

## บทที่ 3

### วิธีดำเนินการวิจัย

#### 1 ดินและพืชที่ใช้ทดลอง

1.1 ดินทดลอง เลือกใช้ตัวอย่างดินจากดินดั้งเดิมที่ไม่มีการปนเปื้อนของโลหะหนักมาก่อน โดยเลือกดินที่มีเนื้อดินเป็นดินทราย ดินเหนียวและดินที่มีการปนเปื้อนของแคดเมียมจากพื้นที่จริง ดังนี้

1) ชุดดินท่าเรือ มีค่า C.E.C  $24.63 \text{ cmole}_{(+)}/\text{kg}^{-1}$  (aquatic chromurators; very-fine, montmorillonite) ซึ่งเป็นดินเหนียว (soil 1) กิ่งอำเภอตงเจริญ จังหวัดพิจิตร

2) ชุดดินอุบล มีค่า C.E.C  $1.8 \text{ cmole}_{(+)}/\text{kg}^{-1}$  (aquic quartzipsaments) ซึ่งเป็นดินทราย (soil 2) จากกิ่งอำเภอสากเหล็ก จังหวัดพิจิตร

3) กากแร่หลังบำบัด มีค่า C.E.C  $4.3 \text{ cmole}_{(+)}/\text{kg}^{-1}$  เป็นดินที่มีการปนเปื้อนจากแหล่งอุตสาหกรรมจากโรงงานถลุงแร่สังกะสี บริษัท ผาแดงอินดัสทรี จำกัด อำเภอเมือง จังหวัดตาก

1.2 พืช เลือกหญ้าแฝกที่มีประสิทธิภาพในการดูดซึมแคดเมียมในดินได้ดี และมีอยู่ในพื้นที่ จำนวน 5 สายพันธุ์ คือ

1) สายพันธุ์อินเดียพระราชทาน (*Vetiveria zizanioides* : India)

2) สายพันธุ์เลย (*Vetiveria nemoralis* : Loei)

3) สายพันธุ์ศรีลังกา (*Vetiveria zizanioides* : Sri Lanka)

4) สายพันธุ์นครสวรรค์ (*Vetiveria nemoralis* : Nakhonsawan)

5) สายพันธุ์ประจวบคีรีขันธ์ (*Vetiveria nemoralis* : Prajavbikiran)

#### 1.3 การวางแผนการทดลอง

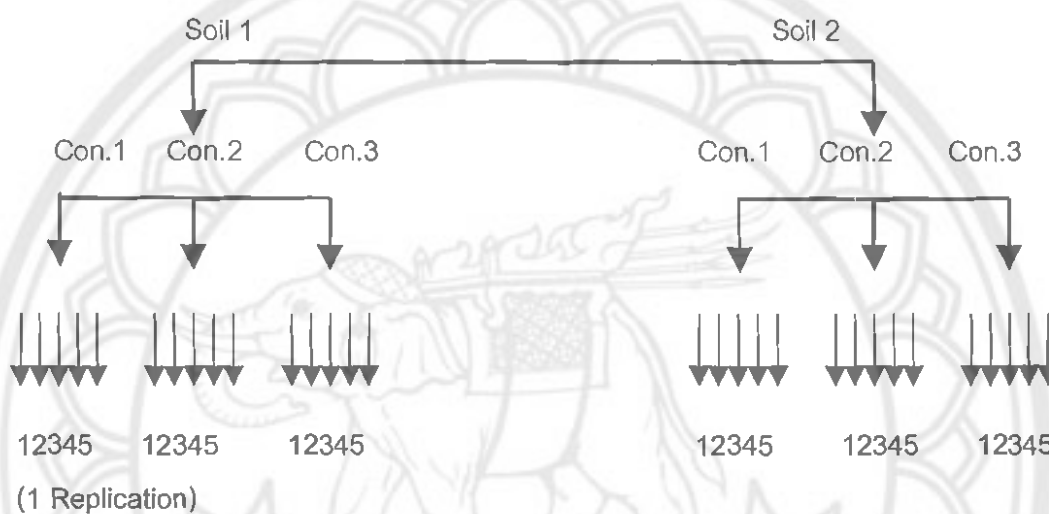
การใช้หญ้าแฝกบำบัดแคดเมียมที่มีความเข้มข้นต่างกัน 3 ระดับ ในดิน 2 ชุดดิน โดยใช้หญ้าแฝก 5 สายพันธุ์ ใช้การทดลองแบบ  $2 \times 3 \times 5$  factorial ในแผนการทดลองแบบ CRD จำนวน 3 ซ้ำ ใช้กระถางทั้งหมด 90 กระถาง โดยปัจจัยต่างๆ ที่ใช้ในการทดลองมีดังนี้

ปัจจัยที่ 1 ดินที่มีค่าความจุในการแลกเปลี่ยนประจุบวกสูงและต่ำ 2 ชุดดิน คือ ชุดดินท่าเรือ มีเนื้อดินเป็นดินเหนียว ความจุในการแลกเปลี่ยนประจุบวกมีค่าสูง  $24.63 \text{ cmole}_{(+)}/\text{kg}^{-1}$

และชุดดินอุบล มีเนื้อดินเป็นทราย ดินบนเป็นดินร่วนทราย ความจุในการแลกเปลี่ยนประจุบวก  $1.8 \text{ cmole}_{(+)}/\text{kg}^{-1}$

ปัจจัยที่ 2 ความเข้มข้นของสารละลายแคดเมียม 3 ระดับ เตรียมจากสารละลาย Cadmium Chloride คือ 0, 10 และ  $20 \text{ mg L}^{-1}$

ปัจจัยที่ 3 หญ้าแฝกที่ใช้บำบัดแคดเมียม 5 สายพันธุ์ คือ สายพันธุ์อินเดียนเดียพระราชทาน เลย ศรีลังกา นครสวรรค์ และประจวบคีรีขันธ์



ฝั่งงานทดลองการดูดซับแคดเมียมความเข้มข้น 3 ระดับ ปนเปื้อนในดิน 2 ชนิด  
โดยการใช้หญ้าแฝก 5 สายพันธุ์

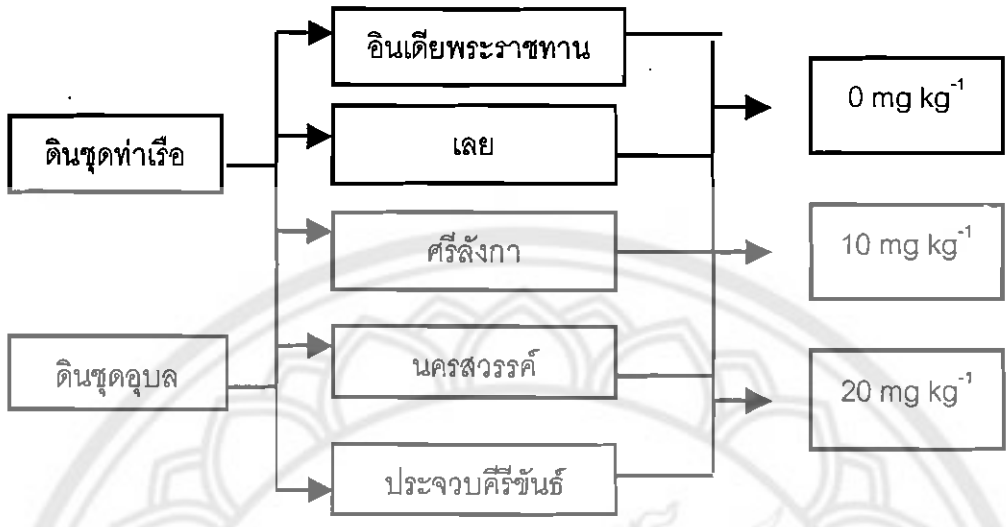
ป  
5  
592  
-5  
ศปจนก  
2629

4840015

2 4 ส.ย. 2549



สำนักหอสมุด



ฝั่งงานทดลองการดูดซึมแคดเมียม 3 ความเข้มข้น ที่ปนเปื้อนใน 2 ชุดดิน โดยใช้หญ้าแฝก 5 สายพันธุ์

การเลือกหญ้าแฝกสายพันธุ์ที่ดูดซึมแคดเมียมได้ดีที่สุดมาทดสอบกับดินที่มีการปนเปื้อนจริง



## 2. การดำเนินการทดลอง

### 2.1 การเก็บตัวอย่างดิน

ทำการสุ่มเก็บตัวอย่างดินทั้ง 2 ชุดดินและดินปนเปื้อนจากโรงงานถลุงแร่สังกะสี โดยศึกษาจากแผนที่ชุดดินจังหวัดพิษณุโลกและจังหวัดพิจิตร ของกรมพัฒนาที่ดิน มาตรฐาน 1:50,000 หาพิกัดของชุดดินโดยใช้เครื่อง GPS (global positioning system) เปรียบเทียบพิกัดในแผนที่ชุดดิน แล้วทำการเก็บตัวอย่างดินแบบสุ่ม นำมาผึ่งให้แห้งในที่ร่ม เก็บเอาเศษหิน และสิ่งแปลกปลอมออก นำมาบดและร่อนดินผ่านตะแกรงขนาด 2 มิลลิเมตร นำมาวิเคราะห์สมบัติทางกายภาพและเคมีของดิน เช่น เนื้อดิน pH ความจุในการแลกเปลี่ยนประจุบวก อินทรีย์วัตถุและแคดเมียมในดินก่อนการทดลอง

### 2.2 การเตรียมตัวอย่างดินและการเตรียมต้นกล้าหญ้าแฝก

หลังจากเก็บดินทั้ง 2 ชุดแล้ว นำดินมาผึ่งให้แห้งในที่ร่ม เก็บเศษสิ่งปลอมปนออกให้หมด วัดค่า pH ในทุกชุดดินแล้วปรับค่าให้ได้ 7.0 โดยการหาปริมาณความต้องการปูนของดิน หลังจากนั้นชั่งดินใส่กระถาง ๆ ละ 8 กิโลกรัม รดน้ำแต่ละกระถางให้อยู่ในระดับไม่ต่ำกว่าความชื้นสนาม (field capacity) หลังจากนั้นย้ายกล้าหญ้าแฝกที่เพาะในถุงพลาสติกอายุ 30 วัน (ตัดรากยาว 5 เซนติเมตร สูง 20 เซนติเมตร) มาปลูกในกระถางทดลอง โดยปลูกหญ้าแฝกแต่ละสายพันธุ์ 4 ต้น/กระถาง สำหรับการทดสอบกับดินที่มีการปนเปื้อนจริงนั้นเลือกสายพันธุ์หญ้าแฝกที่ดูดซึมแคดเมียมได้ดีที่สุดมาปลูกในดินจากแร่กระถางละ 1 ต้น สำหรับปริมาณแคดเมียมที่พืชแต่ละชนิดดูดซึมแต่ละช่วงการเจริญเติบโต คำนวณโดยใช้ปริมาณแคดเมียมที่ลดลง / น้ำหนักแห้งพืชทดลอง จะได้ปริมาณที่ถูกดูดซึมต่อหนึ่งหน่วยพืชเท่ากันในทุกกระถาง

## 2.3 การเตรียมสารละลายแคดเมียม

### 2.3.1 เตรียม stock สารละลายแคดเมียม 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร

เตรียม stock 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร ในปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร จาก  $\text{CdCl}_2 \cdot 2.5\text{H}_2\text{O}$  ซึ่งมีมวลโมเลกุล เท่ากับ 228.35 โดยชั่งแคดเมียมคลอไรด์ จำนวน 2.0316 กรัม ใส่ในขวดวัดปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร ซึ่งมีน้ำกลั่นปราศจากไอออน (diionized water) 500 มิลลิลิตร เขย่าให้ละลายจนหมดแล้วปรับปริมาตรให้ได้ 1,000 มิลลิลิตร

### 2.3.2 เตรียมสารละลายแคดเมียมที่ความเข้มข้น 10 และ 20 มิลลิกรัมต่อลิตร

ดูดสารละลายแคดเมียมจาก stock สารละลายแคดเมียม 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร มา 80 และ 160 มิลลิลิตร ใส่ในแต่ละกระถางที่มีดินอยู่ 8 กิโลกรัม หลังจากคลุกกับดินแล้ว (ใช้น้ำกลั่น diionized water) จะมีแคดเมียมในแต่ละกระถางเท่ากับ 10 และ 20 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่วนความเข้มข้น 0 มิลลิกรัมต่อลิตร นั้นไม่ต้องเติมสารละลายแคดเมียม

## 2.4 ระหว่างทำการทดลอง

วิเคราะห์เพื่อหาแคดเมียมในดินทดลองทุกวันที่ 30 ของเดือน จนถึงช่วงอายุ 120 วันของการปลูกหญ้าแฝก ทำการเก็บตัวอย่างดินในกระถางที่ปลูกหญ้าแฝกสายพันธุ์ต่าง ๆ แบบสุ่มโดยใช้ส่วนเจาะดินลงไป 2 ระดับความลึก คือ 10 และ 20 เซนติเมตรของกระถาง ได้ตัวอย่างดินประมาณ 10 กรัม/ระดับความลึก (180 ตัวอย่างดินต่อการเก็บ 1 ครั้ง) นอกจากนี้ยังเก็บตัวอย่างรากและใบของหญ้าแฝกทุกๆ เดือนพร้อมกันไปด้วย (180 ตัวอย่างต่อการเก็บ 1 ครั้ง) นำตัวอย่างดินไปผึ่งให้แห้งในร่มก่อนนำมาร่อนด้วยตะแกรงขนาด 2 มิลลิเมตร แล้วนำไปทำการวิเคราะห์หาปริมาณแคดเมียมโดยใช้ Diethylene triamine penta acetic acid (DTPA) สกัดตามวิธีวิเคราะห์ดิน ของกรมวิชาการเกษตร 2536 ส่วนตัวอย่างรากและใบก็นำไปหาแคดเมียมพร้อมกันไปด้วย

## 2.5 การดูแลรักษา

เช่น การพ่นยาป้องกันศัตรูพืช การใส่ปุ๋ย การกำจัดวัชพืช จะปฏิบัติตามคำแนะนำ สำหรับการปลูกพืชโดยทั่วไป ส่วนการให้น้ำจะให้โดยรักษาระดับความชื้นไว้ที่ความจุความชื้น สนามทดลองการทดลอง

## 2.6 การเก็บข้อมูลพืชและวิเคราะห์ตัวอย่างพืช

การเจริญเติบโตของพืช วัดน้ำหนักแห้งใบต่อต้น น้ำหนักแห้งรากต่อต้นและความสูง โดยบันทึกข้อมูลทุกเดือนตลอดการทดลอง ส่วนการเก็บตัวอย่างรากและใบมาวิเคราะห์แคดเมียมมีรายละเอียดดังนี้

1. เก็บตัวอย่างใบ โดยเลือกเก็บจากทุกทิศรอบทรงพุ่ม เพื่อลดความแปรปรวนจากตำแหน่งของพืช และเก็บใบที่เพิ่งจะเจริญเติบโตเต็มที่ ไม่อ่อนหรือแก่จนเกินไป
2. เก็บตัวอย่างราก เลือกเก็บรากทั้งหมด ถ้ามีสารปนเปื้อนเกาะติดอยู่ ล้างออกให้สะอาดด้วยการจุ่มตัวอย่างลงในสารละลายกรดเกลือที่เจือจาง ความเข้มข้นประมาณ 0.1 นอร์มอล และล้างด้วยน้ำกลั่นอีก 2 ครั้ง ผึ่งให้แห้งในที่ร่มก่อนที่จะนำเข้าตู้อบ
3. บรรจุตัวอย่างพืชในถุงกระดาษ อบที่อุณหภูมิ 80 °C จนกระทั่งแห้งสนิท ใช้เวลาประมาณ 48 ถึง 72 ชั่วโมง นำออกจากตู้อบวางทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง ใช้เวลาประมาณ 30 ถึง 60 นาที เมื่อเย็นทำการชั่งน้ำหนักแห้งใบและราก

## 3. การวิเคราะห์ข้อมูล

### 3.1 การวิเคราะห์ดิน

หลังจากเก็บตัวอย่างดินมาแล้วนำตัวอย่างดินไปวิเคราะห์หาแคดเมียม อ่านค่าโดยใช้เครื่อง Atomic Absorption Spectrophotometer (AAS) ของ GBC Avanta V.33 Flame System ใช้ความยาวคลื่น 228.8 นาโนเมตร ณ ห้องปฏิบัติการภาควิทยาศาสตร์พายัพธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร

#### 3.1.1 การวิเคราะห์เนื้อดิน (soil texture)

วิเคราะห์กลุ่มขนาดอนุภาคดินโดยวิธี Hydrometer (Gee & Baudr, 1986) ใช้ hydrogen peroxide ( $H_2O_2$ ) เป็นสารกำจัดอินทรีย์วัตถุ (รายละเอียดภาคผนวกหน้า 70)

#### 3.1.2 การวัดความเป็นกรด – ด่างของดิน

วัดความเป็นกรด – ด่างของดิน โดยเครื่อง pH meter ยี่ห้อ Mettler Toledo รุ่น MPC 227 ของดิน ใช้อัตราส่วนดิน : น้ำกลั่น เท่ากับ 1:1 แล้ววัดด้วย Glass Electrode (Malean, 1982) (รายละเอียดภาคผนวกหน้า 78)

#### 3.1.3 การวิเคราะห์อินทรีย์วัตถุในดิน

วิเคราะห์หาอินทรีย์วัตถุในดิน ตามวิธีของ Walkley and Black โดยใช้  $K_2Cr_2O_7$ - $H_2SO_4$  เป็นตัวย่อยสลายสารอินทรีย์คาร์บอนแล้วไตเตรตด้วย  $Fe_2SO_4$  (Black, 1965) อินทรีย์วัตถุคำนวณโดยคูณร้อยละของอินทรีย์คาร์บอนด้วย 1.724 (รายละเอียดภาคผนวกหน้า 78)

### 3.1.4 การวิเคราะห์หาความจุในการแลกเปลี่ยนประจุบวกของดิน

วิเคราะห์หาความจุในการแลกเปลี่ยนประจุบวกโดยใช้ ammonium acetate เป็นตัวไล้ที่ประจุบวก (รายละเอียดภาคผนวกหน้า 80)

### 3.1.5 การวิเคราะห์หาแคดเมียมในดิน

วิเคราะห์หาแคดเมียมในดินโดยใช้ Diethylene Triamine Penta Acitic Acid (DTPA)เป็นตัวสกัด (Page, Miller & Keeney, 1982) (รายละเอียดภาคผนวกหน้า 84)  
ผลของการวิเคราะห์ดินแสดงรายละเอียดดังตาราง 1



ตาราง 1 สมบัติทางกายภาพและเคมีของชุดดินท่าเรือ อุบลและดินกากแร่ที่ใช้ในการทดลอง

สมบัติของดิน	ชุดดินท่าเรือ	ชุดดินอุบล	ดินกากแร่หลังบำบัด
pH	6.23	5.36	7.8
Texture	clay	sand	silt loam
Sand (%)	10.3	81.4	40
Silt (%)	38.1	15.6	58
Clay (%)	51.6	3.0	2
Organic matter (%)	3.53	0.98	0.45
C.E.C (cmole <sub>(+)</sub> kg <sup>-1</sup> )	24.6	1.8	1.3
Nitrogen (%)	0.18	0.03	0.01
Available P (mg kg <sup>-1</sup> )	7.66	5.75	36
Extractable K (mg kg <sup>-1</sup> )	110.27	13.02	65
Extractable Ca (mg kg <sup>-1</sup> )	1,107.35	108.79	2,148
Extractable Mg (mg kg <sup>-1</sup> )	44.81	8.82	300
Cd (mg kg <sup>-1</sup> )	ND	ND	152

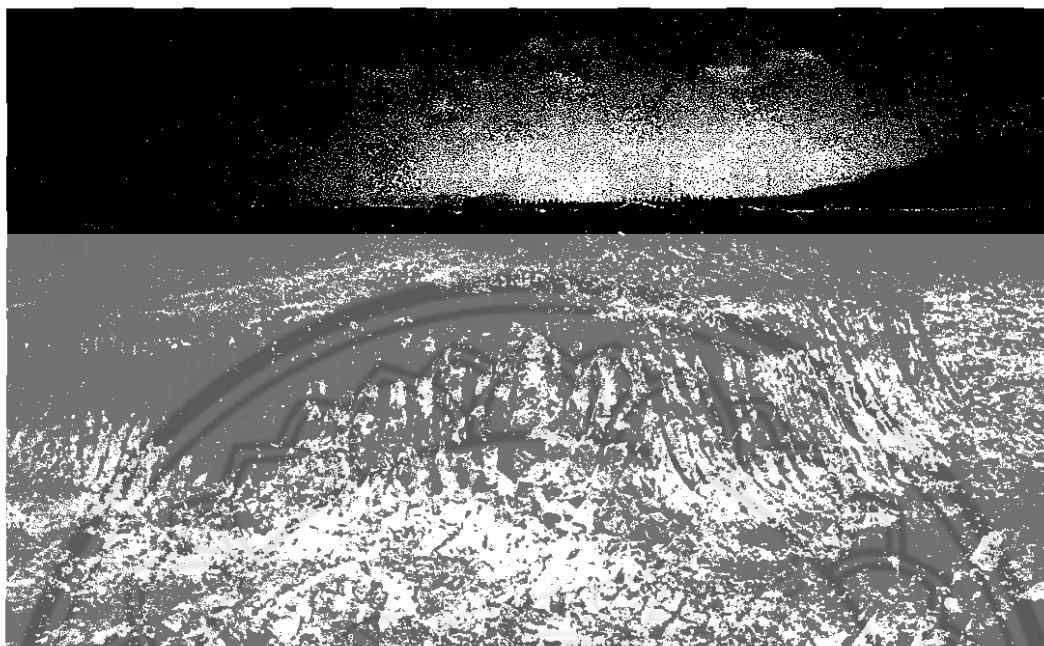
ND : ไม่สามารถตรวจวัดได้เนื่องจากมีปริมาณน้อยมาก

ชุดดินท่าเรือ (Tr : aquentic chromurators ; very – find, montmollionite) เป็นชุดดินที่มีเนื้อดินเป็นพวกดินเหนียว มีกลุ่มอนุภาคดินเหนียว 51.6 เปอร์เซ็นต์ ค่า pH 6.23 อินทรีย์วัตถุ 3.53 เปอร์เซ็นต์ ความจุในการแลกเปลี่ยนประจุบวก 24.6 cmole<sub>(+)</sub>kg<sup>-1</sup>

ชุดดินอุบล (Ub : aquic quartzipsaments) ลักษณะเนื้อดินเป็นทรายจัด ดินบนเป็นดินร่วนทราย (loamy sand) เป็นชุดดินที่มีเนื้อดินเป็นพวกดินทราย มีกลุ่มอนุภาคทราย 81.4 เปอร์เซ็นต์ ค่า pH 5.36 อินทรีย์วัตถุ 0.98 เปอร์เซ็นต์ ความจุในการแลกเปลี่ยนประจุบวก 1.8 cmole<sub>(+)</sub>kg<sup>-1</sup>

ดินกากแร่หลังบำบัด จากโรงถลุงแร่สังกะสี เป็นดินที่มีเนื้อดินเป็นพวก ดินร่วนปนทรายแป้ง มีกลุ่มอนุภาคของทราย 40 เปอร์เซ็นต์ และกลุ่มอนุภาคทรายแป้ง 58 เปอร์เซ็นต์ ค่า pH 7.8 อินทรีย์วัตถุ 0.45 เปอร์เซ็นต์ ความจุในการแลกเปลี่ยนประจุบวก 1.3 cmole<sub>(+)</sub>kg<sup>-1</sup>





ภาพ 2 ดินกากแร่หลังบำบัด จากโรงถลุงสังกะสี บริษัท ผาแดงอินดัสทรี จำกัด  
อำเภอเมือง จังหวัดตาก

### 3.2 การวิเคราะห์พืช

เก็บตัวอย่างพืชแต่ละชนิดในระยะเวลาเดียวกันกับการเก็บตัวอย่างดิน แยกส่วนของราก (root) และส่วนของลำต้นเหนือดิน (shoot) นำไปอบที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส จนแห้ง แล้วนำไปบดให้ละเอียด นำไปวิเคราะห์หาแคดเมียมที่สะสมในพืช ใช้ตัวอย่างพืชอบแห้งแล้ว 0.5 กรัมย่อยด้วยกรดผสม  $\text{HNO}_3$  :  $\text{HClO}_4$  อัตราส่วน 4 : 1 โดยปริมาตร แล้วนำไปหาแคดเมียมด้วยเครื่อง AAS ก่อนปลูกหญ้าแฝกในกระถางทำการวิเคราะห์แคดเมียมในหญ้าแฝก ซึ่งน้ำหนักสด วัดความสูง เพื่อเป็นข้อมูลเบื้องต้นก่อนทำการทดลอง

### 4. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS Version 10.00 ในการวิเคราะห์ข้อมูล โดยการวิเคราะห์หาความแปรปรวนสองทางของค่าเฉลี่ย (Two-Way ANOVA) เพื่อหาความแตกต่างของปริมาณโลหะหนักในดินและพืชแต่ละชนิด ทดสอบหาความแตกต่างของแต่ละ Treatment โดยใช้วิธีของ Duncan's new multiple range test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

## 5. สถานที่ในการทำวิจัย

1. ภาควิชาวิทยาศาสตร์การเกษตร และ ภาควิชาทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม คณะเกษตรศาสตร์ ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยนเรศวร จังหวัดพิษณุโลก

2. แปลงทดลองภาควิชาทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม

## 6. ระยะเวลาในการทำวิจัย

มกราคม - สิงหาคม 2547

