

วัสดุอุปกรณ์และวิธีดำเนินการวิจัย

วัสดุอุปกรณ์

1. สถานที่ทดลอง

ทดลอง ณ พื้นที่เกษตรกรรมตำบลบางแก้ว อำเภอมือง จังหวัดฉะเชิงเทรา ซึ่งพื้นที่ทดลองมีลักษณะเป็นแบบกร่องดินให้สูงและมีร่องน้ำล้อมรอบ ใช้พื้นที่ทดลองประมาณ 3 ไร่ จำนวน 3 ร่องดิน โดยแต่ละร่องดินมีขนาดกว้างประมาณ 9 เมตร ยาวประมาณ 150 เมตร และร่องน้ำที่ล้อมรอบกว้างประมาณ 2 เมตร ในระยะทางจากขอบร่องดิน ประมาณข้างละ 1.5 เมตร มีต้นมะม่วงอายุ 1 ปี ความสูงลำต้นเฉลี่ย 60 เซนติเมตร พื้นที่ดินบริเวณนี้เดิมใช้ประโยชน์ในการทำนาแล้วปรับสภาพมาเป็นสวนมะม่วง ดินบริเวณทดลองจัดอยู่ในดินชุดบางน้ำเปรี้ยว (Bang Nam Prieu Series : Bp) เนื้อดินเป็นดินเหนียว สีเทาเข้ม มีจุดประสีแดงปนเหลือง มีความเป็นกรดสูง พีเอชดินประมาณ 4.0 จัดอยู่ในสมาชิก The very fine clayey kaolinite, acid family of Hydromorphic Alluvial Soil. (National), Typic Tropaquepts (USDA) (กองสำรวจดิน กรมพัฒนาที่ดิน, 2526)

2. ภาคตะกอนน้ำเสีย

ภาคตะกอนที่นำมาใช้ในการทดลองนำมาจากระบบบำบัดน้ำเสีย 2 แห่ง คือ

2.1 ภาคตะกอนจากโรงงานบำบัดน้ำเสียชุมชนห้วยขวาง ซึ่งเป็นภาคตะกอนจากถังหมัก (anaerobic digester) ซึ่งต่อไปจะเรียกว่า "ADS"

2.2 ภาคตะกอนจากระบบบำบัดน้ำเสียของโรงงานฆ่าสัตว์บางแค กรุงเทพมหานคร เป็นภาคตะกอนจากถังปฏิกริยา (aeration tank) ซึ่งผ่านการหมักในบ่อดินแล้ว ซึ่งต่อไปจะเรียกว่า "ATS"

3. สารประกอบคลอไรด์ของโลหะหนัก

สารประกอบคลอไรด์ของโลหะหนักที่ใช้ในการทดลองมี 7 ชนิด คือ แคดเมียมคลอไรด์ (CdCl_2) คอปเปอร์คลอไรด์ (CuCl_2) เฟอร์ริกคลอไรด์ (FeCl_3) แมงกานีสคลอไรด์ (MnCl_2) นิกเกิลคลอไรด์ (NiCl_2) เลดคลอไรด์ (PbCl_2) และซิงค์คลอไรด์ (ZnCl_2) สารประกอบแต่ละชนิดนี้นำมาทำให้เป็นสารละลายด้วยน้ำกลั่น แล้วเก็บสารละลายในขวดโพลีเอทิลีน

4. พืชทดลอง

ใช้ผักคะน้า (Chinese kale, *Brassica oleracea* L. var *alboglabra* Bailey) เป็นพืชทดลอง

5. ปุ๋ยเคมี

ใช้ปุ๋ยเคมีสูตร 20-10-10 และปุ๋ยยูเรีย

6. สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์

ใช้สารเคมีเกรดงานวิเคราะห์ (analytical reagent grade) สำหรับการวิเคราะห์ตัวอย่างกากตะกอน ดินและพืช

7. เครื่องมือที่ใช้ในการวิเคราะห์

7.1 เครื่องวัดพีเอช

7.2 เครื่องชั่งอย่างละเอียด

7.3 เครื่องบด (blender and mill) สำหรับบดตัวอย่างพืช

7.4 เตาอบ (oven)

7.5 เตาแผ่นความร้อน (hot plate)

7.6 เตาเผา (muffle furnace)

7.7 เครื่องวิเคราะห์ไนโตรเจนแบบเจลเทค (Kjeltec System) ของ

Tecator รุ่น 1002 สำหรับวิเคราะห์แอมโมเนียมไนโตรเจน และไนเตรคไนโตรเจน

- 7.8 เครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ของ Bausch & Lomb รุ่น 88
 7.9 เครื่องอะตอมมิก แอบсорบชั่น สเปคโตรโฟโตมิเตอร์ ของ Perkin Elmer รุ่น 4000 และของ Instrumentation Laboratory รุ่น 551 สำหรับวิเคราะห์โลหะหนักในอากาศก่อน คินและพีซี

วิธีดำเนินการทดลอง

1. การวางแผนการทดลอง

วางแผนการทดลองสำหรับภาคก่อนแต่ละชนิดแบบ Randomized Complete Block Design ทำการทดลอง 3 ซ้ำ มีตำรับทดลอง (treatment) 14 ตำรับใน 1 บล็อก (block) รายละเอียดของตำรับทดลองมีดังนี้

- 1.1 ตำรับทดลองที่ 1 คือ ตำรับที่ไม่มี การเติมภาคก่อนและปุ๋ยเคมี หรือแปลงควบคุม (Control)
 1.2 ตำรับทดลองที่ 2 คือ เติมปุ๋ยเคมีสูตร 20-10-10 และปุ๋ยยูเรีย ปริมาณรวมกันทั้งหมดเท่ากับ 1 กิโลกรัมต่อแปลง (160 กิโลกรัมต่อไร่)
 1.3 ตำรับทดลองที่ 3-6 คือ เติมภาคก่อนแบบผสมคลุกเคล้ากับดินด้วย อัตราเติม 20 40 60 และ 80 กิโลกรัมต่อแปลงตามลำดับ (เท่ากับ 3.2 6.4 9.6 และ 12.8 ตันต่อไร่หรือเท่ากับ 20 40 60 และ 80 เมตริกตันต่อเฮกตาร์)
 1.4 ตำรับทดลองที่ 7-10 คือ เติมภาคก่อนแบบโรยบนผิวดินด้วยอัตรา เติม 20 40 60 และ 80 กิโลกรัมต่อแปลงตามลำดับ
 1.5 ตำรับทดลองที่ 11-14 คือ เติมสารละลายโลหะหนักให้ปริมาณโลหะ หนักที่เติมมีปริมาณเท่ากับปริมาณโลหะหนักที่มีอยู่ในภาคก่อน ในรูปที่พืชดูดตั้งได้ ในอัตราเติม 20 40 60 และ 80 กิโลกรัมต่อแปลงตามลำดับ พร้อมกันนี้เติมปุ๋ยเคมีสูตร 20-10-10 และปุ๋ยยูเรียปริมาณรวมกันทั้งหมดเท่ากับ 1 กิโลกรัมต่อแปลง

2. การเตรียมแปลงทดลอง

ไถพรวนดินระดับความลึก 15 เซนติเมตร แล้วหว่านปุ๋ยนมารัสปริมาณ 1,722 กิโลกรัมต่อไร่ เพื่อยกระดับพีเอชดินให้ได้ 6.5 ตามปริมาณความต้องการปุ๋ยที่วิเคราะห์

โดยวิธีแบเรียมคลอไรด์-ไตรเอทานอลามีน (Barium Chloride-Triethanolamine Method) (ASA-SSSA, 1982) หลังจากนั้นอีกประมาณ 30 วันจึงปรับแต่งพื้นดินให้เป็นแปลงทดลองขนาด 2 X 5 ตารางเมตร จัดระยะให้แต่ละแปลงห่างกันประมาณ 50 เซนติเมตร ใน 1 ร่องดิน มี 28 แปลงทดลอง ดังนั้นในการทดลองครั้งนี้จึงมีแปลงทดลองทั้งหมด 84 แปลง แผนผังแสดงการจัดแปลงทดลองดังปรากฏในรูปที่ 1

3. การเติมกากตะกอน

เมื่อทำแปลงทั้งหมด 84 แปลงเสร็จเรียบร้อยแล้ว จึงนำกากตะกอนเติมลงในแปลงทดลองที่ต้องเติมกากตะกอน กากตะกอนแต่ละชนิดที่ใช้เติมลงแปลงทดลองจะใช้ในรูปกากตะกอนแห้ง โดยนำกากตะกอนไปผึ่งแดดบนลานซีเมนต์กลางแจ้ง เมื่อกากตะกอนเริ่มแห้งจะจับตัวเป็นก้อนใหญ่ต้องบดทุบให้แตกเป็นก้อนเล็ก ๆ แล้วผึ่งแดดต่อไปจนกากตะกอนแห้งสนิทซึ่งจะมีลักษณะเป็นเม็ดเล็ก แข็ง มีสีดำ ไม่มีกลิ่นเหม็น และยังมีน้ำหนักประมาณร้อยละ 5.24 หลังจากนั้น จึงบรรจุกากตะกอนแต่ละชนิดใส่ถุงพลาสติก พร้อมกันนี้จะสูบลมตัวอย่างกากตะกอนจากถุงบรรจุเพื่อนำไปวิเคราะห์สมบัติและองค์ประกอบเคมีในห้องปฏิบัติการ การเติมกากตะกอนใช้วิธีเติม 2 วิธี คือ

3.1 การเติมแบบโรยบนผิวดิน ใช้วิธีโรยกากตะกอนให้กระจายอย่างสม่ำเสมอทั่วทั้งผิวดินในแปลงทดลอง

3.2 การเติมแบบผสมคลุกเคล้ากับดิน ใช้วิธีโรยกากตะกอนให้กระจายอย่างสม่ำเสมอทั่วทั้งผิวดินในแปลงทดลอง แล้วพรวนดินทันทีเพื่อให้กากตะกอนกับดินผสมกันเป็นเนื้อเดียวตลอดทั่วทั้งแปลงในระดับความลึกประมาณ 15 เซนติเมตร

4. การเติมสารละลายโลหะหนัก

เติมสารละลายโลหะหนักลงในแปลงทดลองก่อนปลูกผักคะน้า 3 วัน โดยปริมาณโลหะหนักในรูปสารประกอบคลอไรด์ แต่ละชนิดที่เติมลงแปลงทดลอง มี 4 อัตราเติม ซึ่งแต่ละอัตราเติมจะมีปริมาณโลหะหนักเท่ากับปริมาณโลหะหนักที่มีอยู่ในกากตะกอนแต่ละชนิด ในอัตราเติมกากตะกอน 20 40 60 และ 80 กิโลกรัมต่อแปลง ตามลำดับ ดังปรากฏในตารางที่ 3 สำหรับปริมาณโลหะหนักในรูปสารประกอบคลอไรด์ที่ใช้เตรียมสารละลายพิจารณาได้จากภาคผนวก ตารางที่ 21 ซึ่งเป็นปริมาณที่จะทำให้ปริมาตรของสารละลายโลหะ-

ตารางที่ 3 ปริมาณโลหะหนักในรูปสารประกอบคลอไรด์ที่ คมลงแปลงทดลอง เทียบเท่ากับ ปริมาณโลหะหนักที่มีอยู่ในกากตะกอน ADS และ ATS ในอัตราเดิม 20 40 60 และ 80 กิโลกรัม/แปลง

โลหะหนัก	ปริมาณโลหะหนักในรูปสารประกอบคลอไรด์ที่ คมลง แปลงทดลอง เทียบเท่ากับปริมาณโลหะหนักที่มีอยู่ในกากตะกอน							
	ADS ใน อัตราเดิม (กก./แปลง)				ATS ใน อัตราเดิม (กก./แปลง)			
	20	40	60	80	20	40	60	80
$CdCl_2 \cdot 2 H_2O$ (มิลลิกรัม)	9.6	19.2	28.8	38.4	19.0	38.0	57.0	76.0
$CuCl_2 \cdot 2 H_2O$ (กรัม)	3.0	6.0	9.0	12.0	15.1	30.2	45.3	60.4
$FeCl_3 \cdot 6 H_2O$ (กรัม)	34.6	69.2	103.8	138.4	29.5	59.0	88.5	118.0
$MnCl_2 \cdot 4 H_2O$ (กรัม)	9.1	18.2	27.3	36.4	15.1	30.2	45.3	60.4
$NiCl \cdot 6 H_2O$ (มิลลิกรัม)	358.2	716.4	1074.6	1432.6	242.7	485.4	728.1	970.8
$PbCl_2$ (มิลลิกรัม)	95.1	190.2	285.3	380.4	83.7	167.4	251.1	334.8
$ZnCl_2$ (กรัม)	20.8	41.6	62.4	83.2	25.0	50.0	75.0	100.0

หนักแต่ละชนิดมีความสัมพันธ์กับปริมาณโลหะหนักแต่ละชนิดที่มีอยู่ในกากตะกอน ปริมาณ 20 40 60 และ 80 กิโลกรัม ปริมาณของสารละลายโลหะหนักที่เติมลงในแปลงทดลองเพื่อให้มีปริมาณโลหะหนักเท่ากับปริมาณโลหะหนักที่มีอยู่ในกากตะกอน ADS และ ATS ในอัตรา 20 40 60 และ 80 กิโลกรัมต่อแปลง คูได้จากภาคผนวก ตารางที่ 22

5. การปลูกผักคะน้า

หลังจากเติมกากตะกอนแล้วประมาณ 3 สัปดาห์ จึงเริ่มปลูกผักคะน้าเมื่อวันที่ 9 กันยายน 2528 โดยใช้วิธีหว่านเมล็ดพันธุ์ให้กระจายอย่างสม่ำเสมอทั่วทั้งแปลง ขณะเดียวกันเฉพาะแปลงที่ต้องเติมปุ๋ยเคมีจะหว่านปุ๋ยเคมีสูตร 20-10-10 ลงไปด้วยในปริมาณ 500 กรัมต่อแปลง หลังจากนั้น นำฟางข้าวมาคลุมแล้วรดน้ำแปลงทดลองให้ชุ่มชื้นทั่วทั้งแปลง เมื่อเมล็ดพันธุ์งอกและเจริญเติบโตได้ 3 สัปดาห์ จึงถอนแยกเพื่อจัดแถวและระยะห่างระหว่างต้น ในแต่ละแถวโดยให้มีระยะห่างระหว่างแถวและระยะห่างระหว่างต้นในแต่ละแถวต่างกัน ประมาณ 25 เซนติเมตร และให้ปุ๋ยยูเรีย 250 กรัมต่อแปลง สำหรับแปลงทดลองที่เติมปุ๋ยเคมี

6. การดูแลรักษาระหว่างปลูก

การให้น้ำที่ชะกระทำได้ทุกวันในตอนเช้าเพื่อทำให้เกิดความชุ่มชื้นอย่างเพียงพอสำหรับการเจริญเติบโตโดยใช้เครื่องสูบน้ำให้แตกกระจายเป็นฝอย และจะหยุดให้น้ำในวันที่มีฝนตก

พินยาปราบศัตรูพืชตามปริมาณที่ระบุในฉลากทันที เมื่อเริ่มสังเกตได้ว่ามีแมลงศัตรูพืชมารบกวน ยาปราบศัตรูพืชที่ใช้ คือ พวาเคน และแอมบุซ

นอกจากนี้แล้วเพื่อช่วยให้ต้นผักคะน้ามีการตั้งตัวได้ดี จึงให้ปุ๋ยยูเรียทุกแปลง ๆ ละ 250 กรัม เมื่อต้นผักคะน้าเจริญเติบโตได้ 3 สัปดาห์ และในสัปดาห์ที่ 5 ใต้ให้ปุ๋ยยูเรีย 250 กรัมต่อแปลง ลงในแปลงทดลองที่เติมปุ๋ยเคมีด้วย

7. การเก็บเกี่ยวผลผลิต

เก็บเกี่ยวผลผลิตเมื่อวันที่ 6 พฤศจิกายน 2528 เมื่อผักคะน้าเจริญเติบโต ถึงขั้นที่สามารถตัดออกจำหน่ายได้ พื้นที่เก็บเกี่ยวผลผลิต (harvest area) ในแต่ละแปลงทดลองมีอาณาบริเวณห่างจากขอบแปลงแต่ละด้านประมาณ 50 เซนติเมตร คิดเป็นพื้นที่ 4 ตารางเมตร

8. การเก็บตัวอย่าง

8.1 ดิน ใช้วิธีสุ่มตัวอย่างบริเวณผิวดินในระดับความลึกประมาณ 15 เซนติเมตรโดยใช้พลั่วมือ สุ่มตัวอย่างดินก่อนทำแปลงทดลองจากร่องดินแต่ละร่อง ๆ ละ 3 จุด คือ บริเวณปลายร่องดินทั้งสองปลาย ๆ ละ 1 จุด และบริเวณกึ่งกลางของร่องดิน 1 จุด นำไปวิเคราะห์ปริมาณความต้องการปุ๋ย ค่าพีเอชและองค์ประกอบเคมี ส่วนตัวอย่างดินในช่วงระยะเวลาปลูกผักคะน้า สุ่มตัวอย่างดินจากแปลงทดลองทุกแปลง ๆ ละ 5 จุด คือ จากจุดที่อยู่บริเวณมุมทั้ง 4 มุม ซึ่งห่างจากขอบแปลงด้านละ 50 เซนติเมตร มุมละ 1 จุด และอีก 1 จุดจากบริเวณกึ่งกลางของแปลง เก็บตัวอย่างดินทุก 2 สัปดาห์ ตั้งแต่เริ่มปลูกจนถึงเวลาเก็บเกี่ยว รวมทั้งหมด 4 ครั้ง นำไปวิเคราะห์ค่าพีเอช แอมโมเนียไนโตรเจนและไนเตรคไนโตรเจน พร้อมกันนี้ เฉพาะตัวอย่างดินครั้งสุดท้าย วิเคราะห์ปริมาณโลหะหนักด้วย

8.2 ผักคะน้า สุ่มตัวอย่างต้นผักคะน้าพร้อมทั้งราก ขณะเก็บเกี่ยวผลผลิตจากแปลงทดลองทุกแปลง ๆ ละ 3 ต้น จากจำนวนจุดเก็บตัวอย่าง 3 จุดใน 1 แปลง คือ จุดกึ่งกลางของแปลงทดลอง 1 จุด และจุดในแนวกึ่งกลางตามความยาวของแปลงซึ่งห่างจากปลายของแปลง 50 เซนติเมตร ปลายละ 1 จุด

9. การวิเคราะห์ตัวอย่าง

9.1 การเตรียมตัวอย่าง

- 1) ดิน ทำให้แห้งโดยผึ่งในที่ร่ม บดแล้วร่อนผ่านตะแกรงขนาด 2 มิลลิเมตร
- 2) ผักคะน้า ล้างต้นผักคะน้าและรากด้วยน้ำสะอาดจนเกลี้ยงดิน แล้วล้างด้วยน้ำกลั่น จากนั้นนำไปอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เมื่อตัวอย่างแห้งนำไปชั่งน้ำหนักและบดด้วยเครื่องบด

9.2 วิธีวิเคราะห์ ใช้วิธีวิเคราะห์ฟารามิเตอร์ต่าง ๆ ตามวิธีของ ASA - SSSA (1982) ดังนี้

- 1) พีเอช (ดิน:น้ำ = 1:1) วัดด้วยเครื่องวัดพีเอช
- 2) อินทรีย์คาร์บอน (organic carbon) ใช้วิธีวอล์กเลย์แบค (Walkley Black method)
- 3) ไนโตรเจนทั้งหมด (total - N) ใช้วิธีเจลดทาล์ (Kjeldahl method)
- 4) แอมโมเนียมไนโตรเจน (NH_4^+ - N) และไนเตรดไนโตรเจน (NO_3^- - N) ใช้วิธีกลั่นด้วยไอน้ำ (steam distillation method) โดยใช้ชุดเครื่องมือแบบเจลเทคของ Tecator รุ่น 1002
- 5) ฟอสฟอรัส (available - P) ใช้วิธีสกัดด้วยสารละลายเบรทู (Bray II) แล้ววิเคราะห์ปริมาณฟอสฟอรัสด้วยวิธีรีดิวซ์ด้วยกรดแอสคอร์บิก (ascorbic acid reduction)
- 6) โปตัสเซียม (exchangeable - K) ใช้วิธีสกัดด้วยสารละลายแอมโมเนียมอะซิเตด ที่มีฤทธิ์เป็นกลาง ความเข้มข้น 1 นอร์มัล (1N NH_4OAc) แล้ววิเคราะห์ปริมาณโปตัสเซียมด้วยเครื่องอะตอมมิค แอบсорบชั่น สเปกโตรโฟโตมิเตอร์
- 7) โลหะหนัก แคดเมียม ทองแดง แมงกานีส นิกเกิล ตะกั่ว และสังกะสี ใช้วิธีทำตัวอย่างให้เป็นสารละลายแล้ววิเคราะห์ปริมาณด้วยเครื่องอะตอมมิค แอบсорบชั่น สเปกโตรโฟโตมิเตอร์ โดยวิเคราะห์โลหะหนัก 2 รูป คือ
 - 1) โลหะหนักในรูปที่พืชสามารถดูดใช้ได้ (available) ใช้วิธีสกัดด้วยสารละลายดีทีเอ 0.005 โมลาร์ (0.005 M DTPA) อัตราส่วนปริมาณตัวอย่างต่อสารละลายเท่ากับ 1:2 และใช้เวลาเขย่า 2 ชั่วโมง กรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 42 (Whatman no. 42)
 - 2) โลหะหนักในรูปปริมาณโลหะหนักทั้งหมด ใช้วิธีทรายแห้ง (dry ashing) โดยนำตัวอย่างปริมาณ 1.000 กรัม ใส่ถ้วยกระเบื้อง (crucible) เผาที่อุณหภูมิ 450 องศาเซลเซียส นาน 5 ชั่วโมง ละลายได้ด้วยกรดไฮโดรคลอริก ความเข้มข้น 6 นอร์มัล จำนวน 2 มิลลิลิตร นำไประเหยจนแห้ง แล้วเติมกรดไฮโดร

คลอริค ความเข้มข้น 1 นอร์มัล จำนวน 5 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ 30 นาที จึงเติมน้ำ
กลั่นปราศจากไอออนลงไปอีก 25 มิลลิลิตร กรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 42

10. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วิเคราะห์ข้อมูลขั้นแรกด้วยวิธีวิเคราะห์ความแปรปรวน (analysis of variance (ANOVA)) เพื่อทดสอบว่าแต่ละตำรับทดลองมีความแตกต่างกันหรือไม่ ถ้าพบว่ามี
ความแตกต่างกันระหว่างตำรับทดลอง จึงวิเคราะห์ข้อมูลต่อตามวิธีของดันแคน (Duncan's
new multiple range test (DMRT)) เพื่อทดสอบว่าตำรับทดลองคู่ใดบ้างที่ให้ผลแตก
ต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย