 2557.

กรมวิชาการเกษตร. ม.ป.ป. **เอกสารวิชาการชุด พืชศาสตร์ (crop manual ที่ 2).** 62 หน้า.

กรมวิชาการเกษตร**.** 2543. **เอกสารทางวิชาการ พันธุ์พืชขึ้นทะเบียนและพืชรับรองตาม พระราชบัญญัติพันธุ์พืช พ.ศ.2518**. 129 หน้า.

กรรณิการ์ สัจจาพันธ์. 2554. นาโนเทคโนโลยีกับทรัพยากรดิน. **ว.วิทยาศาสตร์เกษตร** 42 (1): 50-56.

จงรักษ์ จันทร์เจริญสุข, สมชาย กรีฑาภิรมณ์ และ ปรีเนียม ทองแพ. 2543. การศึกษาเปรียบเทียบวิธีย่อยสลายตัวอย่างพืชเพื่อวิเคราะห์ปริมาณฟอสฟอรัสและโพแทสเซียมในพืช, น 284-290. *ใน* **รายงานการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 38 (สาขาพืช)**. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

จวงจันทร์ ดวงพัตรา. 2521. **เทคโนโลยีเมล็ดพันธุ์**. กลุ่มหนังสือเกษตร, กรุงเทพฯ.

เชิดศักดิ์ คุณสมบัติ. 2549. **ศูนย์แสดงความรู้ทางด้านนาโนเทคโนโลยี**. วิทยานิพนธ์ปริญญาตรี, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

นาฏสุดา ภูมิจานงค์. 2551. ปริมาณมวลชีวภาพเหนือพื้นดิน ในราก และคาร์บอนในดิน ของสวนป่าไม้สัก. **Environment and Natural Resources Journal 5 (2551)**: 109-121.

พร้อมพงศ์ เพียรพินิจธรรม, ชูชาติ ธรรมเจริญ และ สนอง เอกสิทธิ์. 2551. อนุภาคนาโนของเงินฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้อย่างไร. **ไฟฟ้าและอุตสาหกรรม** 15 (2): 119-122.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เพ็ญจันทร์ ภู่นิยม. 2547. **ยิ่งใหญ่ต้องยิ่งเล็ก**. บริษัทเนชั่น มัลติมีเดีย กรุ๊ป จำกัด (มหาชน), กรุงเทพฯ. แปลจาก U. Jack and N. Deb. **THE NEXT BIG THING IS REALLY SMALL**. n.d., กรุงเทพฯ.

วนิดา คูชัยสิทธิ์. 2550. นาโน (10^{-9}) เทคโนโลยีใกล้ตัว. **วารสารนักบริหาร** 27 (2): 82-86.

วิสันติ เลาหอุดมโชค. ม.ป.ป. **ความปลอดภัยในการทำงานเกี่ยวกับนาโนเทคโนโลยี ตอนที่ 1 บทนำ การประยุกต์ใช้ และความปลอดภัย**. นักวิชาการแรงงานชำนาญการ สำนักความปลอดภัยแรงงาน, กรุงเทพฯ. (อัดสำเนา)

วีระ สวนไธสง. 2552. การสกัดแยกเงินจากของทิ้งในห้องปฏิบัติการ. **วารสารกรมวิทยาศาสตร์บริการ** 57 (179): 37-39.

ศรัญญา พรหมโคตร์. 2554. **นาโนเทคโนโลยีขั้นต้น (เล่มที่ 1) (Introduction to Nanotechnology)**. พิมพ์ครั้งที่ 2 หจก.โรงพิมพ์คลังนานาวิทยา, ขอนแก่น.

ศูนย์นาโนเทคโนโลยี. 2554. **Technologies Nanova.** แหล่งที่มา: http//nanopolistech.com/01_about.html, 3 พฤษภาคม 2557.

สถาบันวิจัยพืชไร่. 2549. ถั่วเขียวพืชอาหารที่ไม่ควรมองข้าม. **จดหมายข่าวผลิใบ กรมวิชาการเกษตร** 9 (6): 1-12.

สถาบันวิจัยพืชไร่. 2549. ถั่วเขียว...ตลาดยังต้องการ. **กสิกร** 79 (4): 14-17.

สำนักมาตรฐานสินค้านำเข้าส่งออก กรมการค้าต่างประเทศ. 2556. สถิติการส่งออกสินค้าถั่วเขียวผิวมัน. แหล่งที่มา: http://www.dft.go.th/Default.aspx?tabid=164&ctl=DetailUser Content &mid=689&contentID=1480, 17 สิงหาคม 2556.

Amendola, V., S. Polizzi and M. Meneghetti. 2007. Free silver nanoparticles synthesized by laser ablation in organic solvents and their easy functionalization. **Langmuir** 23: 6766-6770.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Adnan, N. 2010. Nanotechnology and dermatology: Part II—risks of nanotechnology. **Clinics in Dermatology** 28: 581–588.

Angier, J. 2008. **Feeling Blue Over Skin Color**. Available Source: http://www.abcnews.go.com/Health/MedicalMysteries/Story?id=5489997&page=1#. T0EYRnn4xZM, February 4, 2012.

Bowling, D.J.F. 1976. **Uptake of ions by plant roots**. Chapman & Hall, London.

Baker, C., A. Pradhan, L. Pakstis, D.J. Pochan and S.I. Shah. 2005. Synthesis and antibacterial properties of silver nanoparticles. **Nanoscience and Nanotechnology** 5: 244-249.

Brunner, T., P. Piusmanser, P. Spohn, R. Grass, L. Limbach, A. Bruinink and W. Stark. 2006. In Vitro Cytotoxicity of Oxide Nanoparticles: Comparison to Asbestos, Silica, and the Effect of Particle Solubility. **Environment Science Technology** 40: 4374-4381.

Bath, J. and A. Turberfield. 2007. DNA nanomachines**. Nature Nanotechnology** 2: 275-284.

Chang, A.L.S., V. Khosravi and B. Egbert. 2006. A case of argyria development after colloidal silver digestion. **Cutaneous Pathology** 33 (12): 809-811.

Chen, M. and A.V. Mikecz. 2005. Formation of nucleoplasmic protein aggregatesimpairs nuclear function in response to SiO_2 nanoparticles. **Experimental Cell Research** 305: 51-62.

Chen, X. and H.J. Schluesener. 2008. Nanosilver: a nanoproduct in medical application. **Toxicology Letters** 176: 1-12.

Choi, O. and Z.Q. Hu. 2008. Size dependent and reactive oxygen species related nanosilver toxicity to nitrifying bacteria. **Environment Science Technology** 12: 4583-4588.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Colman, B.P., M. Auffan, C.J. Richardson, M. Wiesner and E.S. Bernhardt. 2009. Impacts of nanosilver on microbial activity in wetlands and streams. **Goldschmidt Conference**. Davos. Switzerland. A238.

Dibrov, P., J. Dzioba, K.K. Gosink and C.C. Hase. 2002. Chemiosmotic mechanism of antimicrobial activity of Ag_+ in *Vibrio cholera*. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy** 46: 2668-2670.

Elechiguerra, J.L., L.B. Justin, R.M. Jose, C.B. Alejandra, C. Bragado, G. Xiaoxia, H.L. Humberto and J.Y. Miguel. 2005. **Interaction of silver nanoparticles with HIV-1.** Journal of Nanobiotechnology 3 (6): 1-10.

Feng, Q.L., J. Wu, G.Q. Chen, F.Z. Cui, T.N. Kim and J.O. Kim. 2000. A mechanistic study of the antibacterial effect of silver ions on *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. **Biomedical Materials Research** 52: 662-668.

Fernandez, E.J., J. Garcia-Barrasa, A. Laguna, J. Lopez-de-Luzuriaga, M. Monge and C. Torres. 2008. The preparation of highly active antimicrobial silver nanoparticles by an organometallic approach. **Nanotechnology** 19: 1-6.

Finney, D.J. 1952. **Probit Analysis**. Cambridge, England, Cambridge University Press. Garnett, M. and P. Kallinteri. 2006. Nanomedicines and nanotoxicology: some physiological principles. **Occupational Medicine** 56: 307-311.

Geiser, M., B. Rothen-Rutlshauser, N. Knapp, S. Schurch, W. Kreyling, H. Schulz, M. Semmler, H. Im, J. Heyder and P. Gehr. 2005. Ultrafine particles cross cellular membranes by nonphagocytic mechanisms in lungs and in cultured cells. **Environmental Health Perspectives** 113: 1555-1560.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Hoekstra, N.J., T. Bosker and E.A. Lantinga. 2002. Effects of cattle dung from farms with different feeding strategies on germination and initial root growth of cress (*Lepidium sativum* L.). **Agriculture Ecosystems and Environment** 93**:** 189–196.

Holt, K.B. and A.J. Bard. 2005. Interaction of silver (I) ions with the respiratory chain of *Escherichia coli*: an electrochemical and scanning electrochemical microscopy study of the antimicrobial mechanism of micromolar Ag^{+}. **Biochemistry** 44: 13214-13223.

Joseph, T. and M. Morrison. 2006. **Nanotechnology in agriculture and food. Nanoforum Report**. Available Source: http://www.nanoforum.org/dateien/temp/nanotechnology %20in%20agriculture%20and%20food.pdf?08122006200524, December 2, 2011.

Kim, K.J., W.S. Sung, B.K. Suh, S.K. Moon, J.S. Choi, J.G. Kim and D.G. Lee. 2009. Antifungal activity and mode of action of silver nanoparticles on *Candida albicans*. **Biometals** 22: 235-242.

Kim, S., J.E. Choi, J. Choi, K.H. Chung, K. Park, J. Yi and D.Y. Ryu. 2009. Oxidative stress-dependent toxicity of silver nanoparticles in human hepatoma cells. **Toxicology In Vitro** 6: 1076-1084.

Kumari, M., A. Mukherjee and N. Chandrasekaran. 2009. Genotoxicity of silver nanoparticles in *Allium cepa*. **Science of the Total Environment** 407: 5243-5246.

Lansdown, A.B.G. 2002. Silver: 1. Its antibacterial properties and mechanism of action. **Wound Care** 11: 125-130.

Lee, WM., Y.J. An, H. Yoon and H.S. Kweo. 2008. Toxicity and bioavailability of copper nanoparticles to the terrestrial plants mung bean (*Phaseolus radiatus*) and wheat (*Triticum aestivum*): plant agar test for water-insoluble nanoparticles. **Nanomaterials in the Environment** 27 (9): 1915-1921.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Lee, W-M., J.I Kwak and Y-J. An. 2012. Effect of silver nanoparticles in crop plants *Phaseolus radiates* and *Sorghum bicolor*: Media effect on phytotoxicity. **Chemosphere** 86: 491-499.

Li, N., C. Sioutas, A. Cho, D. Schmitz, C. Misra, J. Sempf, M. Wang, T. Oberley, J. Froines and A. Nel. 2003. Ultrafine particulate pollutants induce oxidative stress and mitochondrial damage. **Environmental Health Perspectives** 111: 455-460.

Limbach, L.P., Wick, P., Manser, R. Grass, A. Bruinink and W. Stark. 2007. Exposure of engineered nanoparticles to human lung epithelial cells: Influence of chemical composition and catalytic activity on oxidative stress. **Environment Science Technology** 41: 4158-4163.

Lok, C.N., C.M. Ho, R. Chen, Q.Y. He, W.Y. Yu, H. Sun, P.K. Tam, J.F. Chiu and C.M. Che. 2007. Silver nanoparticles: partial oxidation and antibacterial activities. **Biological Inorganic Chemistry** 12: 527-534.

Mousny, J.M., P. Roucoux and C. Myttenaere. 1979. Absorption and translocation of technetium in pea plant. **Environmental and Experimental Botany** 19: 263-268.

Magrez, A., S. Kasa, V. Salicio, N. Pasquier, J. Wonseo, M. Celio, S. Catsicas, B. Schwaller and L. Forro. 2006. Cellular toxicity of carbonbased nanometerials. **Nano Letters** 6: 1121-1125.

Ma, X., J. Geiser-Lee, Y. Deng and A. Kolmakov. 2010. Interactions between engineered nanoparticles (ENPs) and plant : Phytotoxicity, uptake and accumulation. **Science of the Total Environment** 408: 3053-3061.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Navaladian, S., B. Viswanathan, T.K. Varadarajan and R.P. Viswanath. 2008. Microwave-assisted rapid synthesis of anisotropic Ag nanoparticles by solid state transformation. **Nanotechnology** 19: 1-7.

Navarro, E., A. Baun, R. Behra, N.B. Hartman, J. Filser, A-J. Miao, A. Quigg, P.H. Santschi, L. Sigg. 2008. Environmental behavior and ecotoxicity of engineered nanoparticles to algar, plant, and fungi. **Ecotoxicology** 17: 372-386.

Nel, A., T. Xia and N. Li. 2006. Toxic potential of materials at the nanoleval. **Science** 311: 622-627.

Opara, L. 2004. Emerging technological innovation triad for agriculture in the 21st century. Part 1. Prospects and impacts of nanotechnology in agriculture. **Agricultural Engineering International: The CIGR EJournal**. Vol 6.

Rajeski, D. and D. Lekas. 2008. Nanotechnology field observations: Scouting the new industrial west. **Cleaner production** 16: 1014-1017.

Ruffini, G.M., R. Cremonini. 2009. Nanoparticles and higher plants. **Caryologia** 62: 161–165.

Sayes, C., J. Fortner, W. Guo, D. Lyon, A. Boyd, K. Ausman, Y. Tao, B. Sitharaman, L. Wilson, J. Hughes, J. Wast and V. Colvin. 2004. The differential cytotoxicity of water-soluble fullerenes. **Nano Letters** 4: 1881-1887.

Silver, S., Le T. Phung and G. Silver. 2006. Silver as biocides in burn and wound dressings and bacterial resistance to silver compounds. **Industrial Microbiology and Biotechnology** 33: 627-634.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Singh, O.V., S. Labana, G. Pandey and R. Budhiraja. 2003. Phytoremediation : an overview of metallic ion decontamination from soil. **Applied Microbiology and Biotechnology** 61: 405-412.

Singh, R., D.P. Singh, Narendra Kumar, S.K. Bhargava and S.C. Barman. 2010. Accumulation and translocation of heavy metals in soil and plants from fly ash contaminated area. **Journal of Environmental Biology** 31: 421-430.

Soltani, M., M. Ghodratnema, H. Ahari, H.A. Ebrahimzadeh Mousavi, M. Atee, F. Dastmalchi and J. Rahmanya. 2009. The inhibitory effect of silver nanoparticles on the bacterial fish pathogens, *Streptococcus iniae*, *Lactococcus garvieae*, *Yersinia ruckeri* and *Aeromonas hydrophila*. **International Journal of Veterinary Research** 3 (2): 137-142.

Sondi, I. and B. Salopek-Sondi. 2004. Silver nanoparticles as antimicrobial agent: a case study on *E. coli* as a model for Gram-negative bacteria. **Colloid and Interface Science** 275: 177-182.

Tamil Nadu Agricultural University. 2008. **Seed Technology**. Available Source: http://agritech.tnau.ac.in/seed/seedconcepts.html, November 27, 2014.

Thomas, V., M.M. Yallabu, B. Sreedhar and S.K. Bajpai. 2007. A versatile strategy to fabricate hydrogel-silver nanocomposites and investigation of their antimicrobial activity. **Journal of Colloid and Interface Science** 315: 389-395.

Trop, M., M. Novak, S. Rogl, B. Hellborn, W. Kroell and W. Goessler. 2006. Silver coated dressing Acticoat caused raised liver enzymes and argyria-like symptoms in burn patient. **Journal of trauma** 60 (3): 648-652.

Tutor Vista. 2010. **Seed**. Available Source: https://www.youtube.com/watch?v=kmrmdNzIwYA, November 27, 2014.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

United States Environmental Protection Agency. 2007. **Nanotechnology White Paper**. 136.

Wierzbicka, M. and J. Obidzinska. 1998. The effect of lead on seed imbibition and germination in different plant species. **Plant Science** 137: 155-171.

Wright, J.B., K. Lam and R.E. Burrell, R.E. 1998. Wound managrment in an era of increasing bacteria antibiotic resistance: a role for topical silver treatment. **American Journal of Infection Control** 26: 572-577.

Wijnhoven, S.W.P., W.J.G.M. Peijnenburg, C.A. Herberts, W.I. Hagens, A.G. Oomen, E.H.W. Heugens, B. Rosze, J. Bisschops, I. Gosens, M. Dik Van De, S. Dekkers, W.H. De Jong, M. Van Zijverden, J.A.M. Sips Adrienne and R.E. Geertsma. 2009. Nanosilver-a review of available data and knowledge gaps in human and environmental risk assessment. **Nanotoxicology** 3: 109-138.

Xia, Z.K., Q.H. Ma, S.Y. Li, D.Q. Zhang, L. Cong, Y.L. Tian and R.Y. Yang. 2014. The antifungal effect of silver nanoparticles on *Trichosporon asahii*. **Immunology and Infection** xx: 1-7.

Yin, L.Y., J.Q. Huang, W. Li and Y.D. Liu. 2006. Microcystin-RR-induced apoptosis in tobacco BY-2 cells. **Toxicon** 48: 204-210.

Yin, L., Y. Cheng, B. Espinasse, B.P. Colman, M. Auffan, M. Wiesner, J. Rose, J. Liu and E.S. Bernhardt. 2011. More than the ions: The effects of silver nanoparticles on *Lolium multiflorum*. **Environment Science Technology** 45: 2360-2367.

Yin, L., P.C. Benjamin, M.M. Bonnie, P.W. Justin and S.B. Emily. 2012. Effects of silver nanoparticle exposure on germination and early growth of eleven wetland plants. **Silver Nanoparticle Exposure on Wetland Plants** 10: 1-7.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Zhang, W. 2003. Nanoscale iron particles for environmental remediation: an overview. **Nanoparticle Research** 5: 323-332.

Zhu, H., J. Han, J.Q. Xiao and Y. Jin. 2008. Uptake, translocation, and accumulation of manufactured iron oxide nanoparticles by pumpkin plants. **Environmental Monitoring** 10: 713-717.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ภาคผนวก

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

1. การเตรียมน้ำผสมอนุภาคเงินขนาดนาโน (AgNPs)

1.1 เตรียมน้ำผสมอนุภาคเงินขนาดนาโนเข้มข้น (3000 mg/L) (stock) ปริมาตร 1000 ml โดยชั่งอนุภาคเงินขนาดนาโน 3 g เติมน้ำกลั่นและปรับปริมาตรเป็น 1000 ml นำไปเขย่าด้วยเสียงความถี่สูง โดยเครื่อง ultrasound sonicator bath ที่อุณหภูมิ 28˚C เป็นเวลา 45 นาที

1.2 นำ stock มาเจือจางด้วยน้ำกลั่น เพื่อให้ได้น้ำผสมอนุภาคเงินขนาดนาโน ความเข้มข้น 1 5 10 15 30 45 60 100 200 400 800 1600 1800 และ 2000 mg/L โดยใช้ stock ปริมาตรต่างๆ ดังนี้

ความเข้มข้น (mg/L)	stock volume (ml)
1	0.0167
5	0.0833
10	0.1667
15	0.2500
30	0.5000
45	0.7500
60	1.0000
100	1.6667
200	3.3333
400	6.6667
800	13.3333
1600	26.6667
1800	30.0000
2000	33.3333

ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 50 ml

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

2. การเตรียมสารละลายซิลเวอร์ไนเทรต ($AgNO_3$)

2.1 เตรียมสารละลายเข้มข้นซิลเวอร์ไนเทรต (50 mg/L) ปริมาตร 1000 ml (stock) โดยชั่งซิลเวอร์ไนเทรต 0.0787 g ละลายด้วยน้ำกลั่นและปรับปริมาตรเป็น 1000 ml

2.2 นำ stock มาเจือจางด้วยน้ำกลั่น เพื่อให้ได้สารละลายซิลเวอร์ไนเทรต ความเข้มข้น 1 5 10 15 20 25 และ 30 mg/L โดยใช้ stock ปริมาตรต่างๆ ดังนี้

ความเข้มข้น (mg/L)	stock volume (ml)
1	1
5	5
10	10
15	15
20	20
25	25
30	30

ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 50 ml

3. การเตรียมทรายคัดขนาด (1-2 mm)

3.1 นำทรายมาร่อนเพื่อแยกขนาด 2 ครั้ง โดยครั้งแรกร่อนทรายผ่านตะแกรงขนาด 2 mm จะได้ทรายที่ผ่านตะแกรง ซึ่งมีขนาดเล็กกว่า 2 mm นำทรายที่ได้นี้ไปร่อนครั้งที่ 2 ด้วยตะแกรงขนาด 1 mm ทรายที่ไม่ผ่านตะแกรงจะมีขนาด 1-2 mm

3.2 นำทรายคัดขนาด (1-2 mm) ไปล้างด้วยน้ำสะอาดจนน้ำที่ล้างใสไม่ขุ่น

3.3 นำทรายคัดขนาดไปอบที่อุณหภูมิ 100°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เพื่อลดการปนเปื้อนในทรายและเป็นการฆ่าเชื้อโรค จากนั้นตั้งทิ้งไว้ให้เย็น นำไปใช้ปลูกต้นถั่วเขียวในการทดลองที่ 2 และ 3

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

4. การเตรียมทรายคัดขนาดผสมอนุภาคเงินขนาดนาโน

4.1 เตรียมทรายคัดขนาดผสมอนุภาคเงินขนาดนาโนเข้มข้น (50 mg/kg) (stock) โดยชั่ง อนุภาคเงินขนาดนาโน 0.05 g นำมาผสมกับทรายคัดขนาด (1-2 mm) ให้มีน้ำหนักรวมเป็น 1 kg

4.2 นำ stock มาผสมกับทรายคัดขนาด(1-2 mm) เพื่อให้ได้ทรายคัดขนาดผสมอนุภาคเงินขนาดนาโน ความเข้มข้น 0.5 1 5 10 และ 15 mg/kg โดยใช้ปริมาณของ stock ดังนี้

ความเข้มข้น (mg/kg)	stock (g)
0.5	5
1	10
5	50
10	100
15	150

ปรับน้ำหนักด้วยทรายคัดขนาดเป็น 500 g

5. การเตรียมทรายคัดขนาดผสมซิลเวอร์ไนเทรต

5.1 เตรียมทรายคัดขนาดผสมซิลเวอร์ไนเทรตเข้มข้น (50 mg/kg) (stock) โดยชั่งซิลเวอร์ไนเทรต 0.7870 g นำมาผสมกับทรายคัดขนาด (1-2 mm) ให้มีน้ำหนักรวมเป็น 1 kg

5.2 นำ stock มาผสมกับทรายคัดขนาด (1-2 mm) เพื่อให้ได้ทรายคัดขนาดผสมอนุภาคเงินขนาดนาโน ความเข้มข้น 0.5 1 5 10 และ 15 mg/kg โดยใช้ปริมาณของ stock ดังนี้

ความเข้มข้น (mg/kg)	stock (g)
0.5	5
1	10
5	50
10	100
15	150

ปรับน้ำหนักด้วยทรายคัดขนาดเป็น 500 g

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

6. การเตรียมสารละลายธาตุอาหาร

นำสารละลายธาตุอาหารหลัก (ประกอบด้วยธาตุ N P K คิดเป็นสัดส่วน 12:24:12) ปริมาตร 3 ml ผสมกับน้ำกลั่น 1000 ml ทิ้งไว้อย่างน้อย 15 นาที แล้วเติมสารละลายธาตุอาหารรอง (ประกอบด้วยธาตุ Ca Fe Mg S B Cu Mn Zn และ Mo) ปริมาตร 3 ml ผสมให้เข้ากัน

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

%	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
0	—	2.67	2.95	3.12	3.25	3.36	3.45	3.52	3.59	3.66
10	3.72	3.77	3.82	3.87	3.92	3.96	4.01	4.05	4.08	4.12
20	4.16	4.19	4.23	4.26	4.29	4.33	4.36	4.39	4.42	4.45
30	4.48	4.50	4.53	4.56	4.59	4.61	4.64	4.67	4.69	4.72
40	4.75	4.77	4.80	4.82	4.85	4.87	4.90	4.92	4.95	4.97
50	5.00	5.03	5.05	5.08	5.10	5.13	5.15	5.18	5.20	5.23
60	5.25	5.28	5.31	5.33	5.36	5.39	5.41	5.44	5.47	5.50
70	5.52	5.55	5.58	5.61	5.64	5.67	5.71	5.74	5.77	5.81
80	5.84	5.88	5.92	5.95	5.99	6.04	6.08	6.13	6.18	6.23
90	6.28	6.34	6.41	6.48	6.55	6.64	6.75	6.88	7.05	7.33
—	0.0	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5	0.6	0.7	0.8	0.9
99	7.33	7.37	7.41	7.46	7.51	7.58	7.65	7.75	7.88	8.09

ภาพผนวกที่ 1 ตารางโปรบิทของ Finney

ที่มา: Finney (1952)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ประวัติการศึกษาและการทำงาน

ชื่อ	นางสาวอรปวีณ์ กูลศิริศรีตระกูล
เกิดวันที่	10 พฤศจิกายน 2531
สถานที่เกิด	อำเภอเมือง จังหวัดพัทลุง
ประวัติการศึกษา	วท.บ. (ชีววิทยาเชิงอนุรักษ์) มหาวิทยาลัยมหิดล
ตำแหน่งปัจจุบัน	-
สถานที่ทำงานปัจจุบัน	-
ผลงานดีเด่นและ/หรือรางวัลทางวิชาการ	-
ทุนการศึกษาที่ได้รับ	ทุนอุดหนุนการค้นคว้าและวิจัยประเภทวิทยานิพนธ์ ระดับบัณฑิตศึกษา มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ประจำปี 2555

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์