บทที่ 3
วิธีการศึกษา

3.1 อุปกรณ์และเครื่องมือ

3.1.1 อุปกรณ์เก็บตัวอย่าง

1. แผนที่ภูมิประเทศมาตราส่วน 1:50,000 ชุดที่L7018 ระวาง 4742 III (กรมแผนที่ทหาร, 2545)
2. เครื่องวัดพิกัดภูมิศาสตร์ภาคพื้นดิน (GPS Color TRAK, Magellan)
3. จอบ และเสียม
4. ถุงพลาสติก

3.1.2 สารเคมี

1. กรดไนตริก (HNO_3)
2. กรดเปอร์คลอริค ($HCLO_4$)
3. กรดซัลฟูริค (H_2SO_4)
4. กรดอะซิติค (CH_3COOH)
5. ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2)
6. ไดเอทธิลีนไตรอมีนเพนตะอะซิติคเอซิค (DTPA, $C_{14}H_{23}N_3O_{10}$)
7. ไตรเอทธาโนลามีน (TEA, $N(CH_2CH_2OH)_3$)
8. แคลเซียมคลอไรด์ ไดไฮเดรท ($CaCl_2.2H_2O$)
9. แอมโมเนียมอะซิเตท (NH_4OAc)
10. โซเดียมคลอไรด์ (NaCl)
11. โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH)
12. เฟอร์รัสซัลเฟต ($FeSO_4.7H_2O$)
13. 1,10-ฟีแนนโธรลีน โมโนไฮเดรท ($C_5H_3NCH:CHOH_5N.H_2O$)
14. โพแทสเซียมไดโครเมต ($K_2Cr_2O_7$)
15. ไฮดร็อกซี่ลามีนไฮโดรคลอไรด์ ($NH_2OH.HCL$)
16. แอลกอฮอล 95 % (Alcolhol 95%)

3.1.3 เครื่องแก้ว

1. ขวดปรับปริมาตร ขนาด 50, 500, 1,000 และ 2,000 มิลลิลิตร (volumetric flask)
2. ขวดรูปชมพู่ ขนาด 125 มิลลิลิตร (erlenmeyer flask)
3. บีกเกอร์ ขนาด 100, 500 และ 1,000 มิลลิลิตร (beaker)
4. กรวยกรอง (funnel)
5. หลอดทดลองขนาด 15 มิลลิลิตร (test tube)
6. หลอดปั่นเหวี่ยง ขนาด 50 มิลลิลิตร (centrifuge tube)
7. ไปเปตอัตโนมัติ ขนาด 1, 5 และ 10 มิลลิลิตร (auto pipett)

3.1.4 เครื่องมือ

1. เครื่องชั่งละเอียด 4 ตำแหน่ง (balance meter, Precisa BJ 1000C)
2. เครื่องเขย่า (shaker, GFL 3016)
3. เครื่องปั่นเหวี่ยง (centrifuges, Sigma 4-15)
4. ฮอท เพลท (hot plate, Jenway 1100)
5. อ่างน้ำร้อน (water bath, Memert WB 22)
6. เครื่องวัดพีเอช (pH meter, Mettler Toledo LP115)
7. เครื่องกลั่นไนโตรเจน (Kjeltec Auto Distillation 2200)
8. เครื่องย่อยสลายด้วยวิธีไมโครเวฟ (microwave digester, CEM Mars 5)
9. เครื่องอะตอมมิค แอบซอร์บชัน สเปคโตรโฟโตมิเตอร์ (Atomic Absorption Spectrophotometer, Perkin Elmer AAnalyst 200)

3.2 วิธีการศึกษา

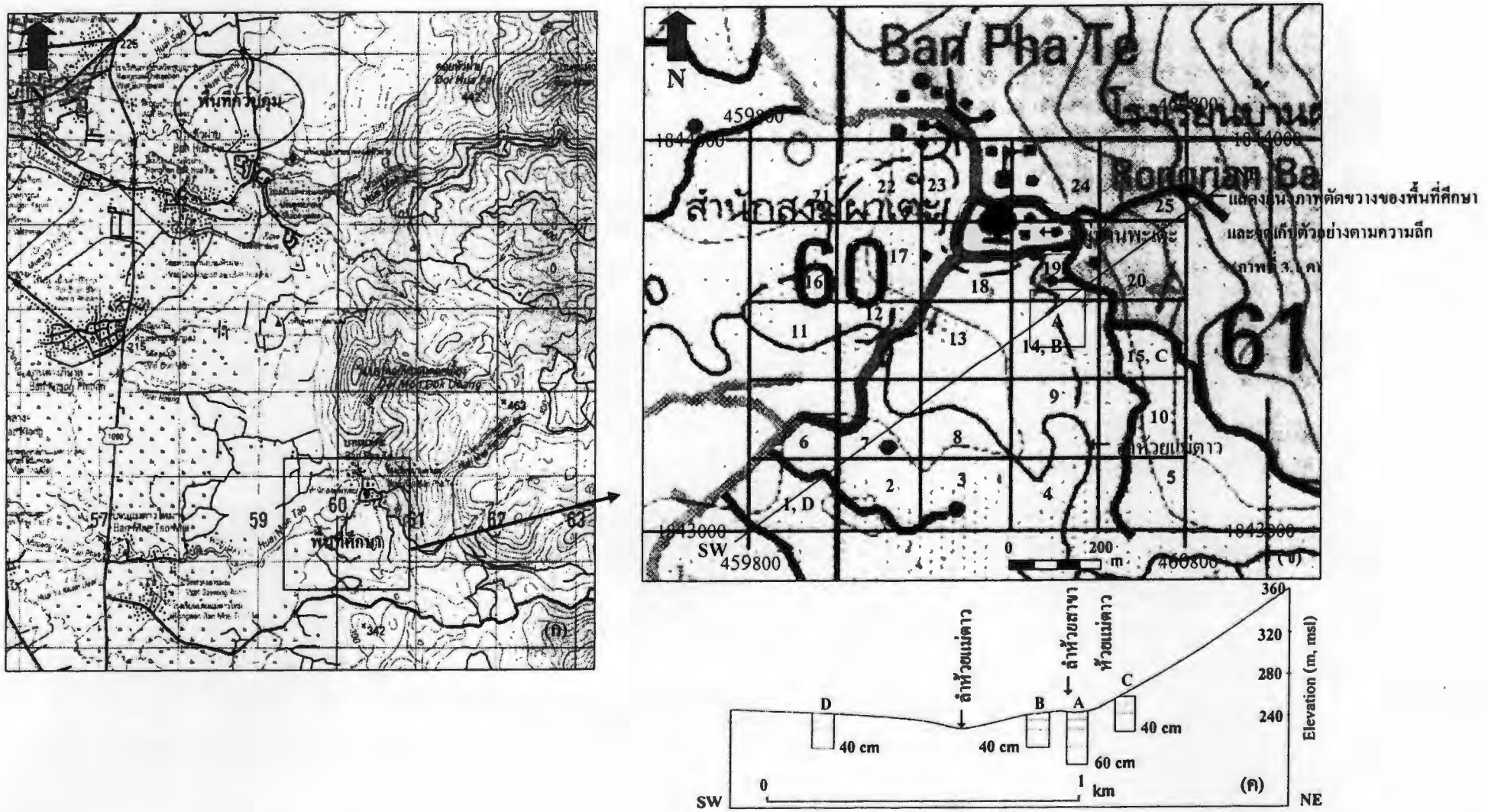
1. เก็บตัวอย่างดินแบบกริด ทุก 200 เมตรครอบคลุมพื้นที่ 1 ตารางกิโลเมตรของพื้นที่บ้านพะเต๊ะ อำเภอแม่สอด จังหวัดตาก (ภาพที่ 3.1 ก) ที่ระดับความลึก 0-20 เซนติเมตร รวมทั้งหมด 25 จุด (ภาพที่ 3.1 ข) โดยใช้เส้นชั้นความสูง (contour line) และลักษณะที่ปรากฏจริงหรือความต่างระดับขนาดเล็ก (micro relief) ในพื้นที่เก็บตัวอย่างเป็นเกณฑ์ในการแบ่งกลุ่มตัวอย่าง (ภาพที่ 3.1 ค) ซึ่งประกอบด้วย

1.1 พื้นที่ลุ่ม ประกอบด้วยจุดเก็บตัวอย่างที่ 9, 11, 12, 13, 14, 16, 17, 18, 19, 21, 22 และ 23

1.2 พื้นที่ดอน ประกอบด้วยจุดเก็บตัวอย่างที่ 1, 5, 6, 7, 10 และ 15

1.3 พื้นที่ดอนน้ำขัง ประกอบด้วยจุดเก็บตัวอย่างที่ 2, 3, 4 และ 8

1.4 พื้นที่ป่า ประกอบด้วยจุดเก็บตัวอย่างที่ 20, 24 และ 25



ภาพที่ 3.1 แผนที่แสดงที่ตั้งหมู่บ้านพะเด๊ะ และพื้นที่เก็บตัวอย่างดินควบคุม (ก) จุดเก็บตัวอย่างดินที่ระดับความลึก 0-20 เซนติเมตร จุดที่ 1-25 และจุดเก็บตัวอย่างดินตามความลึก A ถึง D (ข) และภาพตัดขวางของพื้นที่ศึกษา และจุดเก็บตัวอย่างดินตามความลึก (ค) ซึ่งอัตราส่วนตามความลึกของจุดเก็บตัวอย่างขยายเกินจริง

ที่มา: ดัดแปลงจาก แผนที่ภูมิประเทศ มาตราส่วน 1:50,000 ชุดที่ L7018 ระวาง 4742 III อำเภอแม่สอด กรมแผนที่ทหาร (2545)

2. เก็บตัวอย่างดินตามความลึกเพื่อเป็นตัวแทนของที่ลุ่ม ที่ดอน และตะกอนลำห้วย (ภาพที่ 3.1 ข และ ค) โดยใช้กระบอกพีวีซี ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 1.5 นิ้ว แบ่งตัวอย่างดินในท่อพีวีซีตามความลึก 0-10, 10-20, 20-40 และ 40-60 เซนติเมตร จำนวน 4 จุด โดยจำนวนตัวอย่างอาจน้อยกว่านี้ขึ้นอยู่กับความแข็งของแต่ละจุดที่เก็บตัวอย่าง จุดที่เก็บตัวอย่างตามความลึกประกอบด้วยจุดต่างๆ ดังนี้

2.1 พื้นที่ควบคุม

2.2 ดินตะกอนลำห้วย (A)

2.3 พื้นที่ลุ่มติดกับลำห้วย (B)

2.4 พื้นที่ดอนฝั่งขวาของลำห้วย (C)

2.5 พื้นที่ดอนฝั่งซ้ายของลำห้วย (D)

3. เก็บดินบริเวณอ่างเก็บน้ำแม่สอด ตำบลแม่พระธาตุผาแดง อำเภอแม่สอด จังหวัดตาก ห่างจากบ้านพะเด๊ะไปทางทิศเหนือประมาณ 7 กิโลเมตร (ภาพที่ 3.1 ก) เพื่อใช้เป็นตัวอย่างดินควบคุม โดยเก็บตัวอย่างดินที่ระดับผิวดิน (0-20 เซนติเมตร) 3 จุด และเก็บที่ระดับความลึก 0-10, 10-20 และ 20-40 เซนติเมตร 1 จุด

4. ผึ่งตัวอย่างดินให้แห้ง แยกกรวด หินและเศษหญ้าออก บดด้วยโกร่งเซรามิค ร่อนผ่านตะแกรงขนาด 2 มิลลิเมตร เก็บตัวอย่างดินในถุงพลาสติกปิดให้สนิทเพื่อนำไปวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ

5. การวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ

5.1 วิเคราะห์สมบัติทางกายภาพและเคมีของดิน ดังพารามิเตอร์ในตารางที่ 3.1

5.2 วิเคราะห์ส่วนประกอบทางเคมี (chemical fractionation) ของแคดเมียมและสังกะสี (Salbu, Krekling และ Oughton, 1998) ดังพารามิเตอร์ในตารางที่ 3.2 สารละลายที่ได้นำไปวัดหาปริมาณแคดเมียมและสังกะสีด้วยเครื่องอะตอมมิค แอบซอร์บชัน สเปคโตรโฟโตมิเตอร์

ตารางที่ 3.1 พารามิเตอร์และวิธีวิเคราะห์สมบัติทางกายภาพและทางเคมีของดิน

พารามิเตอร์	วิธีวิเคราะห์
1. เนื้อดิน (Soil Texture)	Pipette method (Gee และ Bauder, 1986)
2. ความเป็นกรดด่างของดิน (pH)	Glass electrode method (ดิน : น้ำกลั่น = 1 : 5) (IITA, 1979)
3. อินทรียวัตถุ (Organic Matter Content)	Walkley and Black wet combustion (Nelson และ Sommers, 1982)
4. ความจุในการแลกเปลี่ยนประจุบวก (Cation Exchange Capacity)	1.0 M NH_4OAc pH 7.0 (IITA, 1979)
5. ปริมาณแคดเมียมและสังกะสีที่พืชนำไปใช้ได้ (Available Cadmium and Zinc)	0.005 M DTPA pH 7.3 (Baker และ Amacher, 1982), (AAS)
6. ปริมาณแคดเมียมและสังกะสีทั้งหมด (Total Cadmium and Zinc)	HNO_3 : $HClO_4$ (2 : 1) (Baker และ Amacher, 1982), (AAS)

5.3 ทดลองหาช่วงพีเอชที่เหมาะสมต่อการละลายของแคดเมียมและสังกะสีในดิน โดยเลือกเอาตัวอย่างที่มีปริมาณแคดเมียมและสังกะสีทั้งหมดที่สูงที่สุดมาทดลอง ชั่งตัวอย่างดิน 2 กรัม เติมน้ำกลั่น 20 มิลลิลิตร แล้วปรับค่าพีเอชของสารละลายดินให้ได้เท่ากับ 3.0, 4.0, 5.0, 6.0, 7.0, 8.0 และ 9.0 ด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริค และสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ตั้งทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง เขย่าด้วยเครื่องเขย่าความเร็ว 150 รอบต่อนาที เป็นเวลา 1 ชั่วโมง กรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 นำสารละลายที่ได้ไปวิเคราะห์หาปริมาณแคดเมียมและสังกะสีด้วยเครื่องอะตอมมิคแอบซอร์บชัน สเปคโตรโฟโตมิเตอร์ (Impellitteri และคณะ, 2002)

3.3 การวิเคราะห์ข้อมูล

หาความสัมพันธ์เชิงเส้น (linear regression; R^2) ระหว่าง

1. สมบัติของดินกับปริมาณแคดเมียมและสังกะสีทั้งหมด
2. สมบัติของดินกับปริมาณแคดเมียมและสังกะสีที่พืชดูดดึงได้
3. ปริมาณแคดเมียมทั้งหมดกับปริมาณสังกะสีทั้งหมด
4. ปริมาณแคดเมียมทั้งหมดกับปริมาณแคดเมียมที่พืชดูดดึงได้ และปริมาณสังกะสีทั้งหมดกับปริมาณสังกะสีที่พืชดูดดึงได้
5. ปริมาณแคดเมียมที่พืชดูดดึงได้กับส่วนประกอบทางเคมีของแคดเมียม และสังกะสีที่พืชดูดดึงได้กับส่วนประกอบทางเคมีของสังกะสี

I 2166353

ตารางที่ 3.2 การวิเคราะห์ส่วนประกอบของแคดเมียมและสังกะสี

ส่วนประกอบทางเคมี	สารสกัด	วิธีสกัด	
		เขย่า (shaking)	เหวี่ยง (centrifuge)
1. ส่วนที่ละลายน้ำได้ (Water soluble fractions; Wsol.)	Deionized water	1 ชั่วโมงที่ 25 องศาเซลเซียส	10,000 รอบต่อนาที เวลา 30 นาที
2. ส่วนที่สามารถแลกเปลี่ยนได้ (Exchangeable fractions; Exch.)	1.0 M NH_4OAc pH 7.0	1 ชั่วโมงที่ 25 องศาเซลเซียส	10,000 รอบต่อนาที เวลา 30 นาที
3. ส่วนที่ถูกดูดยึดด้วยคาร์บอเนต (Carbonate fractions; Carbo.)	1.0 M NH_4OAc pH 5.0	2 ชั่วโมงที่ 25 องศาเซลเซียส	10,000 รอบต่อนาที เวลา 30 นาที
4. ส่วนที่ถูกดูดยึดด้วยออกไซด์ของเหล็กและแมงกานีส (Fe - Mn oxides fractions: Fe&Mn.)	0.04 M $NH_2OH.HCl$ in 25 % (v/v) HOAc (pH 3.0)	6 ชั่วโมงที่ 80 องศาเซลเซียส	10,000 รอบต่อนาที เวลา 30 นาที
5. ส่วนที่ถูกดูดซับด้วยอินทรียสาร (Organic fractions; Org.)	30 % H_2O_2 (pH 2.0) in 3.2 M NH_4OAc in 20 % (v/v) HNO_3	5.5 ชั่วโมงที่ 80 องศาเซลเซียส และ 0.5 ชั่วโมงที่ 25 องศาเซลเซียส	10,000 รอบต่อนาที เวลา 30 นาที
6. ส่วนที่คงเหลือในดิน (Residual fractions; Res.)	7.0 M HNO_3	6 ชั่วโมงที่ 80 องศาเซลเซียส	กรอง