

วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการดำเนินการทดลอง

3.1 วัสดุอุปกรณ์และสารเคมี

3.1.1 วัสดุอุปกรณ์และสารเคมีสำหรับการทดลองปลูกพืชบนดินหางแร่

- หางแร่ตะกั่วจากแร่เซอร์ไรต์ ในรูปสารประกอบ $PbCO_3$, ความเข้มข้นประมาณ 6.5% จากเหมืองแร่ตะกั่วจังหวัดกาญจนบุรี
- หางแร่สังกะสีจากแร่เฮมิมอร์ไฟต์ ในรูปสารประกอบ $Zn_4Si_2O_7(OH)_2 \cdot (H_2O)$ ความเข้มข้นประมาณ 9 % จากเหมืองแร่สังกะสีจังหวัดตาก
- หญ้าแฝกพันธุ์ลู่มสายสุราษฎร์ธานี (*Vetiveria Zizanioides*)
- ดินทรายสำหรับผสมเพื่อปรับความเข้มข้นของหางแร่
- ปุ๋ยอินทรีย์ ชนิดปุ๋ยคอก
- ปุ๋ยเคมี ชนิด 15-15-15 (N-P-K)
- ถังพลาสติกเพาะพันธุ์แฝก
- กระถางพลาสติกสำหรับปลูกแฝกบนดินทดลอง
- อุปกรณ์ทำสวน เช่น กรรไกร พลั่ว จอบ ส้อมพรวนดิน ฯลฯ
- เครื่องบดหยาบ ชนิด Jaw crusher
- เครื่องบดหยาบ ชนิด Roll crusher
- ตะแกรงร่อนคัดขนาดดิน 1 มม.

3.1.2 วัสดุอุปกรณ์ เครื่องมือและสารเคมีสำหรับการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคการเรืองรังสีเอกซ์

- เครื่องวิเคราะห์การเรืองรังสีเอกซ์แบบ Wavelength dispersive x-ray fluorescence spectrometry (WDX) ยี่ห้อ Philips รุ่น PW2400
- เครื่องบดละเอียดชนิด Vibration pulverizer ยี่ห้อ Herzog
- เครื่องบดละเอียดชนิด Vibration ball mill
- เครื่องอัดตัวอย่างไฮดรอลิก กำลังสูงสุด 25 ตัน
- เครื่องชั่ง ยี่ห้อ Mettler Toledo
- ถ้วยอลูมิเนียมสำหรับใส่ตัวอย่างวิเคราะห์
- สารละลายตะกั่วมาตรฐานเกรดวิเคราะห์ $PbNO_3$ 1000 mg/l ยี่ห้อ Merck

- สารละลายสังกะสีมาตรฐานเกรดวิเคราะห์ ZnO 1000 mg/l ยี่ห้อ Merck
- สารละลายทองแดงมาตรฐานเกรดวิเคราะห์ CuO 1000 mg/l ยี่ห้อ Merck
- สารละลายปรอทมาตรฐานเกรดวิเคราะห์ HgO 1000 mg/l
- ผง BiO มาตรฐานเกรดวิเคราะห์ บริษัท Fluka
- ผง PbO มาตรฐานเกรดวิเคราะห์ บริษัท Fluka
- ผง ZnO มาตรฐานเกรดวิเคราะห์ บริษัท Fluka
- ผง CuO มาตรฐานเกรดวิเคราะห์ บริษัท Fluka
- ผง Boric acid (H_3BO_3)มาตรฐาน บริษัท Merck
- อุปกรณ์ห้องทดลอง เช่น เครื่องแก้ว ไมโครปิเปต ฯลฯ

3.2 วิธีดำเนินการทดลอง

3.2.1 การเตรียมดิน

ขั้นตอนการเตรียมดินทางแร่แต่ละชนิดเพื่อใช้ในการทดลองมีดังนี้

1. ออกแบบแผนการทดลองแบบ 3×2 factorial in CRD มี 4 ซ้ำ โดยมีปัจจัยที่ศึกษา 2 ปัจจัยดังนี้
 - ความเข้มข้นของดินทางแร่ที่ใช้ปลูกแฝกมี 2 ระดับคือ 100% และ 50%
 - ใส่ปุ๋ยในดินที่ใช้ปลูกแฝกแบ่งเป็น ไม่ใส่ปุ๋ย (N, non-fertilizer) ใส่ปุ๋ยอินทรีย์ (O, organic fertilizer) และใส่ปุ๋ยเคมี (C, chemical fertilizer)
2. วิเคราะห์ปริมาณโลหะหนักและวัดค่า ความเป็นกรด-ด่างในดินทางแร่แต่ละชนิดก่อนการทดลอง
3. บดดินทางแร่แต่ละชนิดด้วยเครื่องบดหยาบชนิด Jaw crusher และ Roll crusher หลังจากนั้นนำดินที่ผ่านการบดมาร้อนผ่านตะแกรงร่อนคัดขนาด 1 มม.
4. ผสมดินทางแร่แต่ละชนิดกับดินทรายเพื่อปรับความเข้มข้นของดินทางแร่แต่ละชนิดเป็น 100% และ 50% ตามที่ออกแบบไว้
5. นำดินทางแร่ทั้ง 2 ชนิดที่ผ่านการผสมแล้วไปผึ่งแดดเพื่อกำจัดความชื้น
6. ชั่งดินที่ผึ่งแห้งแล้วใส่กระถางทดลอง กระถางละ 10 กก.

ตารางที่ 3.1 ชุดดินทดลองและเงื่อนไขของชุดดินทดลอง

ชุดดินทดลอง	เงื่อนไขของชุดดินทดลอง
N-50	หางแร่ 50% + ดินทราย 50%
N-100	หางแร่ 100%
O-50	หางแร่ 50% + ดินทราย 50% + ปุ๋ยอินทรีย์ 50 ก.
O-100	หางแร่ 100% + ปุ๋ยอินทรีย์ 50 ก.
C-50	หางแร่ 50% + ดินทราย 50% + ปุ๋ยเคมี 10 ก.
C-100	หางแร่ 100% + ปุ๋ยเคมี 10 ก.

หมายเหตุ N คือ ไม่ใส่ปุ๋ย O คือ ใส่ปุ๋ยอินทรีย์ C คือ ใส่ปุ๋ยเคมี

50 และ 100 คือ ความเข้มข้นของหางแร่ในชุดดินทดลองเท่ากับ 50% และ 100% ตามลำดับ

3.2.2 การปลูกแฝก

1. เพาะพันธุ์แฝกด้วยวิธีแยกหน่อลงปลูกในดินธรรมชาติ เพาะเลี้ยงไว้ให้มีอายุประมาณ 3 เดือน
7. ปลูกแฝกที่มีลักษณะแข็งแรงมีขนาดและปริมาณรากใกล้เคียงกันในกระถางที่มีดินที่เตรียมจากข้อ 3.2.1 กระถางละ 2 ต้น โดยตัดส่วนต้นหรือส่วนพื้นดิน (shoot) ให้มีความสูงประมาณ 20 ซม.
8. ติดตามการเจริญเติบโตของแฝกในสัปดาห์แรก ด้วยการให้น้ำทุกวันและกำจัดเพื่อทำการปลูกใหม่ถ้าพบว่ามีรากตายเกิดขึ้น
9. บันทึกการเจริญเติบโตของแฝกทุก 15 วัน
10. ใส่ปุ๋ยในดินทดลองแต่ละกระถางตามที่ออกแบบเมื่อครบ 30, 60 และ 90 วัน หลังการปลูกแฝก
11. เก็บเกี่ยวแฝกเมื่อครบ 120 วันหลังปลูก โดยตัดแยกส่วนพื้นดินออกจากส่วนราก ล้างทั้งสองส่วนด้วยน้ำสะอาด
12. นำทั้ง 2 ส่วนของแฝกไปอบที่อุณหภูมิ 80 °ซ เป็นเวลา 3 วัน
13. ชั่งน้ำหนักแห้งของต้นและรากแล้วนำไปทำการเตรียมตัวอย่างเพื่อวิเคราะห์หาตะกั่วและสังกะสีที่รากดูดซับด้วยเทคนิคการเรืองรังสีเอกซ์

ในขณะเดียวกันได้ปลูกแฝกเพื่อใช้เป็นตัวควบคุม (control) จำนวน 2 กระถางในดินทรายเพียงอย่างเดียว เพื่อติดตามด้านการเจริญเติบโตและเพื่อใช้เป็นตัวอย่างพืชสำหรับการสร้างกราฟเปรียบเทียบซึ่งต่อไปจะเรียกว่าตัวอย่างพืชมาตรฐานในการวิเคราะห์ปริมาณสังกะสีและตะกั่ว

3.3 การวิเคราะห์หาปริมาณตะกั่วและสังกะสีที่ถูกดูดซับไว้ในต้นและรากแฝกด้วยเทคนิคการเรืองรังสีเอกซ์

3.3.1 การเตรียมตัวอย่างพืชและดิน

ขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างพืชเพื่อการวิเคราะห์ มีดังต่อไปนี้

1. บดตัวอย่างพืชที่ผ่านการอบแห้งแล้วด้วยเครื่องบดละเอียดชนิด Vibration pulverizer หลังจากนั้นร่อนคัดขนาดด้วยตะแกรงขนาด 100 ไมครอน
2. ชั่งตัวอย่างพืชตัวอย่างละ 3 กรัม โดยประมาณ ผสมผง boric acid 10% ของตัวอย่างพืชโดยน้ำหนัก
3. นำทุกตัวอย่างไปอบแห้ง และนำไปบดด้วยเครื่องบดละเอียดชนิด vibration ball mill ประมาณ 10 นาที
4. ตัวอย่างที่ผ่านการบดแล้วนำมาบรรจุลงในถ้วยอลูมิเนียม แล้วนำไปอัดด้วยเครื่องอัดไฮดรอลิก โดยอัดด้วยแรงดัน 20 ตัน
5. ตัวอย่างพืชมาตรฐาน หลังจากผ่านขั้นตอนที่ 1 และ 2 ข้างต้นแล้ว ได้เติมสารละลาย PbNO₃ และ ZnO ชนิดละ 50 มก/กก 100 มก/กก 200 มก/กก 500 มก/กก 1000 มก/กก 2000 มก/กก และ 4000 มก/กก โดยน้ำหนัก ลงในตัวอย่างพืชที่ปลูกบนดินควบคุม ตัวอย่างละ 1 ความเข้มข้น แล้วจึงเข้าสู่ขั้นตอนที่ 3 และ 4 ต่อไป
6. นำตัวอย่างมาตรฐานที่เติมสารมาตรฐานความเข้มข้นต่างๆในข้อ 5 ไปวิเคราะห์ด้วยเครื่องวิเคราะห์ระบบ WDX เพื่อหาปริมาณตะกั่วและสังกะสีและสร้างกราฟเปรียบเทียบ เพื่อใช้วิเคราะห์โลหะตะกั่วและสังกะสีในตัวอย่าง กราฟเปรียบเทียบของโลหะหนักทั้งสองชนิดแสดงดังรูปที่ 3.1 และ 3.2
7. นำตัวอย่างที่ผ่านขั้นตอนข้อ 1 ถึง 4 ไปนับอัตราความเข้มของรังสีเอกซ์เรืองด้วยเครื่องวิเคราะห์ระบบ WDX จากนั้นนำความเข้มขั้นสเปกตรัมรังสีเอกซ์เรืองที่วัดได้มาคำนวณหาความเข้มขั้นของสังกะสีและตะกั่วโดยใช้กราฟเปรียบเทียบที่เตรียมขึ้นจากข้อ 6 โดยตะกั่ววัดความเข้มรังสีเอกซ์เฉพาะตัว L_β ส่วนสังกะสีวัดความเข้มรังสีเอกซ์เฉพาะตัว K_α

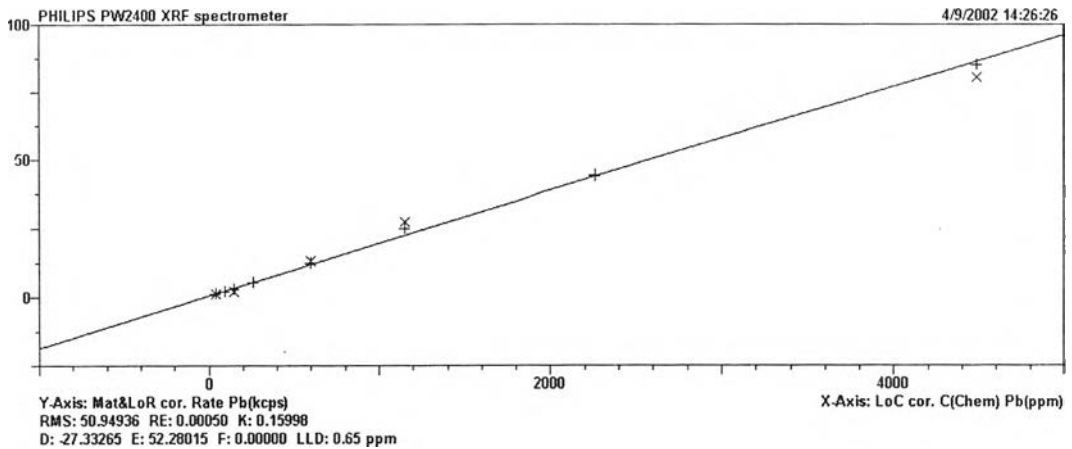
3.3.2 การเลือกเทคนิควิเคราะห์เชิงปริมาณ

เนื่องจากตัวอย่างพืชที่ปลูกบนดินควบคุม (control) ได้ถูกนำมาใช้เป็นตัวอย่างพืชมาตรฐานในการสร้างกราฟปรับเทียบ (calibration curve) จึงต้องทำการวิเคราะห์หาปริมาณตะกั่วและสังกะสีที่ถูกต้องซ้ำในแฟลกก่อนโดยใช้วิธีเติมสารละลายมาตรฐาน (standard addition) ลงในตัวอย่างพืชที่ได้จากการปลูกบนดินควบคุม ผลวิเคราะห์ที่ได้ไม่พบตะกั่วแต่พบสังกะสีในปริมาณ 40 มก/กก หลังจากนั้นได้สุ่มตัวอย่าง 2-3 ตัวอย่างต่อชุดทดลองมาทำการวิเคราะห์เปรียบเทียบระหว่างเทคนิคการใช้กราฟปรับเทียบ กับ เทคนิคการเติมธาตุข้างเคียง (internal standardization) ซึ่งสารมาตรฐานที่เติมในตัวอย่างพืชคือ สารละลาย HgO เกรดวิเคราะห์สำหรับวิเคราะห์ตะกั่ว และ สารละลาย CuO เกรดวิเคราะห์สำหรับวิเคราะห์สังกะสี ซึ่งพบว่าปริมาณความเข้มข้นของโลหะหนักทั้งสองในตัวอย่างพืชที่ได้จากการวิเคราะห์ทั้งสองวิธีมีค่าใกล้เคียงกัน ดังแสดงผลในตาราง 3.2 ดังนั้นในการทดลองจึงเลือกใช้วิธีการสร้างปรับเทียบเนื่องจากเป็นวิธีที่สะดวกในแง่ของปริมาณตัวอย่างที่ใช้ และรวดเร็วกว่า ทั้งยังมีข้อผิดพลาดในการเตรียมตัวอย่างน้อย

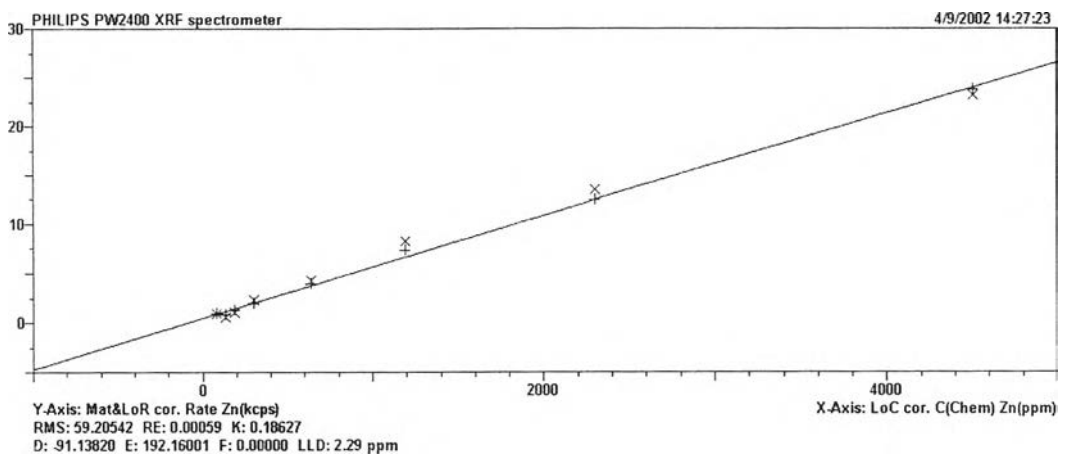
ตาราง 3.2 ผลวิเคราะห์ความเข้มข้นตะกั่วและสังกะสีที่ได้จากการใช้เทคนิควิเคราะห์ต่างกัน

ตัวอย่าง	เทคนิคที่ใช้	
	Calibration curve (mg/kg)	Internal standard (mg/kg)
Pb C-50 L - 1	74.15	79.33
Pb C-50 L - 2	63.37	52.32
Pb C-50 L - 3	68.94	64.73
Pb O-50 L - 1	131.82	116.85
Pb O-50 L - 2	131.26	122.23

นอกจากนี้ผลการวิเคราะห์ที่ได้ในตาราง 3.2 ยังแสดงว่าตัวอย่างพืชที่เตรียมขึ้นมีความเป็นเนื้อเดียวกันหรือมีความสม่ำเสมอ (homogeneous) ในตัวอย่างที่ใช้วิเคราะห์ ดังนั้นจึงอาจกล่าวได้ว่าในตัวอย่างพืชที่มีปริมาณน้อยสามารถสุ่มตัวอย่างมาวิเคราะห์เพียง 1 ตัวอย่างได้ ทั้งนี้เนื่องจากค่าที่วัดได้จากการสุ่มตัวอย่าง 2-3 ตัวอย่างในตาราง 3.2 ให้ผลการวิเคราะห์ใกล้เคียงกัน



รูปที่ 3.1 กราฟเปรียบเทียบเพื่อวิเคราะห์ปริมาณตะกั่ว



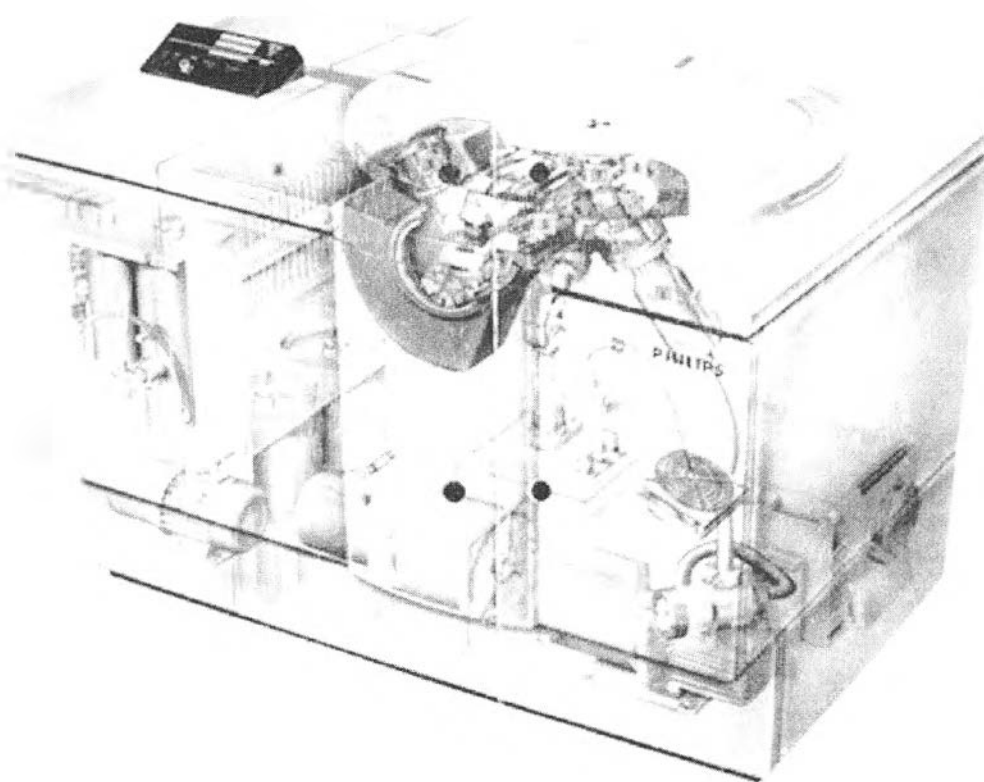
รูปที่ 3.2 กราฟเปรียบเทียบเพื่อวิเคราะห์ปริมาณสังกะสี

ในการเตรียมตัวอย่างดินมีขั้นตอนการบดอัดและเครื่องมือการเตรียมตัวอย่างเหมือนการเตรียมตัวอย่างพืช ในการวิเคราะห์ปริมาณตะกั่วและสังกะสีตกค้างในดิน โปรแกรม SuperQ ได้ถูกใช้ประกอบการวิเคราะห์เพื่อความรวดเร็ว และเทคนิค internal standardization ได้ถูกใช้เป็นเทคนิคเปรียบเทียบ

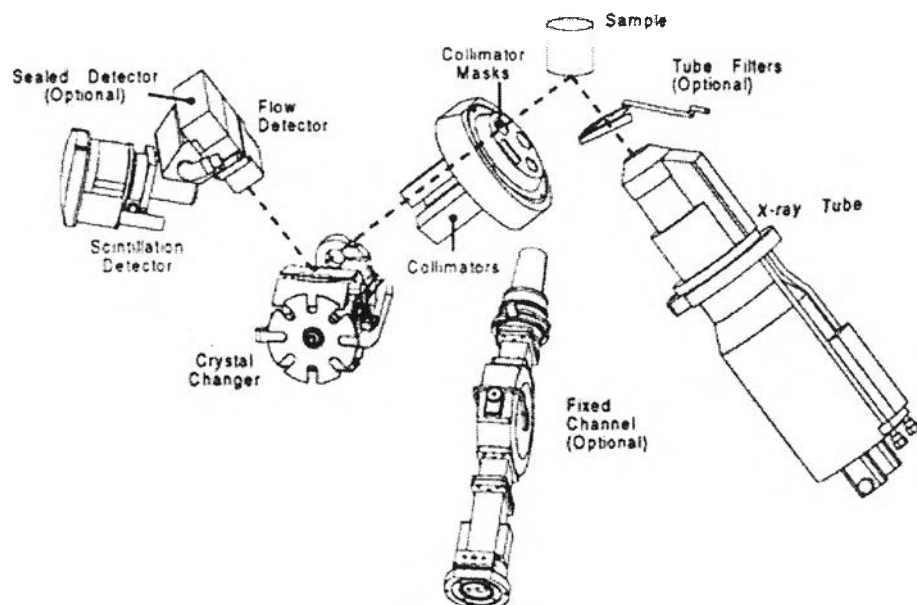
การเตรียมตัวอย่างเพื่อวิเคราะห์ด้วยเทคนิค internal standardization นั้นมีขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างส่วนใหญ่คล้ายกับการเตรียมตัวอย่างมาตรฐานสำหรับวิเคราะห์ด้วยการใช้กราฟเปรียบเทียบดังกล่าวข้างต้น แต่แตกต่างตรงสารมาตรฐานที่เติม โดยในเทคนิค internal standardization นั้น สารมาตรฐานที่เติมในตัวอย่างดินสำหรับวิเคราะห์ตะกั่วคือ ผง BiO สำหรับวิเคราะห์สังกะสีใช้ผง CuO



รูปที่ 3.3 เครื่องวิเคราะห์ระบบ WDX Philips PW2400 และเครื่องเปลี่ยนตัวอย่าง



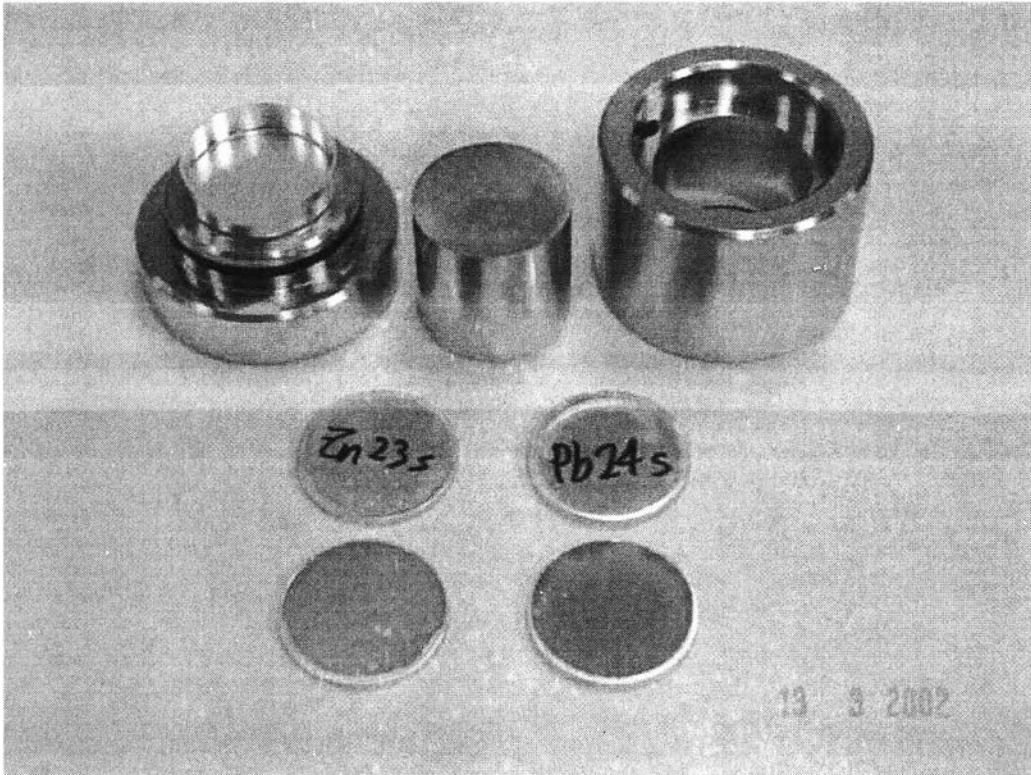
รูปที่ 3.4 ผังส่วนประกอบเครื่องวิเคราะห์ Philips PW2400 x-ray spectrometer



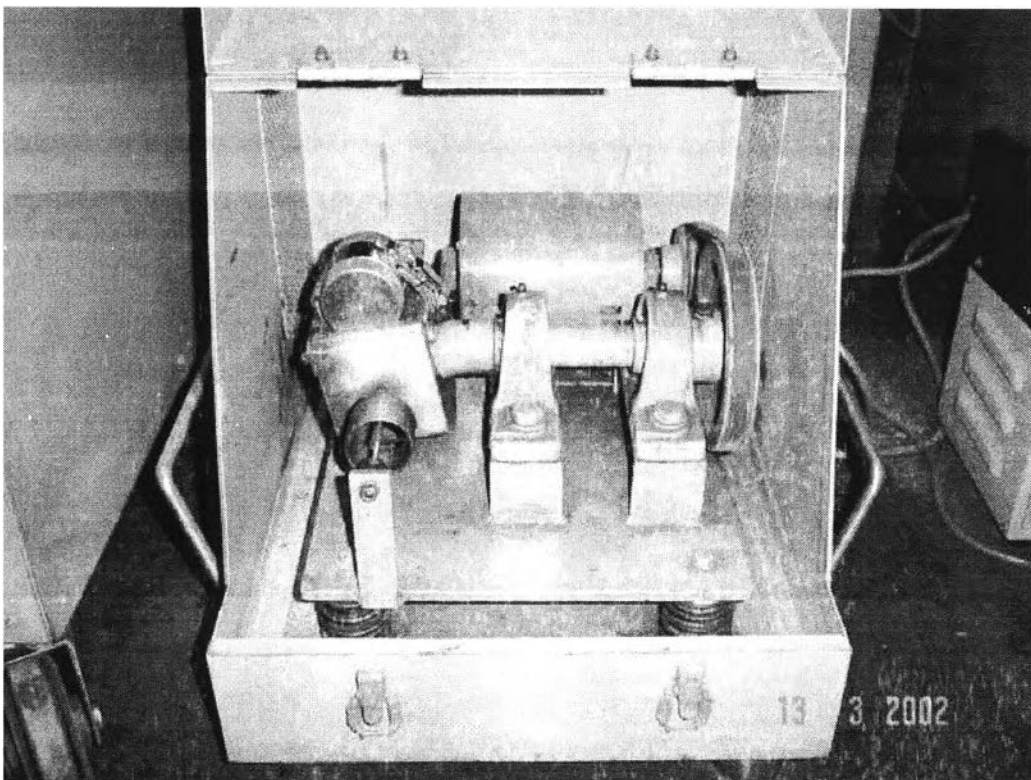
รูปที่ 3.5: การจัดวางระบบของเครื่องวิเคราะห์ Philips PW2400 x-ray spectrometer



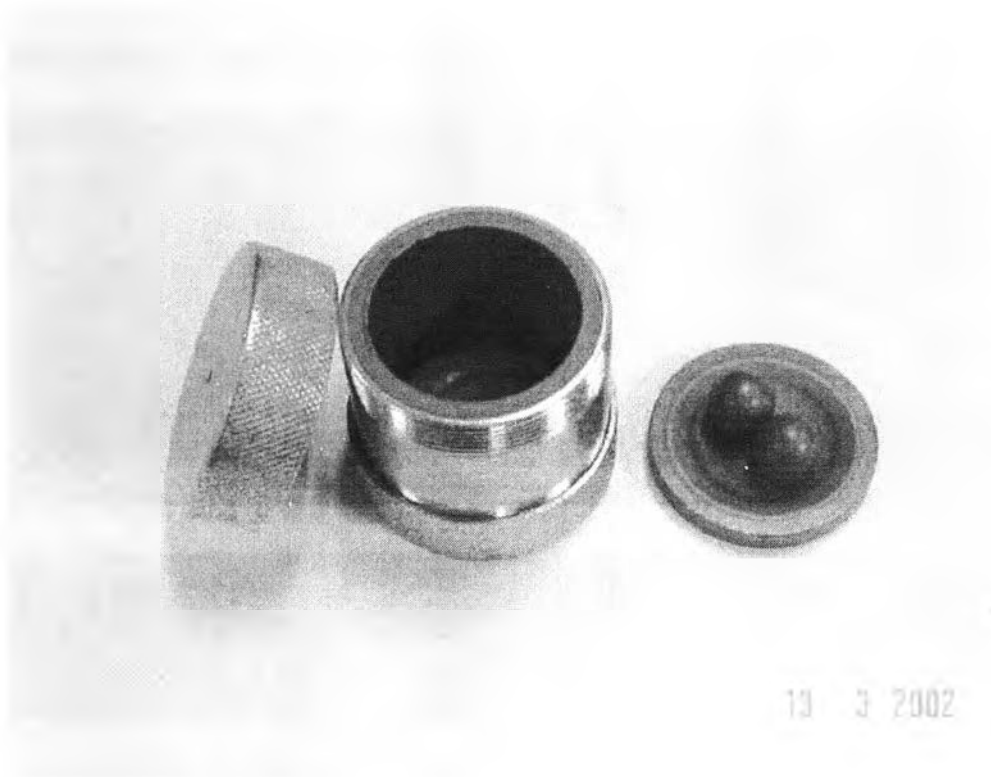
รูปที่ 3.6: เครื่องอัดตัวอย่างไฮดรอลิก



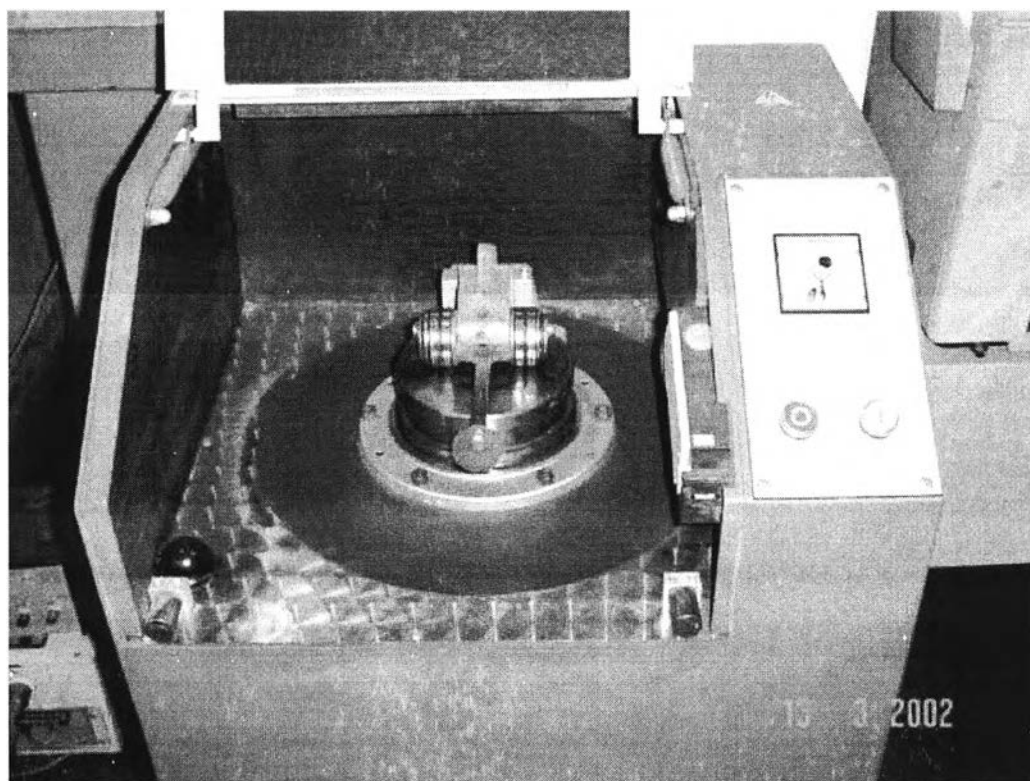
รูปที่ 3.7: เป้าอัลลอย ถ้วยใส่ตัวอย่างอลูมิเนียมและตัวอย่างที่ผ่านการอัดแล้ว.



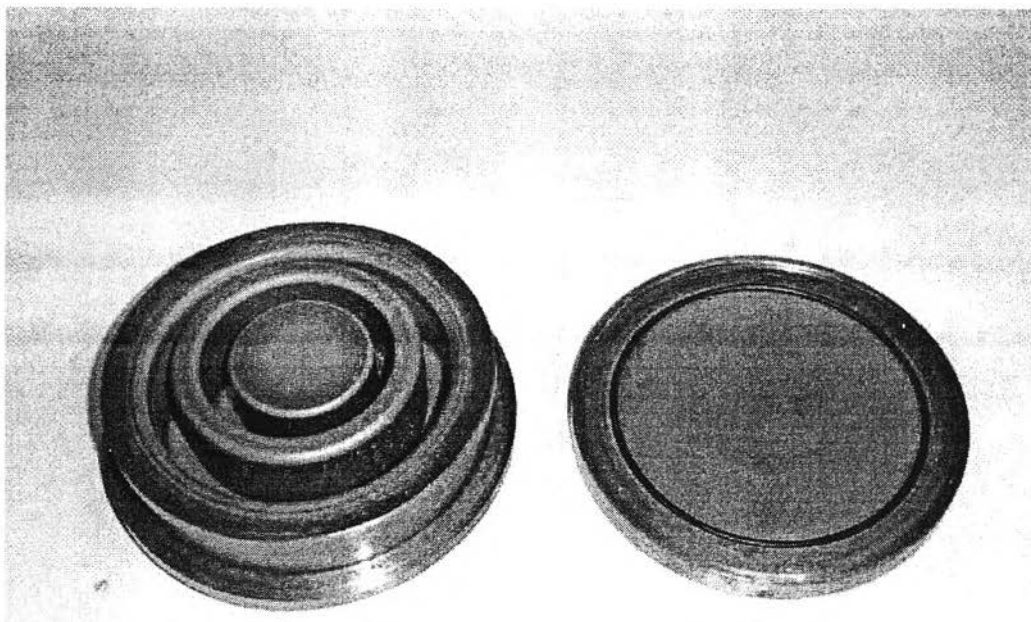
รูปที่ 3.8 เครื่องบดละเอียดชนิด Vibration ball mill



รูปที่ 3.9 เข้าบดและลูกเหล็กทั้งสแตนคาร์ไบด์สำหรับใช้กับเครื่องบดชนิด Vibration ball mill



รูปที่ 3.10:เครื่องบดละเอียดชนิด Vibration pulverizer



13 3 2002

รูปที่ 3.11 เป้าบดและลูกบดทั้งสแตนเลสคาร์ไบด์สำหรับเครื่องบดชนิด Vibration pulverizer