รายงานฉบับสมบูรณ์

การประยุกต์ใช้เทคนิคการสกัดสารอินทรีย์ระเหยในเนื้อเยื่อพืชในพื้นที่ที่มีการปนเปื้อนด้วยของเหลวความดันสูงเพื่อการติดตามเฝ้าระวัง

ศูนย์วิจัยและฝึกอบรมด้านสิ่งแวดล้อม ปี 2559

รายงานฉบับสมบูรณ์

การประยุกต์ใช้เทคนิคการสกัดสารอินทรีย์ระเหยในเนื้อเยื่อพืชในพื้นที่ที่มีการปนเปื้อนด้วยของเหลวความดันสูงเพื่อการติดตามเฝ้าระวัง

โดย

ศูนย์วิจัยและฝึกอบรมด้านสิ่งแวดล้อม กรมส่งเสริมคุณภาพสิ่งแวดล้อม

กันยายน 2559

คำนำ

รายงานฉบับสมบูรณ์ “การประยุกต์ใช้เทคนิคการสกัดสารอินทรีย์ระเหยในเนื้อเยื่อพืชในพื้นที่ที่มีการปนเปื้อนด้วยของเหลวความดันสูงเพื่อการติดตามเฝ้าระวัง” ฉบับนี้ คณะวิจัยได้จัดทำขึ้นเพื่อเสนอผลการดำเนินงานภายใต้โครงการในปีงบประมาณ 2559 ซึ่งแสดงถึงความสำคัญที่มา วิธีการศึกษาและผลการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสาร TCE ออกจากพืชยืนต้นและพืชคลุมดินโดยนำสารละลายที่สกัดได้มาทำการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC-MS และทำการประเมินประสิทธิภาพของการสกัดจากร้อยละการได้กลับคืนของสารอินทรีย์ระเหย เพื่อประยุกต์ใช้เทคนิคการสกัดด้วยของเหลวความดันสูงในการสกัดสารอินทรีย์ระเหยในเนื้อเยื่อพืชที่เติบโตในแหล่งปนเปื้อนและใช้พืชที่เติบโตในแหล่งปนเปื้อนเป็นตัวบ่งชี้ทางอ้อมในการตรวจติดตามเฝ้าระวังการปนเปื้อนของสารอินทรีย์ระเหยในดินและน้ำใต้ดิน

คณะวิจัย

กรมส่งเสริมคุณภาพสิ่งแวดล้อม

สารบัญ

	หน้า
บทที่ 1 บทนำ	1-1
1.1 ที่มาและความสำคัญ	1-1
1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย	1-2
1.3 ขอบเขตของโครงการวิจัย	1-2
1.4 สมมุติฐาน	1-3
1.5 กรอบแนวความคิดของโครงการวิจัย	1-3
1.6 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	1-3
บทที่ 2 ทบทวนวรรณกรรม	2-1
2.1 สารอินทรีย์ระเหย	2-1
2.2 การปนเปื้อนของสารอินทรีย์ระเหยสู่แหล่งน้ำใต้ดิน	2-2
2.3 การใช้พืชในการติดตามเฝ้าระวังและบำบัดฟื้นฟูการปนเปื้อนสารอินทรีย์ระเหยในดินและน้ำใต้ดิน	2-5
2.4 การสกัดสารอินทรีย์ระเหยออกจากเนื้อเยื่อพืช	2-7
2.5 เทคนิคการใช้ของเหลวความดันสูง	2-8
บทที่ 3 วิธีการดำเนินการวิจัย	3-1
3.1 วัสดุและอุปกรณ์	3-2
3.2 สารเคมีที่ใช้	3-2
3.3 วิธีดำเนินการวิจัย	3-2
บทที่ 4 ผลการศึกษาและวิจารณ์ผล	4-1
4.1 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารอินทรีย์ระเหยออกจากเนื้อเยื่อ	4-1
4.2 ประเมินประสิทธิภาพในการสกัดสารอินทรีย์ระเหยออกจากเนื้อเยื่อพืช	4-4
4.3 วิเคราะห์หาสารอินทรีย์ระเหยที่ทำการเก็บตัวอย่างในพื้นที่ที่มีรายงานการปนเปื้อนสารอินทรีย์ระเหย	4-6
บทที่ 5 สรุปผลการศึกษาและข้อเสนอแนะ	5-1
บรรณานุกรม	5-3
ภาคผนวก ก	ผ-1ก
ภาคผนวก ข	ผ-1ข

สารบัญตาราง

ตารางที่ หน้า

4.1 แสดงผลการศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมในการสกัดสารอินทรีย์ระเหยด้วยเทคนิค ของเหลวความดันสูง 4-2

4.2 แสดงผลการศึกษาเวลาที่เหมาะสมในการสกัดสารอินทรีย์ระเหยด้วยเทคนิค ของเหลวความดันสูง 4-3

4.3 แสดงผลการศึกษาประสิทธิภาพของการสกัดจากร้อยละการได้กลับคืนของสารอินทรีย์ระเหย 4-5

4.4 แสดงผลการศึกษาความเข้มข้นต่ำสุดของการสกัดสารอินทรีย์ระเหยด้วยเทคนิค ของเหลวความดันสูง 4-6

4.5 ผลการวิเคราะห์ตัวอย่างพืชในพื้นที่บริเวณนิคมฯ มาบตาพุดโดยใช้การสกัดด้วยเทคนิค ของเหลวความดันสูง 4-7

สารบัญกราฟ

กราฟที่ หน้า

4.1 แสดงอุณหภูมิที่เหมาะสมในการสกัดสารอินทรีย์ระเหยด้วยเทคนิค ของเหลวความดันสูง 4-2

4.2 แสดงผลการศึกษาเวลาที่เหมาะสมในการสกัดสารอินทรีย์ระเหยด้วยเทคนิค ของเหลวความดันสูง 4-4

4.3 แสดงผลการศึกษาประสิทธิภาพของการสกัดจากร้อยละการได้กลับคืนของสารอินทรีย์ระเหย 4-5

สารบัญภาพ

รูปที่	หน้า
2.1 แสดงเส้นทางของการแพร่กระจายของสาร VOCs ในสิ่งแวดล้อม	2-3
2.2 แสดงการปนเปื้อนของสารอินทรีย์ระเหยในประเทศไทย	2-5
2.3 แสดงการดูดซับสารปนเปื้อนโดยพืช	2-6
2.4 แสดงการเก็บตัวอย่างเนื้อเยื่อพืชเพื่อนำมาสกัดและวิเคราะห์หาสารมลพิษ	2-7
2.5 Cell Pressurized liquid	2-8
3.1 แสดงการใช้เสว่านเก็บเนื้อเยื่อพืช	3-3
3.2 เนื้อเยื่อไม้ที่ติดออกมากับก้านเหล็กที่ใช้ในการเก็บตัวอย่าง	3-4
3.3 แสดงวิธีการสกัดสารอินทรีย์ระเหยออกจากเนื้อเยื่อพืชโดยใช้ Cell Pressurized liquid	3-5
3.4 ขั้นตอนการประกอบชุดฝาล๊อค Cell Presurized Liquid Extraction	3-5
3.5 เทสารที่สกัดได้ลงในขวด Polytetrafluoroethylene (PTFE) - sealed screw-cap bottle ขนาด 40 mL	3-6
3.6 นำตัวอย่างไปวิเคราะห์ด้วยเทคนิค Purge and Trap และ GC-MS	3-6
3.7 จุดเก็บตัวอย่างเนื้อเยื่อพืช	3-10
4.1 ผลการตรวจวัดการสกัดสารอินทรีย์ระเหยในเนื้อเยื่อพืช	4-1
4.2 โครมาโทแกรมการวิเคราะห์ matrix blank	4-4

สัญลักษณ์และอักษรย่อ

TCE = Trichloroethylene

PCE =Tratachloroethylene

1,1,1-TCA =1,1,1-tricholomethane

CCl_4 = Carbontratachloride

cis-DCE = cis-Dichloroetene

ppm = part per million

ppb = part per billion

ug/kg = microgram per kilogram

VOCs = Volatile Organic Compound

GC-MS = Gaschromatography-Mass Spectrometry

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ที่มาและความสำคัญ

สารเคมีอันตรายประเภทสารอินทรีย์ระเหยได้ถูกสังเคราะห์และมีการใช้ในกระบวนการผลิตในหลายอุตสาหกรรม เช่น อุตสาหกรรมปิโตรเคมี อุตสาหกรรมอิเล็กทรอนิกส์ อุตสาหกรรมซักแห้ง และอุตสาหกรรมเหล็ก เป็นต้น ซึ่งการจัดการสารเคมีอันตรายเหล่านี้อย่างไม่ถูกวิธีไม่ว่าจะโดยเจตนาหรือไม่อาจทำให้เกิดการปนเปื้อนสารอันตรายลงสู่ดินและน้ำใต้ดิน และสามารถแพร่กระจายสู่ระบบนิเวศทางธรรมชาติได้ และในท้ายที่สุดการปนเปื้อนนี้สามารถส่งผลต่อสุขภาพของประชาชนจากการบริโภค เช่น ความเสี่ยงต่อการเป็นโรคมะเร็ง ในประเทศไทยได้มีการตรวจพบการปนเปื้อนของสารอินทรีย์ระเหยแล้วบริเวณลักลอบทิ้งกากของเสีย เช่นในพื้นที่ ตำบลกลางดง อำเภอปากช่อง จังหวัดนครราชสีมา บริเวณนิคมอุตสาหกรรมภาคเหนือ จังหวัดลำพูน และบริเวณนิคมอุตสาหกรรมมาบตาพุด จังหวัดระยอง การตรวจติดตามเฝ้าระวังเพื่อการบำบัดการปนเปื้อนสารอินทรีย์ระเหยทั้งในดินและน้ำใต้ดินจึงเป็นสิ่งสำคัญ การตรวจติดตามเฝ้าระวังการปนเปื้อนประเภทสารอินทรีย์ระเหยในดินและน้ำใต้ดินในนิคมอุตสาหกรรมหรือแม้แต่บริเวณที่มีการปนเปื้อนจะอยู่ในรูปของบ่อเฝ้าระวังสำหรับเก็บตัวอย่างน้ำใต้ดิน และบ่อเก็บตัวอย่างไอสารระเหยในดิน ต้นทุนในการก่อสร้างบ่อเฝ้าระวังเหล่านี้ค่อนข้างสูง แต่อย่างไรก็ตามยังมีอีกเทคโนโลยีหนึ่งที่น่าจะได้รับความสนใจ นั่นคือ การใช้พืชในการตรวจติดตามเฝ้าระวังสารอินทรีย์ระเหยทั้งในดินและน้ำใต้ดิน เนื่องจากพืชสามารถสะสมสารอินทรีย์ระเหยที่ได้รับจากดิน น้ำ ผ่านทางรากพืช การใช้พืชที่เติบโตในบริเวณพื้นที่ปนเปื้อนในการตรวจติดตามเฝ้าระวังจึงน่าจะเป็นวิธีการที่เหมาะสม เนื่องจากไม่จำเป็นต้องมีการก่อสร้างบ่อ ไม่รบกวนระบบนิเวศโดยรอบของพื้นที่ปนเปื้อน อีกทั้งครอบคลุมพื้นที่ได้บริเวณกว้าง แต่ทั้งนี้การวิเคราะห์หาปริมาณสารอินทรีย์ระเหยในพืชซึ่งมีความซับซ้อนมากกว่าการวิเคราะห์ในดินและน้ำใต้ดินจึงเป็นประเด็นสำคัญ

ปัจจุบันนี้ยังไม่มีวิธีมาตรฐานที่ใช้ในการสกัดสารพิษที่ดูดซับและสะสมในเนื้อเยื่อพืชจากรายงานการวิจัยที่ผ่านมาพบว่าได้มีการศึกษาการสกัดสารออกจากพืช เช่น การสกัดสารไตรคลอโรเอทธิลีนจากไม้ยืนต้น โดยใช้เทคนิค Sovent Extraction โดยใช้เฮกเซนเป็นตัวทำละลายซึ่งมีความเป็นพิษและใช้เวลาในการสกัดค่อนข้าง - นานซึ่งใช้เวลาในการสกัดที่ 2 ชั่วโมง ปริมาตรที่ใช้ในการสกัด 15 ml. (G. Gopalakrishnan et al.2009) ส่วนอีกวิธีหนึ่งเป็นการใช้เทคนิค Hot Methanol ซึ่งเทคนิคนี้มีประสิทธิภาพในการสกัดค่อนข้างดีแต่ก็ยังใช้เวลาในการสกัดนาน (4 ชั่วโมง) แต่อย่างไรก็ตามยังมีอีกเทคโนโลยีหนึ่งที่น่าจะได้รับความสนใจเพื่อนำมาประยุกต์ใช้ทางด้านสิ่งแวดล้อม นั่นคือ เทคนิคการใช้ของเหลวความดันสูง (pressurized liquid extraction,PLE) เทคนิคนี้ใช้กันมาก

ในการสกัดพืชสมุนไพรเพื่อใช้เตรียมเป็นโภชนเภสัชภัณฑ์(nutraceuticals) และใช้เตรียมสารสกัดจากพืชสมุนไพรสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณสารสำคัญ โดยทำการสกัดใช้ตัวทำละลายเป็นเฟสของเหลวที่อุณหภูมิและความดันสูง สามารถทำ ได้ง่าย รวดเร็วและมีประสิทธิภาพสูง ทั้งยังสามารถเลือกใช้ตัวทำละลายที่มีพิษน้อยลง เช่น สารในกลุ่มแอลกอฮอล์ (alcohols) เช่น เอทานอล (ethanol) และเมทานอล (methanol) รวมถึง สารในกลุ่มแอลเคน (alkanes) เช่น เฮปเทน (heptanes) ซึ่งมีความปลอดภัยสูงกว่าตัวทำละลายบางชนิด เช่น ไดออกเซน (dioxane) อะซีโตไนไตรล์ (acetonitrile) กรด (acids) ฟอร์มาลดีไฮด์ (formaledyde) และเททระไฮโดรฟูแรน (tetrahydrofuran) (ไทยไภษัชยนิพนธ์,2555) จึงช่วยให้เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม จึงจัดได้ว่าเทคนิคนี้เป็นเทคโนโลยีสะอาดหรือเทคโนโลยีสีเขียวคือ เป็นการลดเวลา และลดปริมาณการด้วยตัวทำละลายหรือใช้ตัวทำละลายที่มีความเป็นพิษน้อยลงด้วยเหตุนี้ โครงการวิจัยนี้จึงมีจุดประสงค์ในการนำเทคนิคการสกัดด้วยของเหลวความดันสูงมาประยุกต์ใช้ในการสกัดสารอินทรีย์ระเหยในเนื้อเยื่อพืช และนำมาวิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC-MS จากนั้นทำการประเมินประสิทธิภาพของการสกัดจากร้อยละการได้กลับคืนของสารอินทรีย์ระเหย (%recovery) จากเนื้อเยื่อพืช

1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

1.2.1 เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดและวิเคราะห์หาปริมาณสารอินทรีย์ระเหยในเนื้อเยื่อพืชโดยเทคนิคการสกัดด้วยของเหลวความดันสูง

1.2.2 เพื่อใช้พืชที่เติบโตในแหล่งปนเปื้อนเป็นตัวบ่งชี้ทางอ้อมในการตรวจติดตามเฝ้าระวังการปนเปื้อนของสารอินทรีย์ระเหยในดินและน้ำใต้ดิน

1.3 ขอบเขตของโครงการวิจัย

1.3.1 ในการทำวิจัยเรื่องนี้ คณะวิจัยได้กำหนดขอบเขตของโครงการวิจัย (Scope of Research) ดังนี้ เป็นการวิจัยเฉพาะเพื่อประยุกต์ใช้เทคนิคการสกัดด้วยของเหลวความดันสูง ในการสกัดสารอินทรีย์ระเหยในเนื้อเยื่อพืช ทดสอบหาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดและวิเคราะห์หาปริมาณสารอินทรีย์ระเหยในเนื้อเยื่อพืช รวมทั้งประเมินผลการทดสอบจากร้อยละการได้กลับคืนของสารอินทรีย์ระเหย (%Recovery) จากเนื้อเยื่อพืชและวิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC-MS

1.3.2 วิเคราะห์หาปริมาณสารอินทรีย์ระเหยในเนื้อเยื่อพืชจากพื้นที่ที่มีการรายงานการปนเปื้อนสารอินทรีย์ระเหย เช่น บริเวณนิคมอุตสาหกรรมมาบตาพุด และนำไปวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการศูนย์วิจัยและฝึกอบรมด้านสิ่งแวดล้อม

1.4 สมมุติฐาน

การปนเปื้อนสารอินทรีย์ระเหยสามารถตรวจพบได้ในพืช เนื่องจากพืชสามารถดูดซับสารอินทรีย์ที่อยู่ในดิน น้ำ ผ่านทางรากพืช ซึ่งการวิเคราะห์หาปริมาณสารอินทรีย์ระเหยในพืชต้องผ่านการสกัดด้วยตัวทำละลายที่เหมาะสมและการดำเนินงานวิเคราะห์เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม เช่น การสกัดด้วยของเหลวความดันสูง เป็นการวิเคราะห์ที่ใช้ตัวทำละลายน้อย และใช้เวลาในการสกัดน้อยซึ่งเป็นการลดปริมาณสารเคมีและพลังงาน

1.5 กรอบแนวความคิดของโครงการวิจัย

เทคนิค PLE เป็นเทคนิคการสกัดที่ใช้อุณหภูมิที่สูงกว่าจุดเดือดของของเหลวแต่ต่ำกว่าจุดวิกฤติที่อุณหภูมิและความดันสูงนี้จะช่วยในการลดความหนืดของตัวทำละลายจึงเป็นการให้ตัวทำละลายแทรกซึมผ่านเนื้อเยื่อพืชที่ต้องการสกัดได้ดีขึ้น (ไทยไภษัชยนิพนธ์,2555) นอกจากนี้การให้อุณหภูมิที่สูงจึงทำให้สารวิเคราะห์ที่สนใจหลุดออกจากเมทริกซ์เนื้อเยื่อพืชแพร่เข้าไปสู่ตัวทำละลายได้มากขึ้น ในขณะที่สภาวะความดันสูงช่วยรักษาสภาพของตัวทำละลายให้อยู่ต่ำกว่าจุดเดือดซึ่งจะช่วยทำให้ตัวทำละลายแทรกซึมผ่านเข้าไปในตัวอย่างได้เป็นอย่างดี การสกัด ที่อุณหภูมิสูงกว่าจุดเดือดของตัวทำละลายที่ความดันบรรยากาศจะมีผลเพิ่มทั้งการละลายของสารที่ต้องการสกัดและสมบัติการถ่ายเทมวล การเพิ่มอุณหภูมิของตัวทำละลายและขนาดของอนุภาคของเมตริกซ์จะมีผลต่อประสิทธิภาพของการสกัดด้วย การประยุกต์ใช้เทคนิคการสกัดสารอินทรีย์ระเหยในเนื้อเยื่อพืชในพื้นที่ที่มีการปนเปื้อนด้วยของเหลวความดันสูงเพื่อการติดตามเฝ้าระวังสามารถทำการศึกษาได้ 2 ขั้นตอน คือ 1.ทำการพัฒนาวิธีการสกัดโดยทำการทดสอบสภาวะที่ใช้ในการสกัด คือ อุณหภูมิ,เวลา และทำการทดสอบประสิทธิภาพของการสกัดโดยใช้วิธีการทดสอบโดยการหาเปอร์เซนต์การได้กลับคืนของสาร 2. เป็นการนำเทคโนโลยีที่ได้มาใช้งานจริง โดยจะทำการเก็บตัวอย่างพืชในพื้นที่ปนเปื้อนจริงมาทำการทดสอบหาสารปนเปื้อนโดยใช้เทคนิคการสกัดที่ได้

1.6 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.6.1 ทำให้ได้องค์ความรู้ในการประยุกต์ใช้เทคนิคการสกัดด้วยของเหลวความดันสูงใน การสกัดสารอินทรีย์ระเหยในพืช

1.6.2 สามารถนำเทคโนโลยีที่ได้ไปใช้ในสกัดสารอินทรีย์ระเหยออกจากพืชเพื่อใช้ในการติดตามเฝ้าระวังสารอินทรีย์ระเหยในพื้นที่ที่มีการปนเปื้อนได้

บทที่ 2
ทบทวนวรรณกรรม

2.1 สารอินทรีย์ระเหย (Volatile Organic Compound)

สารอินทรีย์ระเหยง่าย (Volatile Organic Compound: VOCs) หมายถึง กลุ่มของ สารประกอบอินทรีย์ (Organic Compounds) ที่มีคาร์บอนเป็นองค์ประกอบหลักและมีไฮโดรเจน ออกซิเจน หรือธาตุฮาโลเจน เช่น คลอรีน โบรมีน ร่วมอยู่ด้วย เป็นสารพวกอะลิฟาติก(Aliphatic) หรืออะโรเมติก(Aromatic) มีความดันไอมากกว่า 0.1 มิลลิเมตรปรอทที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส สามารถระเหยเป็น ไอกระจายตัวไปในอากาศได้ง่ายที่อุณหภูมิและความดันปกติ ไอของสารเหล่านี้สามารถจะเปลี่ยนรูปกลับเป็นของเหลวหรือของแข็งตามสภาวะเดิมได้ โดยการเพิ่มอุณหภูมิหรือลดความดัน สารอินทรีย์ระเหยง่ายสามารถแบ่งกลุ่มตามลักษณะโครงสร้างโมเลกุลได้สองกลุ่ม ได้แก่

1) กลุ่ม Non-chlorinated VOCs หรือ กลุ่ม Non-halogenated Hydrocarbons คือ กลุ่มโมเลกุลของสาร VOCs ที่ไม่มีอะตอมของธาตุคลอรีนเป็นองค์ประกอบ เช่น กลุ่มของสาร Aliphatic Hydrocarbons (เช่น Fuel Oils, ก๊าซโซลีน,Hexane) กลุ่มสาร Aromatic hydrocarbons (เช่นสารตัวทำละลาย - Toluene, Benzene, Ethylbenzene, Xylenes, Styrene, Phenol)

2) กลุ่ม Chlorinated Vocs หรือ Halogenated Hydrocarbons ได้แก่ กลุ่มไฮโดรคาร์บอนระเหยที่มีธาตุคลอรีนในโมเลกุล ได้แก่ สารเคมีที่สังเคราะห์ใช้ในอุตสาหกรรมสาร Chlorinated VOCs นี้มีความเป็นพิษมากกว่าและเสถียรตัวในสิ่งแวดล้อมมากกว่าสารกลุ่มแรก (Non-Chlorinated VOCs) เพราะมีโครงสร้างที่มีพันธะระหว่างคาร์บอนและธาตุกลุ่มฮาโลเจนที่ทนทานมาก ยากต่อการสลายตัวในธรรมชาติ ทางชีวภาพ ทางกายภาพ หรือโดยทางวิธีเคมีทั่วไป มีความคงตัวสูงและสะสมได้นาน (สำนักอนามัยสิ่งแวดล้อม กรมอนามัย กระทรวงสาธารณสุข,2555)

สารอินทรีย์ระเหยที่ก่อให้เกิดปัญหาอย่างหนักในน้ำใต้ดินได้แก่สารอินทรีย์ระเหยประเภทที่ละลายน้ำได้น้อย เรียกว่า Non-aqueous Phase Liquids : NAPLs เมื่อสารประเภทนี้เกิดการรั่วไหลหรือตกค้างภายในชั้นดินและมีปริมาณที่มากพอก็จะสามารถเคลื่อนที่ไปสู่ระดับน้ำใต้ดินได้ โดยปัจจัยที่ทำให้การปนเปื้อนของสาร NAPLs ในสิ่งแวดล้อมจะขึ้นอยู่กับ คุณสมบัติของสาร NAPLs ปริมาณและระยะเวลาของสารที่ไหลปนเปื้อน รวมทั้งลักษณะพื้นที่ที่สาร NAPLs ปนเปื้อน สารในกลุ่ม NAPLs นี้สามารถแบ่งออกได้เป็น 2 ประเภท คือ 1) NAPLs ที่มีความหนาแน่นน้อยกว่าน้ำ เรียกว่า Light Non-aqueous Phase Liquid (LNAPLs) เนื่องจากเป็นสารที่มีความหนืดต่ำ เมื่อเกิดการปนเปื้อนมักจะเคลื่อนที่ในแนวดิ่งและแนวระนาบลงสู่ดินและทำให้เกิดการปนเปื้อนของน้ำใต้ดินในชั้นดินอุ้มน้ำ (Water Saturated Zone) โดยจะอยู่ในลักษณะของบ่อที่แยกตัวจากน้ำใต้ดิน (NAPLs pools) หรือของเหลวที่แทรกตัวระหว่างเม็ดดิน เป็นสารที่มีการละลายน้ำได้ต่ำ จึงทำให้เกิดการปนเปื้อนของน้ำใต้ดินเป็นเวลานานนับสิบปีสารที่อยู่ในกลุ่ม LNAPLs นี้ ได้แก่ สารในกลุ่ม BTEX (เบนซีน โทลูอีน เอทธิลเบนซีน และไซลีน) น้ำมันเชื้อเพลิง น้ำมันดีเซล เป็นต้น

2) NAPLs ที่มีความหนาแน่นมากกว่าน้ำ เรียกว่า Dense Nonaqueous Phese Liquids (DNAPLs) เป็นสารที่มีแรงตึงผิวต่ำ มีความหนืดน้อย ระเหยง่าย ทำให้เคลื่อนตัวลงสู่น้ำใต้ดินได้ง่ายและเคลื่อนตัวไปยังโซนไม่อิ่มตัว สารที่อยู่ในกลุ่ม DNAPLs บางชนิดเป็นสารอินทรีย์ที่มีคลอรีนเป็นองค์ประกอบ เช่น เตตระคลอโรเอทธิลีน ไตรคลอโรเอทธิลีน ซึ่งสารนี้จะมีความสามารถในการละลายน้ำค่อนข้างต่ำเมื่อปนเปื้อนเข้าสู่ชั้นน้ำใต้ดินแล้ว จะคงอยู่เป็นระยะเวลานาน และเมื่อมีน้ำใต้ดินไหลผ่านก็จะละลายออกมาเรื่อยๆ ทีละน้อย ซึ่งความสามารถในการละลายของสารกลุ่มนี้มักจะมีค่าสูงกว่าระดับที่มีความเป็นพิษเสมอ (สำนักอนามัยสิ่งแวดล้อม กรมอนามัย กระทรวงสาธารณสุข)

2.2 **การปนเปื้อนของสารอินทรีย์ระเหยสู่แหล่งน้ำใต้ดิน**

ปัจจุบันการปนเปื้อนของสารอินทรีย์ระเหย (VOCs) เป็นปัญหาอย่างมากในสิ่งแวดล้อมทั้งในดินและน้ำใต้ดินขยายเป็นวงกว้างทั่วโลกรวมทั้งในประเทศไทยมีการพัฒนาด้านอุตสาหกรรมอย่างต่อเนื่อง ส่งผลให้มีการใช้สารอินทรีย์ระเหยในภาคอุตสาหกรรม เช่น อุตสาหกรรมผลิตชิ้นส่วนอิเล็กทรอนิกส์ อุตสาหกรรมผลิตโลหะ อุตสาหกรรมไฟฟ้า อุตสาหกรรมการผลิตสี ทินเนอร์ แลคเกอร์ น้ำยาดับกลิ่น สารทำความสะอาด และน้ำยาซักแห้ง เป็นต้น ด้วยเหตุนี้ในประเทศไทยจึงมีการนำเข้าสารเคมีชนิดนี้อย่างต่อเนื่อง ทำให้มีแหล่งกำเนิดการปนเปื้อนของสาร VOCs ในสิ่งแวดล้อม เช่น โรงงานอุตสาหกรรม แหล่งกำจัดขยะหรือแม้แต่ในรถยนต์ สาเหตุที่ทำให้สาร VOCs ปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อมอาจเกิดจากการที่มีระบบการจัดการที่ไม่ดีพอตั้งแต่การเคลื่อนย้าย การเก็บ และการบำบัดอย่างไม่ถูกวิธี จึงทำให้เกิดมลพิษในสิ่งแวดล้อมทั้งในดิน น้ำใต้ดิน และในบรรยากาศ เมื่อสารอินทรีย์ระเหยแพร่กระจายออกสู่สิ่งแวดล้อมจะทำให้เกิดความเสี่ยงต่อสุขภาพของมนุษย์ได้เนื่องจากเป็นสารที่มีความเป็นพิษ เช่น ส่งผลต่อระบบทางเดินหายใจ ระบบประสาทและอาจเป็นสารที่ก่อให้เกิดโรคมะเร็งได้ นอกจากนี้มนุษย์ยังสามารถได้รับสาร VOCs จากผลิตภัณฑ์ต่างๆ เช่นน้ำยาฟอกสี สารตัวทำละลายในหมึกพิมพ์ จากอู่พ่นสีรถยนต์ สีทาบ้าน โรงงานอุตสาหกรรม น้ำยาซักแห้ง น้ำยาสำหรับย้อมผมและน้ำยาดัดผม สารฆ่าแมลง น้ำมันเชื้อเพลิง สารที่เกิดจากการเผาไหม้ และปะปนในอากาศ น้ำดื่ม เครื่องดื่ม อาหาร เป็นต้น

ปัจจุบันสารอินทรีย์ระเหยที่มีคลอรีนเป็นองค์ประกอบเป็นต้นเหตุของปัญหาสิ่งแวดล้อมและมีความรุนแรงมากยิ่งขึ้นจึงต้องทำการเฝ้าระวังและหาวิธีการแก้ไขที่เหมาะสมกิจกรรมที่มนุษย์ ก่อให้เกิดสารอินทรีย์ระเหย ได้แก่ กระบวนการผลิตในอุตสาหกรรมไฟฟ้าและอิเล็กทรอนิกส์ซึ่งจะใช้สารอินทรีย์ระเหยจำพวก Chlorinated Hydrocarbonในการกำจัดคราบในขั้นตอนการทำความสะอาดอุปกรณ์ที่เป็นส่วนประกอบของโลหะ นอกจากนี้สารอินทรีย์ระเหยยังถูกนำมาใช้ในกระบวนการผลิตของผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ

เช่น กาว แลกเกอร์ สี หมึกพิมพ์ เป็นต้น ด้วยเหตุนี้เอง จึงทำให้ภาคอุตสาหกรรมต้องนำเข้าสารอินทรีย์ระเหยเพื่อนำมาใช้ในกระบวนการผลิตเพิ่มมากขึ้นทุกปี ซึ่งสาเหตุของการปนเปื้อนของสารอินทรีย์ระเหยสู่สิ่งแวดล้อมเกิดขึ้นได้จากการจัดการที่ไม่ดีตั้งแต่กระบวนการผลิต กระบวนการขนส่ง กระบวนการเก็บรักษา และการนำมาใช้ รวมทั้งการกำจัดที่ไม่มีประสิทธิภาพ เกิดการหกรั่วไหล

รูปที่ 2.1 แสดงเส้นทางของการแพร่กระจายของสาร **VOCs** ในสิ่งแวดล้อม

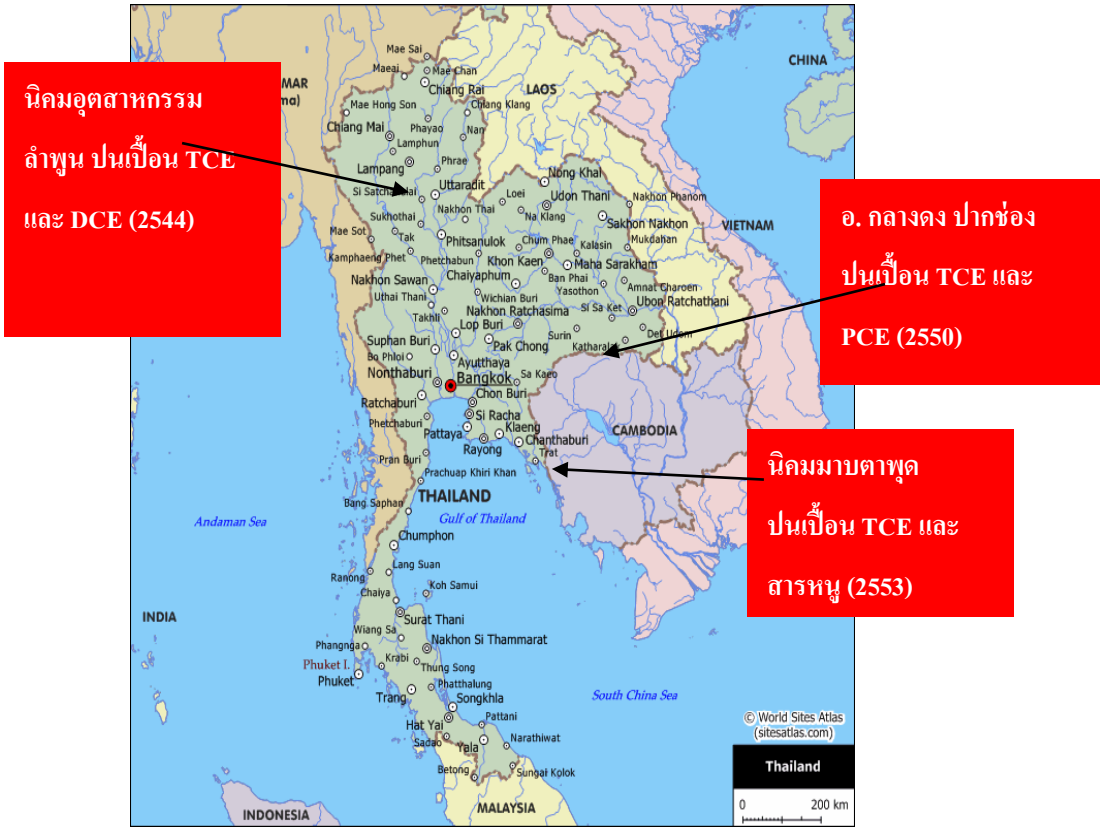
ที่มา : (สำนักอนามัยสิ่งแวดล้อม กรมอนามัย กระทรวงสาธารณสุข,2555)

นอกจากนี้ยังรวมถึงการลักลอบทิ้ง เนื่องจากไม่มีระบบการจัดการ และการควบคุมที่ดีจึงทำให้สารอินทรีย์ระเหยแพร่กระจายออกสู่สิ่งแวดล้อมได้ ดังเช่น กรณีการตรวจพบการปนเปื้อนของสารในกลุ่ม DNAPL ในนิคมอุตสาหกรรมภาคเหนือ จังหวัดลำพูน โดย มีศักดิ์ มิลินทวิสมัย และคณะ (2544) และกรณีการตรวจพบการปนเปื้อนของสารอินทรีย์ระเหยในนิคมอุตสาหกรรมมาบตาพุด จังหวัดระยอง โดย แฟรดาช์ มาเหล็ม และคณะ (2550) และสารอินทรีย์ระเหยที่มีคลอรีนเป็นองค์ประกอบที่ปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อม เช่น สารสารไตรคลอโรเอทธิลีน (TCE) และสารเตตระคลอโรเอทธิลีน (PCE) มีความหนาแน่นสูงกว่าน้ำ ไม่สามารถผสมรวมกับน้ำได้ (Dense Non-Aqueous Phase Liquid หรือ DNAPL) มีลักษณะเป็นน้ำมันหนักละลายน้ำได้น้อยเมื่อสารอินทรีย์ระเหยที่มีคลอรีน เป็นองค์ประกอบปนเปื้อนสู่สิ่งแวดล้อมจะแทรกซึมลงสู่ชั้นน้ำใต้ดินและ ก่อตัวเป็นแหล่งกำเนิดการปนเปื้อน (Hot Spot or Source Zone) ในรูปของเหลวที่มีความหนาแน่นสูงกว่าน้ำและไม่สามารถรวมตัวกับน้ำได้ง่าย (DNAPL) ซึ่งจะเป็นต้นกำเนิดของการชะละลายของสารอินทรีย์ระเหยที่มีคลอรีนเป็นองค์ประกอบในน้ำอย่างต่อเนื่อง (dissolved phase) และเป็นมลสารที่เคลื่อนที่ระยะไกลไปกับน้ำใต้ดิน มลสารที่เคลื่อนที่ไปกับน้ำใต้ดินนี้เองสามารถส่งผลกระทบต่อพื้นที่ชุมชนหรือ

พื้นที่การเกษตรข้างเคียงแม้ว่าแหล่งปนเปื้อนจะอยู่ในพื้นที่อุตสาหกรรมที่ห่างกันมากก็ตาม (ธนพล, 2012)

ปัญหาการปนเปื้อนของสารอินทรีย์ระเหยที่มีคลอรีนเป็นองค์ประกอบโดยเฉพาะ สารไตรคลอโรเอทธิลีนจะมีผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมในประเทศไทย ซึ่งจะเห็นได้จากข้อมูลการวิจัยของ มีศักดิ์ มิลินทวิสมัย และคณะ ในปี 2544 ได้ทำการตรวจสอบการปนเปื้อนของสาร chlorinated Ethylene ในดินและน้ำใต้ดินในบริเวณพื้นที่อุตสาหกรรมภาคเหนือ จังหวัดลำพูน โดยทำการขุดเจาะบ่อสำรวจและทำการเก็บตัวอย่างน้ำมาวิเคราะห์พบว่า มีการปนเปื้อนของสาร TCE ในน้ำใต้ดินในบางจุด โดยมีค่าสูงถึง 968.15 มก/ล. ซึ่งเกินค่ามาตรฐานของคุณภาพน้ำใต้ดิน ที่คณะกรรมการสิ่งแวดล้อมแห่งชาติกำหนดไว้ในปี 2543 โดยกำหนดไว้ที่ 5 ไมโครกรัมต่อลิตร การศึกษาวิจัยในครั้งนั้นเป็นการตรวจพบในพื้นที่ของ 3 โรงงานที่มีการใช้สารดังกล่าว ซึ่งอยู่ภายในบริเวณนิคมอุตสาหกรรมภาคเหนือ ต่อมา แฟร์ดาซ์ มาเหล็ม และคณะ ได้ทำการศึกษาลักษณะการแพร่กระจายของสารปนเปื้อนและบ่งชี้พื้นที่ที่น่าจะเป็นแหล่งกำเนิดของการปนเปื้อนจากแหล่งกำเนิดที่ได้ทำการตรวจพบภายในนิคมอุตสาหกรรมนั้นได้แพร่กระจายออกจากจุดศูนย์กลางและยังพบว่ามีการปนเปื้อนของสารอินทรีย์ระเหยง่ายในบ่อน้ำใต้ดินของชาวบ้านซึ่งมีการแพร่

กระจายทั้งในพื้นที่ศึกษา ซึ่งจากการศึกษาในครั้งนั้นเป็นการบ่งชี้ว่าแหล่งกำเนิดการปนเปื้อนไม่ได้มีเพียงจุดเดียวในพื้นที่นิคมอุตสาหกรรม โดยอาจมีแหล่งกำเนิดนอกพื้นที่นิคมฯ ด้วย สถานการณ์การปนเปื้อนของสารอินทรีย์ระเหยที่มีคลอรีนเป็นองค์ประกอบไม่ได้มีเพียงแต่ในพื้นที่นิคมอุตสาหกรรมภาคเหนือเท่านั้น ซึ่งจะเห็นได้จากาข้อมูลการนวิจัยของแฟรดาซ์ มาเหล็มและคณะ ในปี 2551 จากกรณีศึกษา: การปนเปื้อนของสารอินทรีย์ระเหยในดินและน้ำใต้ดินในพื้นที่มาบตาพุด จังหวัดระยอง ซึ่งในการศึกษาพบการปนเปื้อนของสารอินทรีย์ระเหยที่มีคลอรีนเป็นองค์ประกอบในน้ำใต้ดินภายในนิคมอุตสาหกรรมมาบตาพุดเกินค่ามาตรฐาน นอกจากนี้ยังได้ตรวจหาพื้นที่ที่มีโอกาสเป็นแหล่งกำเนิดการปนเปื้อนสารอินทรีย์ระเหยในดินและน้ำใต้ดินอย่างต่อเนื่อง พร้อมทั้งได้ศึกษาด้านไอโซโทปของน้ำและสารปนเปื้อน ศึกษาลักษณะของพื้นที่ในเชิงอุทกธรณีวิทยา การจัดทำแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ทิศทางการไหลของน้ำใต้ดิน พบว่าสาเหตุการปนเปื้อนในดินและน้ำใต้ดินเกิดขึ้นจากกิจกรรมในพื้นที่โรงงาน สำหรับการปนเปื้อนในน้ำใต้ดินทำให้เกิดการแพร่กระจายสารปนเปื้อนตามทิศทางการไหลของน้ำใต้ดิน ซึ่งน้ำใต้ดินส่วนใหญ่จะไหลลงสู่แหล่งน้ำธรรมชาติหรือลงสู่ทะเล

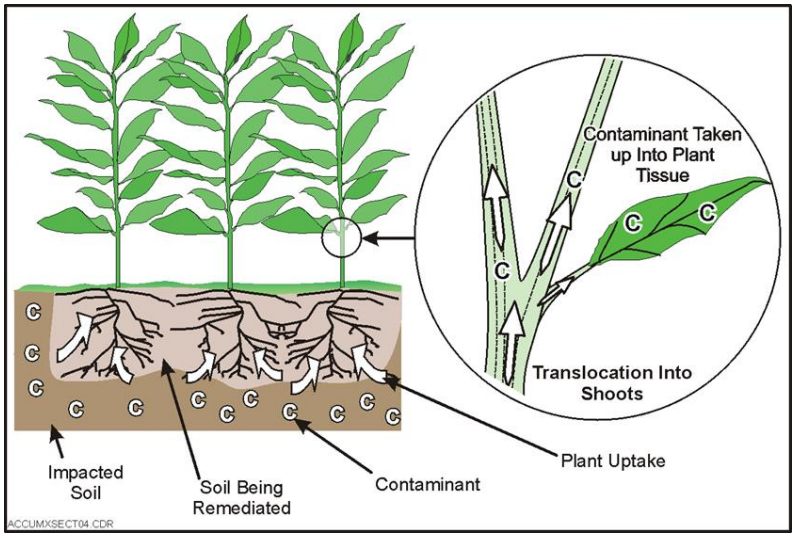


รูปที่ 2.2 แสดงการปนเปื้อนของสารอินทรีย์ระเหยในประเทศไทย

ที่มา : (ธนพล,2012)

2.3 การใช้พืชในการติดตามเฝ้าระวังและบำบัดฟื้นฟูการปนเปื้อนสารอินทรีย์ระเหยในดินและน้ำใต้ดิน

ระบบเฝ้าระวังการปนเปื้อนของดินและน้ำใต้ดินส่วนใหญ่เป็นระบบวิศวกรรมในรูปของบ่อเฝ้าระวัง โดยเป็นบ่อเพื่อการเก็บตัวอย่างน้ำใต้ดินในชั้นอิ่มตัวด้วยน้ำและมีค่าใช้จ่ายในการพัฒนาบ่อค่อนข้างสูง อาจทำให้ไม่สามารถจัดทำบ่อเฝ้าระวังได้ครอบคลุมทุกพื้นที่ การใช้พืชในการติดตามระวังการปนเปื้อนจะทำให้ทราบถึงความสัมพันธ์ของปริมาณสารอันตรายที่ปนเปื้อน ในดินและน้ำใต้ดิน โดยปริมาณสารที่พืชตรวจจับจะถูกส่งผ่านมาเก็บไว้ในเนื้อเยื่อพืช การใช้พืชในการติดตามเฝ้าระวังการปนเปื้อนสารอันตรายในดินและน้ำใต้ดินจึงเป็นหนึ่งในทางเลือกการเฝ้าระวังที่ราคาถูกกว่าและสามารถใช้เป็นระบบเฝ้าระวังการปนเปื้อนของดินและน้ำใต้ดินที่อยู่ระหว่างนิคมอุตสาหกรรมและชุมชนโดยรอบ เช่น พื้นที่แนวกันชน ที่โดยทั่วไปมักมีการปลูกต้นไม้เพื่อความร่มรื่นและสร้างบรรยากาศเชิงนิเวศอยู่แล้ว ซึ่งถ้าหากมีการติดตามเฝ้าระวังการปนเปื้อนดินและน้ำใต้ดินที่ราคาถูกเชื่อถือได้จะช่วยให้สามารถตรวจพบการปนเปื้อนได้ตั้งแต่แรกเริ่มและลดโอกาสที่การปนเปื้อนจะแพร่กระจายออกไป ซึ่งนำมาสู่การจัดการพื้นที่ปนเปื้อนได้ดีการใช้พืชในการตรวจวัดสารปนเปื้อนในดินและน้ำใต้ดิน จะทำได้โดยการนำพืชไปสกัดและวิเคราะห์หาสารมลพิษ ซึ่งจะทำให้ทราบถึงความเข้มข้นของสารมลพิษที่อยู่ในเนื้อเยื่อพืช โดยมีความสัมพันธ์กับปริมาณของสารปนเปื้อนที่มีอยู่ในดินและน้ำใต้ดินได้ นั่นคือการวิเคราะห์เนื้อเยื่อของแกนต้นไม้ที่เก็บมาจากพื้นที่ปนเปื้อนเป็นการแสดงให้เห็นความสัมพันธ์ของความเข้มข้นของสารในต้นไม้กับความเข้มข้นของสารในพื้นที่ปนเปื้อน และเพื่อให้ประเมินความเข้มข้นของสารที่แท้จริงได้จะต้องทราบถึง การเคลื่อนย้ายสาร,การแบ่งกระจาย และเส้นทางของการแพร่กระจายภายในองค์ประกอบ (ดิน,น้ำ,พืช)



รูปที่ 2.3 แสดงการดูดซับสารปนเปื้อนด้วยพืช

ที่มา : Interstate Technology and Regulatory Cooperation Work Group. (2001) Phytotechnologies Work TeamPhytotechnology Technical and Regulatory Guidance Document

ระบบการติดตามเฝ้าระวังการปนเปื้อนสารอินทรีย์ระเหยในดินและน้ำใต้ดินด้วยพืชมีการศึกษาวิจัยโดยหลายมหาวิทยาลัยชั้นนำ ยกตัวอย่าง เช่น มหาวิทยาลัย Missouri-Rolla ประเทศสหรัฐอเมริกา ได้ทำการศึกษาหาสารอินทรีย์ระเหยในเนื้อเยื่อพืชที่อยู่ในพืชที่ปนเปื้อนสารอินทรีย์ระเหยโดยได้มุ่งเน้นศึกษาสารอินทรีย์ระเหยที่มีคลอรีนเป็นองค์ประกอบ 3 ชนิด ประกอบด้วย สาร TCE , 1,1,2-TCA และ CCl_4 ได้ทำการตรวจสอบเพื่อดูการกระจายสัดส่วนของสาร การดูดซับและการคายออกของสารระหว่างส่วนที่เป็นอากาศกับส่วนของต้นไม้ที่ปลูกในบริเวณพื้นที่ปนเปื้อน ได้แก่ ต้น oak, poplar และ willow ได้ทำการตรวจสอบค่าสัมประสิทธิการแพร่กระจายที่แกนของลำต้นของต้นไม้และกิ่งก้านเล็กๆ การแพร่กระจายของสารระหว่างอากาศ,น้ำและในเนื้อไม้ของแกนต้นไม้และลำต้น การตรวจสอบค่าสัมประสิทธิ์การแยกส่วนเป็นวิธีในการประเมินความเข้มข้นของ สารในดินและน้ำใต้ดินในการคายสารออกจากลำต้น จากการศึกษาพบว่า การวิเคราะห์เนื้อเยื่อของต้นไม้ที่ปลูกในบริเวณพื้นที่ปนเปื้อนแสดงให้เห็นว่าความเข้มข้นของสาร VOCs ในเนื้อไม้มีความสัมพันธ์กับความเข้มข้นของสาร VOCs ในน้ำใต้ดินที่ปนเปื้อน (Burken,2002)

รูปที่ 2.4 แสดงการเก็บตัวอย่างเนื้อเยื่อพืชเพื่อนำมาสกัดและวิเคราะห์หาสารมลพิษ
ที่มา : Jean Christophe Balouet,2012

2.4 การสกัดสารอินทรีย์ระเหยออกจากเนื้อเยื่อพืช

จากการศึกษาการใช้พืชในการติดตามเฝ้าระวังการปนเปื้อนของสารอินทรีย์ระเหยสิ่งหนึ่ง ที่มีความสำคัญ คือ การศึกษาเทคนิคและวิธีการที่เหมาะสมในการวิเคราะห์สารพิษที่เก็บสะสมอยู่ในเนื้อเยื่อพืชให้มีความถูกต้อง ซึ่งในปัจจุบันยังไม่มีวิธีมาตรฐานที่ใช้ในการสกัดสารพิษที่ดูดซับและสะสมในเนื้อเยื่อพืช การสกัดหาเนื้อเยื่อพืชจะใช้วิธีการสกัดหลายวิธีเป็นการสกัดแบบซอกห์เลต การกลั่นด้วยไอน้ำ การสกัดของแข็งด้วยของเหลว เป็นต้น ซึ่งวิธีเหล่านี้จะมีการใช้ตัวทำละลายที่เป็นพิษในปริมาณมากจะก่อให้เกิดมลพิษต่อสิ่งแวดล้อมและมีความเป็นอันตรายต่อผู้ทำการสกัดสาร ทั้งนี้การสกัดยังต้องคำนึงถึงตัวทำละลายที่เหมาะสมต่อการสกัดโดยใช้หลักการที่ว่า สารที่มีสมบัติคล้ายคลึงกันย่อมจะละลายเข้ากันได้ (like dissolves like) สารจะละลายในตัวทำละลายที่มีโครงสร้างหรือหมู่ฟังก์ชัน (functional group) คล้ายกัน เช่น ตัวทำละลายที่มีขั้ว (polar solvent) จะละลายโมเลกุลที่มีขั้ว (polar molecule) ส่วนตัวทำละลายไม่มีขั้ว (nonpolar solvent) จะละลายโมเลกุลที่ไม่มีขั้ว (nonpolar molecule นั้นคือ สารที่ต้องการสกัดจะต้องมีสภาพขั้วใกล้เคียงกับสภาพขั้วของตัวทำละลาย และควรเลือกตัวทำละลายที่ละลายสารอื่นที่ไม่สนใจออกมาได้น้อยหรือไม่ละลายออกมาเลย ดังนั้น ในการสกัดจึงมีความจำเป็นที่จะต้องเลือกใช้ตัวทำละลายที่มีคุณสมบัติเหมาะสมในการละลายและควรคำนึงถึงเทคโนโลยีสีเขียว (Green Technology) โดยจะต้องเลือกใช้ตัวทำละลายที่ไม่เป็นพิษต่อสิ่งแวดล้อม คือใช้ตัวทำละลายที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม (green solvent) คือ สารในกลุ่มแอลลกอฮอล์ เช่น เอทานอล เมทานอลซึ่งมีความปลอดภัยกว่าตัวทำละลายบางชนิด นอกจากนี้การใช้ความร้อนเป็นระยะเวลานานจะมีผลทำลายสารที่ไม่ทนความร้อนทำให้สารที่ไม่ทนความร้อนมีความเข้มข้นลดลงหรือไม่สามารถตรวจพบสารดังกล่าวได้พบ ปัจจัยที่มีความสำคัญและมีผลต่อการสกัด คือ อุณหภูมิและเวลาในการสกัด ประสิทธิภาพของการสกัดจะขึ้นอยู่กับการละลายและความสามารถในการกระจายตัวของสารที่ต้องการสกัดในตัวทำละลาย

จากรายงานการวิจัยที่ผ่านมาพบว่าได้ มีการศึกษาการสกัดสารออกจากพืช ซึ่งงานวิจัยทางด้านสิ่งแวดล้อมได้มีการสกัดสารไตรคลอโรเอทธิลีนจากไม้ยืนต้น โดยใช้เทคนิค Sovent Extraction โดยใช้เฮกเซนเป็นตัวทำละลายซึ่งมีความเป็นพิษและใช้เวลาในการสกัดนานส่วนอีกวิธีหนึ่งเป็นการใช้เทคนิค Hot Methanol ซึ่งเทคนิคนี้มีประสิทธิภาพในการสกัดค่อนข้างดีแต่ ก็ยังใช้เวลาในการสกัดนาน แต่อย่างไรก็ยังมีอีกเทคนิคหนึ่งที่น่าจะนำมาประยุกต์ใช้ในการสกัดสารพิษทางด้านสิ่งแวดล้อม คือ เทคนิคการใช้ของเหลวความดันสูง (pressurized liquid extraction,PLE) เป็นเทคนิคที่ได้รับความนิยมสูงในการสกัดสารจากพืชสมุนไพรเพื่อใช้ในการเตรียมเป็นโภชนเภสัชภัณฑ์ และสกัดหาปริมาณสารสำคัญในพืชสมุนไพร เทคนิคนี้จะเป็นการสกัดโดยตัวทำละลายเป็นเฟสของเหลวที่อุณหภูมิและความดันสูง สามารถทำได้ง่าย รวดเร็วและมีประสิทธิภาพสูง ทั้งยังสามารถเลือกใช้ตัวทำละลายที่มีพิษน้อยลงจึงช่วยให้เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม จึงจัดได้ว่าเทคนิคนี้เป็นเทคโนโลยีสะอาดหรือเทคโนโลยีสีเขียว คือ เป็นการลดเวลา และลดปริมาณการใช้ตัวทำละลายหรือใช้ตัวทำละลายที่มีความเป็นพิษน้อยลง (ไทยไภษัชยนิพนธ์,2555)

2.5 เทคนิคการใช้ของเหลวความดันสูง (pressurized liquid extraction,PLE)

เทคนิค PLE เป็นเทคนิคการสกัดที่ใช้อุณหภูมิที่สูงกว่าจุดเดือดของของเหลวแต่ต่ำกว่าจุดวิกฤติ ที่อุณหภูมิและความดันสูงนี้จะช่วยในการลดความหนืดของตัวทำละลายจึงเป็นการให้ตัวทำละลายแทรกซึมผ่านเนื้อเยื่อพืชที่ต้องการสกัดได้ดีขึ้น นอกจากนี้การให้อุณหภูมิที่สูงจะทำให้สารวิเคราะห์ที่สนใจหลุดออกจากเมทริกซ์เนื้อเยื่อพืชแพร่เข้าไปสู่ตัวทำละลายได้มากขึ้น ในขณะที่สภาวะความดันสูงช่วยรักษาสภาพของตัวทำละลายให้อยู่ต่ำกว่าจุดเดือดซึ่งจะช่วยทำให้ตัวทำละลายแทรกซึมผ่านเข้าไปในตัวอย่างได้เป็นอย่างดี การเพิ่มอุณหภูมิของตัวทำละลายและขนาดของอนุภาคของเมตริกซ์จะมีผลต่อประสิทธิภาพของการสกัดด้วย การสกัดที่อุณหภูมิสูงกว่าจุดเดือดของตัวทำละลายที่ความดันบรรยากาศจะมีผลเพิ่มทั้งการละลายของสารที่ต้องการสกัดและสมบัติการถ่ายเทมวล กล่าวคือ การเพิ่มอุณหภูมิให้กับตัวทำละลายจะเป็นการเพิ่มอัตราการแพร่ (diffusion rate) ซึ่งจะมีผลเพิ่มการถ่ายเทมวลของสารที่ต้องการสกัดไปสู่ตัวทำละลายจึงทำให้อัตราเร็วในการสกัดเพิ่มขึ้น แต่อย่างไรก็ดีการใช้อุณหภูมิที่สูงขึ้นอาจทำให้สารอื่นๆ ที่อยู่ในเมทริกซ์หลุดออกมาด้วยส่งผลให้ความจำเพาะเจาะจงในการสกัดลดลงและการใช้อุณหภูมิที่สูงขึ้นจะมีผลต่อสารที่ไม่ทนความร้อนได้

รูปที่ 2.5 Cell Pressurized liquid

ปัจจุบันเทคนิค PLE นิยมนำมาประยุกต์ใช้ในการสกัดหาสารที่สำคัญในพืชสมุนไพร เนื่องจากเทคนิคเป็นเทคนิคที่ทำได้ง่าย ใช้เวลาไม่มาก และใช้ตัวทำละลายในปริมาณต่ำ ซึ่งเป็นเทคนิคที่มีประสิทธิภาพในการสกัดสารต่างๆ จากพืชสมุนไพรได้ดี มีการรายงานในวารสาร ไทยไภชยนิพนธ์ เกี่ยวกับการใช้เทคนิค PLE ว่าเทคนิค PLE ให้ปริมาณสารสกัดมากกว่าการสกัดด้วยเทคนิคการสกัดแบบดั้งเดิม นอกจากนี้ยังใช้เวลาและปริมาณตัวทำละลายน้อย เช่นการสกัดคาเทชินและพิคาเทชิน ด้วยเทคนิค PLE โดยใช้น้ำ เมทานอล และเอธิลอะซีเตต เป็นตัวทำละลาย ทำการสกัดที่อุณหภูมิ 130 องศาเซลเซียส ใช้เวลานาน 10 นาที ให้เปอร์เซ็นต์การกลับสูงกว่าการสกัดด้วยการคนและการสกัดด้วยคลื่นเสียงความถี่ นอกจากนี้ยังใช้ระยะเวลาในการสกัดสั้นกว่า การสกัดที่อุณหภูมิสูงสามารถ ลดแรงยึดเหนี่ยวระหว่างสารสำคัญกับเมตริกซ์ได้ ส่งผลให้ประสิทธิภาพในการสกัดดีขึ้น อย่างไรก็ตามอุณหภูมิที่สูงมากอาจทำให้สารสำคัญสลายตัว (ชุติมา,2555)

Gopalakriahnan,2008 จากมหาวิทยาลัย University of Illinois at Urbana-Champaign ประเทศสหรัฐอเมริกา ได้ทำการศึกษาการใช้พืชในตรวจสอบการปนเปื้อนของดินด้วยสารอินทรีย์ระเหยโดยได้ทำการทดสอบพืช 5 ชนิดประกอบด้วย Red maple, Linden, Silver maple, White pine, และ tulip tree ในการตรวจวัดการปนเปื้อนของสารไตรคลอโรเอทธิลีน (TCE) ในดิน ผู้วิจัยพยายามหาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสาร TCE ที่ปนเปื้อนในดิน และสาร TCE ปนเปื้อนที่พืชดูดซับจากดินและกระจายอยู่ในส่วนต่างๆ ของพืช โดยทำการศึกษาการสกัดด้วยวิธีต่างๆ เช่น การสกัดด้วยเทคนิค headspace การสกัดด้วยตัวทำละลาย hexane การสกัดด้วยตัวทำละลายเมทานอล จากผลการศึกษาพบว่า การสกัดด้วยเทคนิค hot methanol เป็นวิธีที่ดีที่สุดที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส แต่ใช้ระยะเวลาการสกัดนานถึง 8 ชั่วโมง จากการศึกษา Gopalakriahnan ได้สรุปว่าพืชทั้ง 5 ชนิด สามารถใช้เป็นระบบเฝ้าระวังการปนเปื้อนสารอันตรายในดิน

Péres VF, Saffi J, Melecchi MI, et al.2006 ได้ทำการ เทคนิคการสกัดด้วยของเหลวความดันสูง (pressurized liquid extraction, PLE) มีการนำมาใช้ในการสกัดตัวยาสำคัญในพืชสมุนไพรโดยได้มีการศึกษาการสกัดสารกลุ่มเทอร์ปีน เช่น terpenic alcohols และ phytosterols จากใบของพืช Piper gaudichaudianum Kunth ที่ใช้บรรเทาอาการปวดฟันและต้านอักเสบ พบว่าเทคนิค PLE มีประสิทธิภาพในการสกัดสูง ใช้ระยะเวลาในการสกัดสั้น และใช้ปริมาณตัวทำละลายต่ำกว่าการสกัดแบบซอกห์เลต ทั้งนี้การสกัดด้วยเทคนิค PLE จะใช้ความดันและอุณหภูมิสูง แต่ใช้ระยะเวลาสั้น จึงช่วยลดการสลายตัวของสารสำคัญในระหว่างกระบวนการสกัด นอกจากนี้ยังช่วยละลายสารสำคัญออกมาได้ดี เนื่องจากที่อุณหภูมิและความดันสูง ตัวทำละลายสามารถแทรกซึมเข้าสู่เมตริกซ์ได้ดี

บทที่ 3

วิธีการดำเนินการวิจัย

งานวิจัยนี้เป็นงานวิจัยเฉพาะเพื่อศึกษาและประยุกต์ใช้เทคนิคการสกัดด้วยของเหลวความดันสูงในการสกัดสารอินทรีย์ระเหยในเนื้อเยื่อพืช และประเมินผลการทดสอบจากร้อยละการได้กลับคืนของสารอินทรีย์ระเหย (%Recovery) จากเนื้อเยื่อพืชและวิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC-MS และใช้พืชที่เติบโตในแหล่งปนเปื้อนเป็นตัวบ่งชี้ทางอ้อมในการตรวจติดตามเฝ้าระวังการปนเปื้อนของสารอินทรีย์ระเหยในดินและน้ำใต้ดิน โดยมีวิธีการหลักๆ ดังนี้

แผนผังวิธีดำเนินการวิจัย

3.1 วิธีดำเนินการวิจัย

3.1.1 **ศึกษาและทดสอบการเจาะเนื้อเยื่อไม้และเก็บตัวอย่างเนื้อเยื่อพืชเพื่อนำมาใช้ทดสอบหาสภาวะการสกัด** เพื่อหาอุณหภูมิที่เหมาะสมในการสกัดสารอินทรีย์ระเหยด้วยเทคนิคของเหลวความดันสูงโดยเริ่มแรกกำหนดเวลาที่ใช้ในการสกัดให้คงที่โดยใช้ที่เวลา 30 นาที ส่วนอุณหภูมิที่ใช้ในการทดสอบ ได้แก่ 60 ℃, 70 ℃, 80 ℃และ 90 ℃ ทำการสกัดและวิเคราะห์อุณหภูมิละ 3 ซ้ำ และเมื่อได้ผลการวิเคราะห์หาอุณหภูมิที่เหมาะสมที่สุดในการสกัดแล้ว จึงทำการวิเคราะห์หาเวลาที่เหมาะสมที่สุดในการสกัดโดยใช้เวลาในการสกัดที่ 5,15,30 และ 45 นาที

3.1.1.1 **วัสดุและอุปกรณ์**

1. เครื่องแก๊สโครมาโตรกราฟี (Gas Chromatography , GC) ของบริษัท Agilent รุ่น 7890A ประกอบด้วย Mass spectrometry (MS) รุ่น 5975 ทำหน้าที่เป็น Detector โดยใช้ Column DB-624ในการวิเคราะห์สารอินทรีย์ระเหย
2. เครื่องชั่งน้ำหนักละเอียด 3 ตำแหน่ง
3. เตาอบ (Oven)
4. เครื่อง Purge and Trap
5. เครื่อง Auto sampler
6. Cell Presurized Liquid Extraction
7. เครื่องเจาะวัดความเพิ่มพูน(increment borer)สำหรับเก็บตัวอย่างเนื้อเยื่อไม้
8. Polytetrafluoroethylene (PTFE) - sealed screw-cap bottle ขนาด 40 mL
9. Polytetrafluoroethylene (PTFE) - sealed screw-cap bottle ขนาด 22 mL
10. ขวดวัดปริมาตร(Volmetric flask) Class A,ขนาด 25,50 mL
11. Liquid-Tight Syring สำหรับดูดสารมาตรฐาน ขนาด 50,100,500 mL

3.1.1.2 **สารเคมีที่ใช้**

1. สารมาตรฐานอินทรีย์ระเหย จำนวน 17 ชนิด ดังนี้

Vinyl chloride , 1,1-DCE, tran-DCE, cis-DCE, Benzene, TCE, Tolunene, PCE, Ethylbenzene, xylene, Dichlormethane, 1,1,1-tricholomethane, CCl4, 1,2-dichloromethane, 1,1,2-tricholomethane, stryrene และ Fluorobenzene

2. เมทานอล
3. น้ำกลั่น

3.1.1.3 วิธีการ

3.1.1.3.1 การทดสอบและเก็บตัวอย่างเนื้อเยื่อพืช

1) นำเครื่องเจาะเนื้อไม้เจาะตัวอย่างไม้ที่ระดับความสูง 1.30 เมตร จากพื้นดิน โดยเจาะแนวตั้งฉากกับลำต้น

2) หมุนสว่านไปทางด้านขวาจนก้านเจาะเข้าไปยังจุดศูนย์กลางของลำต้น

3) เสียบถาดก้านโลหะครึ่งวงกลมที่ใช้ในการเก็บเนื้อเยื่อไม้เข้าไปตรงกลางของก้านสว่าน

4) หมุนตัดเนื้อเยื่อพืชไปทางด้านซ้ายและถอดก้านสว่านเจาะออกจากต้นไม้

5) ดึงถาดก้านโลหะครึ่งวงกลมออกจากตัวสว่านจะทำให้ได้ตัวอย่างเนื้อเยื่อพืชออกมา

6) เก็บตัวอย่างเนื้อเยื่อพืชลงในชวด Polytetrafluoroethylene (PTFE) ขนาด 22 mL ทำการ sealed screw-cap และนำไปทดสอบหาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัด

(ก)

(ข)

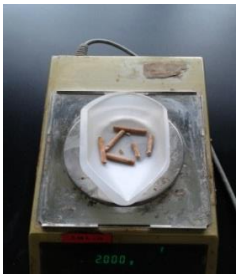
(ค)

รูปที่ 3.1 (ก) การหมุนเจาะสว่านเก็บเนื้อเยื่อพืช
(ข) เสียบก้านเหล็กที่ใช้ในการเก็บเนื้อเยื่อพืช
(ค) ดึงก้านถาดโลหะครึ่งวงกลมที่ใช้ในการเก็บเนื้อเยื่อพืช

รูปที่ 3.2 เนื้อเยื่อไม้ที่ติดออกมากับก้านเหล็กที่ใช้ในการเก็บตัวอย่าง

3.1.1.3.2 การเก็บตัวอย่างเพื่อทดสอบการสกัด

1) เตรียมตัวอย่างเนื้อเยื้อพืชชั่งน้ำหนัก จำนวน 2 กรัม
2) นำตัวอย่างเนื้อเยื้อพืช จำนวน 2 กรัม ใส่ลงใน Cell Presurized Liquid Extraction เตรียมสารละลายอินทรีย์ระเหย จำนวน 16 ชนิด ได้แก่ Vinyl chloride, 1,1-DCE, tran-DCE, cis-DCE, Benzene,TCE, Tolunene, PCE,Ethylbenzene, xylene,Dichlormethane,1,1,1tricholomethane,CCl_4,1,2dichloromethane, 1,1,2-tricholomethane, stryrene ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม คิดเทียบกับน้ำหนักของเนื้อเยื้อพืช (จำนวน 2 กรัม) เติมลงในตัวอย่างเนื้อเยื้อพืชโดยใช้เนื้อเยื่อพืชจากต้นกระถิ่นณรงค์
3) จากนั้นทำการเติมตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดคือเมทานอล โดยทำการปิเปตเมทานอลปริมาตร 20 ml
4) ปิดฝาและประกอบชุดฝาล๊อคของ Cell Presurized Liquid Extraction



(ก)

(ข)

(ค)

(ง)

รูปที่ 3.3 การเตรียมตัวอย่างในการสกัด

(ก) ชั่งน้ำหนักตัวอย่างเนื้อเยื่อพืช

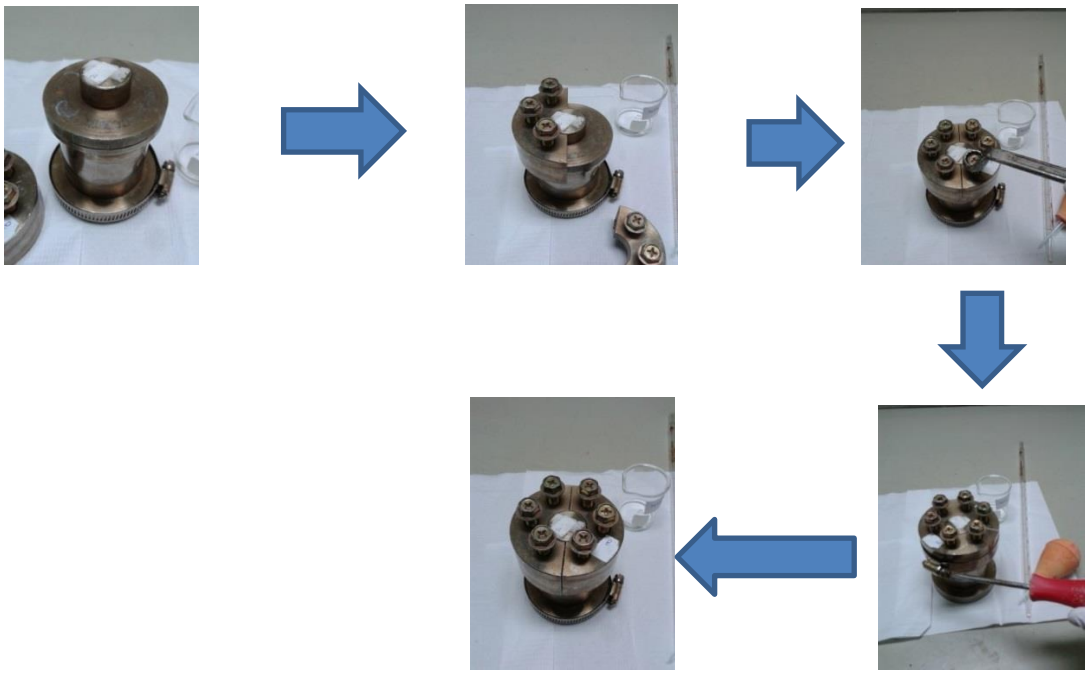
(ข) เนื้อเยื่อพืชใน Cell Presurized Liquid Extraction

(ค) เติมสารละลายอินทรีย์ระเหย

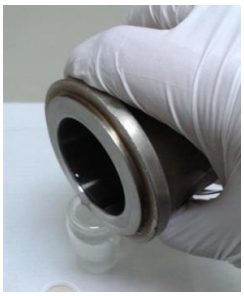
(ง) เติมตัวทำละลายเมทานอล

5) เมื่อประกอบชุดฝาล๊อค Cell Presurized Liquid Extraction เมื่อประกอบชุดชุดฝาล๊อค Cell Presurized Liquid Extraction เสร็จแล้วให้นำไปเข้าเตาอบที่อุณหภูมิที่ 60 ℃ , 70 ℃, 80 ℃ และ 90 ℃ และใช้เวลา 30 นาที ทำการทดสอบอุณหภูมิละ 3 ซ้ำ เมื่อทำการสกัดตามเวลาที่กำหนดแล้วให้นำ cell Presurized Liquid Extraction ออกจากเตาอบและนำไปแช่เย็นที่อุณหภูมิ -4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที แล้วจึงนำออก

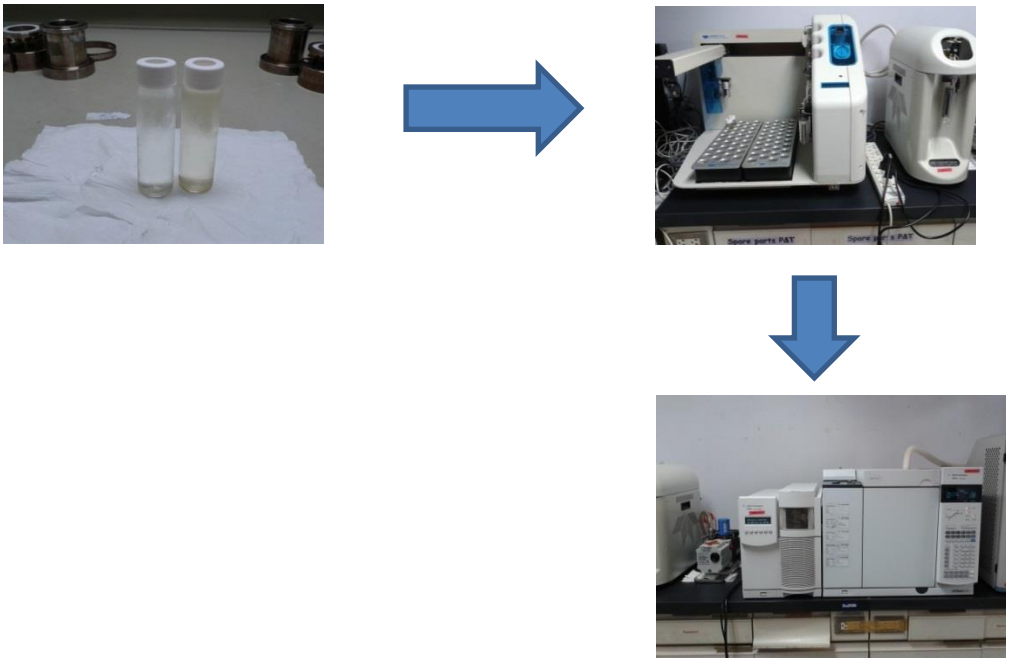
6) เทสารสกัดจาก Cell Presurized Liquid Extraction โดยเทใส่ขวด Polytetrafluoroethylene (PTFE) - sealed screw-cap bottle ขนาด 40 mL ที่มีน้ำ DI อยู่ในปริมาตร 20 ml (รูปที่ 3.5) จากนั้นจึงปรับปริมาตรน้ำให้เต็มขวดแล้วจึงนำไปเตรียมตัวอย่างการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค Purge and Trap และวิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC-MS (รูปที่ 3.6)



รูปที่ 3.4 ขั้นตอนการประกอบชุดฝาล๊อค Cell Presurized Liquid Extraction



รูปที่ 3.5 เทสารที่สกัดได้ลงในขวด Polytetrafluoroethylene (PTFE) - sealed screw-cap bottle ขนาด 40 mL



รูปที่ 3.6 นำตัวอย่างไปวิเคราะห์ด้วยเทคนิค Purge and Trap และ GC-MS

3.1.1.3.3 การตั้งสภาวะในการวิเคราะห์สารอินทรีย์ระเหยด้วยเครื่อง GC-MS และ เทคนิค Purge and Trap

Gas Chromatography

- Injector

  Mode : Split

  Split Ratio : 1:5

  Temperature : 110 ℃

- Column

  Flow Rate : 2.0 ml/min

  Mode : Constant Flow

- Oven

  Initial Temp : 35 ℃ hold 0 min

  Ramp1 : 35 ℃ to 90 ℃ (Rate 8 ℃/min) hold 4 min

  Ramp2 : 90 ℃ to 180 ℃ (Rate 6 ℃ /min) hold 0 min

  Run time : 25.875 min

Mass Spectrometer

Acquidtion Mode : SIM

Solvent Delay : 3.5 min

MS Source : 230 ℃

MS Quad : 150 ℃

Purge and Trap

Purge Flow : He, 40 ml/min

Carrier Gas : Helium

Sorbent Trap : Vocarb 3000

Valve Oven Temp : 150 ℃

Transfer Line Temp : 170 ℃

Sample Mount Temp : 40 ℃

Purge Ready Temp : 30 ℃

Purge Time : 11.0 min

Auto Sampler

Rinse Water Temp : 90 ℃

Sample Sweep Time : 0.50 min

Needle Rinse Volume : 5 ml

Needle Sweep Time : 0.50 min

Bake Rinse Volume : 7 ml

Bake Sweep Time : 0.50 min

Bake Drain Time : 0.50 min

Number of Bake Rinse : 1

3.1.2 ทำการประเมินประสิทธิภาพของการสกัดด้วยเทคนิคของเหลวความดันสูงจากร้อยละการได้กลับคืนของสารอินทรีย์ระเหยและทำการหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการสกัดด้วยเทคนิคของเหลวความดันสูง

3.1.2.1 วัสดุและอุปกรณ์ (เช่นเดียวกับ ข้อ 3.1.1.1)

3.1.2.2 สารเคมี (เช่นเดียวกับ ข้อ3.1.1.2)

3.1.2.3 วิธีการ

1. การสร้างกราฟมาตรฐาน (Calibration curve)เตรียมสารมาตรฐานอินทรีย์ระเหยความเข้มข้น 5, 10, 25, 50,75, และ 100 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม โดยคิดเทียบกับน้ำหนักพืช 2 กรัม) เติมลงในตัวอย่างเนื้อเยื้อพืช จำนวน 2 กรัม ที่อยู่ใน cell Presurized Liquid Extraction จากนั้นเติม Methanol และนำไปสกัดในสภาวะที่เหมาะสมแล้วจึงนำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC-MS สร้างกราฟมาตรฐานระหว่างความเข้มข้นกับพื้นที่ใต้พีค คำนวณหาค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ของเปียร์สัน (Pearson coefficient: r)

2. วิเคราะห์ Matrix blank สกัดตัวอย่างตามวิธีที่พัฒนา (3 ซ้ำ) โดยใช้เนื้อเยื่อพืชที่ไม่มีการปนเปื้อนของสารสนใจตรวจวิเคราะห์ matrix blank เพื่อตรวจสอบสารรบกวนที่อาจมาจากสารเคมีหรืออุปกรณ์ที่ใช้หรือจากเนื้อเยื่อพืชของตัวอย่างที่อาจมีผลกระทบต่อการวิเคราะห์ ทั้งนี้เพื่อป้องกันความผิดพลาดในการจำแนกชนิดหรือคำนวณปริมาณสาร

3. ทำการวิเคราะห์หาร้อยละการได้กลับคืนของสารอินทรีย์ระเหย โดยทำการเตรียมความเข้มข้นที่ใช้ในการสกัดหาร้อยละการได้กลับคืนที่ความเข้มข้น 25 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม โดยคิดเทียบกับน้ำหนักพืช 2 กรัม ทำการสกัดตัวอย่างตามวิธีที่พัฒนา และนำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC-MS จำนวน 7 ซ้ำ

4. ทำการวิเคราะห์หาค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการสกัดสารอินทรีย์ระเหยด้วยเทคนิคของเหลวความดันสูง โดยทำการเตรียมความเข้มข้นที่ใช้ในการสกัดหาความเข้มข้นต่ำสุดที่ความเข้มข้น 0.5 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัมโดยคิดเทียบกับน้ำหนักพืช 2 กรัม ทำการสกัดตัวอย่างตามวิธีที่พัฒนา และนำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC-MS จำนวน 7 ซ้ำ

5. ทำการวิเคราะห์หาค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการสกัดสารอินทรีย์ระเหยด้วยเทคนิคของเหลวความดันสูง โดยทำการเตรียมความเข้มข้นที่ใช้ในการสกัดหาความเข้มข้นต่ำสุดที่ความเข้มข้น 0.5 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัมโดยคิดเทียบกับน้ำหนักพืช 2 กรัม ทำการสกัดตัวอย่างตามวิธีที่พัฒนา และนำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC-MS จำนวน 7 ซ้ำ

3.1.3 การเก็บตัวอย่างพืชในพื้นที่ที่มีรายงานการปนเปื้อนสารอินทรีย์ระเหยมาทำการหาสารอินทรีย์ระเหยด้วยเทคนิคการสกัดด้วยของเหลวความดันสูง โดยทำการเก็บตัวอย่างในพื้นที่บริเวณนิคมฯมาบตาพุด

3.1.3.1 วัสดุและอุปกรณ์ (เช่นเดียวกับ ข้อ 3.1.1.1)

3.1.3.2 สารเคมี (เช่นเดียวกับ ข้อ3.1.1.2)

3.1.3.3 วิธีการ

3.1.3.3.1 วิธีการเก็บตัวอย่าง ดังนี้

1) จดพิกัดจุดเก็บตัวอย่าง

2) บันทึกชื่อต้นไม้ และตั้งรหัสจุดเก็บตัวอย่าง บันทึกวันที่ และเวลาที่ทำการเก็บตัวอย่าง อุณหภูมิและ สภาพอากาศโดยทั่วไป

3) การเจาะเก็บตัวอย่างของต้นไม้ให้วัดระดับความสูงของต้นไม้จากเหนือพื้นดินขึ้นมา 130 cm. แล้วจึงทำการเจาะ

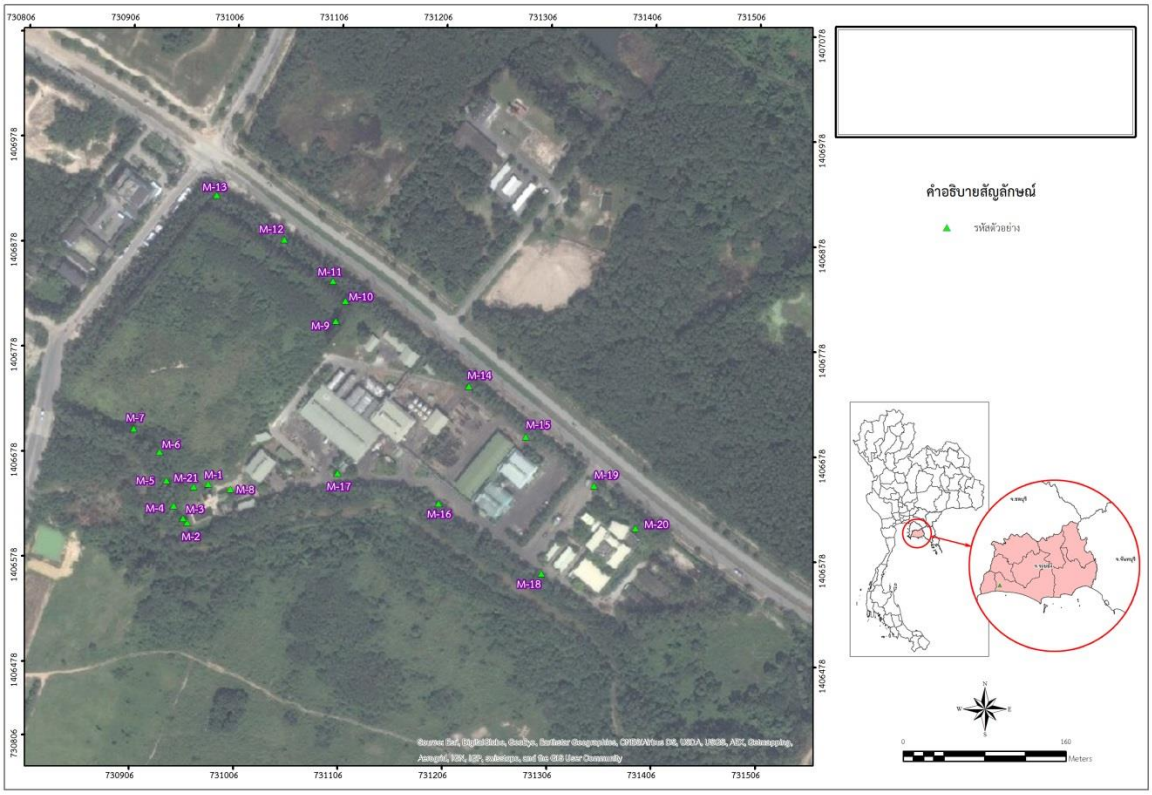
4) วัดขนาดเส้นรอบวงของต้นไม้ที่ทำการเก็บตัวอย่าง

5) ทำการใช้สว่านเจาะเก็บเนื้อเยื่อไม้ เจาะลึกเข้าไปประมาณแกนกลางของลำต้นโดยให้ได้เนื้อเยื่อไม้ปริมาณ 2 กรัม ใส่ลงในขวดฝาคลิ้ม ขนาด 22 ml

6) ทำการรักษาสภาพตัวอย่างด้วย MeOH ปริมาณ 10 ml ทำการคลิ้มฝาขวดและปิดบริเวณฝาขวด(พันฝาขวด) ด้วย parafilm และทำการแช่ขวดตัวอย่างในน้ำแข็งทันที

7) เมื่อเปลี่ยนจุดเก็บตัวอย่าง(ต้นไม้) สว่านเจาะต้นไม้จะต้องทำความสะอาดด้วย MeOH และทำการเช็ดด้วยกระดาษทิชชูและตามด้วยผ้าที่สะอาด

3.1.3.3.2 ทำการวิเคราะห์หาสารอินทรีย์ระเหยที่ทำการเก็บตัวอย่างพืชในพื้นที่ที่มีรายงานการปนเปื้อนสารอินทรีย์ระเหยด้วยเทคนิคการสกัดด้วยของเหลวความดันสูง



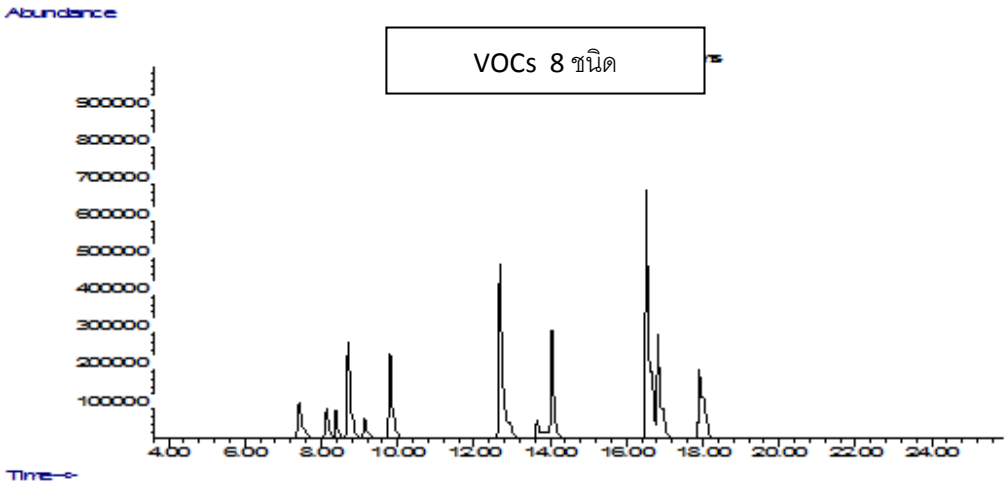
รูปที่ 3.7 จุดเก็บตัวอย่างเนื้อเยื่อพืช

บทที่ 4
ผลการศึกษาและวิจารณ์ผล

ในการวิจัยครั้งนี้ ได้ทำการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารอินทรีย์ระเหย ออกจากเนื้อเยื่อพืช เทคนิคการสกัดด้วยของเหลวความดันสูงแล้วนำไปตรวจวิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC-MS จากนั้นประเมินผลการทดสอบการสกัดจากร้อยละการได้กลับคืนของสารอินทรีย์ระเหย (%Recovery) และทำการเก็บตัวอย่างพืช ในพื้นที่ที่มีรายงานการปนเปื้อนสารอินทรีย์ระเหยมาทำการหาสารอินทรีย์ ผลการศึกษาที่ได้มีดังนี้

4.1 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารอินทรีย์ระเหยออกจากเนื้อเยื่อพืช

4.1.1 ศึกษาหาอุณหภูมิที่เหมาะสมในการสกัดอินทรีย์ระเหยด้วยเทคนิคของเหลวความดันสูงโดยเริ่มแรกกำหนดเวลาที่ใช้ในการสกัดให้คงที่โดยใช้ที่เวลา 30 นาที ส่วนอุณหภูมิที่ใช้ในการทดสอบ ได้แก่ 60 °C, 70 °C, 80 °C และ 90 °C โดยทำการใช้เนื้อเยื่อพืชจากต้นกระถิ่นณรงค์ ใช้ปริมาณตัวทำละลาย (เมทานอล) 10 ml และทำการทดสอบการสกัดสารอินทรีย์ระเหยจำนวน 16 ชนิด ได้แก่ Vinyl chloride, 1,1-DCE,tran-DCE,cis-DCE, Benzene,TCE, Tolunene, PCE,Ethylbenzene, xylene, Dichlormethane, 1,1,1-tricholomethane,CCl_4, 1,2-dichloromethane,1,1,2-tricholomethane, stryrene โดยเตรียมที่ความเข้มข้น 1 ppm (1000 ppb) ทำการสกัดและวิเคราะห์อุณหภูมิละ 3 ซ้ำ ซึ่งผลการศึกษามีดังนี้

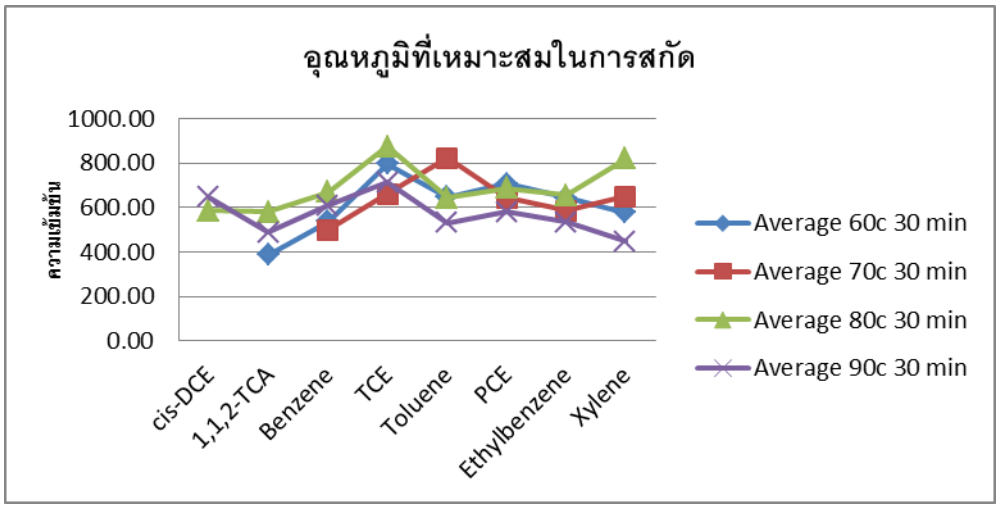


รูปที่ 4.1 ผลการตรวจวัดการสกัดสารอินทรีย์ระเหยในเนื้อเยื่อพืช

ตารางที่ 4.1 แสดงผลการศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมในการสกัดสารอินทรีย์ระเหยด้วยเทคนิคของเหลวความดันสูง

SAMPLE	ug/kg							
	cis-DCE	1,1,2-TCA	Benzene	TCE	Toluene	PCE	Ethylbenzene	Xylene
60c 30 min(1)		303.11	428.70	691.94	653.45	650.84	793.51	974.05
60c 30 min(2)	160.12	456.88	544.02	872.33	704.47	774.24	764.10	695.85
60c 30 min(3)		400.11	643.65	825.36	582.98	694.17	373.74	64.55
Average 60c 30 min		386.70	538.79	796.54	646.97	706.42	643.78	578.15
70c 30 min(1)		465.92	660.49	823.61	650.64	663.49	592.72	640.87
70c 30 min(2)		510.33	684.62	832.11	647.39	657.69	602.12	676.94
70c 30 min(3)		537.83	641.23	815.50	630.89	643.68	568.82	628.41
Average 70c 30 min		504.69	662.11	823.74	642.97	654.95	587.89	648.74
80c 30 min(1)	540.60	706.87	694.72	848.68	662.96	715.79	694.46	960.10
80c 30 min(2)	611.43	714.41	624.97	905.37	616.49	609.78	619.64	801.55
80c 30 min(3)	610.19	520.87	688.73	868.56	653.86	739.14	651.11	697.61
Average 80c 30 min	587.41	581.28	669.47	874.20	644.44	688.23	655.07	819.75
90c 30 min(2)	870.61	473.55	605.26	731.46	514.06	582.85	528.61	459.03
90c 30 min(3)	456.57	482.35	606.45	739.44	536.27	587.67	510.94	436.45
Average 90c 30 min	646	488	610	714	532	580	535	449

กราฟที่ 4.1 แสดงอุณหภูมิที่เหมาะสมในการสกัดสารอินทรีย์ระเหยออกจากเนื้อเยื่อพืช



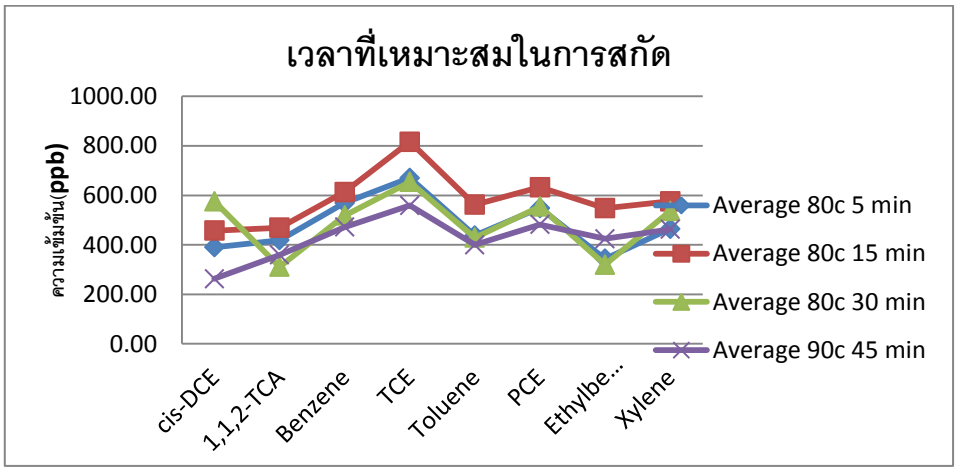
จากผลการทดลองพบว่า เมื่อทำการสกัดสารอินทรีย์ระเหยทั้ง 16 ชนิด พบว่า สามารถสกัดและวิเคราะห์สารอินทรีย์ระเหยออกมาได้ 8 ชนิด ได้แก่ cis-DCE,1,1,2-tricholomethane,CCl_4, Benzene,TCE,Tolunene,PCE,Ethylbenzene, xylene สำหรับ Vinyl Chloride ไม่สามารถตรวจพบได้เนื่องจากเป็นสารที่ระเหยง่ายในอุณหภูมิและความดันปกติ ส่วนสาร Dichlormethane, 1,1-DCE, tran-DCE, 1,2-dichloroethane,1,1,2 –tricholomethane และ Styrene สามารถสกัดและตรวจวัดได้แต่โครมาแกรมของสารที่ออกมาได้ดีที่สุดคือ สารไตรคลอโรเอทธิลีนและสารเตตระคลอโรเอทธิลีน จะเห็นได้ว่า cis-DCE จะสามารถสกัดออกมาได้เมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น

4.1.2 ศึกษาหาเวลาที่เหมาะสมที่สุดในการสกัดโดยใช้เวลาในการสกัดที่ 5,15,30 และ 45 นาที ซึ่งผลการศึกษามีดังนี้

ตารางที่ 4.2 แสดงผลการศึกษาเวลาที่เหมาะสมในการสกัดสารอินทรีย์ระเหยด้วยเทคนิคของเหลวความดันสูง

SAMPLE	ug/kg								
	cis-DCE	1,1,2-TCA	CCl4	Benzene	TCE	Toluene	PCE	Ethylbenzene	Xylene
80c 5 min(1)	325.17	428.29	585.45	581.19	701.04	453.99	594.11	320.73	418.45
80c 5 min(2)	379.18	384.94	519.24	607.44	693.73	456.74	562.29	362.27	531.50
80c 5 min(3)	466.18	443.26	529.57	520.10	615.38	402.18	488.93	347.01	443.16
Average 80c 5 min	390.18	418.83	544.75	569.58	670.05	437.64	548.44	343.34	464.37
80c 15 min(1)	393.87	513.35	541.26	660.40	775.37	586.42	628.72	575.03	579.51
80c 15 min(2)	470.07	411.02	502.94	644.90	787.11	596.65	636.45	582.49	582.83
80c 15 min(3)	508.55	482.28	547.12	535.46	886.85	503.60	521.68	487.21	564.45
Average 80c 15 min	457.50	468.88	530.44	613.59	816.44	561.97	632.59	548.24	575.60
80c 30 min(1)	141.35	344.07	267.36	542.97	696.59	517.21	562.76	351.77	456.53
80c 30 min(2)	234.12	293.32	245.87	530.83	665.31	297.41	587.95	264.67	607.19
80c 30 min(3)	188.67	296.55	255.52	480.93	600.29	472.56	512.53	342.84	545.06
Average80c 80 min	188.05	311.31	256.25	518.24	654.07	429.06	554.42	319.76	536.26
80c 45 min(1)	341.47	499.00	547.01	565.62	625.21	445.33	560.45	408.20	519.78
80c 45 min(2)	238.23	348.01	308.28	503.18	591.27	364.27	482.63	410.60	489.89
80c 45 min(3)	207.77	230.93	217.64	346.74	460.14	389.20	403.16	454.06	378.77
Average 80c 45 min	262.49	359.31	357.64	471.85	558.87	399.60	482.08	424.28	462.81

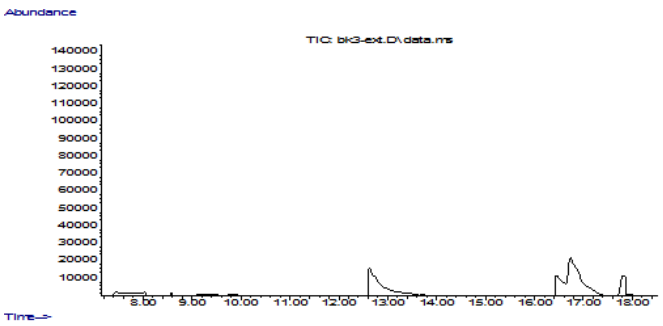
กราฟที่ 4.2 แสดงเวลาที่เหมาะสมในการสกัดสารอินทรีย์ระเหยออกจากเนื้อเยื่อพืชด้วยเทคนิค PLE



จากผลการทดลองพบว่า เมื่อทำการสกัดสารที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส ในเวลา5,15,30 และ 45 นาที ที่เวลา 15 นาที จะเป็นเวลาที่สกัดสารอินทรีย์ระเหยออกมาได้ดีที่สุด โดยเฉพาะสารไตรคลโรเอทธิลีน สารเตตระคลอโรเอทธิลีนและเบนซีน

4.2 ทำการประเมินประสิทธิภาพของการสกัดด้วยเทคนิคของเหลวความดันสูงจากร้อยละการได้กลับคืนของสารอินทรีย์ระเหยโดยทำการเตรียมความเข้มข้นที่ใช้ในการสกัดหาร้อยละการได้กลับคืนที่ความเข้มข้น 25 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัมและหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการสกัดสารอินทรีย์ระเหยด้วยเทคนิคของเหลวความดันสูง โดยทำการเตรียมความเข้มข้นที่ใช้ในการสกัดหาความเข้มข้นต่ำสุดที่ความเข้มข้น 0.5 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัมโดยคิดเทียบกับน้ำหนักพืช 2 กรัม โดยคิดเทียบกับน้ำหนักเนื้อเยื่อพืช 2 กรัม

4.2.1 วิเคราะห์ matrix blank เพื่อตรวจสอบสารรบกวนที่อาจมาจากสารเคมีหรืออุปกรณ์ที่ใช้หรือจากเนื้อเยื่อพืชของตัวอย่าง ผลการวิเคราะห์ ดังนี้



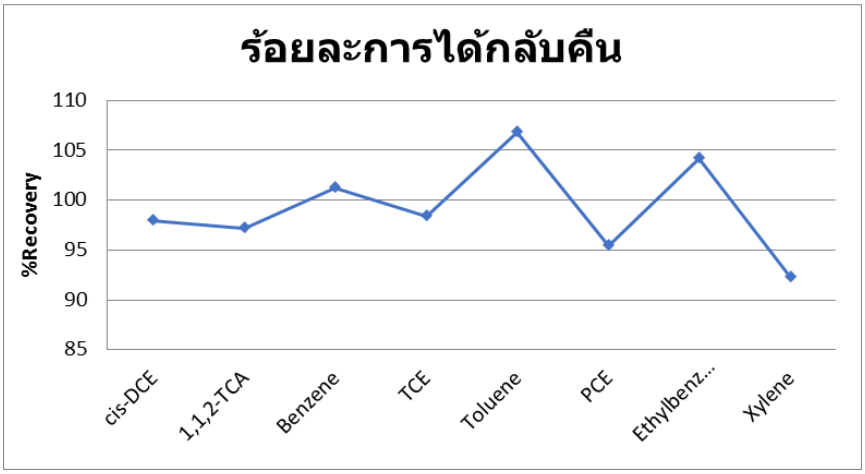
รูปที่ 4.2 โครมาโทแกรมการวิเคราะห์ matrix blank

จากการวิเคราะห์ matrix blank ทั้ง 3 ซ้ำ พบว่า ไม่มีการปนเปื้อนของสารอินทรีย์ระเหย

ตารางที่ 4.3 แสดงผลการศึกษาประสิทธิภาพของการสกัดจากร้อยละการได้กลับคืนของสารอินทรีย์ระเหย

Compound	R1	R2	R3	R4	R5	R6	R7	Avg	%Recovery
cis-DCE	25.74	24.18	22.16	26.5	24.4	23.68	24.78	24.48	97.92
1,1,2-TCA	25.45	24.75	24.24	25.4	24.2	24.38	21.63	24.29	97.16
Benzene	27.71	24.11	23.34	26.7	24.6	24.86	25.81	25.31	101.24
TCE	25.74	23.5	24.22	24.5	24.8	23.89	25.66	24.60	98.4
Toluene	34.91	24.67	22.89	32.3	23.4	23.19	25.6	26.70	106.8
PCE	24.56	23.47	21.9	25.1	23.8	23.77	24.48	23.86	95.44
Ethylbenzene	24.69	26.18	24.22	34.3	24.3	24.72	23.91	26.04	104.16
Xylene	25.07	21.85	19.71	27.4	19.4	23.5	24.62	23.07	92.28

กราฟที่ 4.3 แสดงผลการศึกษาประสิทธิภาพของการสกัดจากร้อยละการได้กลับคืนของสารอินทรีย์ระเหย



จากการศึกษาพบว่า ประสิทธิภาพของการสกัดสารอินทรีย์ระเหยด้วยเทคนิคของเหลวความดันสูง ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส ในเวลา 15 นาที พบร้อยละการได้กลับคืนของสารอินทรีย์ระเหยทั้ง 8 ชนิด อยู่ในช่วง 92-106% ซึ่งอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ (80-120%)

ตารางที่ 4.4 แสดงผลการศึกษาความเข้มข้นต่ำสุดของการสกัดสารอินทรีย์ระเหยด้วยเทคนิคของเหลวความดันสูง

Compound	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	SD	MDL
Benzene	0.45	0.58	0.42	0.52	0.53	0.53	0.49	0.05	0.14
TCE	0.55	0.50	0.56	0.55	0.52	0.51	0.52	0.021	0.06
Toluene	0.64	0.59	0.59	0.57	0.52	0.54	0.53	0.038	0.10
1,1,2-TCA	0.55	0.47	0.27	0.22	0.53	0.56	0.53	0.13	0.40
PCE	0.49	0.51	0.42	0.43	0.56	0.53	0.51	0.04	0.12
Ethylbenzene	0.53	0.55	0.56	0.44	0.53	0.52	0.49	0.025	0.07
Xylene	0.61	0.43	0.44	0.61	0.56	0.54	0.56	0.093	0.30

จากการศึกษาพบว่า ความเข้มข้นต่ำสุดของการสกัดสารอินทรีย์ระเหยด้วยเทคนิคของเหลวความดันสูง พบสาร Benzene,TCE,Toluene,1,1,2-TCA ,PCE, Ethylbenzene และ Xylene มีความเข้มข้นต่ำสุดที่ 0.14 ug/kg, 0.06 ug/kg, 0.10 ug/kg, 0.40 ug/kg,0.12 ug/kg 0.07 ug/kg และ 0.30 ug/kg ตามลำดับ

4.3 ทำการวิเคราะห์หาสารอินทรีย์ระเหยที่ทำการเก็บตัวอย่างพืชในพื้นที่ที่มีรายงานการปนเปื้อนสารอินทรีย์ระเหยด้วยเทคนิคการสกัดด้วยของเหลวความดันสูง

การเก็บตัวอย่างพืชได้ทำการเก็บในบริเวณพื้นที่มาบตาพุดซึ่งเป็นพื้นที่ ที่มีการรายงานการตรวจพบการปนเปื้อนของสารอินทรีย์ระเหย โดยทำการสุ่มเก็บตัวอย่างพืช(ต้นไม้) ครอบคลุมบริเวณที่เคยพบการปนเปื้อน จุดเก็บตัวอย่างดังรูปที่ 3.7

ตารางที่ 4.5 ผลการวิเคราะห์ตัวอย่างพืชในพื้นที่บริเวณนิคมฯ มาบตาพุดโดยใช้การสกัดด้วยเทคนิคของเหลวความดันสูง

Compound (ug/kg) / รหัสรับตัวอย่าง	cis-DCE	1,1,2-TCA	Benzene	TCE	Toluene	PCE	Ethylbenzene	Xylene
M -2	N.D	N.D	N.D	13.83	N.D	N.D	N.D	N.D
M-4	N.D	0.67	N.D	N.D	ND	N.D	N.D	N.D
M-5	N.D	1.32	N.D	9.83	N.D	N.D	N.D	N.D
M-8	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	0.55	N.D	N.D
M-9	N.D	0.95	N.D	N.D	N.D	2.05	N.D	1.63
M-10	N.D	0.78	N.D	N.D	N.D	1.19	N.D	N.D
M-11	N.D	0.58	N.D	N.D	N.D	1.23	N.D	N.D
M-12	N.D	3.30	N.D	24.65	N.D	N.D	N.D	N.D
M-13	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
M-14	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
M-15	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
M-16	N.D	4.05	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
M-17	N.D	5.17	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
M-18	N.D	3.11	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D

ตารางที่ 4.5 (ต่อ) ผลการวิเคราะห์ตัวอย่างพืชในพื้นที่บริเวณนิคมอุตสาหกรรมมาบตาพุดโดยใช้การสกัดด้วยเทคนิคของเหลวความดันสูง

Compound (ug/kg) / รหัสรับตัวอย่าง	cis-DCE	1,1,2-TCA	Benzene	TCE	Toluene	PCE	Ethylbenzene	Xylene
M-19	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
M-20	N.D	2.90	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
M-21	N.D	3	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
KM-3	N.D	3.45	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D

บทที่ 5
สรุปผลการศึกษาและข้อเสนอแนะ

5.1 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารอินทรีย์ระเหยออกจากเนื้อเยื่อพืช

5.1.1 ศึกษาหาอุณหภูมิที่เหมาะสมในการสกัดอินทรีย์ระเหยด้วยเทคนิคของเหลวความดันสูง โดยเริ่มแรกกำหนดเวลาที่ใช้ในการสกัดให้คงที่โดยใช้ที่เวลา 30 นาที ส่วนอุณหภูมิที่ใช้ในการทดสอบ ได้แก่ 60 ℃, 70 ℃, 80 ℃ และ 90 ℃ โดยทำการใช้เนื้อเยื่อพืชจากต้นกระถิ่นณรงค์ ใช้ปริมาณตัวทำละลาย (เมทานอล) 10 ml และทำการทดสอบการสกัดสารอินทรีย์ระเหย จำนวน 16 ชนิด ได้แก่ Vinylchloride, 1,1-DCE,tran-DCE, cis-DCE,Benzene,TCE,Tolunene,PCE,Ethylbenzene, xylene, CCl_4,Dichlormethane,1,1,1tricholomethane, 1,2-dichloromethane,1,1,2-tricholomethane,stryrene โดยเตรียมที่ความเข้มข้น 1 ppm (1000ppb) ทำการสกัดและวิเคราะห์อุณหภูมิละ 3 ซ้ำ

จากการสกัด 3 ซ้ำ ในสภาวะการสกัดที่อุณหภูมิ 60 °C, 70 °C, 80 °C และ 90 °C ที่เวลา 30 นาที พบว่าสามารถสกัดสารอินทรีย์ระเหยออกมาได้ 8 ชนิด ได้แก่ cis-DCE, 1,1,2-tricholomethane, Benzene,TCE,Tolunene,PCE,Ethylbenzene, xylene สำหรับ Vinyl Chloride ไม่สามารถตรวจพบได้ เนื่องจากเป็นสารที่ระเหยง่ายในอุณหภูมิและความดันปกติ ส่วนสาร Dichlormethane, 1,1-DCE,tran-DCE,1,2-dichloroethane,1,1,1 –tricholomethane และ Styrene สามารถสกัดและตรวจวัดได้ แต่โครมาโทแกรมของสารที่ได้ไม่สมมาตรจึงทำให้ไม่สามารถหาปริมาณสารที่วิเคราะห์ได้ และเมื่อทำการเปรียบเทียบอุณหภูมิในการสกัดที่ 60 °C, 70 °C 80 °C และ 90 °C พบว่าการแยกของสารอินทรีย์ระเหยทั้ง 9 ชนิด ที่อุณหภูมิ, 80 °C สามารถสกัดสารอินทรีย์ระเหยโดยได้ความเข้มข้นของสารได้ดีกว่าอุณหภูมิในการสกัดอื่นๆ

สรุปได้ว่าสภาวะการสกัดที่อุณหภูมิ 80 °C สามารถสกัดสารอินทรีย์ระเหยออกจากเนื้อเยื่อพืชได้ดีกว่าสภาวะการสกัดที่อุณหภูมิอื่นๆ

5.1.2 ศึกษาหาเวลาที่เหมาะสมที่สุดในการสกัดโดยใช้เวลาในการสกัดที่ 5,15,30 และ 45 นาที

จากการทดลองพบว่า เมื่อทำการสกัดสารที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส ในเวลา5,15,30 และ 45 นาที ที่เวลา 15 นาที จะเป็นเวลาที่สกัดสารอินทรีย์ระเหยออกมาได้ดีที่สุด โดยเฉพาะสารไตรคลโรเอทธิลีน สารเตตระคลอโรเอทธิลีนและเบนซีน แต่เมื่อใช้เวลาในการสกัดสูงขึ้นปริมาณของสารแต่ละชนิดมีแนวโน้มลดลง

5.2 ทำการประเมินประสิทธิภาพของการสกัดด้วยเทคนิคของเหลวความดันสูงจากร้อยละการได้กลับคืนของสารอินทรีย์ระเหยโดยทำการเตรียมความเข้มข้นที่ใช้ในการสกัดหาร้อยละการได้กลับคืนที่ความเข้มข้น 25 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม โดยคิดเทียบกับน้ำหนักเนื้อเยื่อพืช 2 กรัม และทำการศึกษาหาค่า

ความเข้มข้นต่ำสุดในการสกัดสารอินทรีย์ระเหยด้วยเทคนิคของเหลวความดันสูง โดยทำการเตรียมความเข้มข้นที่ใช้ในการสกัดหาความเข้มข้นต่ำสุดที่ความเข้มข้น 0.5 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัมโดยคิดเทียบกับน้ำหนักพืช 2 กรัม

จากการศึกษาประสิทธิภาพของการสกัดด้วยเทคนิคของเหลวความดันสูงจากร้อยละการได้กลับคืนของสารอินทรีย์ระเหย 8 ชนิด ได้แก่ cis-DCE, 1,1,2-tricholomethane, Benzene,TCE,Tolunene,PCE,Ethylbenzene, xylene ที่สภาวะการสกัดที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เวลา 15 นาที พบว่าสามารถสร้างกราฟมาตรฐานของสารดังกล่าวได้ในช่วง 5,10,25,50,75 และ 100 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม โดยมีค่า r ในช่วง 0.990-0.999 และเมื่อทำการวิเคราะห์ matrix blank ตรวจไม่พบสารรบกวนหรือให้สารที่ใกล้เคียงกับสารมาตรฐานที่อาจจะทำให้เกิดความผิดพลาดในการรายงานผลการวิเคราะห์ และผลการทดสอบการได้กลับคืนของสารอินทรีย์ระเหย %Recovery อยู่ในช่วง 92-106% ซึ่งอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ (80-120%) และจากการศึกษาหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการสกัดสารอินทรีย์ระเหยด้วยเทคนิคของเหลวความดันสูง พบสารBenzene,TCE,Toluene,1,1,2-TCA ,PCE,Ethylbenzene และ Xylene มีความเข้มข้นต่ำสุด ที่ 0.14 ug/kg, 0.06 ug/kg, 0.10 ug/kg, 0.40 ug/kg,0.12 ug/kg 0.07 ug/kg และ 0.30 ug/kg ตามลำดับ

5.3 วิเคราะห์หาสารอินทรีย์ระเหยที่ทำการเก็บตัวอย่างพืชในพื้นที่ที่มีรายงานการปนเปื้อนสารอินทรีย์ระเหยด้วยเทคนิคการสกัดด้วยของเหลวความดันสูง

จากการวิเคราะห์หาสารอินทรีย์ระเหยที่ทำการเก็บตัวอย่างพืชในพื้นที่ที่มีรายงานการปนเปื้อนสารอินทรีย์ระเหยผลการวิเคราะห์ พบ สาร 1,1,2-TCA , TCE ,PCE และXylene โดยพบค่าสูงสุดที่ความเข้มข้น 7.18 ug/kg, 45.80 ug/kg 5.69ug/kg และ 1.63 ug/kg ตามลำดับ

5.4 ข้อเสนอแนะ

จากการศึกษาการประยุกต์ใช้เทคนิคการสกัดสารอินทรีย์ระเหยในเนื้อเยื่อพืชในพื้นที่ที่มีการปนเปื้อนด้วยของเหลวความดันสูง พบว่าการเลือกชนิดของต้นพืชที่ใช้เป็นตัวแทนในการศึกษาเป็นสิ่งสำคัญ เนื่องจากต้นพืชบางชนิดมีเมตริกซ์ของสารอื่นค่อนข้างสูงทำให้ไม่สามารถสกัดสารที่เราสนใจออกจากเนื้อเยื่อพืชได้ โดยเฉพาะพืชที่มีเนื้อเยื่อที่มีลักษณะเป็นยางเหนียว เช่น ต้นสัตบรรณ จึงไม่เหมาะสมที่จะนำมาทดสอบ นอกจากนี้การเก็บตัวอย่างเนื้อเยื่อพืชลงในขวดเก็บตัวอย่างก็เป็นสิ่งสำคัญโดยจะต้องปิดฝาขวดให้สนิทไม่ให้ตัวอย่างสัมผัสกับอากาศได้ เพราะถ้าตัวอย่างเนื้อเยื่อพืชสัมผัสกับอากาศจะทำให้เกิดเชื้อราในตัวอย่างเนื้อเยื่อพืชได้

บรรณานุกรม

จีราจันทร์ จันทร์งาม 2553.**สมรรถนะการเจริญเติบโตของหญ้าแฝกในดินที่ปนเปื้อนสารไตรคลอโรเอทธิลีน: การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์** ครั้งที่48:สาขาทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม,7,58-65.

จันทนี แจ่มแสงทอง. (10 ตุลาคม 2012). การบำบัดสารมลพิษโดยใช้เทคโนโลยี Phytoremediation. **คลังความรู้.** สืบค้นเมื่อ 13 เมษายน 2558, จาก http://www.scimath.org/socialnetwork/ groups/

ชุติมา ลิ้มมัทวาภิรัติ์. วารสาร ไทยไภษัชยนิพนธ์.2555. **การสกัดพืชสมุนไพรโดยการสกัดด้วยของไหลความดันสูง**.ฉบับการศึกษาต่อเนื่องทางเภสัชศาสตร์.

มีศักดิ์ มิลินทวิสมัยและคณะ. (2544). **"การปนเปื้อนของสาร Chlorinated Ethylene ในดินและน้ำใต้ดินและกรณีศึกษาของประเทศไทย."** กลุ่มงานวิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีสิ่งแวดล้อมด้านน้ำ ศูนย์วิจัยและฝึกอบรมด้านสิ่งแวดล้อม กรมส่งเสริมคุณภาพสิ่งแวดล้อม, ปทุมธานี.

ธนพล เพ็ญรัตน์.(2012). การใช้ประโยชน์จากระบบแนวกันชนหญ้าแฝกรอบนิคมอุตสาหกรรมเพื่อการเฝ้าระวังและตรวจสอบการปนเปื้อนดินและน้ำใต้ดินด้วยสารอันตราย

สำนักอนามัยสิ่งแวดล้อม กรมอนามัย.(2555) **คู่มือวิชาการ เรื่อง สารอินทรีย์ระเหยง่ายในบรรยากาศ**. พิมพ์ครั้งที่ 1. สำนักงานกิจการโรงพิมพ์องค์การสงเคราะห์ทหารผ่านศึกในพระบรมราชูปถัมภ์.

แฟรดาซ์ มาเหล็ม,พีรพงษ์ สุนทรเดชะ, สีหนาถ ชาญณรงค์, อ่อนจันทร์ โคตรพงษ์.**โครงการศึกษาการปนเปื้อนของสารประกอบอินทรีย์ระเหยง่ายในน้ำใต้ดินบริเวณนิคมอุตสาหกรรม ภาคเหนือ จังหวัดลำพูน.**รายงานผลงานวิจัยศูนย์วิจัยและฝึกอบรมด้านสิ่งแวดล้อมปี 2549 – 2550.

Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR). (1997). **Toxicological profile for Trichloroethylene** . (Report Carcinogens). Atlanta, GA: U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service.

Burken, J.G., Xingma Oma.(2002).**VOCs Fate and Partitioning in Vegetation: Use of Tree Cores in Groundwater Analysis.** Environmental science and Technology**.** 36: 4663-4668

Federal Ministry of Education and Research. Guid to Phytoscreening.2011.

Gayathri Gopalakrishnan.Charles J.(2009).Mass recovery method for Trichloroethylene in plant tissue : Environmental Toxicology and Chemistry,6,1185-1190.

IARC. (1995). **Trichloroethylene.** In Dry Cleaning, Some Chlorinated Solvent and Other Industrial Chemicals.

Jean Christophe Balouet. (2012). **Dendrochemistry of Multiple Releases of Chlorinated Solvents at a Former Industrial Site.** Environmental Science & Technology,46, 9541−9547

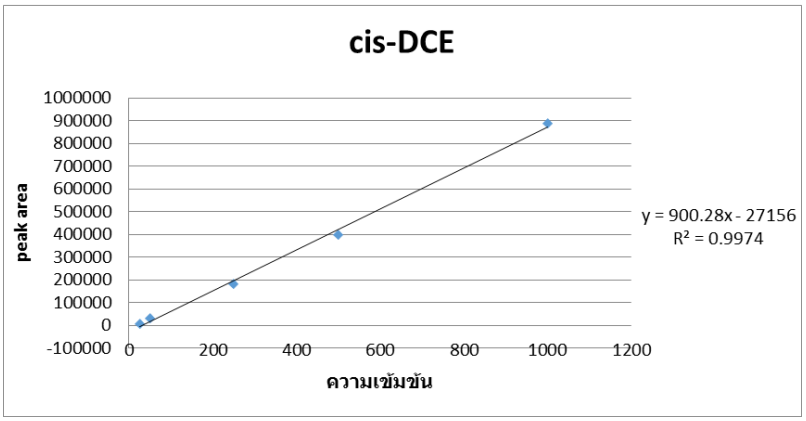
Péres VF, Saffi J, Melecchi MI, et al. Comparison of soxhlet, ultrasound-assisted and pressurized liquid extraction of terpenes, fatty acids and Vitamin E from Piper gaudichaudianum Kunth. Journal of Chromatography A 2006; 1105(1-2): 115-8.

Yoon, J., Xinde C., Qixing Z., and Lena Q .M. (2006). **"Accumulation of Pb, Cu and Zn in native plants growing on a contaminated Florida site."** Journal Science of the total environment. 368: 456-464.

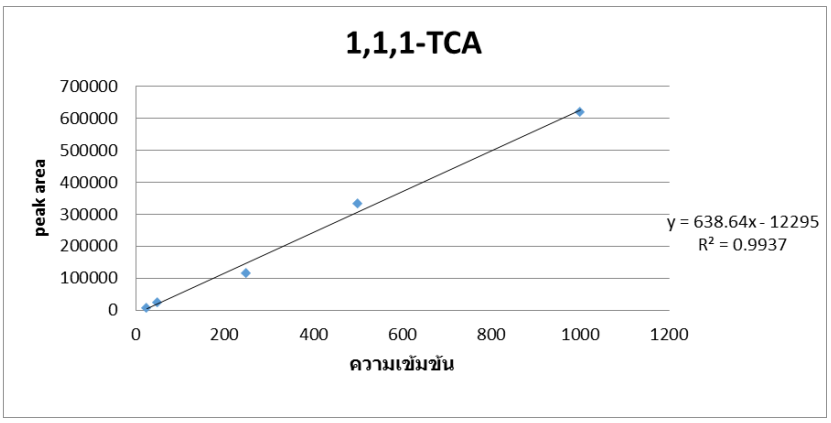
William E.Schnabel, Abbette C.(1996). **Uptake and Transformation of Trichloroethylene by Edible Plants**. Elsevier Sceince Ldtd. 816-824

ภาคผนวก ก

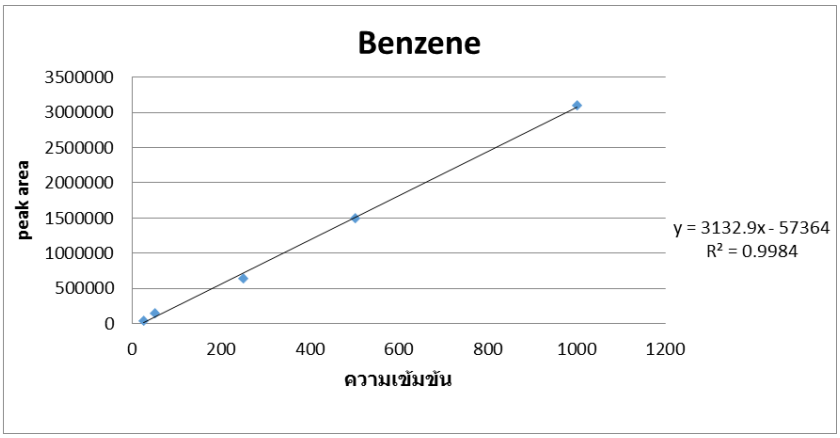
กราฟที่ใช้ในการคำนวณหาปริมาณสารอินทรีย์ระเหยในเนื้อเยื่อพืชเพื่อใช้ในการทดสอบสภาวะการสกัด



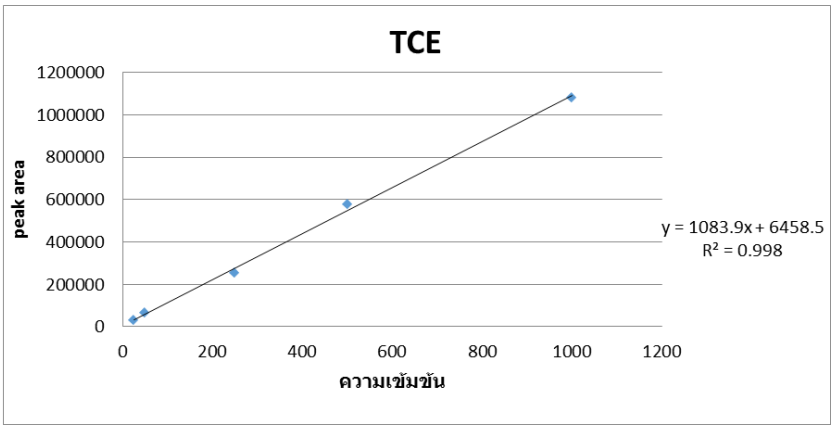
กราฟที่ ก1 แสดง Calibration Curve ของสาร cis-DCE



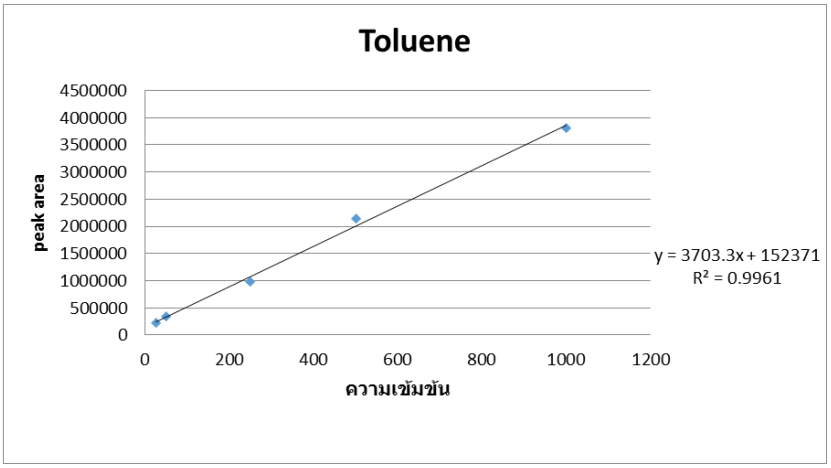
กราฟที่ ก2 แสดง Calibration Curve ของสาร 1,1,2-TCA



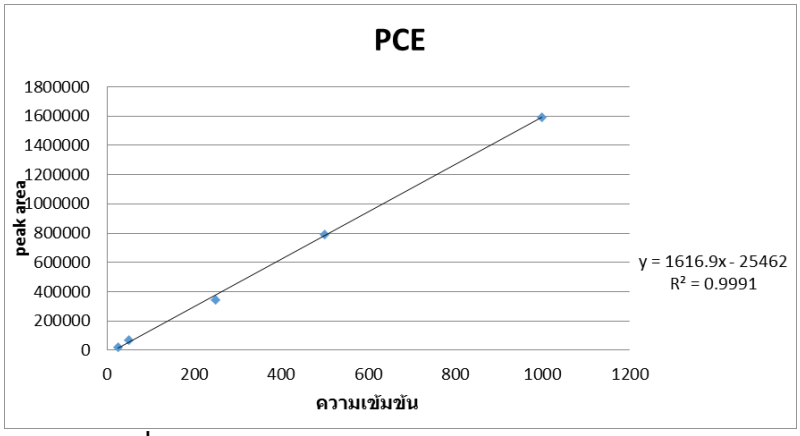
กราฟที่ ก3 แสดง Calibration Curve ของสาร Benzene



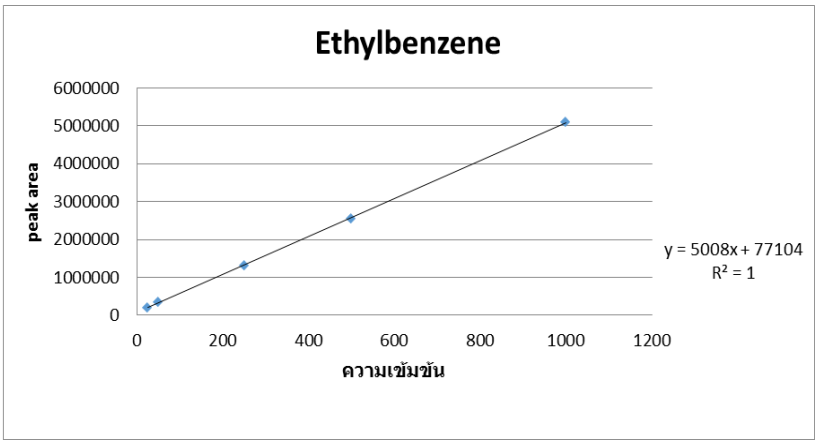
กราฟที่ ก4 แสดง Calibration Curve ของสาร TCE



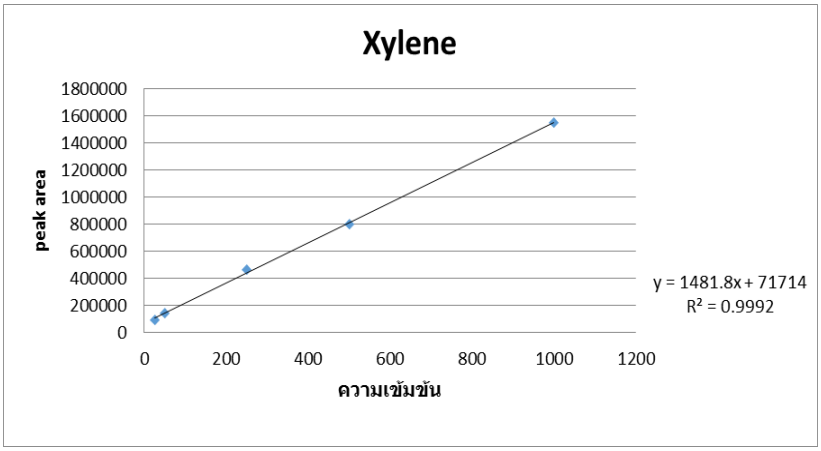
กราฟที่ ก5 แสดง Calibration Curve ของสาร Toluene



กราฟที่ ก6 แสดง Calibration Curve ของสาร PCE



กราฟที่ ก7 แสดง Calibration Curve ของสาร Ethylbenzene



กราฟที่ ก8 แสดง Calibration Curve ของสาร Xylene

จะพบว่า Calibration Curve ของสาร cis-DCE สมการที่ได้ คือ

$Y=900.28x-27156$

$R^2=0.9974$

Calibration Curve ของสาร 1,1,2-TCA สมการที่ได้ คือ

$Y=638.64x-12295$

$R^2=0.9937$

Calibration Curve ของสาร Benzene สมการที่ได้ คือ

$Y=3132.9x-57364$

$R^2=0.9984$

Calibration Curve ของสาร TCE สมการที่ได้ คือ

$Y=1083.9x+6458.5$

$R^2=0.998$

Calibration Curve ของสาร Toluene สมการที่ได้ คือ

$Y=3703.3x+152371$

$R^2=0.9961$

Calibration Curve ของสาร PCE สมการที่ได้ คือ

$Y=1616.9x-25452$

$R^2=0.9991$

Calibration Curve ของสาร Ethylbenzene สมการที่ได้ คือ

$Y=5008+77104$

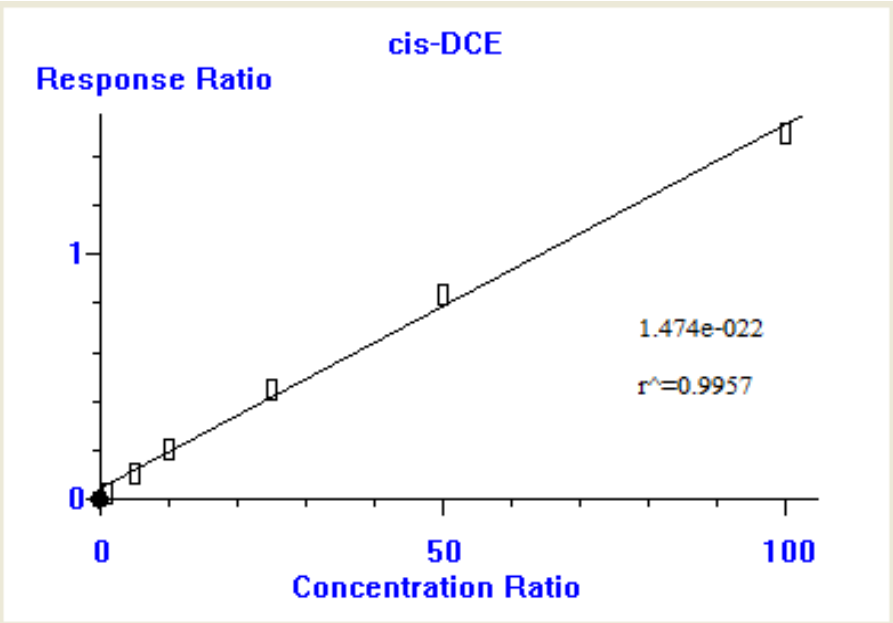
$R^2=1$

Calibration Curve ของสาร Xylene สมการที่ได้ คือ

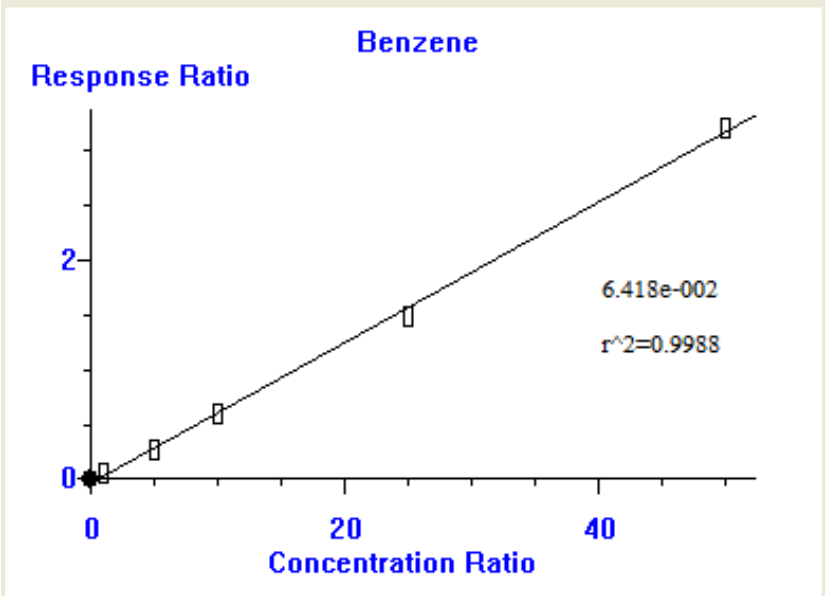
$Y=1481.8+71714$

$R^2=0.9992$

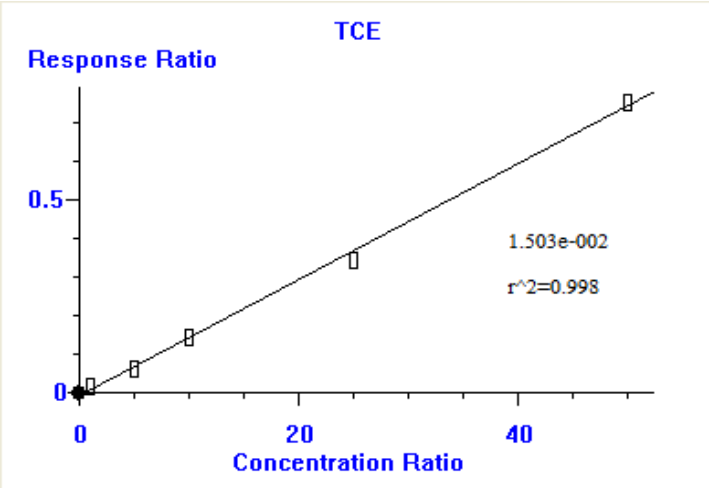
กราฟที่ใช้ในการคำนวณหาปริมาณสารอินทรีย์ระเหยในเนื้อเยื่อพืชเพื่อใช้ในการประเมินประสิทธิภาพของการสกัดด้วยเทคนิคของเหลวความดันสูงจากร้อยละการได้กลับคืนของสารอินทรีย์ระเหย



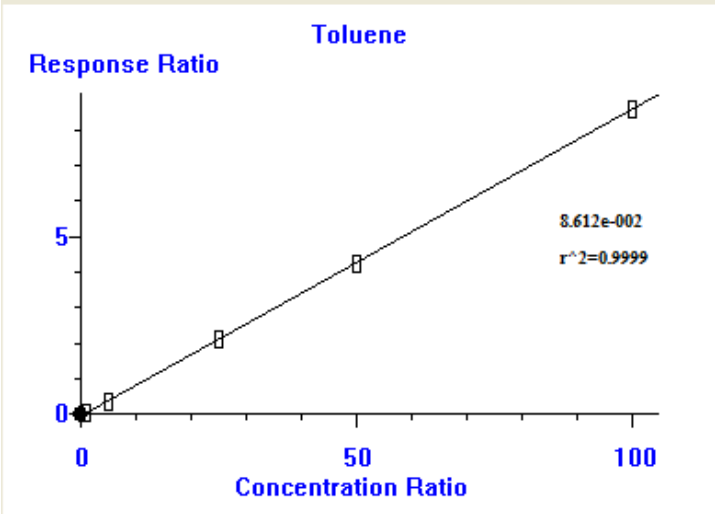
กราฟที่ ก9 แสดง Calibration Curve ของสาร cis-DCE



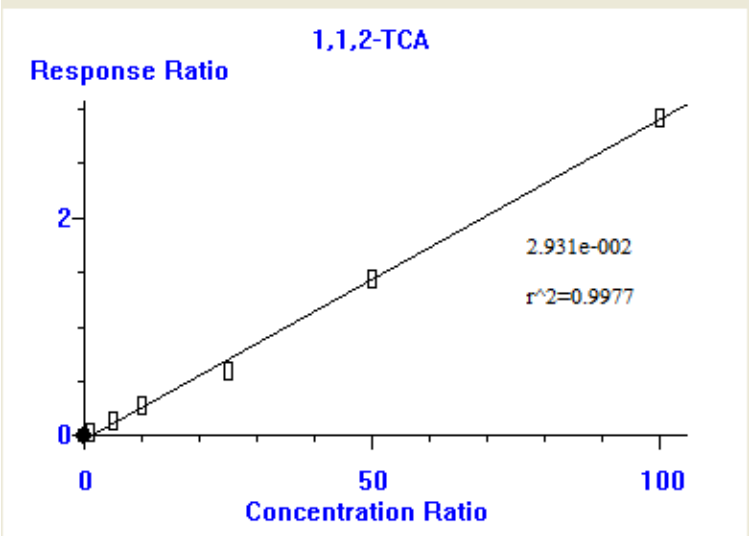
กราฟที่ ก10 แสดง Calibration Curve ของสาร Benzene



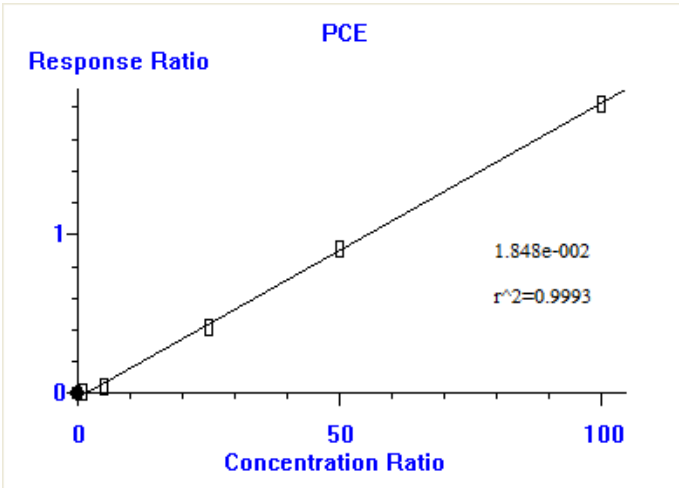
กราฟที่ ก11 แสดง Calibration Curve ของสาร TCE



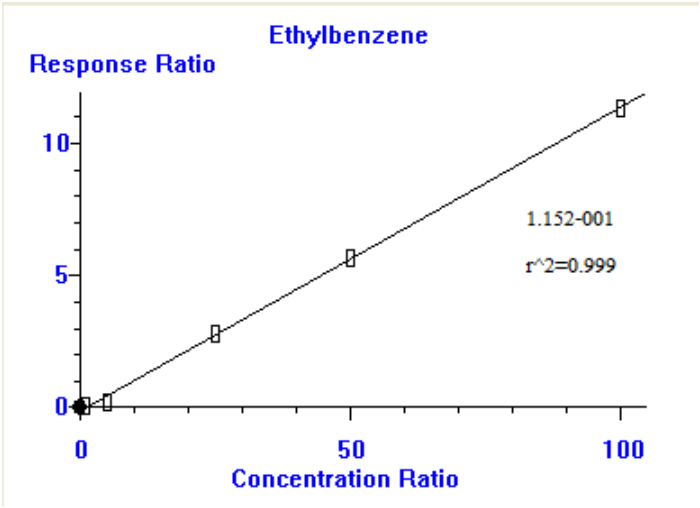
กราฟที่ ก12 แสดง Calibration Curve ของสาร Toluene



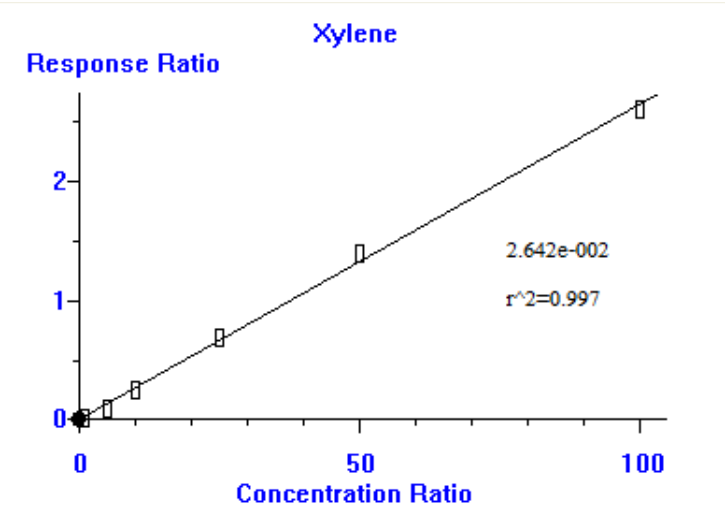
กราฟที่ ก12 แสดง Calibration Curve ของสาร 1,1,2-TCA



กราฟที่ ก13 แสดง Calibration Curve ของสาร PCE

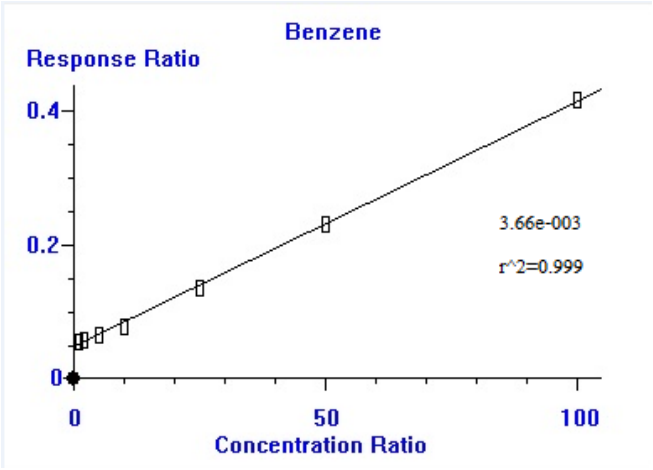


กราฟที่ ก14 แสดง Calibration Curve ของสาร Ethylbenzene

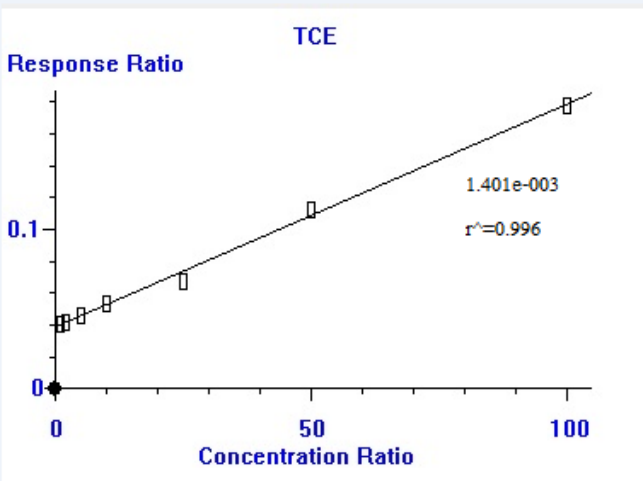


กราฟที่ ก14 แสดง Calibration Curve ของสาร Xylene

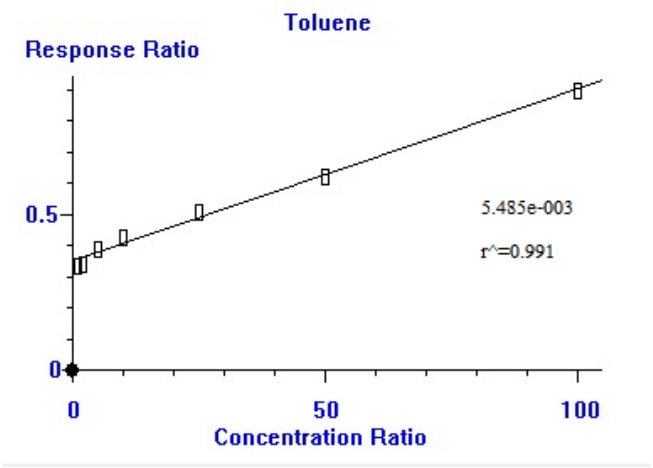
กราฟที่ใช้ในการคำนวณหาปริมาณสารอินทรีย์ระเหยในเนื้อเยื่อพืชเพื่อใช้ในการวิเคราะห์ตัวอย่างพืชในพื้นที่บริเวณนิคมฯ มาบตาพุดโดยใช้การสกัดด้วยเทคนิคของเหลวความดันสูง

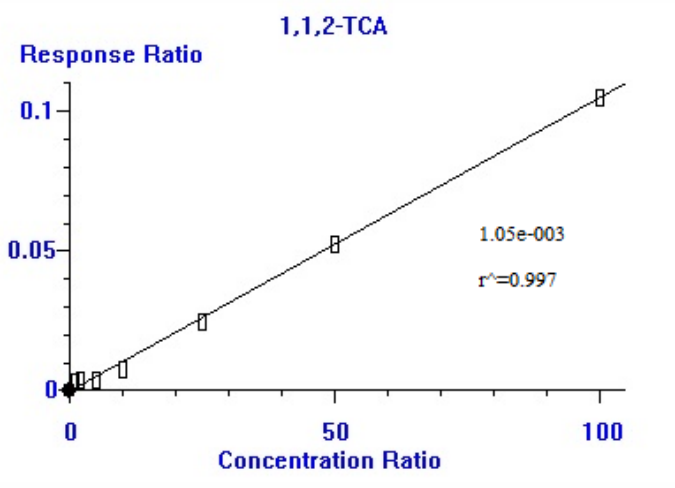


กราฟที่ ก15 แสดง Calibration Curve ของสาร Benzene

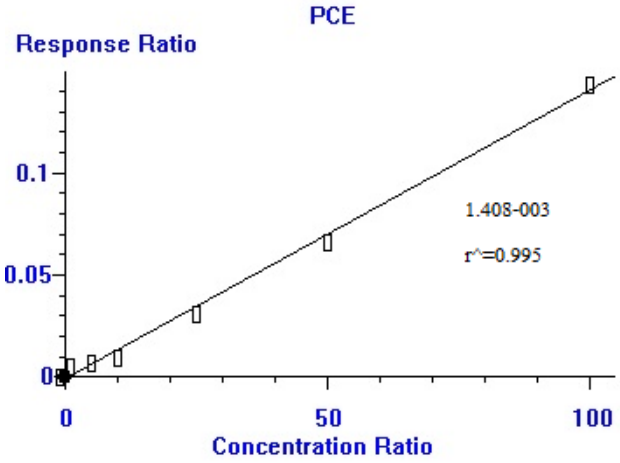


กราฟที่ ก16 แสดง Calibration Curve ของสาร TCE

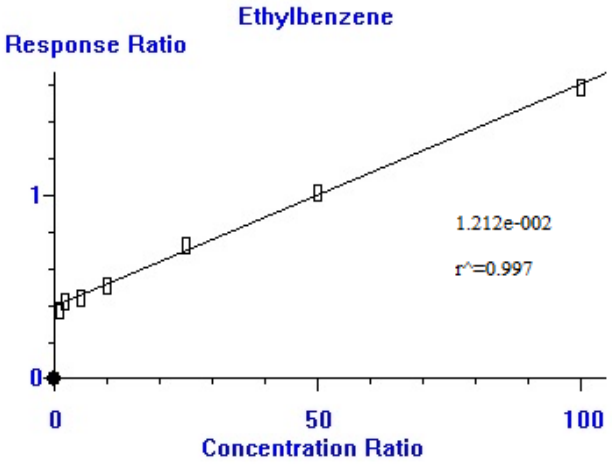




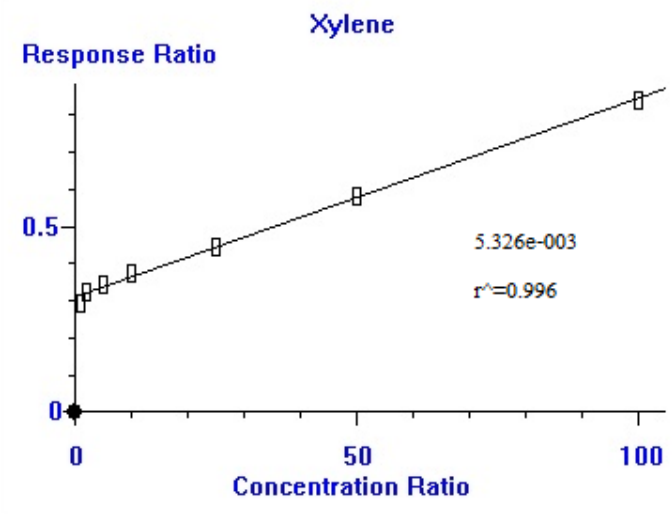
กราฟที่ ก17 แสดง Calibration Curve ของสาร 1,1,2-TCA



กราฟที่ ก18 แสดง Calibration Curve ของสาร PCE



กราฟที่ ก19 แสดง Calibration Curve ของสาร Ethylbenzene



กราฟที่ ก20 แสดง Calibration Curve ของสาร Xylene

ภาคผนวก ข

ตารางแสดงข้อมูลจุดเก็บตัวอย่าง

ลำดับที่	ว/ด/ป	เวลา	อุณหภูมิ ('C)	ชนิดพืช	รหัสตัวอย่าง	พิกัดจุดเก็บตัวอย่าง		เส้นรอบวง (ซม.)	ความสูงของต้น (เมตร)	หมายเหตุ
						N	E			
1	23/8/59	9.43	29	กระถินยักษ์	M-1	0730981	1406648	20	4	ไม่ได้วิเคราะห์ ตัวอย่างเสีย
2	23/8/59	10.20	29	กระถินยักษ์	M-2	0730961	1406611	23	6	
3	23/8/59	10.40	29	กระถินณรงค์	M-3	0730957	1406615	89	10	ไม่ได้วิเคราะห์ ตัวอย่างเสีย
4	23/8/59	11.00	29	กระถินยักษ์	M-4	0730948	1406627	62	6	
5	23/8/59	13.25	32	กระถินยักษ์	M-5	0730941	1406651	63	12	
6	23/8/59	13.35	32	กระถินณรงค์	M-6	0730934	1406678	53	9	ไม่ได้วิเคราะห์ ตัวอย่างเสีย
7	23/8/59	13.45	32	กระถินณรงค์	M-7	0730909	1406700	164	16	ไม่ได้วิเคราะห์ ตัวอย่างเสีย
9	21785	14.15	32	ต้นหูกวาง	M-8	0731002	1406643	80	8	
10	21786	10	26	สน	M-9	0731102	1406804	63	20	
12	21786	10.2	26	สน	M-10	0731111	1406823	103	15	

ลำดับที่	ว/ด/ป	เวลา	อุณหภูมิ ('C)	ชนิดพืช	รหัสตัวอย่าง	พิกัดจุดเก็บตัวอย่าง		เส้นรอบวง (ซม.)	ความสูงของต้น (เมตร)	หมายเหตุ
						N	E			
13	21786	10.3	26	สน	M-11	0731099	1406842	89	15	
14	21786	10.45	26	กระถินณรงค์	M-12	0731052	1406881	97	9	
15	21786	11	26	กระถินณรงค์	M-13	0730987	1406923	79	7	
16	21786	11.2	26	กระถินณรงค์	M-14	0731230	1406743	95	10	
17	21786	11.4	26	กระถินณรงค์	M-15	0731285	1406695	84	6	
18	21786	11.5	26	กระถินณรงค์	M-16	0731202	1406631	112	11	
19	21786	12	26	กระถินณรงค์	M-17	0731105	1406659	109	8	
20	21786	12.1	26	กระถินณรงค์	M-18	0731301	1406565	116	10	
21	21786	12.15	26	กระถินณรงค์	M-19	0731351	1406649	195	10	
22	21786	12.3	26	กระถินณรงค์	M-20	0731391	1406609	124	10	
23	21786	14.2	32	ต้นกุ่ม	KM-1	0738637	1405458	38	3	ไม่ได้วิเคราะห์ ตัวอย่างเสีย
24	21786	14.3	32	ต้นมะปราง	KM-2	0738657	1405456	50	8	ไม่ได้วิเคราะห์ ตัวอย่างเสีย
25	21786	14.5	32	ต้นมะยม	KM-3	0738639	1405525	36	4	

ลำดับที่	ว/ด/ป	เวลา	อุณหภูมิ ('C)	ชนิดพืช	รหัสตัวอย่าง	พิกัดจุดเก็บตัวอย่าง		เส้นรอบวง (ซม.)	ความสูงของต้น (เมตร)	หมายเหตุ
						N	E			
26	21786	15.1	32	ต้นกระท้อน	KM-4	0738479	1405386	109	8	ไม่ได้วิเคราะห์ ตัวอย่างเสีย
27	21786	15.3	32	ต้นเงาะ	KM-5	0738568	1405373	66	8	ไม่ได้วิเคราะห์ ตัวอย่างเสีย
28	21787	10.2	30	กระถินยักษ์	M-21	07030967	1406645	32	5	