การวิเคราะห์หาปริมาณโลหะหนักที่สะสมในไลเคนโดยวิธี ICP-MS

Determination of heavy metal accumulation in lichen by ICP-MS

ชูติมา ศรีวิบูลย์ [1] ณรงค์ ไชยสุต [1] และธวัชชัย ศรีวิบูลย์ [1]

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ศึกษาการสะสมโลหะหนักในไลเคน *Parmotrema tinctorum* ที่เก็บจากอุทยานแห่งชาติเขาใหญ่ จังหวัดนครราชสีมา และสวนพฤกษศาสตร์สมเด็จพระนางเจ้าสิริกิติ์ จังหวัดเชียงใหม่ โดยเก็บตัวอย่าง 2 ฤดู คือกลางฤดูแล้ง (ระหว่างฤดูหนาวกับฤดูร้อน) และกลางฤดูฝน วิธีที่ใช้หาปริมาณโลหะหนักคือ อินดักทีพลีคัพเพิลพลาสมาแมสสเปกโทรเมตรี (ICP-MS) เตรียมตัวอย่างด้วยวิธีการย่อยเปียก (wet digestion) โดยใช้สารละลายกรดไนตริกเข้มข้น โลหะหนักที่ศึกษาคือโลหะที่มีปริมาณน้อยในไลเคน ได้แก่ Ti V Cr Co Ni Cu Zn As Se Mo Cd Sb และ Pb ทดสอบการนำไปใช้ได้ของวิธีการวิเคราะห์โดยศึกษาร้อยละของการกลับคืนด้วยการใช้สารมาตรฐานโลหะหนักที่ทราบค่าเติมลงในไลเคน (spike) และประกันคุณภาพการวิเคราะห์โดยใช้วัสดุอ้างอิงของไลเคนที่รับรองปริมาณโลหะหนัก (CRM lichen no. BCR 482) ผลที่ได้พบว่าร้อยละของการกลับคืนของโลหะหนักที่ศึกษาทุกชนิดมีค่ามากกว่าร้อยละ 95 และผลของปริมาณโลหะหนักทุกชนิดใน CRM มีค่าความผิดพลาดสัมพัทธ์ไม่เกินร้อยละ 5 สำหรับผลการวิเคราะห์ตัวอย่าง พบว่าในช่วงกลางฤดูแล้ง ไลเคนทั้งจากสวนพฤกษศาสตร์สมเด็จพระนางเจ้าสิริกิติ์ และอุทยานแห่งชาติเขาใหญ่มีการสะสมโลหะหนักมากกว่าในช่วงกลางฤดูฝน โดยพบว่าความแปรปรวนของปริมาณโลหะหนักในไลเคนจากอุทยานแห่งชาติเขาใหญ่มีค่ามากกว่าจากสวนพฤกษศาสตร์สมเด็จพระนางเจ้าสิริกิติ์ ในขณะที่ปริมาณเฉลี่ยของโลหะหนักที่สวนพฤกษศาสตร์สมเด็จพระนางเจ้าสิริกิติ์มีค่ามากกว่าอุทยานแห่งชาติเขาใหญ่ เมื่อใช้วิธีการทางสถิติทำการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของการสะสมโลหะหนักในไลเคนจากสถานที่เดียวกันแต่ต่างฤดูและฤดูเดียวกันแต่ต่างสถานที่ ผลที่ได้แสดงให้เห็นว่าตัวอย่างที่มาจากสถานที่เดียวกันแต่ต่างฤดูของสวนพฤกษศาสตร์สมเด็จพระนางเจ้าสิริกิติ์ โลหะหนักเกือบทุกชนิดมีการสะสมที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความมั่นใจร้อยละ 95 ยกเว้น Se และ Sb ที่อุทยานแห่งชาติเขาใหญ่ให้ผลเช่นเดียวกันคือโลหะหนักเกือบทุกชนิดมีการสะสมที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความมั่นใจร้อยละ 95 ยกเว้น Mo สำหรับผลการเปรียบเทียบการสะสมในฤดูเดียวกันแต่ต่างสถานที่พบว่าทั้งสองฤดูมีโลหะหนักที่สะสมแต่ละสถานที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความมั่นใจร้อยละ 95 เหมือนกันคือ V Cr Ni Cd และ Pb โดยที่ในสวนพฤกษศาสตร์สมเด็จพระนางเจ้าสิริกิติ์มีปริมาณมากกว่าที่อุทยานแห่งชาติเขาใหญ่ ยกเว้น V ที่มีน้อยกว่า ส่วนโลหะหนักอื่น ๆ ไม่แตกต่าง

คำสำคัญ : อินดักทีพลีคัพเพิลพลาสมาแมสสเปกโทรเมตรี ไลเคน โลหะหนัก

[1] รองศาสตราจารย์ ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยรามคำแหง

ABSTRACT

The purpose of this research was to study the accumulation of heavy metals in lichen *Parmotrema tinctorum* collected from Khao Yai National Park in Nakhon Ratchasima Province and Queen Sirikit Botanic Garden in Chiang Mai Province. The lichen samples were collected in two seasons: the middle of a dry season (between winter and summer) and the middle of rainy season. The heavy metals were determined by inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS) using wet digestion for sample preparation. The samples were digested in concentrated nitric acid. The heavy metals are trace metals in lichens such as Ti V Cr Co Ni Cu Zn As Se Mo Cd Sb and Pb. The method was validated by spiking standard solution of heavy metal ions into lichen and certified reference material (CRM) of lichen no. BCR 482 was used as quality assurance. The results showed that the percentage of recovery for each heavy metals in spiked lichen was more than 95% and the accuracy of CRM has the relative error of each heavy metals lower than 5 %. In a dry season, lichen from both of Khao Yai National Park and Queen Sirikit Botanic Garden showed higher metal accumulation than that in a rainy season. It was found that the coefficient of variation of heavy metals in lichen from Khao Yai National Park gave higher value than Queen Sirikit Botanic Garden. While the average amount of heavy metals from Queen Sirikit Botanic garden is higher than that from Khao Yai National Park. The statistical analysis was to compare the mean of the accumulation of heavy metals in lichen between the same location, but the different season and the same season, but different locations. The results showed that the accumulation of all heavy metals except Se and Sb at Queen Sirikit Botanical Garden were statistically significantly different at the 95 % confidence level. Khao Yai National Park was also showed the accumulation of all heavy metals were statistically significantly different at the 95 % confidence level except me. The result of the accumulation in the same season but different locations was shown that both the dry season and rainy season gave the same heavy metals, V Cr Ni Cd and Pb which were statistically significant difference at 95% confidence level and Queen Sirikit Botanical Garden gave higher metal accumulation than Khao Yai National Park except V, whereas the other metals did not evidence the difference.

Keywords : ICP-MS, lichen, heavy metal

บทนำ

ปจจุบันนิยมใช้ไลเคนเป็นดัชนีชี้วัดและเฝ้าติดตามคุณภาพอากาศ (bioindicator and biomonitoring) เพราะไลเคนสามารถดูดซับมลพิษในอากาศได้ดี เนื่องจากไลเคนไม่มีไข (wax) และผิวเคลือบ (cuticle) มลพิษจากอากาศตลอดจนแร่ธาตุต่างๆ ที่มีอยู่ในบรรยากาศจึงเข้าสู่ภายในทัลลัสได้ง่าย (Calvelo and Liberatore, 2004) แร่ธาตุหลายชนิดเป็นอันตรายต่อการดำรงชีวิตของไลเคนถ้ามีมากเกินค่าปกติ (Hutchinson et al., 2004) เมื่อมีการสะสมแร่ธาตุ เช่นโลหะหนักในไลเคนจะมีผลทำให้ไลเคนเปลี่ยนแปลงรูปพรรณสัณฐานสรีระ ตลอดจนส่วนประกอบต่าง ๆ ในไลเคน (Andrzej et al., 2007) ดังนั้นการวิจัยเพื่อหาปริมาณโลหะหนักที่สะสมในไลเคนเพื่อใช้เป็นดัชนีชี้วัดคุณภาพอากาศและประเมินคุณภาพอากาศจึงเป็นเรื่องที่น่าสนใจศึกษา โดยทั่วไปมีวิธีการศึกษาการใช้ไลเคนเป็นดัชนีชีวภาพ 3 วิธี คือ (Carreras et al., 1998)

1. สะสมข้อมูลของชนิดไลเคนในพื้นที่ที่ศึกษาพร้อมทำแผนที่การพบความหลากหลายของชนิดไลเคนในพื้นที่นั้นเพื่อนำมาใช้เป็นข้อพิสูจน์ว่ามีการเปลี่ยนแปลงมลภาวะทางอากาศในพื้นที่นั้น ๆ การศึกษานี้ต้องใช้ระยะเวลานาน ในการเฝ้าติดตาม

2. เก็บตัวอย่างไลเคนชนิดเดียวกันมาวิเคราะห์หาปริมาณมลพิษที่สะสมในทัลลัสของไลเคนโดยเปรียบเทียบการเก็บตัวอย่างต่างสถานที่และเวลา

3. ย้ายปลูกไลเคนที่มีสภาพสมบูรณ์ไปยังพื้นที่ที่มีมลพิษ แล้วสังเกตการเปลี่ยนแปลงทางสรีระของไลเคนพร้อมเปรียบเทียบปริมาณมลพิษที่สะสมในไลเคนก่อนย้ายปลูกกับหลังย้ายปลูก

มีงานวิจัยในต่างประเทศจำนวนมากที่ใช้ไลเคนเป็นดัชนีชี้วัดคุณภาพอากาศ (Bergamaschi et al., 2002; Conti and Cecchetti, 2001) สำหรับหน่วยงานที่มีการวิจัยทางด้านนี้ในประเทศไทยคือหน่วยวิจัยไลเคน ภาควิชาชีววิทยา มหาวิทยาลัยรามคำแหง ในงานวิจัยของ (สุธาธร และคณะ, 2545) และงานวิจัยของ (ชูติมา และกัณฑรีย์, 2552) ได้ทำการวิเคราะห์โลหะหนักที่สะสมในไลเคนด้วยวิธีไอออนโครมาโทกราฟี ซึ่งสามารถทำการวิเคราะห์โลหะหนักต่อเนื่องกันได้ 8 ชนิด คือ Cu Ni Zn Co Mn Fe Cd และ Pb พบว่า Co, Cd และ Pb มีปริมาณน้อยมากในไลเคนและน้อยกว่าขีดจำกัดของการตรวจวัดของเครื่องมือไอออนโครมาโทกราฟี จึงไม่สามารถตรวจพบได้ ในงานวิจัยของ (กิตติยา, 2548) ได้ทำการศึกษาการสะสมแร่ธาตุต่างๆ ในไลเคนโดยวิธีไอออนโครมาโทกราฟี (ประกอบด้วย แคตไอออน แอนไอออน และโลหะหนัก) ที่ย้ายปลูกมายังบริเวณมหาวิทยาลัยรามคำแหง และในงานวิจัยของ (ชัยวัฒน์, 2555) ได้ทำการศึกษาการสะสมแร่ธาตุต่าง ๆ ในไลเคนโดยวิธีไอออนโครมาโทกราฟี ที่ย้ายปลูกมายังสวนสาธารณะจำนวน 10 แห่งในกรุงเทพ ฯ และชานเมืองเพื่อประเมินคุณภาพอากาศในสวนสาธารณะในกรุงเทพ ฯ

ในการศึกษามลภาวะทางสิ่งแวดล้อมโดยทั่วไปนิยมศึกษาจากการมีโลหะหนักที่มีความเป็นพิษสูงในสิ่งแวดล้อมได้แก่ As Cd Hg และPb ซึ่งโลหะหนักเหล่านี้มีปริมาณน้อยในตัวอย่างทำให้ไม่สามารถวิเคราะห์ได้ด้วยเทคนิคไอออนโครมาโทกราฟี ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงได้ทำการศึกษาโลหะหนักที่เป็นมลพิษในสิ่งแวดล้อมโดยใช้วิธี ICP-MS ซึ่งเป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพดีที่สุดในปจจุบันสามารถทำการวิเคราะห์ธาตุครั้งเดียวได้มากกว่า 20 ชนิด สำหรับโลหะหนักที่ศึกษาในงานวิจัยนี้คือโลหะหนักที่มีปริมาณน้อยมากในไลเคนจำนวน 13 ชนิด คือ ไทเทเนียม (Ti) วาเนเดียม (V) โครเมียม (Cr) โคบอลต์ (Co) นิเกิล (Ni) ทองแดง (Cu) สังกะสี (Zn) สารหนู (As) ซิลิเนียม (Se) โมลิบดินัม (Mo) แคดเมียม (Cd) พลวง (Sb) และตะกั่ว (Pb) สำหรับธาตุเหล็ก (Fe) และแมงกานีส (Mn) เป็นธาตุที่มีปริมาณมากในไลเคนจึงไม่ทำการศึกษา เนื่องด้วยในงานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์ต้องการศึกษาธาตุที่มีปริมาณน้อย ๆ ในไลเคน และธาตุบางชนิดที่จัดเป็นมลพิษในสิ่งแวดล้อม อีกเหตุผลหนึ่งคือประสิทธิภาพของเครื่องมือ ICP-MS นั้นเหมาะสำหรับใช้ในการวิเคราะห์ธาตุในระดับความเข้มข้นต่ำๆ ที่วิธีการอื่นไม่สามารถทำได้ ไม่ควรใช้กับการวิเคราะห์ธาตุในระดับความเข้มข้นสูง ๆ ที่เครื่องมือชนิดอื่นสามารถหาได้ เพราะเป็นการสิ้นเปลืองค่าใช้จ่าย ซึ่งโดยปกติธาตุเหล็กและแมงกานีสที่มีระดับความเข้มข้นสูงสามารถวิเคราะห์ได้โดยวิธีทางสเปกโทรพื้นฐาน จากเหตุผลดังกล่าวจึงไม่ทำการศึกษาวิจัยธาตุทั้งสอง

ตลอดจนธาตุชนิดอื่นที่มีปริมาณมากในไลเคนในงานวิจัยนี้

ICP-MS เป็นเทคนิคหนึ่งที่นิยมใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณโลหะหนักในตัวอย่างต่าง ๆ สามารถวิเคราะห์ธาตุได้ครั้งละหลาย ๆ ชนิดในระดับความเข้มข้นต่ำๆ ถึง นาโนกรัมต่อลิตร (ng/L หรือ part per trillion, 10^{-12}) โดยธาตุที่สนใจวิเคราะห์จะถูกไอออไนซ์เป็นไอออนด้วยพลาสมา (plasma คือ hot ionized gas) ที่มีอุณหภูมิสูงถึง 7500 เคลวิน จากนั้นไอออนจะเข้าสู่ส่วนวิเคราะห์มวล (mass analyzer) ทำการจำแนกมวลโดยใช้ค่าศักย์ไฟฟ้าและคลื่นความถี่วิทยุแล้วส่งต่อไปยังส่วนตรวจวัดและประมวลผลความถูกต้องของผลวิเคราะห์นอกจากขึ้นอยู่กับการตั้งค่าพารามิเตอร์ต่าง ๆ ของเครื่องมือให้ถูกต้องและเหมาะสมกับธาตุที่ต้องการวิเคราะห์แล้วยังขึ้นอยู่กับการเตรียมตัวอย่างให้ถูกต้องและเหมาะสมกับเครื่องมือที่วัดด้วย ตัวอย่างแต่ละชนิดมีวิธีการเตรียมแตกต่างกันและที่สำคัญคือปริมาณตัวอย่างที่ใช้ในการเตรียมต้องมีปริมาณเหมาะสมที่จะทำให้เตรียมได้อย่างถูกต้องและเที่ยงตรง วิธีที่ใช้ในการเตรียมตัวอย่างสำหรับการวิเคราะห์แร่ธาตุมีหลายวิธี ได้แก่ วิธีการเผาเป็นเถ้า (dry ashing) วิธีการย่อยเปียก (wet digestion) วิธีการสกัดด้วยตัวทำละลาย (solvent extraction) และวิธีการสกัดด้วยคลื่นเสียง (ultrasound assisted extraction) พบว่าการเตรียมตัวอย่างแต่ละวิธีให้ผลแตกต่างกันมีความเหมาะสมกับโลหะแต่ละชนิดไม่เหมือนกัน (Mesko et al., 2011) สำหรับในงานวิจัยนี้ได้ทำการศึกษาเบื้องต้นเพื่อเปรียบเทียบวิธีการเตรียมตัวอย่างไลเคน 3 วิธีคือ การเผาเป็นเถ้า การย่อยเปียก และการสกัดด้วยคลื่นเสียงพบว่าวิธีการย่อยเปียกให้ผลดีที่สุด จึงเลือกใช้วิธีการย่อยเปียกในการเตรียมตัวอย่างโดยใช้อุปกรณ์ย่อยแบบ block digestion

ในงานวิจัยนี้ศึกษาการสะสมโลหะหนักในไลเคนโดยใช้ไลเคน *Parmotrema tinctorum* ซึ่งเป็นชนิดที่หาได้ง่ายในภูมิประเทศ เช่น ประเทศไทย พื้นที่เก็บตัวอย่างคืออุทยานแห่งชาติเขาใหญ่จังหวัดนครราชสีมา และสวนพฤกษศาสตร์สมเด็จพระนางเจ้าสิริกิติ์ จังหวัดเชียงใหม่ ทำการเก็บตัวอย่าง 2 ฤดู คือ กลางฤดูฝน ประมาณเดือนสิงหาคม และกลางฤดูแล้งคือระหว่างฤดูหนาวกับฤดูร้อนประมาณเดือนกุมภาพันธ์ เพื่อเปรียบเทียบให้เห็นว่าไลเคนที่เก็บจากสถานที่ที่มีสภาวะแวดล้อมต่างกันและเวลาต่างกันจะมีการสะสมปริมาณของโลหะหนักแตกต่างกัน อันจะทำให้สามารถเปรียบเทียบคุณภาพอากาศเนื่องจากมลพิษของโลหะหนักของสถานที่ทั้งสองได้

วิธีดำเนินการวิจัย

อุปกรณ์

อุปกรณ์ที่ใช้ในงานวิจัยประกอบด้วย เครื่อง ICP-MS รุ่น NexION 300Q ของบริษัท PerkinElmer (Waltham, USA) ดังภาพที่ 1 เงื่อนไขในการทำงานคือ Nebulizer gas flow 0.91 L/min, Plasma gas flow 1.30 L/min, Detector voltage -11.0 volts และ ICP voltage 1550.00 watt เครื่องย่อยตัวอย่างรุ่น AIM 600 ของบริษัท Aimlab (Clontarf, Australia) มี block digestion ที่บรรจุหลอดย่อยได้ 50 หลอด ขณะย่อยตัวอย่างต้องปิดหลอดย่อยด้วย teardrop stopper ตะแกรงร่อนตัวอย่างขนาด 500 µm ที่ได้รับการรับรองมาตรฐานของบริษัท Retsch (Haan, Germany) ชุดกรองสารละลายตัวอย่างไซริงค์เมมเบรน (syringe membrane filter) ชนิดไนลอน ขนาด 0.2 µm

ภาพที่ 1 เครื่องมือ ICP-MS รุ่น NexION 300Q ของบริษัท Perkin Elmer (Waltham, USA)

สารเคมี

สารเคมีหรือรีเอเจนต์ที่ใช้ในงานวิจัยได้แก่ สารมาตรฐานผสมรับรองค่าของไอออนโลหะหนัก 21 ชนิด คือ PerkinElmer Number: N9300281 ประกอบด้วยไอออนแต่ละชนิดเข้มข้น 100 µg/ml ใน 5% HNO_3/Tr-Tart-HF ของไอออน As, Be, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Li, Mg, Mn, Mo, Ni, Pb, Sb, Se, Sr, Ti, Tl, V and Zn กรดไนตริกเข้มข้นที่มีความบริสุทธิ์สูงของ Carlo Erba (Milano, Italy) RPE 69.5% น้ำปราศจากไอออน (Deionized water) ที่มีค่าความต้านทานมากกว่า 18.0 MΩ/cm และวัสดุอ้างอิงรับรองค่า (certified reference material, CRM) lichen no BCR 482 จำหน่ายโดย Sigma Aldrich (IRMM, Geel, Belgium)

วิธีการ

การเก็บตัวอย่าง เก็บตัวอย่างไลเคน 2 ฤดู คือ

1. เก็บตัวอย่างในช่วงฤดูแล้งคือระหว่างฤดูหนาวกับฤดูร้อน (dry season)

- สวนพฤกษศาสตร์สมเด็จพระนางเจ้าสิริกิติ์ เก็บวันที่ 14 กุมภาพันธ์ 2556

- อุทยานแห่งชาติเขาใหญ่ เก็บวันที่ 20 กุมภาพันธ์ 2556

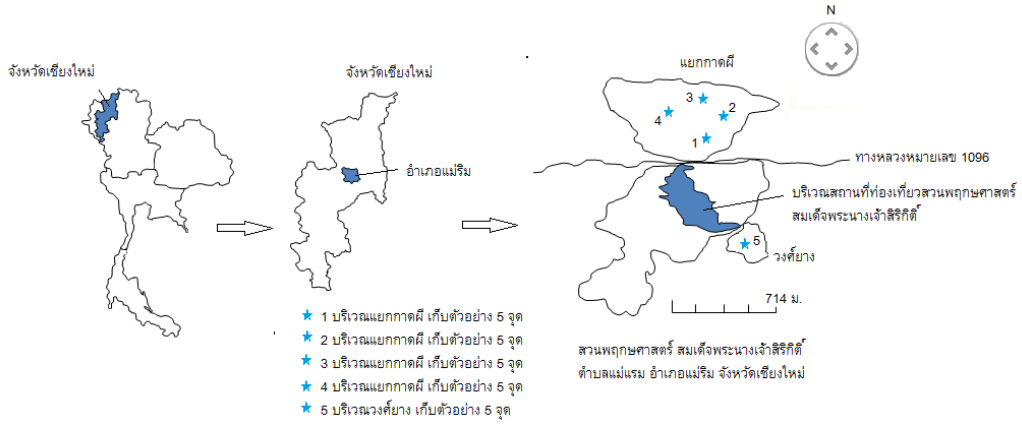
2. เก็บตัวอย่างในช่วงกลางฤดูฝน (wet season)

- สวนพฤกษศาสตร์สมเด็จพระนางเจ้าสิริกิติ์ เก็บวันที่ 7 สิงหาคม 2556

- อุทยานแห่งชาติเขาใหญ่ เก็บวันที่ 1 สิงหาคม 2556

โดยแต่ละสถานที่สุ่มเก็บตัวอย่างดังนี้

การเก็บตัวอย่างที่สวนพฤกษศาสตร์สมเด็จพระนางเจ้าสิริกิติ์ จังหวัดเชียงใหม่ แบ่งเป็น 2 สถานที่ คือ บริเวณที่เรียกว่าแยกกาดผี และวงศ์ยาง ตามแผนที่ในภาพที่ 2 บริเวณแยกกาดผีจัดแบ่งออกเป็น 4 เขต ในแต่ละเขตทำการเก็บไลเคน 5 จุด รวมทั้งหมด 20 จุด ดังตารางที่ 1 บริเวณวงศ์ยางจัดเป็นอีกหนึ่งเขตเก็บตัวอย่างทั้งหมด 5 จุด ดังตารางที่ 2 รวมเก็บตัวอย่าง 25 จุด แต่ละจุดคือไลเคนที่อยู่บนต้นไม้ต้นเดียวกัน เก็บตัวอย่างไลเคนแต่ละจุดประมาณ 5 – 10 ทัลลัส



ภาพที่ 2 แผนที่แสดงจุดที่เก็บตัวอย่างในสวนพฤกษศาสตร์สมเด็จพระนางเจ้าสิริกิติ์ จังหวัดเชียงใหม่

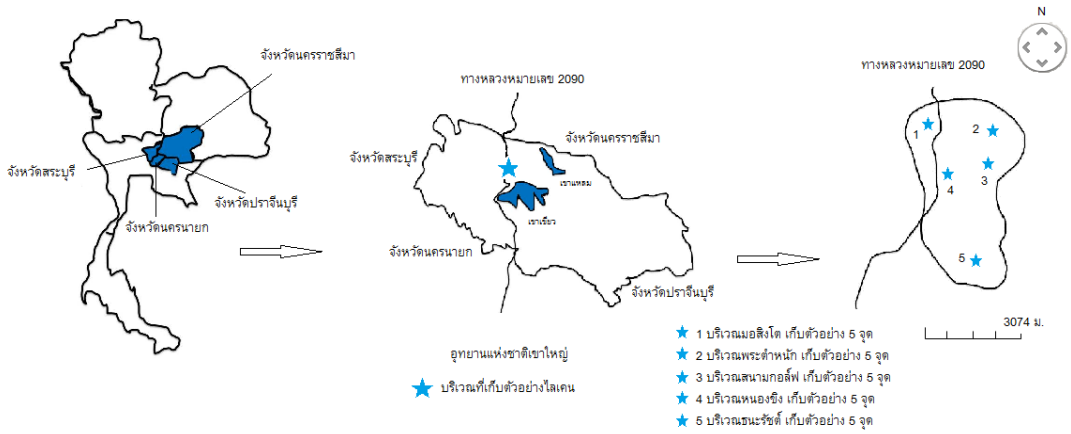
ตารางที่ 1 แสดงพิกัดที่เก็บตัวอย่างและรหัสตัวอย่างแต่ละจุดในแต่ละเขตของบริเวณแยกกาดผี

บริเวณแยกกาดผี ความสูงเหนือระดับน้ำทะเล	รหัสตัวอย่าง		พิกัด
	ฤดูแล้ง	ฤดูฝน	
เขตที่ 1	QD1.1	QW1.1	N 18° 54’ 14.05” E 098° 51’ 39.96”
สูง 720 - 732 เมตร	QD1.2	QW1.2	N 18° 54’ 15.19” E 098° 51’ 39.85”
	QD1.3	QW1.3	N 18° 54’ 16.86” E 098° 51’ 39.95”
	QD1.4	QW1.4	N 18° 54’ 19.20” E 098° 51’ 40.67”
	QD1.5	QW1.5	N 18° 54’ 19.70” E 098° 51’ 38.75”
เขตที่ 2	QD2.1	QW2.1	N 18° 54’ 26.05” E 098° 51’ 54.79”
สูง 835 - 857 เมตร	QD2.2	QW2.2	N 18° 54’ 26.96” E 098° 51’ 55.01”
	QD2.3	QW2.3	N 18° 54’ 27.91” E 098° 51’ 55.75”
	QD2.4	QW2.4	N 18° 54’ 29.12” E 098° 51’ 56.29”
	QD2.5	QW2.5	N 18° 54’ 29.21” E 098° 51’ 58.25”
เขตที่ 3	QD3.1	QW3.1	N 18° 54’ 50.77” E 098° 51’ 40.56”
สูง 923 - 938 เมตร	QD3.2	QW3.2	N 18° 54’ 50.92” E 098° 51’ 38.39”
	QD3.3	QW3.3	N 18° 54’ 51.09” E 098° 51’ 37.72”
	QD3.4	QW3.4	N 18° 54’ 51.83” E 098° 51’ 37.01”
	QD3.5	QW3.5	N 18° 54’ 53.14” E 098° 51’ 35.65”
เขตที่ 4	QD4.1	QW4.1	N 18° 54’ 42.28” E 098° 51’ 16.97”
สูง 898 - 934 เมตร	QD4.2	QW4.2	N 18° 54’ 41.05” E 098° 51’ 17.60”
	QD4.3	QW4.3	N 18° 54’ 40.72” E 098° 51’ 18.12”
	QD4.4	QW4.4	N 18° 54’ 37.32” E 098° 51’ 19.69”
	QD4.5	QW4.5	N 18° 54’ 36.34” E 098° 51’ 19.08”

ตารางที่ 2 แสดงพิกัดที่เก็บตัวอย่างและรหัสตัวอย่างในแต่ละจุดบริเวณเขตวงศ์ยาง

เขตที่ 5 วงศ์ยาง ความสูงเหนือระดับน้ำ ทะเล 972 - 999 เมตร	รหัสตัวอย่าง		พิกัด
	ฤดูแล้ง	ฤดูฝน	
จุดที่ 1	QD5.1	QW5.1	N 18° 52’ 57.82” E 098° 51’ 58.33”
จุดที่ 2	QD5.2	QW5.2	N 18° 52’ 55.52” E 098° 51’ 57.10”
จุดที่ 3	QD5.3	QW5.3	N 18° 52’ 54.72” E 098° 51’ 56.33”
จุดที่ 4	QD5.4	QW5.4	N 18° 52’ 51.98” E 098° 51’ 55.94”
จุดที่ 5	QD5.5	QW5.5	N 18° 52’ 51.28” E 098° 51’ 57.67”

การเก็บตัวอย่างที่อุทยานแห่งชาติเขาใหญ่ แบ่งเป็น 5 เขต ตามแผนที่ในภาพที่ 3 แต่ละเขตเก็บตัวอย่าง 5 จุด รวมเก็บตัวอย่างทั้งหมด 25 จุด เช่นกัน ดังแสดงในตารางที่ 3 แต่ละจุดคือไลเคนที่อยู่บนต้นไม้ต้นเดียวกัน เก็บตัวอย่างไลเคนแต่ละจุดประมาณ 5 - 10 ทัลลัส



ภาพที่ 3 แผนที่แสดงจุดที่เก็บตัวอย่างในอุทยานแห่งชาติเขาใหญ่ จังหวัดนครราชสีมา

ตารางที่ 3 แสดงพิกัดที่เก็บตัวอย่างและรหัสตัวอย่างในแต่ละเขต ณ อุทยานแห่งชาติเขาใหญ่

เขตที่เก็บตัวอย่าง ความสูงเหนือระดับน้ำทะเล	รหัสตัวอย่าง		พิกัด
	ฤดูแล้ง	ฤดูฝน	
เขตที่ 1 มอสิงห์โต	KD1.1	KW1.1	N 14° 26’ 02.75” E 101° 22’ 10.40”
สูง 759 - 762 เมตร	KD1.2	KW1.2	N 14° 26’ 02.51” E 101° 22’ 10.26”
	KD1.3	KW1.3	N 14° 26’ 02.68” E 101° 22’ 09.33”
	KD1.4	KW1.4	N 14° 26’ 03.71” E 101° 22’ 09.72”
	KD1.5	KW1.5	N 14° 26’ 03.35” E 101° 22’ 10.66”
เขตที่ 2 ธนรัชต์	KD2.1	KW2.1	N 14° 23’ 13.70” E 101° 23’ 10.48”
สูง 738-742 เมตร	KD2.2	KW2.2	N 14° 23’ 12.87” E 101° 23’ 09.65”
	KD2.3	KW2.3	N 14° 23’ 12.54” E 101° 23’ 09.57”
	KD2.4	KW2.4	N 14° 23’ 12.50” E 101° 23’ 09.17”
	KD2.5	KW2.5	N 14° 23’ 12.19” E 101° 23’ 09.08”
เขตที่ 3 สนามกอล์ฟ	KD3.1	KW3.1	N 14° 25’ 33.75” E 101° 23’ 11.97”
สูง 717- 722 เมตร	KD3.2	KW3.2	N 14° 25’ 32.49” E 101° 23’ 11.88”
	KD3.3	KW3.3	N 14° 25’ 32.66” E 101° 23’ 10.68”
	KD3.4	KW3.4	N 14° 25’ 32.33” E 101° 23’ 12.03”
	KD3.5	KW3.5	N 14° 25’ 33.28” E 101° 23’ 13.14”
เขตที่ 4 พระตำหนัก	KD4.1	KW4.1	N 14° 26’ 07.54” E 101° 23’ 10.86”
สูง 799 - 801 เมตร	KD4.2	KW4.2	N 14° 26’ 06.69” E 101° 23’ 11.30”
	KD4.3	KW4.3	N 14° 26’ 05.99” E 101° 23’ 11.29”
	KD4.4	KW4.4	N 14° 26’ 05.71” E 101° 23’ 11.50”
	KD4.5	KW4.5	N 14° 26’ 05.46” E 101° 23’ 11.47”
เขตที่ 5 หนองขิง	KD5.1	KW5.1	N 14° 25’ 16.51” E 101° 22’ 25.32”
สูง 766 - 772 เมตร	KD5.2	KW5.2	N 14° 25’ 16.19” E 101° 22’ 24.70”
	KD5.3	KW5.3	N 14° 25’ 15.23” E 101° 22’ 25.13”
	KD5.4	KW5.4	N 14° 25’ 15.05” E 101° 22’ 26.26”
	KD5.5	KW5.5	N 14° 25’ 16.26” E 101° 22’ 26.47”

วิธีการทดลอง

1. ศึกษาการนำไปใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ (Method Validation)

ทดสอบการนำไปใช้ได้ทางการวิเคราะห์หาปริมาณโลหะหนัก 13 ชนิดของเครื่องมือ ICP-MS PerkinElmer’s NexION 300Q โดยใช้สารมาตรฐานผสมของไอออนโลหะหนัก 21 ชนิดของ PerkinElmer Number: N9300281 เตรียมสารละลายมาตรฐานที่มีความเข้มข้นต่าง ๆ 6 ระดับ ในช่วงความเข้มข้น 5 – 160 µg/L โดยใช้น้ำปราศจากไอออนที่มีค่าความต้านทานมากกว่า 18.0 MΩ/cm ในการเจือจาง และใช้เป็นสารละลายแบลงค์ ทำการวัดแบลงค์หลาย ๆ ครั้ง (N = 10) เพื่อดูค่า background ของการวัดและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของค่าที่วัดได้ (S.D.) ทำการวัดค่าสารมาตรฐานเพื่อสร้างกราฟมาตรฐาน และวัดความเข้มข้นของสารมาตรฐานที่ 40 µg/L เพื่อทวนสอบความถูกต้องของความเข้มข้นที่วัดได้ และความเที่ยงของการวัด หาค่าขีดจำกัดของการตรวจวัด (LOD = 3SD/b) ขีดจำกัดล่างในการวิเคราะห์หาปริมาณ (LOQ = 10SD/b) ของเครื่อง ICP-MS

2. ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการย่อยตัวอย่าง

ทำการทดลองโดยใช้ไลเคน *Parmotrema tinctorum* ที่เก็บแยกมาต่างหาก ใช้วิธีการเตรียมแบบเดียวกับตัวอย่างที่ศึกษา แล้วดำเนินการศึกษาหา

สภาวะที่เหมาะสมโดยเลือกใช้โปรแกรมการให้อุณหภูมิของเครื่อง block digestion คงที่ในตอนเริ่มต้นเป็นดังนี้ เริ่มต้นที่ 120 °C, อัตราการเพิ่ม 3 °C/min ถึง 150 °C, คงที่ 5 ชั่วโมง แล้วปรับเปลี่ยนพารามิเตอร์ต่าง ๆ เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมได้แก่ ความเข้มข้นของกรดที่ใช้ได้ทดลองใช้กรดไนตริกเข้มข้น และกรดไนตริกเข้มข้น 6 M จากนั้นปรับเปลี่ยนปริมาณกรด 1, 2, 3, 4 และ 5 มิลลิลิตร ทำการปรับอุณหภูมิดังนี้ 130, 140, 150, 160 และ 170 °C ปรับเวลาที่ใช้ในการย่อยดังนี้ 60, 90, 120, 150 และ 180 นาที โดยเลือกเงื่อนไขที่ให้ปริมาณโลหะหนัก (µg/g) ในไลเคนสูงสุด จากนั้นปรับปริมาณตัวอย่าง 0.05, 0.1, 0.15, 0.20 และ 0.25 กรัม โดยเลือกปริมาณที่มีค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ในการวัดน้อยที่สุด เมื่อได้สภาวะการทดลองที่เหมาะสมให้ทำการทดสอบการนำไปใช้ได้ของวิธีการย่อยตัวอย่างโดยศึกษาขีดจำกัดของการตรวจวัดของการเตรียมตัวอย่าง (LOD_d) จากการวัดแบลงค์ของการเตรียมตัวอย่าง ศึกษาความเที่ยง (precision) จากการใช้ไลเคน *Parmotrema tinctorum* ทำการวิเคราะห์ซ้ำ 7 ครั้ง และศึกษาร้อยละของการกลับคืน (% recovery) จากการ spike สารมาตรฐานโลหะหนักลงในไลเคนที่ความเข้มข้น 3 ระดับ แต่ละระดับความเข้มข้นทำซ้ำ 7 ครั้ง สำหรับการศึกษาความถูกต้อง (accuracy) และประกันคุณภาพของวิธีการเตรียมตัวอย่างด้วยวิธีการย่อยเปียก ศึกษาโดยการใช้วัสดุอ้างอิงที่รับรองค่า (CRM lichen no. BCR 482) ทำการวิเคราะห์ แล้วหาค่าความถูกต้องโดยรายงานเป็นค่าเปอร์เซนต์ความผิดพลาดสัมพัทธ์

3. การเตรียมตัวอย่างสำหรับวิเคราะห์ด้วยวิธี ICP-MS

นำตัวอย่างที่เก็บมาผึ่งให้แห้ง 24 ชั่วโมง ทำความสะอาด เอาเศษฝุ่นผง ดินและเศษไม้ที่ติดมาออกให้หมด บดตัวอย่างให้ละเอียดในไนโตรเจนเหลว โดยใช้โกร่งบดพอร์ซเลน แล้วร่อนด้วยตะแกรงร่อนขนาด 500 µm เก็บตัวอย่างในโถดูดความชื้นจนได้น้ำหนักคงที่ ชั่งตัวอย่างที่บดละเอียดให้ได้น้ำหนักแน่นอนประมาณ 0.2 กรัม ใส่ใน digestion tube เติมกรดไนตริกเข้มข้น 2 มิลลิลิตร ตั้งโปรแกรมการย่อยที่ศึกษาได้จากข้อ 3.2.2 ทำการย่อยจนได้สารละลายใส กรองสารละลายด้วยชุดกรองไซลิงค์แมมเบรนชนิดไนลอนขนาด 0.2 µm พร้อมปรับปริมาตรในขวดวัดปริมาตรขนาด 10 มิลลิลิตร นำสารละลายตัวอย่างฉีดสเปรย์เข้าเครื่อง ICP-MS ที่ปรับพารามิเตอร์ต่าง ๆ เหมาะสมและสร้างกราฟมาตรฐานเรียบร้อยแล้ว แต่ละตัวอย่างทำการวิเคราะห์ซ้ำ 3 ครั้ง ต้องทำสารละลายแบลงค์ด้วยทุกครั้งในการเตรียมตัวอย่างพร้อมวัดค่าแบลงค์ ปริมาณโลหะหนักในไลเคนคือปริมาณที่วิเคราะห์ได้ลบด้วยค่าแบลงค์

ผลการวิจัย

1. การนำไปใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ (Method Validation)

การทดสอบการนำไปใช้ได้ทางการวิเคราะห์หาปริมาณโลหะหนัก 13 ชนิด ของเครื่องมือ ICP-MS PerkinElmer's NexION 300Q พบว่าค่าขีดจำกัดของการตรวจวัด (LOD) ของไอออนทั้ง 13 ชนิด อยู่ในช่วง 0.001 – 0.069 µg/L ซึ่งค่าต่ำสุดคือค่าของ Sb และค่าสูงสุดคือค่าของ Cr ความสัมพันธ์เชิงเส้นมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r^2) มากกว่า 0.997 ในการวัดค่าสารละลายชนิดเดียวกันซ้ำ 10 ครั้งพบว่าความเที่ยงให้ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ไม่เกิน 5% และความถูกต้องจากการวัดสารละลายเข้มข้น 40 µg/L มีค่ามากกว่า 96% แสดงให้เห็นว่าเครื่อง ICP-MS สามารถวิเคราะห์ปริมาณไอออนโลหะหนักในระดับ µg/L ได้อย่างน่าเชื่อถือ

2. การเตรียมตัวอย่าง (Sample Preparation)

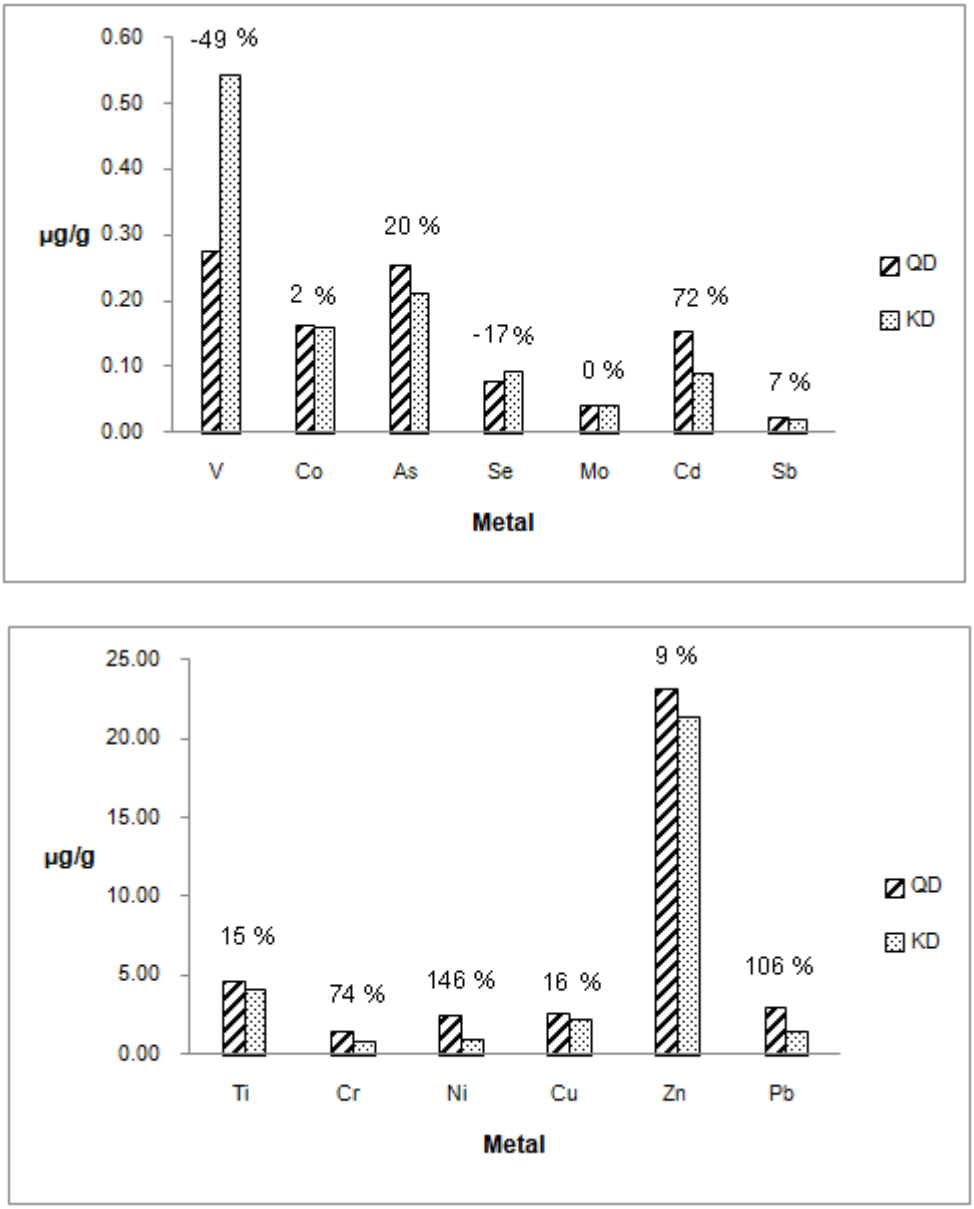
ผลการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเตรียมตัวอย่างโดยวิธีการย่อยเปียกพบว่าเงื่อนไขที่เหมาะสมของเครื่อง block digestion คือ เริ่มต้นที่ 120 °C, อัตราการเพิ่ม 3 °C/min ถึง 150 °C, คงที่ 150 นาที โดยใช้กรดไนตริกเข้มข้น 2 มิลลิลิตร ขนาดตัวอย่าง 0.2 กรัม

ในการทดสอบการนำไปใช้ได้ของวิธีการย่อยตัวอย่างไลเคน โดยทำการศึกษาขีดจำกัดของการตรวจวัด (LOD_d) ความเที่ยง (precision) และร้อยละของการกลับคืน (%recovery) พบว่าขีดจำกัดของการตรวจวัดโลหะหนักทั้ง 13 ชนิดในไลเคนมีปริมาณอยู่ในช่วง 0.002 – 1.145 µg/g dw มีความเที่ยงของการวิเคราะห์ไลเคนในเทอมของ %RSD ในช่วง 1.60 –

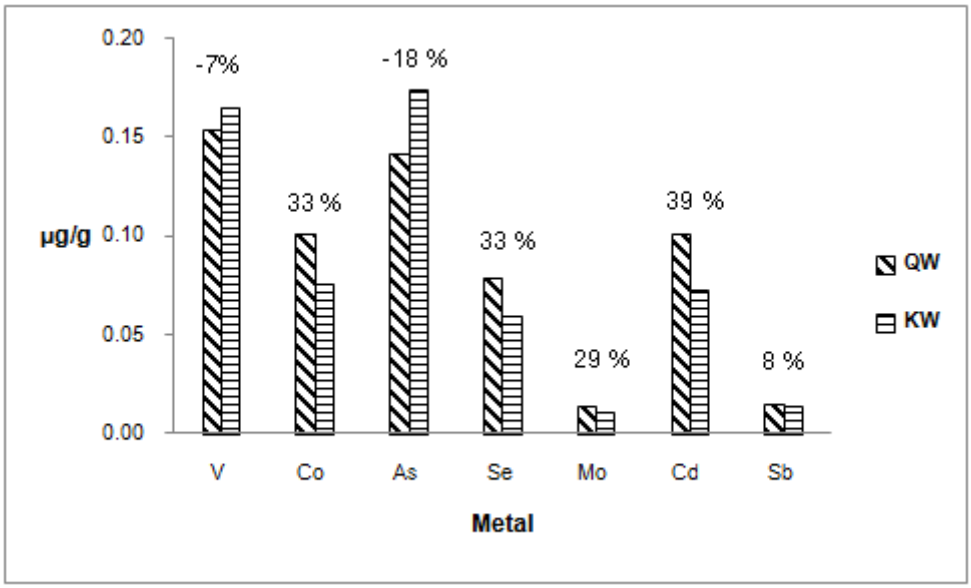
5.16% และมีค่าร้อยละของการกลับคืนจากการ spike สารมาตรฐานโลหะหนักทั้ง 3 ระดับความเข้มข้นคือ 5, 40 และ 160 µg/L อยู่ในช่วง 86.03 – 100.89 % จะเห็นได้ว่าโลหะหนักทุกชนิดมีค่าร้อยละของการกลับคืนมากกว่า 85% แสดงว่าการเตรียมตัวอย่างด้วยวิธีการย่อยเปียกสามารถนำมาใช้เตรียมตัวอย่างไลเคนได้ สำหรับการศึกษาความถูกต้อง (accuracy) ของการเตรียมตัวอย่างด้วยวิธีการย่อยเปียก จากการใช้วัสดุอ้างอิงรับรองค่า (CRM lichen no. BCR 482) พบว่าค่าเปอร์เซนต์ความผิดพลาดสัมพัทธ์ของโลหะทุกตัวใน CRM คือ Cr Ni Cu Zn As Cd Pb Al และ Hg ไม่เกิน 5% แสดงว่าวิธีเตรียมตัวอย่างโดยวิธีการย่อยเปียกและการวิเคราะห์โลหะหนักด้วยวิธี ICP-MS สามารถใช้ในการวิเคราะห์โลหะหนักในไลเคนได้ดี

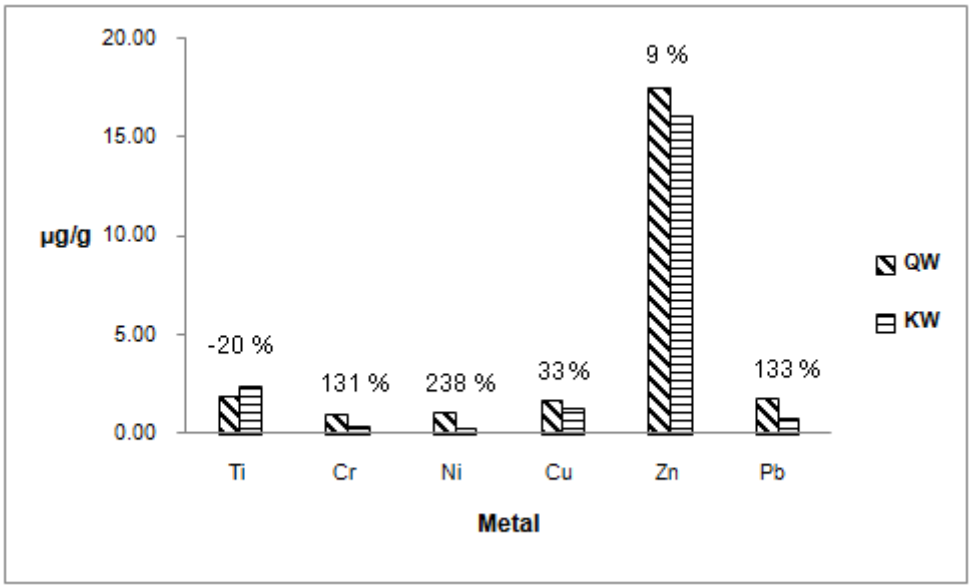
3. ผลการวิเคราะห์ตัวอย่าง (Sample analysis)

เมื่อนำผลการวิเคราะห์ทุกจุดของทุกเขตของแต่ละสถานที่และแต่ละฤดูมาหาค่าเฉลี่ยและหาค่าสัมประสิทธิ์ของความแปรปรวน (coefficient of variation, CV) พบว่าความแปรปรวนของโลหะที่สวนพฤกษศาสตร์สมเด็จพระนางเจ้าสิริกิติ์ ในช่วงฤดูแล้งมีค่าอยู่ในช่วง 30.8% – 75.0% โลหะที่แปรปรวนน้อยที่สุดคือ As มากที่สุดคือ Mo ฤดูฝนอยู่ในช่วง 16.6% – 60.0% โลหะที่แปรปรวนน้อยที่สุดคือ Zn มากที่สุดคือ Mo และที่อุทยานแห่งชาติเขาใหญ่ในช่วงฤดูแล้งอยู่ในช่วง 11.1% – 100.0% โลหะที่แปรปรวนน้อยที่สุดคือ Cd มากที่สุดคือ Sb ฤดูฝนอยู่ในช่วง 19.5% – 106.3% โลหะที่แปรปรวนน้อยที่สุดคือ Pb มากที่สุดคือ Co จะเห็นได้ว่าความแปรปรวนของโลหะส่วนใหญ่ที่อุทยานแห่งชาติเขาใหญ่มีค่ามากกว่าที่สวนพฤกษศาสตร์สมเด็จพระนางเจ้าสิริกิติ์ ทั้งนี้เพราะสถานที่เก็บตัวอย่างใน 5 เขตที่อุทยานแห่งชาติเขาใหญ่นั้นแต่ละเขตมีระยะห่างกันมากกว่าที่สวนพฤกษศาสตร์สมเด็จพระนางเจ้าสิริกิติ์ ดังแสดงให้เห็นในภาพที่ 2 และ 3 และเมื่อพิจารณาจากค่าเฉลี่ยพบว่าในช่วงฤดูแล้งที่สวนพฤกษศาสตร์สมเด็จพระนางเจ้าสิริกิติ์ มีค่าเฉลี่ยของปริมาณโลหะ Ti Cr Co Ni Cu Zn As Cd Sb และ Pb มากกว่าในอุทยานแห่งชาติเขาใหญ่ และในช่วงฤดูฝนที่สวนพฤกษศาสตร์สมเด็จพระนางเจ้าสิริกิติ์มีโลหะ Cr Co Ni Cu Zn Se Mo Cd Sb และ Pb มากกว่าที่อุทยานแห่งชาติเขาใหญ่ ดังแสดงในภาพที่ 4 – 5 และในภาพได้แสดงค่าร้อยละของความแตกต่างระหว่างสถานที่ทั้งสองโดยคำนวณเทียบกับอุทยานแห่งชาติเขาใหญ่ ค่าบวกแสดงว่าปริมาณที่สวนพฤกษศาสตร์สมเด็จพระนางเจ้าสิริกิติ์มากกว่าที่อุทยานแห่งชาติเขาใหญ่ ในขณะที่ค่าลบแสดงว่าปริมาณที่สวนพฤกษศาสตร์สมเด็จพระนางเจ้าสิริกิติ์น้อยกว่าที่อุทยานแห่งชาติเขาใหญ่ เมื่อเปรียบเทียบปริมาณเฉลี่ยของโลหะหนักแต่ละชนิดระหว่างสองฤดูในสถานที่เดียวกัน ดังภาพที่ 6 - 7 พบว่าปริมาณโลหะหนักในช่วงฤดูแล้งมีค่ามากกว่าในช่วงฤดูฝนทั้งสองสถานที่ และในภาพได้แสดงค่าร้อยละของความแตกระหว่างฤดูในสถานที่เดียวกันโดยคำนวณเทียบกับฤดูฝน ค่าบวกแสดงว่าฤดูแล้งมีปริมาณมากกว่าฤดูฝน ในขณะที่ค่าลบแสดงว่าฤดูแล้งมีปริมาณน้อยกว่าฤดูฝน

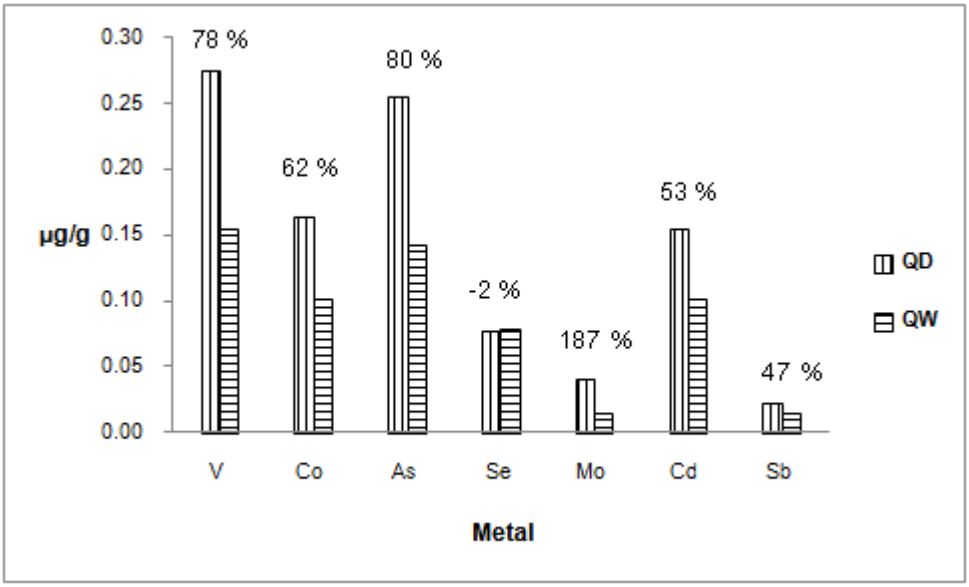


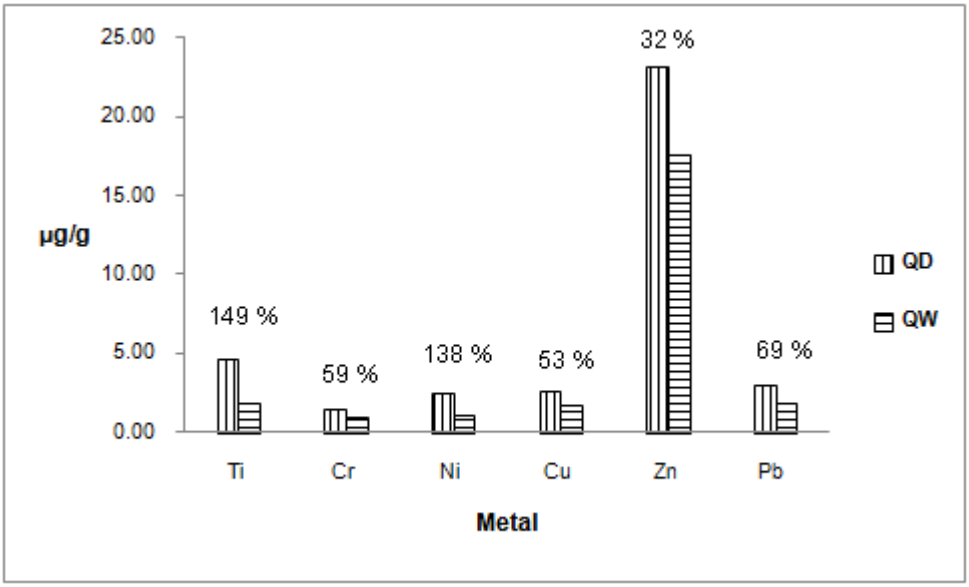
ภาพที่ 4 เปรียบเทียบปริมาณเฉลี่ยของโลหะที่สะสมในไลเคนระหว่างสวนพฤกษศาสตร์ สมเด็จพระนางเจ้าสิริกิติ์ กับอุทยานแห่งชาติเขาใหญ่กลางฤดูแล้ง



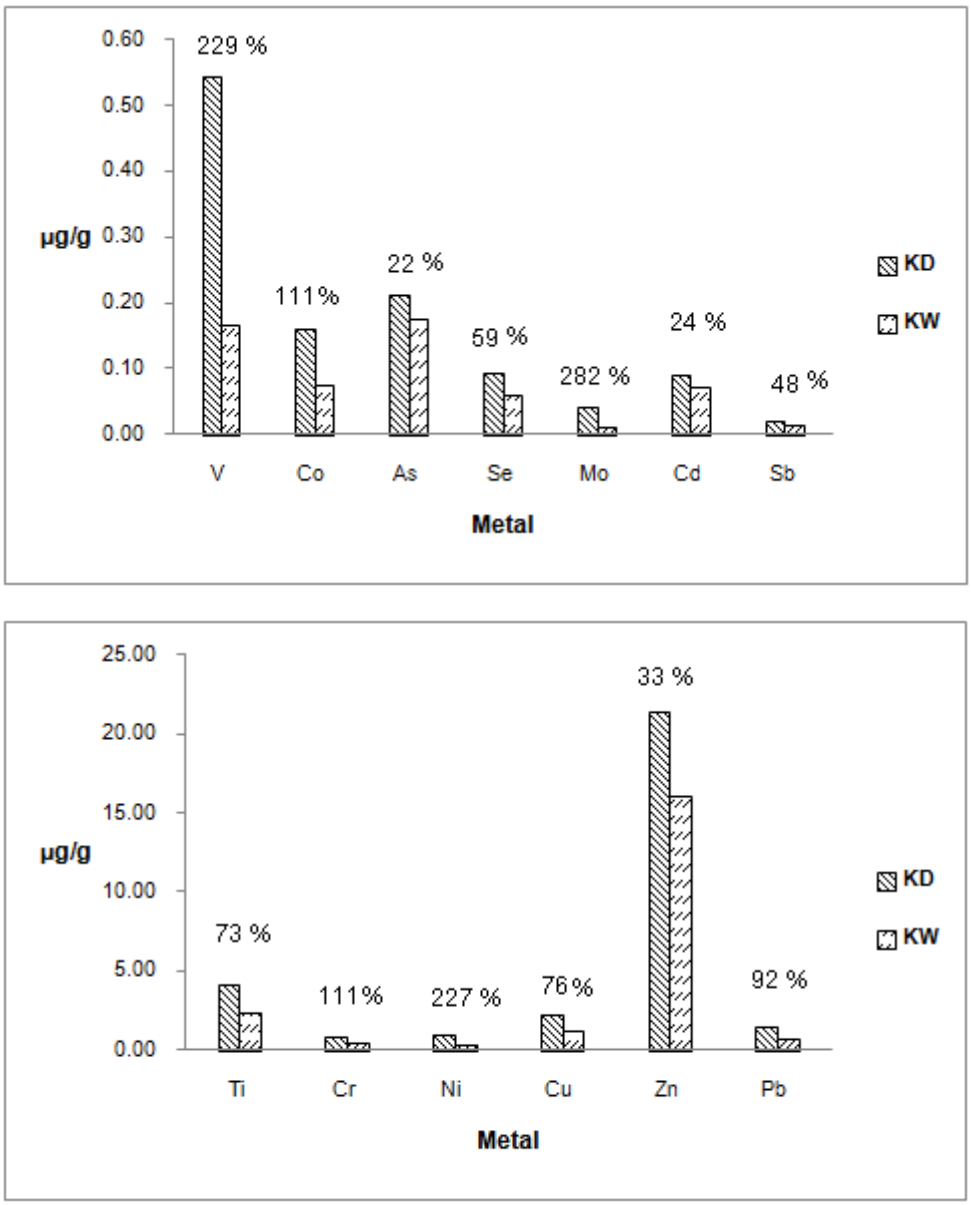


ภาพที่ 5 เปรียบเทียบปริมาณเฉลี่ยของโลหะหนักที่สะสมในไลเคนระหว่างสวนพฤกษศาสตร์ สมเด็จพระนางเจ้าสิริกิติ์ กับอุทยานแห่งชาติเขาใหญ่กลางฤดูฝน





ภาพที่ 6 เปรียบเทียบปริมาณเฉลี่ยของโลหะหนักที่สะสมในไลเคนระหว่างกลางฤดูฝนกับกลางฤดูแล้งที่เก็บจากสวนพฤกษศาสตร์สมเด็จพระนางเจ้าสิริกิติ์



ภาพที่ 7 เปรียบเทียบปริมาณเฉลี่ยของโลหะหนักที่สะสมในไลเคนระหว่างกลางฤดูฝนกับกลางฤดูแล้งที่เก็บจากอุทยานแห่งชาติเขาใหญ่

เมื่อพิจารณาข้อมูลโดยรวมสรุปได้ว่าในฤดูแล้งมลพิษในอากาศเนื่องจากโลหะหนักมีค่าสูงกว่าในฤดูฝน ทั้งนี้เพราะในช่วงฤดูฝนปริมาณโลหะหนักในบรรยากาศถูกชะไปกับฝนและโลหะหนักในไลเคนสามารถคายออกมาเมื่อถูกฝนชะเพื่อรักษาสมดุลของปริมาณโลหะหนักในไลเคนกับปริมาณโลหะหนักในบรรยากาศ (Kularatne and Freitas, 2013) ซึ่งสอดคล้องกับการเปรียบเทียบลักษณะไลเคนคือในฤดูแล้งเมื่อมีการสะสมมลพิษมากในไลเคน ลักษณะของไลเคนจะดูมีสุขภาพไม่สมบูรณ์เท่ากับในฤดูฝน ดังภาพที่ 8 แต่อย่างไรก็ตามยังมีปจจัยอื่นอีกด้วยเช่นความชุ่มชื้นและปริมาณสารอาหารที่ทำให้ไลเคนแตกต่างกันระหว่างสองฤดูและระหว่างสถานที่เช่นเดียวกับพืช ทั่ว ๆ ไป

อุทยานแห่งชาติเขาใหญ่ กลางฤดูแล้ง

อุทยานแห่งชาติเขาใหญ่ กลางฤดูฝน

สวนพฤกษศาสตร์ฯ กลางฤดูแล้ง

สวนพฤกษศาสตร์ฯ กลางฤดูฝน

ภาพที่ 8 เปรียบเทียบลักษณะไลเคนระหว่างกลางฤดูแล้งและกลางฤดูฝนที่อุทยานแห่งชาติเขาใหญ่และสวนพฤกษศาสตร์ สมเด็จพระนางเจ้าสิริกิติ์

จากภาพที่ 8 เมื่อเปรียบเทียบลักษณะไลเคนระหว่างฤดูของสองสถานที่จะเห็นว่าที่อุทยานแห่งชาติเขาใหญ่มีลักษณะแตกต่างกันมาก ในช่วงฤดูแล้งไลเคนจะมีสีเขียวน้อยค่อนข้างออกสีน้ำตาลดูแห้งแล้งในขณะที่ช่วงฤดูฝนไลเคนจะดูสดชื่นและมีสีเขียวเข้ม แต่ที่สวนพฤกษศาสตร์สมเด็จพระนางเจ้าสิริกิติ์ สีของไลเคนทั้งสองฤดูไม่แตกต่างกันมากนัก ในช่วงฤดูฝนมีสีเขียวสดใสกว่าช่วงฤดูแล้งเล็กน้อย เมื่อเปรียบเทียบลักษณะไลเคนระหว่างอุทยานแห่งชาติเขาใหญ่กับสวนพฤกษศาสตร์สมเด็จพระนางเจ้าสิริกิติ์ พบว่าไลเคนที่อุทยานแห่งชาติเขาใหญ่จะมีขนาดทัลลัสใหญ่กว่าที่สวนพฤกษศาสตร์สมเด็จพระนางเจ้าสิริกิติ์ ทั้งนี้เป็นเพราะทั้งสภาพภูมิอากาศและภูมิประเทศของสองสถานที่แตกต่างกัน

4. การวิเคราะห์ทางสถิติ (Statistical analysis)

เมื่อนำผลการวิเคราะห์มาเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของโลหะหนักแต่ละชนิดที่สะสมในไลเคนระหว่างสวนพฤกษศาสตร์สมเด็จพระนางเจ้าสิริกิติ์ กับอุทยานแห่งชาติเขาใหญ่ในแต่ละฤดูโดยใช้โปรแกรม SPSS for Windows version 17 การเปรียบเทียบสถานที่เดียวกันแต่ต่างฤดูใช้การเปรียบเทียบแบบ pair sample t-Test ส่วนการเปรียบเทียบฤดูเดียวกันแตกต่างสถานที่ใช้ independent sample t-Test ผลที่ได้แสดงให้เห็นว่าตัวอย่างที่มาจากสถานที่เดียวกันแต่ต่างฤดูจากสวนพฤกษศาสตร์สมเด็จพระนางเจ้าสิริกิติ์ โลหะหนักเกือบทุกชนิดมีการสะสมที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความมั่นใจ 95% ยกเว้น Se และ Sb ที่อุทยานแห่งชาติเขาใหญ่ก็เช่นเดียวกันโลหะหนักเกือบทุกชนิดมีการสะสมที่

แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความมั่นใจ 95% ยกเว้น Mo สำหรับการเปรียบเทียบการสะสมในฤดูเดียวกันแต่ต่างสถานที่ พบว่าในช่วงกลางฤดูแล้งโลหะหนักที่สะสมแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความมั่นใจ 95% ระหว่างสวนพฤกษศาสตร์สมเด็จพระนางเจ้าสิริกิติ์ กับ อุทยานแห่งชาติเขาใหญ่ คือ V Cr Ni Cd และ Pb โดยที่ในสวนพฤกษศาสตร์สมเด็จพระนางเจ้าสิริกิติ์มีปริมาณมากกว่าที่อุทยานแห่งชาติเขาใหญ่ ยกเว้น V ที่มีน้อยกว่า ส่วนโลหะหนักอื่นๆ ไม่แตกต่าง สำหรับในช่วงกลางฤดูฝนโลหะหนักที่สะสมแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความมั่นใจ 95% ระหว่างสวนพฤกษศาสตร์สมเด็จพระนางเจ้าสิริกิติ์ กับอุทยานแห่งชาติเขาใหญ่ คือ V Cr Ni Cu Cd และ Pb โดยที่ในสวนพฤกษศาสตร์ ฯ มีปริมาณมากกว่าที่อุทยานแห่งชาติเขาใหญ่ ยกเว้น V ที่มีน้อยกว่า ส่วนโลหะหนักอื่น ๆ ไม่แตกต่าง จะเห็นได้ว่าโลหะหนักที่มีการสะสมแตกต่างกันระหว่างสวนพฤกษศาสตร์สมเด็จพระนางเจ้าสิริกิติ์กับอุทยานแห่งชาติเขาใหญ่ที่เหมือนกันทั้งสองฤดูคือ V Cr Ni Cd และ Pb ประเมินได้ว่าสวนพฤกษศาสตร์สมเด็จพระนางเจ้าสิริกิติ์ และอุทยานแห่งชาติเขาใหญ่มีปริมาณ V Cr Ni Cd และ Pb ในบรรยากาศแตกต่างกัน

เมื่อศึกษาความสัมพันธ์ของโลหะหนักแต่ละชนิดที่สะสมในไลเคนจากค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เพียร์สัน (Pearson correlations) พบว่าในช่วงกลางฤดูแล้งที่สวนพฤกษศาสตร์สมเด็จพระนางเจ้าสิริกิติ์ ให้ความสัมพันธ์ระหว่างโลหะ Pb กับ Mo และ Se กับ As มากที่สุด โดยมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r) ตามลำดับดังนี้ 0.783 และ 0.741 ที่ $p < 0.01$ สำหรับในช่วงกลางฤดูฝนที่สวนพฤกษศาสตร์ สมเด็จพระนางเจ้าสิริกิติ์ มีความสัมพันธ์ของโลหะหนักทุกชนิดต่ำกว่า 0.5 โดยโลหะที่มีความสัมพันธ์กันมากที่สุดคือธาตุ As กับ Ti มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r) เท่ากับ – 0.481 สำหรับที่อุทยานแห่งชาติเขาใหญ่ในช่วงกลางฤดูแล้ง พบว่าโลหะส่วนใหญ่มีความสัมพันธ์กัน โดยโลหะหนักที่มีความสัมพันธ์กันแสดงค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r) ในช่วง 0.412 - 4.92 (p <0.05) และ 0.523 - 0.923 (p <0.01) โลหะหนักที่มีความสัมพันธ์กันมากที่สุดที่ p <0.05 คือ Pb กับ Sb และ p <0.01 คือ As กับ Se โลหะหนักที่ไม่มีความสัมพันธ์กับธาตุอื่น ๆ คือ Ti ในขณะที่ในช่วงกลางฤดูฝนโลหะส่วนใหญ่ไม่มีความสัมพันธ์กัน และจากข้อมูลการสะสม ที่แสดงในภาพที่ 4 - 7 แสดงว่าในช่วงกลางฤดูแล้งมีปริมาณการสะสมโลหะหนักมากกว่าในช่วงฤดูฝนทั้งสองสถานที่ ซึ่งโลหะหนักส่วนใหญ่ในช่วงฤดูแล้งมีความสัมพันธ์กันแสดงว่าไลเคนรับมลพิษของโลหะหนักจากบรรยากาศในช่วงฤดูแล้งจึงเป็นช่วงที่สามารถประเมินมลภาวะในอากาศได้ดี เมื่อถึงช่วงฤดูฝนปริมาณโลหะในบรรยากาศถูกชะไปกับฝนและโลหะหนักในไลเคนก็สามารถคายออกมาเพื่อรักษาสมดุลระหว่างโลหะหนักที่อยู่ในไลเคนและในบรรยากาศ ทำให้ปริมาณโลหะหนักที่สะสมในไลเคนในช่วงฤดูฝนมีน้อยกว่าฤดูแล้งและไม่มีความสัมพันธ์กัน การประเมินมลภาวะในอากาศจากช่วงนี้ต้องมีเรื่องปริมาณฝนเข้ามาเกี่ยวข้องด้วย

สรุปและวิจารณ์ผล

ไลเคนสามารถใช้เป็นดัชนีชีวภาพในการบ่งบอกถึงคุณภาพอากาศได้เป็นอย่างดี จะเห็นได้จากงานวิจัยนี้ที่ได้ศึกษาเปรียบเทียบการสะสมโลหะหนักในไลเคนต่างสถานที่และต่างฤดู โดยเก็บตัวอย่างจากอุทยานแห่งชาติเขาใหญ่ จังหวัดนครราชสีมา เปรียบเทียบกับการเก็บตัวอย่างจากสวนพฤกษศาสตร์สมเด็จพระนางเจ้าสิริกิติ์ จังหวัดเชียงใหม่ ในช่วงกลางฤดูฝนกับช่วงกลางฤดูแล้ง โดยเก็บตัวอย่างสถานที่ละ 25 จุด เมื่อพิจารณาค่าเฉลี่ยของปริมาณโลหะหนักที่สะสมในไลเคนในสถานที่เดียวกันแต่ต่างฤดู พบว่าปริมาณการสะสมแตกต่างกันอย่างเห็นได้ชัด โดยในช่วงฤดูแล้งมีการสะสมโลหะหนักเกือบทุกชนิดสูงกว่าในช่วงฤดูฝน เมื่อเปรียบเทียบกันระหว่างสถานที่ในช่วงฤดูแล้งพบว่าที่สวนพฤกษศาสตร์สมเด็จพระนางเจ้าสิริกิติ์มีค่าเฉลี่ยของปริมาณโลหะ Ti Cr Ni Cu Zn As Cd Pb และ Sb มากกว่าในอุทยานแห่งชาติเขาใหญ่ และในช่วงฤดูฝนที่สวนพฤกษศาสตร์สมเด็จพระนางเจ้าสิริกิติ์ มีโลหะ Cr Co Ni Cu Zn Se Cd Pb และ Sb มากกว่าที่อุทยานแห่งชาติเขาใหญ่ และเมื่อทำการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของผลที่ได้โดยวิธีการทางสถิติพบว่าที่สวนพฤกษศาสตร์สมเด็จพระนางเจ้าสิริกิติ์พบโลหะหนักเกือบทุกชนิดมีการสะสมที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความมั่น ใจ 95% ยกเว้น Se และ Sb

และที่อุทยานแห่งชาติเขาใหญ่ก็เช่นเดียวกันพบโลหะหนักเกือบทุกชนิดมีการสะสมที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความมั่นใจ 95% ยกเว้น Mo สำหรับการเปรียบเทียบการสะสมในฤดูเดียวกันแต่ต่างสถานที่พบว่าทั้งในช่วงกลางฤดูแล้งและกลางฤดูฝนโลหะหนักที่สะสมแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความมั่นใจ 95% ระหว่างสวนพฤกษศาสตร์สมเด็จพระนางเจ้าสิริกิติ์กับอุทยานแห่งชาติเขาใหญ่เป็นโลหะชนิดเดียวกัน คือ V Cr Ni Cd และ Pb โดยที่ในสวนพฤกษศาสตร์สมเด็จพระนางเจ้าสิริกิติ์มีปริมาณมากกว่าที่อุทยานแห่งชาติเขาใหญ่ ยกเว้น V ที่มีน้อยกว่า ส่วนโลหะหนักอื่นๆ ไม่แตกต่าง ประเมินได้ว่าสวนพฤกษศาสตร์สมเด็จพระนางเจ้าสิริกิติ์ และอุทยานแห่งชาติเขาใหญ่มีปริมาณ V Cr Ni Cd และ Pb ในบรรยากาศแตกต่างกัน เมื่อศึกษาความสัมพันธ์ของโลหะหนักแต่ละชนิดที่สะสมในไลเคนจากค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เพียร์สัน (Pearson correlations) พบว่าในช่วงกลางฤดูแล้งโลหะจะมีความสัมพันธ์กันมากกว่าฤดูฝน และที่อุทยานแห่งชาติเขาใหญ่มีจำนวนโลหะที่แสดงความสัมพันธ์กันมากกว่าที่สวนพฤกษศาสตร์สมเด็จพระนางเจ้าสิริกิติ์ สรุปได้ว่าถ้าต้องการศึกษาการใช้ไลเคนเป็นดัชนีชี้วัดคุณภาพอากาศและเฝ้าติดตามการเปลี่ยนแปลงคุณภาพอากาศควรเก็บไลเคนมาวิเคราะห์ในช่วงฤดูแล้งและถ้าต้องการศึกษาเปรียบเทียบกันระหว่างสถานที่ควรเก็บไลเคนในช่วงเวลาเดียวกัน

ด้วยในงานวิจัยนี้เป็นการศึกษาเปรียบเทียบปริมาณการสะสมของโลหะหนักในไลเคนระหว่างสถานที่และฤดูกาลซึ่งให้ผลการวิเคราะห์ที่ชัดเจนว่าสถานที่ต่างกันและฤดูกาลต่างกันการสะสมปริมาณโลหะหนักจะแตกต่างกันทั้งนี้เนื่องจากสภาพของบรรยากาศของแต่ละสถานที่แตกต่างกัน จึงมีข้อเสนอแนะให้มีการศึกษาวิจัยเพิ่มเติมถึงสิ่งที่ก่อให้เกิดมลพิษของโลหะหนักในบรรยากาศ เนื่องจากความเจริญของบ้านเมืองมีมากขึ้น มีการทำอุตสาหกรรม เกษตรกรรม ตลอดจนการจราจรเพิ่มขึ้นตลอดเวลา สิ่งเหล่านี้จะก่อให้เกิดมลพิษในบรรยากาศ ถ้ามีการวิจัยเพื่อหาปริมาณการสะสมเช่นนี้ต่อเนื่องไปทุก ๆ ปี เพื่อศึกษาแนวโน้มการสะสมปริมาณโลหะหนักในไลเคนว่าเพิ่มมากขึ้นหรือไม่ จะทำให้ทราบการเปลี่ยนแปลงคุณภาพอากาศ

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนันสนุนจากมหาวิทยาลัยรามคำแหง ผ่านสถาบันวิจัยและพัฒนา คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ ดร.สันติ วัฒฐานะ หัวหน้าส่วนวิจัยและห้องปฏิบัติการกลางองค์การสวนพฤกษศาสตร์ ที่ได้ให้ความอนุเคราะห์ในการเก็บตัวอย่างเพื่อการวิจัยอุทยานแห่งชาติเขาใหญ่ที่อนุญาตให้คณะวิจัยเข้าเก็บตัวอย่าง รองศาสตราจารย์ ดร. กัณฑรีย์ บุญประกอบที่ให้คำปรึกษาและคำแนะนำในงานวิจัย นักศึกษาหน่วยวิจัยไลเคน ภาควิชาชีววิทยา และนักศึกษาโครงการ วิจัยทางเคมีของภาควิชาเคมี มหาวิทยาลัยรามคำแหง ที่ให้ความช่วยเหลือในการเก็บตัวอย่าง นางสาวดวงกมล เสงี่ยมดี นักศึกษาปริญญาโท สาขาวิชาเคมีประยุกต์ มหาวิทยาลัยรามคำแหง ที่ทำหน้าที่ผู้ช่วยวิจัยในการเก็บตัวอย่าง วิเคราะห์ตัวอย่างและรวบรวมข้อมูล

เอกสารอ้างอิง

กิตติยา เจี่ยธนกุล. 2548. การใช้เทคนิคไอออนโครมาโทกราฟีวิเคราะห์ปริมาณแร่ธาตุที่สะสมในไลเคนเพื่อเป็นดัชนีทางชีวภาพในการเฝ้าติดตามคุณภาพอากาศบริเวณรามคำแหงในกรุงเทพมหานคร. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต, มหาวิทยาลัยรามคำแหง.

ชูติมา ศรีวิบูลย์ และกัณฑรีย์ บุญประกอบ. 2552. การพัฒนาวิธีไอออนโครมาโทกราฟีสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณโลหะหนักในไลเคน Parmotrema tinctorum การประชุมวิชาการและวิจัย ประจำปี 2552 (RURC 2009) 3-4 กันยายน 2552 สถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยรามคำแหง.

ชัยวัฒน์ บุญเพ็ง. 2555. การย้ายปลูกไลเคนเพื่อเป็นดัชนีชีวภาพวัดคุณภาพอากาศในสวนสาธารณะในกรุงเทพ สมเด็จพระนางเจ้าสิริกิติ์. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต, มหาวิทยาลัยรามคำแหง.

สุธาธร มาสถิต, ชูติมา ศรีวิบูลย์ และกัณฑรีย์ บุญประกอบ. 2545. การวิเคราะห์โลหะหนักในไลเคนจากอุทยานแห่งชาติเขาใหญ่โดยวิธีไอออนโครมาโทกราฟี. วารสารมหาวิทยาลัยรามคำแหง 19(3): 1-13.

Andrzej, K., Malgorzata, R., Maria, W., Witold, W. 2007. Heavy metal sorption in the lichen cationactive layer. Bioelectrochemistry. 71: 60 -65

Bergamaschi, L., Rizzio, E., Valcuvia, M. G., Verza, G., Profumo, A., and Gallorini, M. 2002. Determination of trace elements and evaluation of their enrichment factors in Himalayan lichens. Environmental Pollution. 120(1): 137-144.

Carreras, H. A., Gudiño, G. L. and Pignata. M. L. 1998. Comparative biomonitoring of atmospheric quality in five zones of Córdoba city (Argentina) employing the transplanted lichen Usnea sp. Environmental Pollution. 103: 317-325.

Calvelo S., and Liberatore, S. 2004. Applicability of in situ or transplanted lichens for assessment of atmospheric pollution in Patagonia, Argentina. Journal of Atmospheric Chemistry. 49: 199-210.

Conti, M.E., and Cecchetti, G. 2001. Biological monitoring: lichens as bioindicator of air pollution assessment – a review. Enviromental Pollution. 114: 471-492.

Hutchinson, J., Maynard, D., and. Geiser, L. 2004. Air quality and lichens: A literature review emphasizing the Pacific Northwest, USA [Online]. Available URL: http://www.fs.fed.us/r6/aq/lichen/biblo.html

Kularatne, K. I. A., and de Freitas, C. R. 2013. Epiphytic lichens as biomonitors of airborne heavy metal pollution. Environmental and Experimental Botany. 88: 24-32.

Mesko, M. F., Hartwig, C. A., Bizzi, C. A., and Pereira, Juliana S.F., Mello, Paola A., Flores, Ericro M.M. 2011. Sample preparation strategies for bioinorganic analysis by inductively coupled plasma mass spectrometry. International Journal of Mass spectrometry. 307(1-3): 123-136