

อกินันทนากการ



สำนักหอสมุด

ผลของโลหะหนักต่อกิจกรรมของเอนไซม์ในดินร่วนปนทรายที่ปลูกผักกาดเขียวปลี
Effect of Heavy Metals Contamination on Enzymes Activity
in Leaf mustard Cultivated Sandy Loam Soil



ชุตินมา ฉิมปรางค์

สำนักหอสมุด มหาวิทยาลัยนเรศวร
วันลงทะเบียน..... 26 ก.ย. 2558
เลขทะเบียน..... 19189026
เลขเรียกหนังสือ.....

๗๕
๕61๗๗
2๕๕๘

วิทยานิพนธ์ปริญญาตรี เสนอภาควิชาทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม
คณะเกษตรศาสตร์ ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยนเรศวร
เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต
สาขาวิชาทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม

ธันวาคม 2558

ลิขสิทธิ์เป็นของมหาวิทยาลัยนเรศวร

คณะกรรมการวิทยานิพนธ์ระดับปริญญาตรีได้พิจารณาวิทยานิพนธ์เรื่อง “ผลของโลหะหนักต่อกิจกรรมของเอนไซม์ในดินร่วนปนทรายที่ปลูกผักกาดเขียวปลี (Effect of Heavy Metals Contamination on Enzymes Activity in Leaf mustard Cultivated Sandy Loam Soil)” ของ ชุติมา ฉิมพรางค์ เห็นสมควรรับเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม ของภาควิชาทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม คณะเกษตรศาสตร์ ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยนเรศวร

.....
.....
.....

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. วภากร ศิริวงศ์)
อาจารย์ที่ปรึกษา

.....
.....

(ดร. ชาญยุทธ กฤตสุนันท์กุล)
หัวหน้าภาควิชาทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม
ธันวาคม 2558



กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยฉบับนี้ สำเร็จลงได้ด้วยความกรุณาอย่างยิ่งจาก ผศ.ดร.วภากร ศิริวงศ์ อาจารย์ที่ปรึกษา ที่ได้ให้คำแนะนำปรึกษา ตลอดจนตรวจแก้ไขข้อบกพร่องต่าง ๆ ด้วยความเอาใจใส่เป็นอย่างยิ่ง จนโครงการวิจัยสำเร็จสมบูรณ์ได้ คณะผู้วิจัย ขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงไว้ ณ ที่นี้

ขอขอบพระคุณคณาจารย์ประจำภาควิชาทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อมเป็นอย่างสูง ที่ได้ให้คำแนะนำในการแก้ไขข้อบกพร่องของโครงการวิจัยตลอดระยะเวลาในการศึกษาวิจัยฉบับนี้

ขอขอบคุณนางสาวณัฐมณี สิงห์กว้าง และ นางหนึ่งฤทัย เทียนทอง นักวิทยาศาสตร์ห้องปฏิบัติการภาควิชาทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อมที่ได้ให้คำแนะนำและถ่ายทอดความรู้ในการวิเคราะห์ตัวอย่างดิน ให้ผู้วิจัยเกิดประสบการณ์ใหม่และได้ข้อมูลที่ต้องการครบถ้วน

ขอขอบคุณนางสาวทิพย์มพร นิลอุบล และ นางสาวณัฐพัชร์ ยางงาม นิสิตปริญญาโท และเพื่อนร่วมทำการวิจัยชั้นปีที่สี่ ภาควิชาทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อมที่ให้ความช่วยเหลือในการปฏิบัติงานวิจัยและให้คำปรึกษาในการปฏิบัติงานจนสำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

คุณค่าและคุณประโยชน์อันพึงมีจากโครงการวิจัยฉบับนี้คณะผู้วิจัยขอมอบและอุทิศแด่ผู้มีพระคุณทุกๆ ท่าน คณะผู้วิจัยหวังเป็นอย่างยิ่งว่า โครงการวิจัยฉบับนี้จะเป็นประโยชน์ต่อการศึกษาเกี่ยวกับผลของโลหะหนักต่อกิจกรรมเอนไซม์ในดินร่วนปนทรายที่ปลูกผักกาดเขียวปลีต่อผู้สนใจนำไปใช้ประโยชน์ต่อไป

ชุตินา ฉิมปรางค์

2558

ชื่อเรื่อง	ผลของโลหะหนักต่อกิจกรรมของเอนไซม์ในดินร่วนปนทรายที่ปลูกผักกาดเขียวปลี Effect of Heavy Metals Contamination on Enzymes Activity in Leaf mustard Cultivated Sandy loam Soil
ผู้วิจัย	ชุตติมา ฉิมปรารงค์
ประธานที่ปรึกษา	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. วภากร ศิริวงศ์
ประเภทสารนิพนธ์	วิทยานิพนธ์ปริญญาตรี วท.บ. สาขาวิชาทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยนเรศวร, 2558
คำสำคัญ	โลหะหนัก เอนไซม์ดิน โครเมียม แคดเมียม ทองแดง สังกะสี ตะกั่ว

บทคัดย่อ

การวิจัยเพื่อศึกษากิจกรรมเอนไซม์ดิน ประกอบด้วย acid phosphatase และ urease ในดินที่มีโลหะหนักทั้งสองระดับความเข้มข้น ทั้งในรูปโลหะธาตุเดี่ยว ได้แก่ Cr, Cd, Cu, Zn และ Pb และโลหะผสมทั้งห้าธาตุทั้งสองระดับความเข้มข้น คือ ระดับต่ำ มีโลหะหนัก Cr, Cd, Cu, Zn และ Pb 26, 28, 127, 131 และ 51 มก./กก. และระดับสูง 104, 255, 350, 400 และ 414 มก./กก. ตามลำดับ ทำการทดลองกับดินเนื้อหยาบ (Sandy Loam) ที่มีปริมาณอินทรีย์วัตถุ 2.03%, pH 6.5 และ CEC 36.98 cmol_e/kg. ทำการทดลองในเรือนทดลองที่ควบคุมความชื้นดินและเก็บดินตัวอย่างดินที่ 3 ช่วงการเจริญเติบโต คือ ช่วงการเจริญเติบโตที่ 0 วัน (ก่อนการเพาะปลูก) ช่วงการเจริญเติบโตที่ 45 วัน และ 70 วัน หลังจากการย้ายกล้า และเลือกผักกาดเขียวปลีเป็นพืชทดสอบ ผลการวิจัย พบว่า กิจกรรม acid phosphatase มีแนวโน้มลดลงในช่วงการเจริญเติบโตที่ 0, 45 และ 70 วัน ตามลำดับ การใส่โลหะหนักแคดเมียม และตะกั่วทั้งสองระดับความเข้มข้นจะส่งเสริมกิจกรรม acid phosphatase เมื่อเทียบกับการไม่เติมโลหะหนักอย่างมีนัยสำคัญ ในช่วงก่อนการปลูกพืช โดยระยะก่อนปลูกไม่พบผลจากการใส่โครเมียมและโลหะผสม และในช่วงการเจริญเติบโตที่ 45 และ 70 วัน ไม่พบผลจากการเติมโลหะทุกธาตุ การเพิ่มขึ้นของ acid phosphatase ตามการเจริญเติบโตและโลหะหนักเกิดจากความสัมพันธ์ระหว่างเอนไซม์ชนิดนี้กับปริมาณฟอสฟอรัสทั้งหมดในดินที่ให้ค่าสหสัมพันธ์ $r = 0.736^{**}$ กิจกรรม urease มีค่าเพิ่มขึ้นในช่วงการเจริญเติบโตที่ 0, 45 และ 70 วัน ตามลำดับ ผลของโลหะหนักต่อกิจกรรม urease ที่เพิ่มพบได้ในดินที่เติมแคดเมียมและตะกั่วทั้งสองระดับความเข้มข้น อย่างมีนัยสำคัญ ในช่วงการเจริญเติบโตที่ 45 และ 70 วัน และไม่พบผลจากธาตุโลหะหนักอื่น กิจกรรมเอนไซม์เพิ่มขึ้นที่ระดับของโลหะหนักระดับต่ำมากกว่าระดับสูง การเปลี่ยนแปลงของ urease มีความสัมพันธ์กับการเพาะปลูกและปริมาณไนโตรเจนในดิน โดยมีค่าสหสัมพันธ์ $r = 0.370^{**}$

Title Effect of Heavy Metals Contamination on Enzymes Activity
in Leaf mustard Cultivated Sandy loam Soil

Author Chutima Chimprang

Advisor Assistance Prof. Dr. Wapakorn Siriwong

Academic Paper Undergraduate Thesis B. Sc. Natural Resources and
Environment, 2015

Keyword Heavy Metals, Soil Enzyme, Chromium, Cadmium,
Copper, Zinc, Lead

ABSTRACT

Effect of five heavy metals on soil acid phosphatase and urease enzyme were investigated in sandy loam soil possessed 2.03% organic matter, pH 6.5 and CEC 36.98 cmol_e/kg . Spiked soil with Cr, Cd, Cu, Zn and Pb in single and mixed element at low concentration of 26, 28, 127, 131 and 51 mg/kg and at high concentration of 104, 255, 350, 400 and 414 mg/kg of Cr, Cd, Cu, Zn and Pb. respectively, were used for leaf mustard planting in plot experiment. Soil samples were corrected before planting, 40 and 75 days after seedling transplant. Experiment results show that acid phosphatase was decreased and urease was increased from 0 to 45 and 70 days after seedling transplant. Acid phosphatase was increased in Cd and Cu and Pb single spiked soil at 0 days. The response of enzyme activities to growing period and metal spiking were closely related to total phosphorus content in soil. Urease was responded to spiked Cd and Pb in growing soil but not responded in non-growing soil. The positive response was larger at low metal concentration than at high concentration of Cd and Pb. The response of urease was related to rhizosphere and to total nitrogen in soil.

สารบัญ		หน้า
บทที่		
	หน้าอนุมัติ	ก
	กิตติกรรมประกาศ	ข
	บทคัดย่อ	ค
	ABSTRACT	ง
	สารบัญ	จ
	สารบัญตาราง	ช
	สารบัญภาพ	ซ
1	บทนำ	1
	1.1 ที่มาและความสำคัญ	1
	1.2 วัตถุประสงค์ของการศึกษา	2
	1.3 ขอบเขตของงานวิจัย	2
	1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	2
	1.5 คำสำคัญหรือคำจำกัดความที่ใช้ในการวิจัย	2
2	เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	3
	2.1 สถานการณ์การปนเปื้อนของดิน	3
	2.2 โลหะหนัก	5
	2.3 ผักกาดเขียวปลี	10
	2.4 เอนไซม์ดิน	11
	2.5 ผลของโลหะหนักต่อกิจกรรมเอนไซม์ดิน	13
3	วิธีดำเนินการวิจัย	17
	3.1 กรอบแนวคิดและแผนการดำเนินการวิจัย	17
	3.2 การคัดเลือกดินที่ทำการศึกษาและวิเคราะห์คุณสมบัติดิน	18
	3.3 การทดลองกิจกรรมเอนไซม์ดินที่มีการปนเปื้อนโลหะหนัก	19
	3.4 การปลูกพืชตัวอย่าง	19
	3.5 การเก็บตัวอย่าง	19

สารบัญ (ต่อ)

บทที่	หน้า
3 วิธีดำเนินการวิจัย	21
3.6 การวิเคราะห์กิจกรรมการทำงานเอนไซม์ดิน	21
3.6.1 กิจกรรมของ acid phosphatase	21
3.6.2 กิจกรรมของ urease	22
3.7 วิธีวิเคราะห์ทางสถิติ	25
4 ผลการศึกษาวิจัย	26
4.1 คุณสมบัติดินที่ทำการศึกษา	26
4.2 การเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติดิน	26
4.2.1 ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด	26
4.2.2 ปริมาณฟอสฟอรัส	28
4.3 กิจกรรมเอนไซม์ดิน	29
4.3.1 กิจกรรม acid phosphatase	29
4.3.2 กิจกรรม urease	31
4.4 ความสัมพันธ์กิจกรรมเอนไซม์ดินและคุณสมบัติดิน	32
4.5 ผลของโลหะหนักต่อกิจกรรมเอนไซม์ดิน	38
4.5.1 ผลของโลหะหนักต่อกิจกรรม acid phosphatase	38
4.5.2 ผลของโลหะหนักต่อกิจกรรม urease	41
5 สรุปผลการทดลองและวิจารณ์	45
บรรณานุกรม	47
ภาคผนวก ก.	50
ภาคผนวก ข.	54
ภาคผนวก ค.	57
ภาคผนวก ง.	64
ประวัติผู้วิจัย	66

สารบัญตาราง

ตาราง		หน้า
2.1	เอนไซม์ดินในฐานะตัวชี้วัดคุณภาพดิน	12
2.2	กิจกรรมเอนไซม์ดินบริเวณเหมือง Ishiagu ตามระยะทางการเก็บตัวอย่าง	14
2.3	กิจกรรมเอนไซม์ดินบริเวณเหมือง Ishigu	16
3.1	วิธีวิเคราะห์คุณสมบัติดินพื้นฐานของดิน	18
3.2	การเตรียมสารละลายโลหะหนัก	19
4.1	คุณสมบัติที่ทำการศึกษา	26
4.2	ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในดินตามชนิดและระดับของโลหะหนักใน 3 ระยะการเจริญเติบโต	27
4.3	ปริมาณฟอสฟอรัสทั้งหมดและปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ในดิน ตามชนิดและระดับของโลหะหนักใน 3 ระยะการเจริญเติบโต	28
4.4	กิจกรรมเอนไซม์ acid phosphatase ในดินตามชนิดและระดับของ โลหะหนักใน 3 ระยะการเจริญเติบโต	30
4.5	กิจกรรมเอนไซม์ urease ในดินตามชนิดและระดับของโลหะหนักใน 3 ระยะการเจริญเติบโต	31

สารบัญภาพ

ภาพ	หน้า
2.1 พื้นที่ปนเปื้อนสารพิษในประเทศไทย	4
2.2 ผลของสภาพกรด-ด่างและศักย์รีดอกซ์ต่อรูปแคดเมียมในตะกอนดินจากแม่น้ำมิสซิซิปปี	6
2.3 ความสัมพันธ์ระหว่างสภาพการละลายน้ำได้ของสังกะสีในดินกับสภาพพีเอชดิน และปริมาณสังกะสีทั้งหมด	10
2.4 แสดงกิจกรรมเอนไซม์ในดินที่ปลูกข้าวโพดและดินที่ทำการขึ้นในการทดลอง โดยมีสารตกค้างผสมอยู่	15
3.1 กรอบแนวคิด	18
3.2 สภาพพื้นที่ป่าผสมผสาน	20
3.3 การเตรียมดิน	20
3.4 จำนวนกระถางและการปนเปื้อนต่อการทดลองหนึ่งซ้ำ	20
3.5 การปลูกพืชตัวอย่าง	21
3.6 แผนภาพแสดงวิถีวิเคราะห์กิจกรรม acid phosphatase	22
3.7 แผนภาพแสดงวิถีวิเคราะห์กิจกรรม urease	24
4.1 ความสัมพันธ์ระหว่าง acid phosphatase กับความเป็นกรด-ด่างของดิน	33
4.2 ความสัมพันธ์ระหว่าง acid phosphatase กับ ความชื้นดิน	33
4.3 ความสัมพันธ์ระหว่าง acid phosphatase กับปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์	34
4.4 ความสัมพันธ์ระหว่าง acid phosphatase กับปริมาณฟอสฟอรัสทั้งหมด	34
4.5 ความสัมพันธ์ระหว่าง acid phosphatase กับปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด	35
4.6 ความสัมพันธ์ระหว่าง urease กับ ความเป็นกรด-ด่างของดิน	35
4.7 ความสัมพันธ์ระหว่าง urease กับ ความชื้นดิน	36
4.8 ความสัมพันธ์ระหว่าง urease กับ ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์	36
4.9 ความสัมพันธ์ระหว่าง urease กับ ปริมาณฟอสฟอรัสทั้งหมด	37
4.10 ความสัมพันธ์ระหว่าง urease กับ ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด	37
4.11 ผลของการเติมโครเมียมต่อกิจกรรม acid phosphatase	38
4.12 ผลของการเติมแคดเมียมต่อกิจกรรม acid phosphatase	39
4.13 ผลของการเติมทองแดงต่อกิจกรรม acid phosphatase	39
4.14 ผลของการเติมสังกะสีต่อกิจกรรม acid phosphatase	40
4.15 ผลของการเติมตะกั่วต่อกิจกรรม acid phosphatase	40

สารบัญญภาพ(ต่อ)

ภาพ	หน้า
4.16 ผลของการเติมโลหะธาตุผสมต่อกิจกรรม acid phosphatase	41
4.17 ผลของการเติมโครเมียมต่อกิจกรรม ureae	41
4.18 ผลของการเติมแคดเมียมต่อกิจกรรม urease	42
4.19 ผลของการเติมทองแดงต่อกิจกรรม urease	42
4.20 ผลของการเติมสังกะสีต่อกิจกรรม urease	43
4.21 ผลของการเติมตะกั่วต่อกิจกรรม urease	43
4.22 ผลของการเติมโลหะธาตุผสมต่อกิจกรรม urease	44



บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

จากการขยายตัวของกิจกรรมต่างๆ ทั้งจากชุมชน อุตสาหกรรม เกษตรกรรม การท่องเที่ยว รวมถึงการค้าและบริการ ซึ่งจากกิจกรรมดังกล่าวล้วนก่อให้เกิดของเสียและมลพิษสู่สิ่งแวดล้อม ปัญหามลพิษมีหลายประการทั้งสถานการณ์คุณภาพน้ำ อากาศ เสียง ขยะมูลฝอย ของเสียอันตราย และสารอันตราย (กรมควบคุมมลพิษ, 2555)

สถานการณ์คุณภาพสิ่งแวดล้อมในประเทศไทยมีแนวโน้มเสื่อมโทรมลง จากปัญหามลพิษด้านต่างๆ ปัญหาด้านมลพิษที่ส่งผลต่อสิ่งแวดล้อมและการเป็นอยู่ของประชาชน สาเหตุเกิดจากการใช้ทรัพยากรธรรมชาติ สารเคมี และพลังงาน สาเหตุดังกล่าวทำให้เกิดของเสียและมลพิษสู่สิ่งแวดล้อม จากการประเมินปัญหามลพิษที่มีความรุนแรง คือ การประกอบกิจการเหมืองแร่ซึ่งมีการปนเปื้อนโลหะหนักตกค้างในสิ่งแวดล้อมอันจะส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม โดยเฉพาะการปนเปื้อนในดิน ตะกอนดิน น้ำผิวดิน และเกิดการสะสมโลหะที่เกินค่ามาตรฐาน การปนเปื้อนเหล่านี้จะส่งผลกระทบต่อทั้งมนุษย์ สัตว์ และพืช (กรมควบคุมมลพิษ, 2555)

เอนไซม์ดินเป็นกลุ่มเอนไซม์ที่พบได้ในดินทั่วไป มีบทบาทสำคัญในการรักษาระบบนิเวศทางดิน คุณสมบัติทางกายภาพ คุณสมบัติทางเคมี ความอุดมสมบูรณ์ และคุณภาพของดิน เอนไซม์ดินมีบทบาททางกระบวนการชีวเคมี การย่อยสลายสารอินทรีย์ดินในระบบ อีกทั้งมีความสำคัญในการเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาที่สำคัญทางกระบวนการมีชีวิตของจุลินทรีย์ดิน การรักษาเสถียรภาพดิน การสลายตัวของเสียอินทรีย์ การสร้างอินทรีย์วัตถุและวัฏจักรสาร เอนไซม์ดินจึงมีบทบาทสำคัญต่อคุณภาพดินและสิ่งแวดล้อม

กลุ่มของเอนไซม์ดินเป็นตัวกำหนดกระบวนการการเผาผลาญอาหารในดิน โดยระดับเอนไซม์ในดินจะแตกต่างกันตามชนิดดิน ปริมาณอินทรีย์วัตถุ องค์ประกอบทางดิน กิจกรรมของสิ่งมีชีวิต และการเกิดกิจกรรมในกระบวนการทางชีวภาพ เอนไซม์ดินเป็นตัวกลางในกระบวนการทางชีวภาพของดินอินทรีย์ และการสลายตัวของส่วนประกอบแร่ ดังนั้นเอนไซม์จึงเป็นตัวเร่งการเกิดปฏิกิริยา และกระบวนการสำคัญในดิน กิจกรรมเอนไซม์ดินเป็นตัวชี้วัดที่เกิดการเปลี่ยนแปลงได้รวดเร็วกว่าตัวชี้วัดหรือพารามิเตอร์ชนิดอื่น จึงเหมาะแก่การบ่งชี้การเปลี่ยนแปลงคุณภาพดินและเกี่ยวข้องกับขั้นตอนต่างๆ เอนไซม์ดินประกอบไปด้วย amylase, alysulphatases, β -glucosidase, cellulase, chitinase, dehydrogenase, phosphatase, protease และ urease โดยเอนไซม์เหล่านี้เกิดจากการปลดปล่อยจากพืช สัตว์ สารประกอบอินทรีย์และจุลินทรีย์ดินและการมีเอนไซม์ในดิน (Das and Varma, 2011)

จากรายงานเบื้องต้นจึงเป็นข้อมูลให้ทราบว่ากิจกรรมการทำงานของเอนไซม์จะเปลี่ยนไปเมื่อมีการปนเปื้อนลงสู่ดิน ในการวิจัยครั้งนี้จึงมีจุดมุ่งหมายในการศึกษาการเปลี่ยนแปลงกิจกรรมของเอนไซม์ในดิน เนื่องจากการเติมโลหะหนัก เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานในการศึกษาพฤติกรรมและผลกระทบโลหะในดินต่อไป

1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อเปรียบเทียบการเกิดกิจกรรมเอนไซม์ดินที่มีการปนเปื้อนโลหะหนักกับดินที่ไม่มีการปนเปื้อนโลหะหนัก
2. เพื่อเปรียบเทียบกิจกรรมเอนไซม์ดินที่มีโลหะหนักต่างชนิดกันและระดับความเข้มข้นของโลหะหนักที่ต่างกัน
3. เพื่อศึกษาผลของโลหะหนักต่อการเปลี่ยนแปลงกิจกรรมเอนไซม์ดินในแต่ละช่วงระยะเวลาเจริญเติบโตของผักกาดเขียวปลี

1.3 ขอบเขตการวิจัย

การศึกษากิจกรรมเอนไซม์ในดินเป็นการศึกษาเพื่อเปรียบเทียบกิจกรรมการทำงานของเอนไซม์ในดินที่มีโลหะหนักปนเปื้อนกับดินที่ไม่มีการปนเปื้อนโลหะหนัก ทำการเก็บตัวอย่างดินบริเวณพื้นที่บ้านหนองวางลี อำเภอเมือง จังหวัดพิษณุโลก ที่ระดับความลึกไม่เกิน 15 เซนติเมตร และวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ ทำการศึกษาโดยการเติมโลหะลงในดินประกอบด้วยโลหะหนักเดี่ยว 5 ธาตุ คือ Zn, Cr, Cd, Cu และ Pb และโลหะผสม (โดยทำการผสมโลหะทั้ง 5 ธาตุเข้าด้วยกัน) วิเคราะห์การทำงานโดยใช้เอนไซม์ดิน 2 ชนิด ได้แก่ acid phosphatase และ urease โดยใช้วิธีการบ่ม (Incubation) เพื่อตรวจสอบกิจกรรมการทำงานของเอนไซม์ดินร่วมกับเทคนิค Spectrophotometer แปรผลร่วมกันช่วงการเจริญเติบโตของพืชอันอาจส่งผลให้เกิดกิจกรรมเอนไซม์ดินเปลี่ยนไป และเลือกผักกาดเขียวปลีเป็นพืชตัวอย่างในการศึกษา

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. เป็นข้อมูลในการประเมินความเสี่ยงการปนเปื้อนโลหะหนัก
2. สามารถนำข้อมูลไปประยุกต์ใช้ผลกระทบของดินปนเปื้อนต่อคุณภาพดิน
3. เป็นข้อมูลเตือนภัยให้กับเกษตรกรด้านผลผลิต ความเสียหายและจัดทำมาตรการป้องกันปัญหา

1.5 คำสำคัญหรือคำจำกัดความที่ใช้ในการวิจัย

โลหะหนัก หมายถึง โลหะหนักที่มีความถ่วงจำเพาะมากกว่าน้ำ 5 เท่า ตัวอย่างเช่น สังกะสี (Zn) ทองแดง (Cu) โครเมียม (Cr) แคดเมียม (Cd) และตะกั่ว (Pb)

เอนไซม์ดิน เป็นโปรตีนชนิดหนึ่งที่มีคุณสมบัติในการเร่งการเกิดปฏิกิริยาต่างๆในดิน ซึ่งเกี่ยวข้องกับวัฏจักรสารในดิน เอนไซม์ดินที่ทำการศึกษาในงานวิจัยนี้ประกอบด้วย acid phosphatase และ urease

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

การพัฒนาเศรษฐกิจและสังคมของประเทศส่งผลต่อการขยายตัวการใช้ทรัพยากรมากขึ้นทั้งจากชุมชน อุตสาหกรรม เกษตรกรรม การท่องเที่ยว รวมถึงการค้าและบริการ กิจกรรมดังกล่าวเป็นสาเหตุของสำคัญในการสร้างผลเสียและมลพิษสู่สิ่งแวดล้อมนำไปสู่ความเสื่อมโทรมของคุณภาพน้ำ อากาศ เสียง ปัญหาขยะมูลฝอย ของเสียอันตรายและสารอันตราย (กรมควบคุมมลพิษ, 2555) รวมถึงความเสื่อมโทรมของคุณภาพดิน

2.1 สถานการณ์การปนเปื้อนของดิน

ปัจจุบันประเทศไทยมีพื้นที่การปนเปื้อนมลพิษกระจายอยู่ในหลายพื้นที่ จากการพัฒนาสังคมเกษตรกรรมสู่สังคมอุตสาหกรรมสารพิษที่ปนเปื้อนสู่สิ่งแวดล้อมซึ่งเป็นปัญหาที่ส่งผลกระทบต่อในหลายด้านทั้งต่อระบบนิเวศและสุขภาพของประชาชน ปัญหาการปนเปื้อนสารพิษมีสาเหตุมาจากหลายประการทั้งด้านอุตสาหกรรม การทำเหมือง การลักลอบทิ้งขยะ จนเกิดมลพิษสะสมในสิ่งแวดล้อม (มูลนิธิโลกสีเขียว, 2556)

สถานการณ์การปนเปื้อนมลพิษมีแนวโน้มที่เสื่อมโทรมลง จากการพัฒนาเศรษฐกิจ ความต้องการผลผลิตที่เพิ่มมากขึ้นโดยไม่คำนึงผลกระทบที่จะเกิดขึ้นกับสิ่งแวดล้อม ซึ่งมาจากหลายๆภาคส่วน เช่น อุตสาหกรรม ที่มีการพัฒนาเทคโนโลยีเพื่อเพิ่มศักยภาพการผลิตจนเกิดมลพิษปนเปื้อน (มูลนิธิโลกสีเขียว, 2556) การใช้สารเคมีกำจัดศัตรูพืช สารฆ่าแมลงในการเกษตรกรรม เพื่อเพิ่มผลผลิตและความต้องการให้ผลผลิตมีคุณภาพที่สูงขึ้น จึงทำให้มีการใช้สารเคมีอันตราย สารเคมีดังกล่าวข้างต้นจัดเป็นสารพิษที่มีฤทธิ์ตกค้างยาวนาน ทำให้เกิดการกระจายของสาร และการสะสมสู่สิ่งแวดล้อมโดยผ่านช่องทางได้หลายประการทั้งทางอากาศ น้ำและดิน รวมถึงส่งผลกระทบต่อห่วงโซ่อาหาร (กรมวิชาการเกษตร, 2558)

การปนเปื้อนสารพิษในดินนับเป็นปัญหาที่ต้องใช้ระยะเวลาในการแก้ไขยาวนานและยากต่อการควบคุม โดยสาเหตุหลักนั้นมาจากการดำเนินกิจกรรมมนุษย์ ด้วยเหตุนี้เองจึงเกิดการแปรสภาพสู่สิ่งแวดล้อม ทำปฏิกิริยาเป็นกรด หรืออาจเกิดกระบวนการระเหย (กรมส่งเสริมคุณภาพสิ่งแวดล้อม, 2558) การปนเปื้อนโลหะหนักจากการเกษตรเป็นอีกหนึ่งสาเหตุสำคัญเนื่องจากประเทศไทยมีการทำอาชีพเกษตรกรรมค่อนข้างมาก ด้วยเหตุผลที่เกษตรกรต้องการผลผลิตที่สูงจึงทำให้มีการใช้ปุ๋ยเคมี และสารเคมีเพื่อเพิ่มผลผลิตและปรับปรุงคุณภาพของผลิตผลซึ่งเป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดการปนเปื้อนโลหะหนักได้จากการวิเคราะห์ปริมาณของทองแดง และตะกั่วในปุ๋ยแต่ละสูตร พบว่า ปริมาณของทองแดง และตะกั่วในปุ๋ยแต่ละสูตรมีปริมาณแตกต่างกัน เช่น ปุ๋ยสูตร 1 (15-15-15) พบปริมาณทองแดง (Cu) มากที่สุด 25 มก./กก. ปุ๋ยสูตร 2 (15-15-15) และปุ๋ยสูตร (16-8-8) มีปริมาณตะกั่ว (Pb) มากที่สุด คือ 25 มก./กก. จากการวิเคราะห์ปริมาณโลหะหนักในน้ำบาดาลโดยแบบจำลองตามระดับความลึก

จากการใส่ปุ๋ยสูตรต่างๆ พบว่า ในน้ำบาดาลที่ระดับความลึกต่างกันมีความเข้มข้นของโลหะหนักต่างกัน โดยที่ระดับความลึก 100 เมตร มีค่าสูงที่สุด มีความเข้มข้นของทองแดงและตะกั่วเป็น 4.49 และ 3.56 มก./ล. ตามลำดับ ปริมาณโลหะหนักที่พบในปุ๋ยมีแนวโน้มที่สูงขึ้นหากมีการใช้ เป็นเวลานานทำให้เกิดการสะสมในดินและปนเปื้อนในน้ำบาดาลระดับตื้น (ตุลญา มะสีพันธ์ และ ศรีเลิศ โชติพันธ์รัตน์, 2557) การวิเคราะห์การตกค้างของสารเคมีหลังการทำนา ในพื้นที่ แปลงนาทดลองพื้นที่ตำบลสามตำบล อำเภอจุฬาภรณ์ จังหวัดนครศรีธรรมราช โดยวิเคราะห์ ปริมาณโลหะหนัก 3 ชนิด ได้แก่ ทองแดง ตะกั่วและสังกะสี ในปุ๋ยเคมี 2 ตัวอย่าง สารกำจัดวัชพืช 1 ตัวอย่าง ผลการทดลองหลังการทำนาพบปริมาณการสะสมตะกั่ว สังกะสี และทองแดง มีค่า 924 ± 0.05 มก./กก. 34.00 ± 0.00 มก./กก. และ 9.6 ± 0.05 มก./กก. ตามลำดับ (สุจิตรา ชูเกิด และคณะ, 2554)

ปัจจุบันพื้นที่การปนเปื้อนสารพิษในประเทศไทยมีการแพร่กระจายเป็นบริเวณกว้าง และพบปัญหาหลายจุด ซึ่งปัญหามลพิษที่เกิดขึ้นจะแตกต่างกันไปจากการดำเนินกิจกรรมและการใช้ประโยชน์ในพื้นที่นั้นๆ ตัวอย่างปัญหาการปนเปื้อนสารพิษ (มูลนิธิโลกสีเขียว, 2556) แสดงดังภาพที่ 2.1

1. สนามบินบ่อฝ้าย จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ ระหว่างการปรับปรุงสนามบินในปี พ.ศ. 2542 เกิดการรั่วไหลของสารเคมีจากการที่รถแบ็คโฮขุดกระทบกับถังสารเคมีที่ฝังอยู่ในดิน
2. ตำบลแม่ตาว จังหวัดตาก การปนเปื้อนแคดเมียมในปี 2547 ทั้งในดิน น้ำ และเมล็ดข้าวที่ปลูก ซึ่งพบพื้นที่ปนเปื้อนอยู่ใกล้บริเวณเหมืองแร่และโรงงานถลุงสังกะสี
3. ตำบลเขาเจ็ดยักษ์ อำเภอทับคล้อ จังหวัดพิจิตร ปัญหาการปนเปื้อนโลหะหนัก เช่น สารหนู ปรอทและไซยาไนด์
4. อำเภออรัญประเทศ จังหวัดสระแก้ว จากการลักลอบทิ้งรองเท้ามือสองจำนวนมากในปี พ.ศ.2556



ภาพที่ 2.1 พื้นที่ปนเปื้อนสารพิษในประเทศไทย
ที่มา : มูลนิธิโลกสีเขียว (2556)

2.2 โลหะหนัก

โลหะหนัก คือ สารที่ความถ่วงจำเพาะมากกว่า 5 เป็นกลุ่มโลหะทรานซิชัน มีความเป็นพิษต่อระบบนิเวศและส่งผลต่อระบบชีวเคมีของสิ่งมีชีวิต (ฐิตยา แซ่ปั้ง, 2551) กลุ่มของโลหะที่เป็นพิษ สามารถเกิดขึ้นเองตามธรรมชาติ ความเป็นพิษของโลหะจะขึ้นอยู่กับรูปแบบของโลหะ ปัจจุบันมีการนำโลหะหนักมาใช้ประโยชน์ในหลายๆด้านทั้งการอุตสาหกรรม เกษตรกรรม รวมถึงยารักษาโรค ถึงแม้โลหะจะมีประโยชน์แต่หากมีการนำมาใช้ในปริมาณมากและมีการจัดการที่ไม่เหมาะสมก็จะก่อให้เกิดผลเสียตามมา (มธุรส จุจิววัฒน์ และ จุฑามาศ สัตยาวิวัฒน์, 2549)

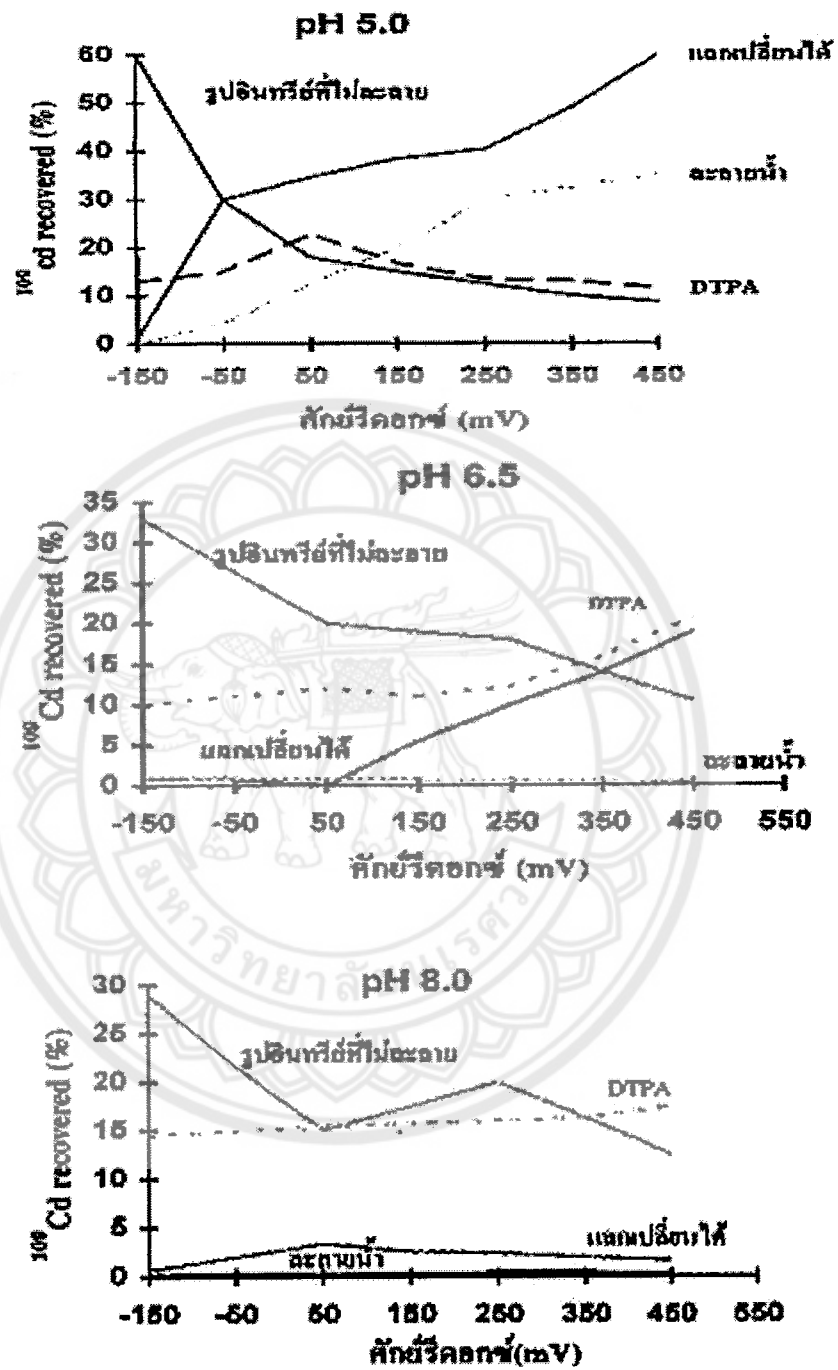
แคดเมียม

โดยทั่วไปแคดเมียมจะเกิดร่วมกับสินแร่ตะกั่วและสังกะสี ปริมาณแคดเมียมจะสูงในเหมืองที่มีการถลุงสังกะสี ปัจจุบันมีการนำแคดเมียมมาใช้ในการอุตสาหกรรม โลหะผสมในแบตเตอรี่ แคดเมียมจัดเป็นโลหะที่มีความคงทนต่อการกัดกร่อน (มธุรส จุจิววัฒน์ และ จุฑามาศ สัตยาวิวัฒน์, 2549)

แคดเมียมมีการกระจายจากแหล่งกำเนิดไปสู่สิ่งแวดล้อมได้หลายทางทั้งทางอากาศ น้ำ และดิน โดยปกติจะพบแคดเมียมในสิ่งแวดล้อมในปริมาณต่ำ ยกเว้นในพื้นที่ที่มีการปนเปื้อนจะพบแคดเมียมเกินค่ามาตรฐาน แคดเมียมอาจมีการปนเปื้อนสู่ห่วงโซ่อาหาร นอกจากนี้แคดเมียมอาจมีการปนเปื้อนสู่สิ่งแวดล้อมจากการใช้ปุ๋ยที่ผลิตมาจากกากของเสีย (ฐิตยา แซ่ปั้ง, 2551)

การสลายตัวของหินแร่ทำให้แคดเมียมอยู่ในรูปไอออนบวก Cd^{2+} แต่บางครั้งจะพบในรูปไอออนเชิงซ้อนและสารประกอบ ปัจจัยสำคัญที่ควบคุมการเคลื่อนที่ของแคดเมียม คือ pH ดิน และศักย์รีดอกซ์ (redox potential) แสดงดังภาพที่ 2.2 แคดเมียมจะเคลื่อนที่ได้ดีในสภาพดินที่เป็นกรด โดยแคดเมียมจะเคลื่อนที่ได้ดีในระดับ pH 4.5–5.5 การละลายแคดเมียมในสภาพกรดจะขึ้นกับปริมาณออกไซด์ของเหล็กและอลูมิเนียม และปริมาณอินทรีย์วัตถุ (จุฑามาศ พนิชศักดิ์พัฒนา, 2545)

หากได้รับแคดเมียมในปริมาณที่สูงจะทำให้เกิดความเป็นพิษเฉียบพลัน โดยจะแสดงอาการคลื่นไส้ อาเจียน ปวดท้อง ท้องผูก ชัก หรืออาจร้ายแรงถึงขั้นไตทำงานล้มเหลว ตัวอย่างเช่น การเกิดโรคอิต – อิต ในประเทศญี่ปุ่น จากการได้รับแคดเมียมในปริมาณที่สูง หรือในกรณีได้รับแคดเมียมทางการหายใจจะทำให้เกิดภาวะปอดบวมและปอดอักเสบ (มธุรส จุจิววัฒน์ และ จุฑามาศ สัตยาวิวัฒน์, 2549)



ภาพที่ 2.2 ผลของสภาพกรด - ด่าง และศักย์รีดอกซ์ต่อรูปของแคดเมียมในตะกอนดินจากแม่น้ำมิสซิปปี

ที่มา : ศุภมาศ พนิชศักดิ์พัฒนา (2545)

ตะกั่ว

ตะกั่วเป็นโลหะหนักที่เกิดขึ้นเองตามธรรมชาติ มีสีเทาเงินหรือแกมน้ำเงิน ปัจจุบันมีการใช้สินแร่ตะกั่วในหลายด้านเนื่องจากตะกั่วมีสมบัติที่ง่ายต่อการใช้งาน มีจุดหลอมเหลวเท่ากับ 37°C จึงง่ายต่อการหลอม ด้วยลักษณะที่อ่อนของตะกั่วจึงทำให้ง่ายต่อการขึ้นรูป อย่างไรก็ตาม ตะกั่วเป็นโลหะหนักที่เป็นพิษมีการตกตะกอนอยู่โดยรอบในสิ่งแวดล้อมและสิ่งมีชีวิต การปนเปื้อนส่วนใหญ่เกิดจากกิจกรรมการใช้ประโยชน์โดยมนุษย์ เช่น ตะกั่วที่ปนเปื้อนในสีทาบ้าน ตะกั่วที่ใช้เป็นสารประกอบผสมในน้ำมัน จากการศึกษาพบว่า ตะกั่วปนเปื้อนได้ทั้งในน้ำ ดิน และอากาศ และสามารถเข้าสู่ร่างกายได้โดยการสัมผัส การหายใจ และทางอาหาร (ศุภมาศ พนิชศักดิ์พัฒนา, 2545)

ในดินโดยทั่วไปจะพบตะกั่วในรูป Pb^{2+} มากกว่า Pb^{4+} ตะกั่วเป็นโลหะหนักที่มีสภาพการเคลื่อนที่น้อย สภาพการละลายน้ำจะขึ้นกับสภาพการเป็นกรดและด่าง โดยเมื่อระดับ pH ดินสูงขึ้น ตะกั่วจะอยู่ในรูปตกตะกอน เกิดสารประกอบเชิงซ้อน และมีความเสถียรในดินที่สูงขึ้น ในทางตรงกันข้ามดินที่สภาพ pH ต่ำลงหรือในสภาพที่เป็นกรดจะทำให้ตะกั่วมีความสามารถในการละลายน้ำได้เพิ่มขึ้น ปริมาณตะกั่วที่สะสมมีความสัมพันธ์กับปริมาณอินทรีย์วัตถุในดิน (ศุภมาศ พนิชศักดิ์พัฒนา, 2545)

การเกิดการปนเปื้อนตะกั่วเกิดจากการใช้ดินเป็นแหล่งทิ้งกากตะกอนน้ำโสโครก การใช้สารกำจัดศัตรูพืช การทำเหมืองแร่ หรือกระทั่งการทิ้งวัสดุเหลือใช้จากครัวเรือน จึงทำให้เกิดการปนเปื้อนในบริเวณกว้าง และเกิดกระบวนการแทนที่ (isomorphous substitution) จากการที่โลหะเข้าไปแทนที่ในสินแร่ แล้วเกิดการปนเปื้อนโลหะหนักแทนในสินแร่นั้นๆ ในกรณีที่ตะกั่วมีการปนเปื้อนในดินจะทำให้การเคลื่อนย้ายตะกั่วสู่ดินชั้นล่างเป็นไปอย่างช้าๆ จากการมีสภาพการละลายน้ำที่ต่ำและการคงทนต่อการสลายตัว จึงเกิดการสะสมตัวที่บริเวณชั้นบนของดิน การเกิดการปนเปื้อนตะกั่วในดินจึงเป็นการปนเปื้อนแบบค่อยๆ สะสมตัวในชั้นดิน (ศุภมาศ พนิชศักดิ์พัฒนา, 2545)

การปนเปื้อนตะกั่วในสิ่งแวดล้อมมีการปนเปื้อนประมาณ 20 – 50 % และการปนเปื้อนตะกั่วในมนุษย์จะถูกดูดซึมเข้ากระแสเลือดและจะกระจายไปยังอวัยวะเป้าหมาย เช่น ปอด ตับ ม้าม และกระดูก ความเป็นพิษของตะกั่วมีดังนี้

1. ระบบเลือด ตะกั่วจะไปยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ ลดการสร้าง heme ในการสร้างเม็ดเลือดแดง ทำให้ร่างกายมีเม็ดเลือดแดงน้อย ผิดปกติ และแตกง่าย ชักนำให้เกิดโรคโลหิตจาง

2. ระบบประสาท ตะกั่วเป็นพิษต่อเซลล์ประสาท โดยเฉพาะคนที่ได้รับตะกั่วเป็นเวลานานจะทำให้เกิดอาการเสื่อมของระบบประสาท ความดันโลหิตสูง ความจำเสื่อม หากตะกั่วเกิดการสะสมในเด็กจะทำให้เด็กเกิดการพัฒนากายทางด้านสมองที่ช้าลง

3. ไต ตะกั่วเป็นพิษต่อไตจะเกิดในบริเวณท่อไตส่วนต้นถูกทำลาย หากได้รับตะกั่วเป็นเวลานานหรือเกิดพิษเรื้อรัง อาจจะทำให้เกิดภาวะไตวายเฉียบพลัน ไตพิการ

4. กระจก เป็นพิษทางอ้อมจากการสะสมตะกั่วไว้ที่กระดูรบกวนการควบคุมการเข้า-ออกของแคลเซียม ซึ่งมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงระดับแคลเซียม อีกทั้งความเป็นพิษของตะกั่วยังเป็นสารก่อมะเร็ง ซึ่งจะเกิดเป็นเนื้องอกในเซลล์เป้าหมาย (ศุภมาศ พนิชศักดิ์พัฒนา, 2545)

ทองแดง

ทองแดงจัดเป็นแร่ที่ละลายตัวได้ง่ายเมื่อเทียบกับโลหะหนักทั่วไปโดยเฉพาะเมื่ออยู่ในสภาพการเป็นกรด ทองแดงสามารถปล่อยออกมาในรูปไอออนได้ในสภาพธรรมชาติ การรวมตัวกับไอออนลบจะทำให้การเคลื่อนที่ของทองแดงเคลื่อนที่ในดินได้น้อยลง ดังนั้นจึงเกิดการสะสมตัวของทองแดงในบริเวณดินชั้นบน (ศุภมาศ พนิชศักดิ์พัฒนา, 2545)

ทองแดงสามารถพบได้ทั้งในรูปที่ละลายน้ำได้ และในรูปไอออน ซึ่งจะถูกยึดไว้โดยสารอินทรีย์และสารอนินทรีย์ โดย Cu^{2+} จะพบในรูปที่ละลายได้ ส่วนไอออนที่ถูกยึดไว้จะประกอบด้วยปฏิกิริยาดังต่อไปนี้

1. การดูดซับ (adsorption)
2. การอุดตริง (occlusion) และการตกตะกอนร่วม (coprecipitation)
3. การเกิดคีเลต กับสารอินทรีย์ (chelation)
4. การตรึงโดยจุลินทรีย์ (microbial fixation)

แร่ในดินสามารถดูดซับไอออนทองแดงได้โดยจะขึ้นกับ pH ดิน การดูดซับจึงขึ้นกับสภาพการเป็นกรด-ด่างในดิน ส่วนการตรึงโดยการอุดตริง สามารถเกิดขึ้นได้ก็ต่อเมื่อมีออกซิเจนเป็นพันธมิตรร่วม ซึ่งปริมาณการดูดซับจะสัมพันธ์กับปริมาณทองแดงในดิน และคุณสมบัติดิน (ศุภมาศ พนิชศักดิ์พัฒนา, 2545)

โดยทั่วไปทองแดงจะถูกดูดซับโดยอนุภาคดินเหนียว แต่ในกรณีที่ทองแดงอยู่ในดินลักษณะเนื้อดินเป็นดินเนื้อหยาบจะทำให้ทองแดงสะสมได้ในดินชั้นล่าง ส่วนทองแดงจะพบในรูปใดจะขึ้นกับสภาพการเป็นกรด-ด่าง โดยสภาพดินที่มีความเป็นกรดเพิ่มขึ้นหรือ $\text{pH} < 7$ จะทำให้ทองแดงละลายน้ำได้มากขึ้น

สาเหตุการปนเปื้อนทองแดงในดินมาจากการใช้ประโยชน์ทองแดงในทางอุตสาหกรรม เช่น ใช้ผลิตสายไฟ ท่อน้ำ และเกิดจากกิจกรรมทางด้านการเกษตรเนื่องจากการใช้สารเคมีทางการเกษตร สารกำจัดศัตรูพืชและสารฆ่าแมลง จากกิจกรรมข้างต้นทำให้เกิดการปนเปื้อนที่กระจายตัวสู่สิ่งแวดล้อมได้มากขึ้น

การปนเปื้อนทองแดงในปริมาณที่สูงส่งผลให้ปริมาณแบคทีเรียในดินลดลง มีผลต่อปริมาณเชื้อรา และส่งผลต่อการหยุดการเจริญเติบโตของพืช ซึ่งในสภาพปกติแล้วพืชจะดูดทองแดงในปริมาณที่ต่ำหากแต่ในพื้นที่ที่มีการปนเปื้อนที่สูงจะทำให้พืชเกิดการสะสมทองแดงได้มากยิ่งขึ้น (ศุภมาศ พนิชศักดิ์พัฒนา, 2545)

โอกาสการเกิดพิษของทองแดงในมนุษย์นั้นมีโอกาสเกิดพิษค่อนข้างต่ำ ส่วนมากมักจะเกิดพิษต่อพืชได้ง่ายกว่าในรูปของสารละลายดิน (ศุภมาศ พนิชศักดิ์พัฒนา, 2545) มนุษย์สามารถรับทองแดงได้จากการหายใจ การบริโภคอาหาร อาการเกิดพิษจะขึ้นกับปริมาณทองแดงที่ได้รับเข้าไป หากได้รับทองแดงในปริมาณมากและติดต่อกันเป็นเวลานานจะทำให้ทำงานได้น้อยลง ไม่สามารถขับทองแดงออกจากร่างกายได้ ทำให้ร่างกายเกิดภาวะผิดปกติ หรือกลุ่ม Wilson's Diseases โดยจะมีอาการร่างกายอ่อนเพลียตลอดเวลา น้ำมูกไหล และควบคุมการพูดลำบาก (ศูนย์ข้อมูลพิษวิทยา, 2548)

สังกะสี

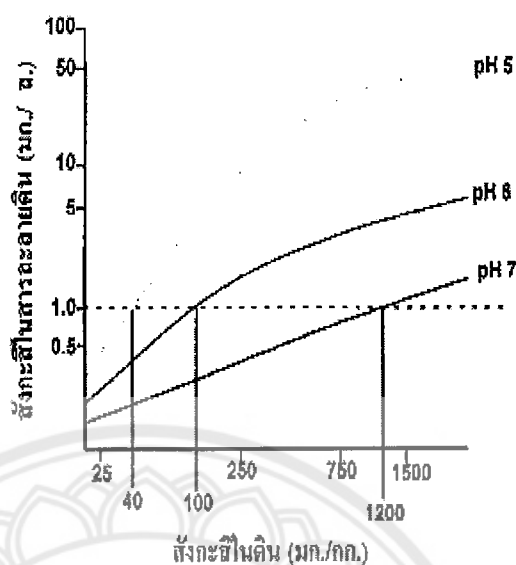
สังกะสีถูกนำมาใช้ประโยชน์ในหลายด้าน ในทางอุตสาหกรรมสังกะสีถูกนำมาใช้ในการชุบโลหะ ภาชนะเคลือบ น้ำยารักษาคุณภาพเนื้อไม้ ผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง เช่น โลชั่นบำรุงผิว ยาธรรมชาติป้องกันรังแค อุตสาหกรรมเหมืองแร่สามารถพบสังกะสีได้ในรูป ZnO ZnS $ZnSO_4$ จากการผลิต ย่อยแร่ ทางด้านการเกษตรมีการนำสังกะสีมาทำสารประกอบในการฆ่าเชื้อรา เช่น zinc dimethyl dithiocarbamate (สถาบันนวัตกรรมการเรียนรู้, 2558)

สังกะสีเคลื่อนย้ายได้ดีในสภาพการเป็นกรด จากการสลายตัวของสังกะสีในรูป Zn^{2+} แต่จะถูกดูดซับโดยแร่อินทรีย์จึงพบการสะสมของสังกะสีในดินชั้นบน สภาพการเคลื่อนที่ของสังกะสีจะขึ้นกับระดับความเป็นกรด - ด่าง โดยการเคลื่อนที่ของสังกะสีจะเคลื่อนที่ได้ดีในสภาพการเป็นกรด หรือใน $pH < 7$ และจะเคลื่อนที่ได้ดียิ่งขึ้นเมื่ออยู่ในสภาพดินกรดที่มีลักษณะเป็นดินเนื้อหยาบ แสดงดังภาพที่ 2.3 (ศุภมาศ พนิชศักดิ์พัฒนา, 2545)

โครเมียม

โครเมียมเป็นโลหะที่กระจายทั่วไปในดินมีเลขออกซิเดชันตั้งแต่สองถึงหก Cr^{2+} ถึง Cr^{6+} ในธรรมชาติสามารถพบโครเมียมได้ในแร่โครไมต์ (chromite ore) ปัจจุบันโครเมียมถูกนำไปใช้ประโยชน์ในการผลิตโลหะอัลลอยด์ สแตนเลส อุตสาหกรรมผลิตสี และหม้อมีการกระจายแคดเมียมสู่สิ่งแวดล้อมสาเหตุมาจากทั้งธรรมชาติและกิจกรรมมนุษย์ ส่งผลให้เกิดการปนเปื้อนในอาหาร ดิน น้ำ และอากาศ

การกระจายตัวโครเมียมในดินและน้ำสามารถซึมเข้าสู่ร่างกายได้จากการกินและการหายใจ พิษเฉียบพลันของโครเมียมมาจากอุบัติเหตุและการจงใจกิน ปริมาณโครเมียมที่สูงจะส่งผลความเป็นพิษต่อไต และเป็นสารก่อมะเร็งปอด โรคมะเร็งผิวหนัง ภาวะโลหิตจาง หรืออาจจากรุนแรงถึงขั้นเสียชีวิตได้ (ฐิตียา แซ่ปั้ง, 2551)



ภาพที่ 2.3 ความสัมพันธ์ระหว่างสภาพการละลายได้ของสังกะสีในดินกับสภาพพีเอชดิน และปริมาณสังกะสีทั้งหมด
ที่มา : ศุภมาศ พนิชศักดิ์พัฒนา (2545)

2.3 ผักกาดเขียวปลี

ผักกาดเขียวปลี (Leaf mustard) เป็นพืชวงศ์ Brassicaceae ชื่อวิทยาศาสตร์ *Brassica juncea* (L.) Czern ผักกาดเขียวปลี จำแนกเป็น 2 ประเภท คือ ผักกาดเขียวปลีธรรมดา และผักกาดเขียวปลีชนิดห่อปลี เป็นพืชที่สามารถขึ้นได้ดีในดินแทบทุกชนิด เจริญเติบโตได้ในดินร่วนปนทราย ที่มีสภาพการระบายน้ำดีและสภาพความเป็นกรดต่างในดินระหว่าง (pH 6.0 – 6.5) เป็นพืชที่ต้องการแสงตลอดทั้งวันและต้องการน้ำมาก จึงจำเป็นต้องให้น้ำบ่อยครั้งและสม่ำเสมอ ผักกาดเขียวปลีเป็นพืชระยะสั้นโดยมีอายุกล้าประมาณ 30 วัน หลังจากการงอกเมล็ดจะเจริญสุระยะห่อปลีภายใน 40 – 45 วัน และระยะเจริญเติบโตเต็มที่หรือระยะเก็บเกี่ยว อายุประมาณ 55 -75 วัน (รักบ้านเกิด, 2552)

บัญชา วินัยพานิช (2548) ได้ทำการศึกษา การบำบัดดินปนเปื้อนทองแดงโดยใช้ผักกาดเขียวปลี ด้อยตั้ง และไมยราบ ทำการศึกษาการสะสมทองแดงในผักกาดเขียวปลีในส่วนเหนือพื้นดิน และส่วนรากของต้นผักกาดเขียวปลีที่เติมทองแดงที่ความเข้มข้น คือ 0, 50, 100, 150 และ 200 มก./กก. เก็บเกี่ยวพืชไปวิเคราะห์ปริมาณทองแดงที่ระยะ 40, 50 และ 60 วัน รายงานผลการศึกษาพบว่า ปริมาณทองแดงในผักกาดเขียวปลีเพิ่มขึ้นในดินที่มีการเติมทองแดง 100 มก./กก. การสะสมเหนือพื้นดินเกิดขึ้นได้มากที่สุดที่ระยะ 40 วัน มีค่าการสะสมในพืช 1,700 มก./กก. และพบการสะสมทองแดงในส่วนของรากมากที่สุดที่ระยะ 50 วัน มีค่าการสะสม

ในพืช 1,120 มก./กก. ทั้งนี้การสะสมทองแดงในผักกาดเขียวปลีจะมีการสะสมมากที่สุดในส่วนเหนือพื้นดิน แต่ความเข้มข้นของทองแดงที่สะสมจะลดลงตามจำนวนวันเก็บเกี่ยว

2.4 เอนไซม์ดิน

เอนไซม์ดินเป็นกลุ่มของเอนไซม์ที่สามารถพบได้ทั่วไปในดิน ซึ่งเอนไซม์ดินมาจากจุลินทรีย์ในดินทั้งจากที่มีชีวิตและจุลินทรีย์ดินที่ตาย รากพืช สารตกค้างและสัตว์ในดิน การคงอยู่ของเอนไซม์ดินเกิดจากการสะสมของอินทรีย์วัตถุ อนุภาคดินเหนียว และสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างอินทรีย์วัตถุและอนุภาคดินเหนียว ซึ่งเอนไซม์ดินไม่มีความเกี่ยวข้องกับเซลล์มีชีวิต ดังนั้น กิจกรรมเอนไซม์ดินไม่มีความสัมพันธ์กับมวลชีวภาพและการหายใจของจุลินทรีย์ดิน อย่างไรก็ตาม กิจกรรมเอนไซม์ดินเป็นผลมาจากการสะสมการเกิดกิจกรรมของจุลินทรีย์ดิน

เอนไซม์ดินเป็นโปรตีนชนิดหนึ่งที่มีคุณสมบัติในการเร่งการเกิดปฏิกิริยาต่างๆในดิน ทั้งปฏิกิริยาชีวเคมี ปฏิกิริยาเคมีและปฏิกิริยาทางกายภาพ ซึ่งเกี่ยวข้องกับวัฏจักรสารอาหารในดิน นอกจากนี้เอนไซม์ดินจะมีความจำเพาะในการเกิดปฏิกิริยากับสารตั้งต้นในการทำงาน ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างโมเลกุล การทำงานของเอนไซม์จะเปลี่ยนไปตามอุณหภูมิ pH พันธะไอออนิก รวมถึงการมีสารกระตุ้นและไม่มีสารกระตุ้นในดิน ซึ่งปัจจัยดังกล่าวจะทำให้เกิดปฏิกิริยาได้เร็วขึ้น (Tabatabai, 1994)

โดยธรรมชาติการทำงานของเอนไซม์ดินจะเกิดได้ดีเมื่ออยู่ในสภาวะอุณหภูมิ และ pH ดินเหมาะสม เนื่องจากโครงสร้างของเอนไซม์ดินและสารตั้งต้นสามารถเปลี่ยนแปลงโครงสร้างโมเลกุลได้เร็วเมื่อมีอุณหภูมิที่สูงขึ้นหรือต่ำลง นอกจากนี้ความชื้นและเนื้อดินมีความสัมพันธ์กับการเกิดกิจกรรมเอนไซม์ดิน ซึ่งกิจกรรมการทำงานของเอนไซม์ดินจะเกิดได้ดีเมื่อดินอยู่สภาวะที่มีความชื้นสูงและมีลักษณะเนื้อดินที่มีอนุภาคดินเหนียวมาก เนื่องจากมีความสามารถในการจูนน้ำและสะสมอินทรีย์วัตถุที่ใช้ในการเกิดกิจกรรมของเอนไซม์ดินได้มากกว่าดินที่มีสภาพแห้งและเนื้อดินหยาบ (USDA, 2010)

เอนไซม์ดินตอบสนองต่อการเปลี่ยนแปลงการจัดการดินและตัวชี้วัดคุณภาพดินที่ไวต่อการเปลี่ยนแปลง กิจกรรมการทำงานของเอนไซม์ในดินจะลดลงเมื่อมีการสะสมสารเคมีที่เป็นอันตรายต่อสิ่งแวดล้อม การปนเปื้อนโลหะหนักลงสู่ดินจะทำให้กิจกรรมเอนไซม์ดินเปลี่ยนแปลงเนื่องจากจากการที่เอนไซม์ถูกยึดกับอนุภาคดินเหนียวและอนุภาคคอลลอยด์ในดินเกิดสารประกอบเชิงซ้อน (metal-enzyme complex) จึงทำให้ไม่สามารถย่อยสลายสารอินทรีย์ได้ตามปกติ และเป็นผลมาจากจุลินทรีย์ดินที่ลดลงจากการปนเปื้อน (Das and Varma, 2011)

เอนไซม์ดินเกี่ยวข้องกับกิจกรรมจุลินทรีย์ดิน และวัฏจักรสารต่างๆในดินที่เกี่ยวข้องกับธาตุอาหารพืช ดังแสดงตารางที่ 2.1 ประกอบด้วย

เอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับวัฏจักรคาร์บอน (C-cycling) ประกอบด้วย dehydrogenase, β -glucosidase, phenol oxidase และ cellulase

เอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับวัฏจักรฟอสฟอรัส (P-cycling) ประกอบด้วย phosphatase

เอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับวัฏจักรไนโตรเจน (N-cycling) ประกอบด้วย urease และ amidase

ตารางที่ 2.1 เอนไซม์ดินในฐานะตัวชี้วัดคุณภาพดิน

เอนไซม์ดิน	ปฏิกิริยาเอนไซม์	การชี้วัดกิจกรรม
Dehydrogenase	Electron transport system	C-cycling
Cellulase	Cellulose hydrolysis	C-cycling
β -glucosidase	Cellubiose hydrolysis	C-cycling
Phosphatase	Release of PO_4	P-Cycling
Urease	Urea hydrolysis	N-Cycling

ที่มา : Das and Varma (2011)

กิจกรรมการทำงานของเอนไซม์

1. Phosphatase

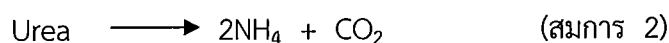
Phosphatase เป็นกลุ่มเอนไซม์ที่มีความสามารถในการปลดปล่อยฟอสเฟต (PO_4) และเมื่อฟอสเฟตรวมตัวกับน้ำจะเกิดเป็นกรดฟอสฟอริก (phosphoric acid) แสดงดังสมการ 1 ในระบบนิเวศดิน Phosphatase มีบทบาทในวัฏจักรฟอสเฟส และการเจริญเติบโตของพืช



กิจกรรม phosphatase มีความสัมพันธ์กับอินทรีย์วัตถุ อัตราการปลดปล่อยฟอสเฟต pH ดิน สภาพมีน้ำขังและเสถียรภาพของเอนไซม์ กิจกรรมของเอนไซม์จะเกิดสูงขึ้นในดินที่มีสภาพน้ำขังที่ค่า redox potential มีค่าลดลง เกิดการเปลี่ยนแปลงทางด้านเคมีและ pH ดินมีค่าสูงขึ้น ส่งผลให้ฟอสฟอรัสถูกปล่อยออกมาในรูปของสารละลายและพืชสามารถนำไปใช้ประโยชน์ การมีฟอสเฟตที่เป็นประโยชน์ต่อพืชในดินที่น้อยเกินไปจะพืชส่งสัญญาณให้ผลิต phosphatase ออกมาทางรากที่ทำให้ฟอสเฟตเกิดการละลายได้มากขึ้น ในทางตรงกันข้ามกิจกรรมของ phosphatase จะทำงานได้ลดลงในสภาพดินที่มี pH ต่ำ (Das and Varma, 2011)

2. Urease

เอนไซม์ urease ตอบสนองการย่อยสลายปุ๋ยยูเรียในดิน โดยจะเปลี่ยนยูเรียเป็น NH_4 และ CO_2 แสดงดังสมการ 2 ในกระบวนการนี้จะส่งผลให้ pH ดินสูงขึ้น บทบาทและกิจกรรมของ urease มีผลต่อการใช้ปุ๋ยยูเรียในดินจะทำให้ให้ปริมาณไนโตรเจนสูงขึ้นและพืชสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้



เอนไซม์ urease ที่พบส่วนใหญ่มาจากพืชและจุลินทรีย์ดินที่สร้างเอนไซม์ทั้งจากภายนอกเซลล์และภายในเซลล์ รวมทั้งการใส่ปุ๋ยยูเรียเป็นหนึ่งในแหล่งที่ผลิตเอนไซม์ชนิดนี้ เสถียรภาพของเอนไซม์ขึ้นกับปัจจัยหลายๆด้าน เช่น แร่ในดิน การเปลี่ยนแปลงโครงสร้างดิน อุณหภูมิ หน้าตัดดินและการจัดการดิน จากการศึกษาพบว่า urease มีความไวต่อการเปลี่ยนแปลงการปนเปื้อนสารพิษ โดยพื้นที่ที่มีการปนเปื้อนสารพิษจะส่งผลให้เอนไซม์ทำงานได้ลดลง เช่นเดียวกันตำแหน่งหน้าตัดดินที่ลึกจะพบปริมาณอินทรีย์วัตถุที่ต่ำจึงทำให้เอนไซม์ทำงานได้ลดลง ทั้งนี้กิจกรรม urease จะเพิ่มขึ้นเมื่ออยู่สถานะที่มี pH ดิน สูงขึ้นและอุณหภูมิที่สูงขึ้นส่งผลให้มีพลังงานกระตุ้นที่สูง แต่กิจกรรมการทำงานที่สูงขึ้นนี้จะทำให้เกิดการสูญเสียไนโตรเจนสู่บรรยากาศผ่านกระบวนการ denitrification ที่ไนโตรเจนระเหยกลายเป็นไอ (Das and Varma, 2011)

2.5 ผลของโลหะหนักต่อกิจกรรมเอนไซม์ดิน

Karaca et al. (2010) ทำการศึกษาผลกระทบของโลหะหนักในการเกิดกิจกรรมเอนไซม์ดิน โดยรายงานผลการศึกษาในห้องปฏิบัติการการเพิ่มความเข้มข้นของโลหะหนักในรูปของเกลือไนเตรทและเกลือซัลเฟต ส่งผลให้ไนโตรเจนและซัลเฟอร์ในดินเพิ่มขึ้น ซึ่งเป็นธาตุอาหารสำหรับจุลินทรีย์ประจำถิ่นในการสังเคราะห์เอนไซม์ในดิน การใส่โลหะหนักอาจจะยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ดิน ในขณะที่ธาตุอาหารในดินจะช่วยส่งเสริมการผลิตเอนไซม์ในดิน ทั้งนี้จะขึ้นกับความสมดุลระหว่างการยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์ในดินจากโลหะหนักและผลของการสะสมธาตุอาหาร

Ofoeb et.al. (2013) ทำการศึกษา กิจกรรมเอนไซม์ในดินบริเวณเหมืองแร่ Ishiagu จากการศึกษา พบว่ากิจกรรมของเอนไซม์ในดินจะเกิดกิจกรรมได้ลดลงเมื่ออยู่ใกล้พื้นที่เหมืองมากยิ่งขึ้น เมื่อทำการเปรียบเทียบจุดควบคุมหรือที่ระยะห่างจากเหมือง 500 เมตร กับจุดเก็บตัวอย่างที่ระยะห่าง 30 เมตร พบว่ากิจกรรมการทำงานของเอนไซม์แสดงค่าสหสัมพันธ์เชิงลบกับโลหะหนักที่ปนเปื้อนในพื้นที่เหมือง ซึ่งแสดงค่า ดังนี้ dehydrogenase 36.34%, acid phosphatase 21.15%, alkaline phosphatase 17.02% และ urease 9.32% ที่ $\alpha \leq 0.05$ แสดงดังตารางที่ 2.2

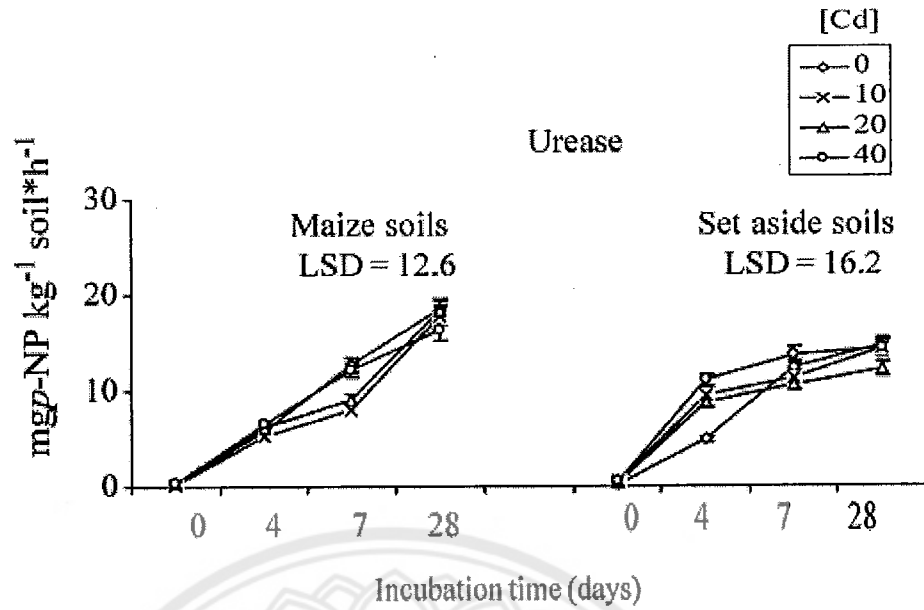
ตารางที่ 2.2 กิจกรรมเอนไซม์ในดินบริเวณเหมือง Ishiagu ตามระยะทางการเก็บตัวอย่าง

ดินตัวอย่าง ที่ระยะทาง (ม.)	Dehydrogenase (mg/g/6h)	Alkaline Phosphatase (mg/g/3h)	Acid Phosphatase (mg/g/3h)	Urease (mg/g/3h)
0	0.60	0.75	0.42	0.54
5	1.21	1.32	0.91	1.10
10	1.63	1.47	1.21	2.61
30	2.82	1.56	1.64	3.31
Control	4.43	1.88	2.08	3.65

ที่มา : Ofoeb et. al.(2013)

Zeng et al. (2007) ทำการศึกษา ผลกระทบของการปนเปื้อนของสารตะกั่วในกิจกรรมของเอนไซม์ดินมวุลจุลินทรีย์และสรีรวิทยาของข้าว (*Oryza sativa* L.) โดยทำการศึกษาระดับความเข้มข้นของสารตะกั่วที่ 6 ระดับ คือ 0, 100 300, 500, 700 และ 900 มก./กก. ในดินสองชนิด จากรายงานผลของสารตะกั่วจะเกิดการสะสมและส่งผลกระทบต่อกิจกรรมเอนไซม์ในดิน และชีวมวลจุลินทรีย์ในชั้นแรก และที่ระดับความเข้มข้นของสารตะกั่วในระดับที่ต่ำกิจกรรมดังกล่าวจะเริ่มหยุดการทำงาน แต่ในระดับความเข้มข้นที่สูงที่มากกว่า 500 มก./กก. จะยับยั้งการทำงานของกิจกรรมจุลินทรีย์ดินและชีวมวลจุลินทรีย์ซึ่งสัมพันธ์กับอนุภาคดินเหนียวและอินทรีย์วัตถุในดิน ส่งผลให้ระบบนิเวศดินเกิดความเสียหายแสดงผลทั้งในจุลินทรีย์ดินและพืช

Renella et al. (2005) ได้ทำการศึกษา การปนเปื้อนแคดเมียมในดินต่อกิจกรรมจุลินทรีย์และการสังเคราะห์ hydrolase จากการศึกษาพบว่า กิจกรรมเอนไซม์ในดินจะเกิดได้ลดลงเมื่อมีการปนเปื้อนแคดเมียมลงสู่ดินที่มีความเข้มข้น 20 และ 40 mg.Cd/kg ($\alpha = 0.05$) แสดงดังภาพ 2.4



ภาพที่ 2.4 แสดงกิจกรรมเอนไซม์ในดินที่ปลูกข้าวโพดและดินที่ทำขึ้นในการทดลอง โดยมีสารตกค้างผสมอยู่ แสดงค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐานเฉลี่ย ($n = 3$) และความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ (LSD) ด้วยวิธีคำนวณ Tukey-Kramer ($\alpha = 0.05$) ตลอดช่วง 28 วัน

ที่มา : Renella et al. (2005)

Nourbakhsh et al. (2002) ได้ทำการศึกษาผลกระทบของ Cr, Cd และ Pb ต่อกิจกรรม urease ในตัวอย่างดิน ประเทศอิหร่าน ผลการศึกษาโดยใช้ดินในการทดสอบทั้งหมด 5 ตัวอย่าง โดยดินตัวอย่างทั้งหมดนั้นมีการปนเปื้อนของโลหะ 3 ชนิด คือ Cr, Cd และ Pb ผลการปนเปื้อนโลหะทั้ง 3 ชนิด ส่งผลต่อการเกิดกิจกรรมเอนไซม์ดินที่เปลี่ยนไปซึ่งมีสหสัมพันธ์เชิงลบกับ urease แสดงค่าดังนี้ Cr = 8.9 - 18.00%, Cd = 11.7 - 23.8% และ Pb = 12.1 - 24.9% แสดงดังตารางที่ 2.3

ตารางที่ 2.3 กิจกรรมเอนไซม์ดินบริเวณเหมือง Ishiagu

ชนิดดิน	กิจกรรมเอนไซม์ ในดิน Urease	ร้อยละการหยุดการทำงานของเอนไซม์ในดิน		
		Pb	Cd	Cr
1	55.10	16.1b	15.4b	12.5a
2	61.20	14.8b	13.6b	10.6a
3	18.04	14.7b	14.4b	8.9a
4	75.63	24.9b	23.8b	18.0a
5	15.30	12.1b	11.7b	5.7a

หมายเหตุ : กิจกรรมเอนไซม์ในดิน urease ($\mu\text{g.NH}_4^+\text{-N/g/2hr}$) อักษรที่เหมือนกันในทางสถิติ แสดงถึงการไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ร้อยละ 1 ตามวิธีของ Duncan's multiple

ที่มา : Nourbakhsh et al. (2002)



บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย

การศึกษาการเกิดกิจกรรมเอนไซม์ในดินปลูกผักกาดเขียวปลีที่มีการปนเปื้อนโลหะหนัก เป็นการวิจัยเพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงเกิดกิจกรรมการทำงาน acid phosphatase และ urease ที่เกิดเนื่องจากการเติมโลหะหนักสู่ดิน เปรียบเทียบกับกิจกรรมเอนไซม์ดินที่ไม่มีการใส่โลหะหนัก ตามช่วงระยะเวลาที่สัมพันธ์กับระยะเวลาเจริญเติบโตของผักกาดเขียวปลี

3.1 กรอบแนวคิดและแผนการดำเนินการวิจัย

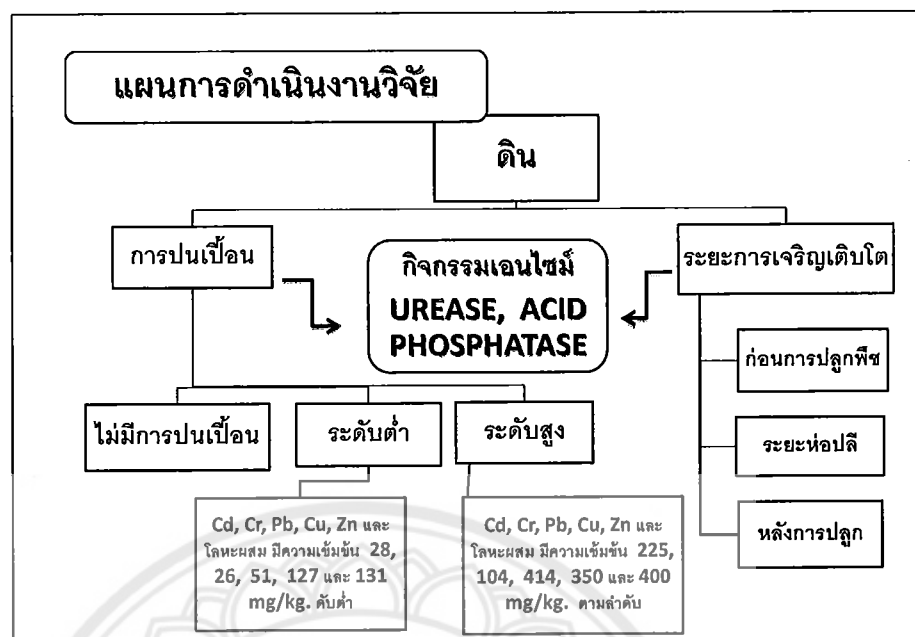
การศึกษาการเกิดกิจกรรมการทำงานเอนไซม์ดิน acid phosphatase และ urease รวมทั้งคุณสมบัติดิน ที่มีการสร้างการปนเปื้อนโดยการใส่โลหะหนัก 5 ชนิด ในลักษณะและระดับการปนเปื้อนตามกรอบแนวคิดดังแสดงในภาพที่ 3.1 โดยมีแผนการทดลอง ดังนี้

- 1) การเติมโลหะหนัก
 - การปนเปื้อนโลหะเดี่ยว เป็นตัวอย่างดินที่ทำให้มีการปนเปื้อนโลหะธาตุเดี่ยว 3 ระดับ ได้แก่

	ความเข้มข้นในดิน (mg/kg)				
	Cr	Cd	Cu	Zn	Pb
ไม่เติมโลหะ					
เติมโลหะระดับต่ำ	26	28	127	131	51
เติมโลหะระดับสูง	104	225	350	400	414

- การปนเปื้อนโลหะผสม เป็นตัวอย่างดินที่ทำให้มีการปนเปื้อนโลหะทั้ง 5 ธาตุ ที่ 3 ระดับ โดยแต่ละระดับความเข้มข้นของแต่ละธาตุเท่ากับการปนเปื้อนโลหะเดี่ยว
- 2) ระยะเวลาเจริญเติบโต
 - ทำการทดลองเพื่อศึกษากิจกรรมของเอนไซม์ตามช่วงระยะ ได้แก่
 - ระยะ 0 วัน เป็นระยะก่อนการย้ายกล้า
 - ระยะที่ 2 เป็นระยะที่ต้นผักกาดเขียวปลีอายุ 45 วัน
 - ระยะที่ 3 เป็นระยะที่ต้นผักกาดเขียวปลีอายุ 70 วัน
 - 3) แผนการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบสุ่มในบล็อก (Randomized Complete Block Design)
จำนวน 2 ซ้ำ



ภาพที่ 3.1 กรอบแนวคิด

3.2 การคัดเลือกดินที่ทำการศึกษาและวิเคราะห์คุณสมบัติพื้นฐาน

ทำการศึกษาดินเนื้อหยาบโดยใช้ตัวอย่างดินจากพื้นที่ป่าผสมผสาน บ้านหนองวางลี อำเภอมือง จังหวัดพิษณุโลก มีสภาพพื้นที่ดังแสดงในภาพที่ 3.2 ที่ระดับความลึกไม่เกิน 15 เซนติเมตร เป็นตัวอย่างดินในการทดลองตามวัตถุประสงค์ของการวิจัย ทำการวิเคราะห์คุณสมบัติพื้นฐานของดินโดยทำการวิเคราะห์คุณสมบัติต่างๆ ดังตารางที่ 3.1

ตารางที่ 3.1 วิธีวิเคราะห์คุณสมบัติพื้นฐานของดิน

คุณสมบัติที่วิเคราะห์	วิธีวิเคราะห์
ความเป็นกรด-ด่างของดิน	ดิน : น้ำ 1 : 1
เนื้อดิน	Hydrometer Method
อินทรีย์วัตถุในดิน	Walkley Black modified method
ความจุในการแลกเปลี่ยนไอออนของดิน	Ammonium saturation method

ที่มา : กรมพัฒนาที่ดิน (2553)

3.3 การทดลองเพื่อศึกษากิจกรรมเอนไซม์ในดินที่มีการปนเปื้อนโลหะหนัก

การเตรียมดินปนเปื้อน นำตัวอย่างดินที่เก็บจากพื้นที่ป่าผสมผสานมาผึ่งให้แห้ง และแยกเศษพืชหรือส่วนที่ไม่ต้องการออก ทำการร่อนดินผ่านตะแกรง 2 มิลลิเมตร ดังภาพ 3.3 ทำตัวอย่างดินให้มีการปนเปื้อนของโลหะตามทีระบุในแผนการทดลอง โดยใช้ตัวอย่างดิน 500 กรัม ผสมกับสารละลายโลหะหนัก 4,000 มล. โดยทุกธาตุเตรียมสารละลายจากสารประกอบเกลือไนเตรทของโลหะหนักแต่ละธาตุตามความเข้มข้นที่ระบุในตารางที่ 3.2 หลังจากนั้นผสมกับดินตัวอย่างดินให้เป็นเนื้อเดียวกันทำการผสมโดยคลุกเคล้าให้เข้ากัน ทิ้งไว้ให้แห้ง แล้วชั่งดินตัวอย่าง 500 กรัม สำหรับหนึ่งหน่วยทดลอง ใส่กระถางพลาสติกขนาด 4 นิ้ว เพื่อเตรียมปลูกพืชตัวอย่าง ดังภาพที่ 3.4

ตารางที่ 3.2 การเตรียมสารละลายโลหะหนัก

ระดับการปนเปื้อน	โลหะเดี่ยว (mg/L)				
	Cr	Cd	Cu	Zn	Pb
ไม่มีการปนเปื้อน (Mo)	0	0	0	0	0
การปนเปื้อนโลหะเดี่ยว					
ระดับต่ำ (Low)	65.00	70.26	317.73	326.95	129.50
ระดับสูง (High)	259.98	562.06	875.00	1,000.00	1,036.00
การปนเปื้อนโลหะผสม					
ระดับต่ำ (Mix-L)	65.00	+ 70.26	+ 317.73	+ 326.95	+ 129.50
ระดับสูง (Mix-H)	259.98	+ 562.06	+ 875.00	+ 1,000.00	+ 1,036.00

3.4. การปลูกพืชตัวอย่าง

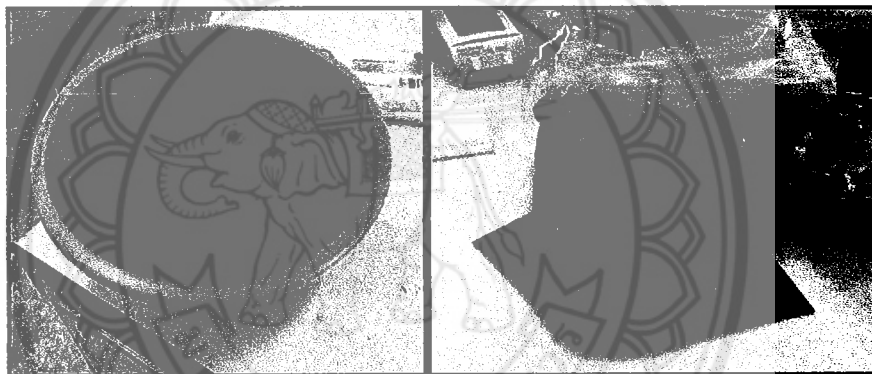
ทำการปลูกพืชตัวอย่าง คือ ผักกาดเขียวปลี โดยการนำเมล็ดมาเพาะกล้าในถาดเพาะกล้า เมื่อต้นกล้าเจริญเติบโตประมาณ 20 วัน ทำการคัดเลือกต้นกล้าที่มีขนาดใกล้เคียงกันและย้ายกล้าลงในกระถางที่เตรียมดินไว้ข้างต้น กระถางละ 1 ต้น การรดน้ำเพื่อการเจริญเติบโตของพืชที่สม่ำเสมอ จึงควบคุมปริมาณน้ำให้มีปริมาณที่เท่ากัน ดังภาพ 3.5

3.5 การเก็บตัวอย่าง

เก็บตัวอย่างดิน 3 ช่วงการเจริญเติบโต โดยช่วงการเจริญเติบโตที่ 1 คือ วิเคราะห์ตัวอย่างที่ 0 วัน (ก่อนการย้ายกล้า) ช่วงการเจริญเติบโตที่ 2 ระยะ 45 วัน และช่วงการเจริญเติบโตที่ 3 ระยะ 70 วัน หลังการย้ายกล้า ตามลำดับ นำตัวอย่างดินไปวิเคราะห์กิจกรรมเอนไซม์ดินและคุณสมบัติต่างๆของดินทุกช่วงการเจริญเติบโต



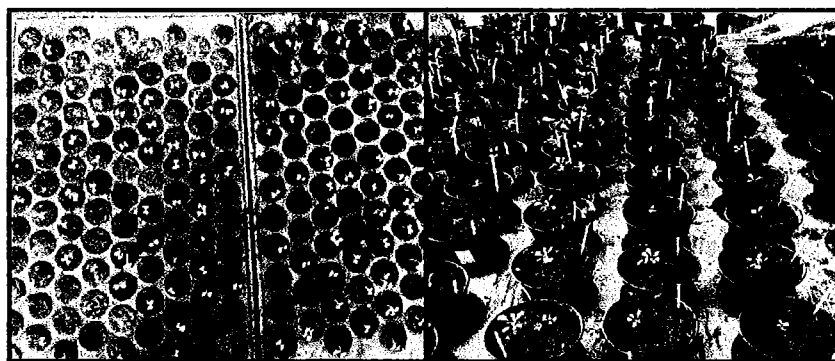
ภาพ 3.2 สภาพพื้นที่สวนป่าผสมผสาน



ภาพที่ 3.3 การเตรียมดิน

ไม่มีการปนเปื้อน	โลหะเดี่ยว		โลหะผสม	
	Cd	L	H	
	Cr	L	H	L
Mo	Cd	L	H	H
	Pb	L	H	
	Zn	L	H	

ภาพที่ 3.4 จำนวนกระถางและการปนเปื้อนต่อการทดลองหนึ่งซ้ำ



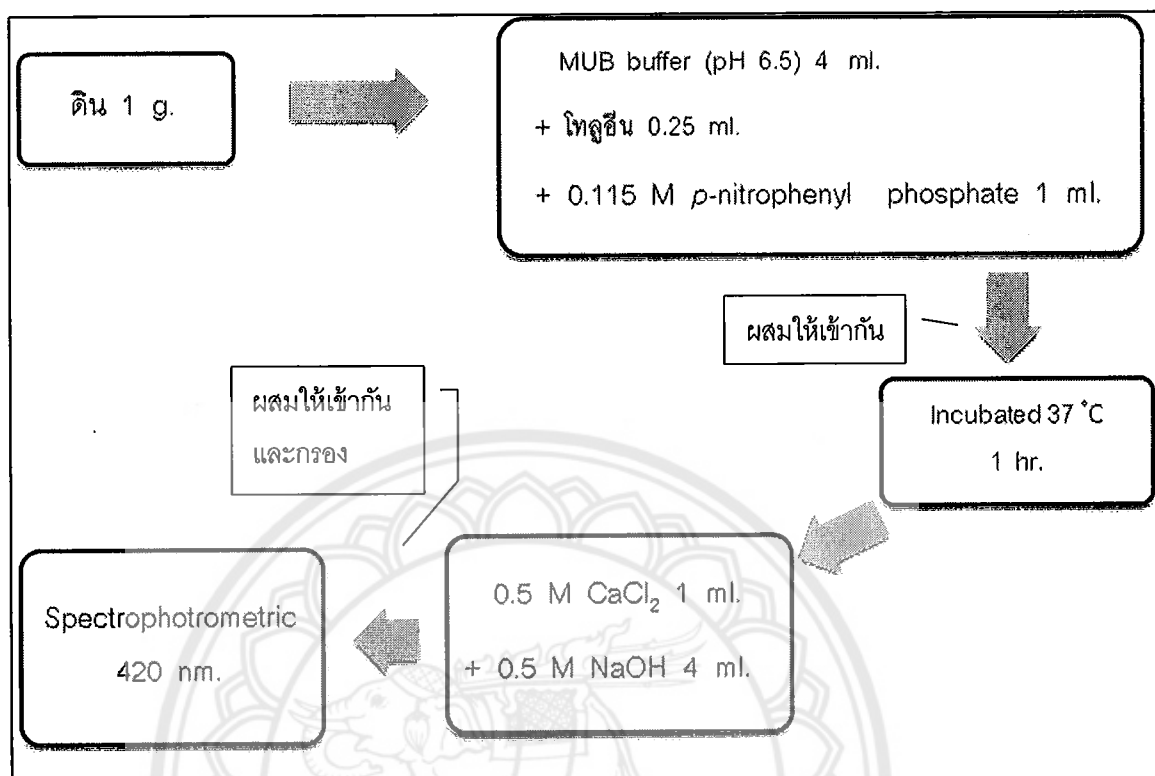
ภาพที่ 3.5 การปลูกพืชตัวอย่าง

3.6 การวิเคราะห์กิจกรรมการทำงานของเอนไซม์ดิน

การวิเคราะห์กิจกรรมการทำงานของเอนไซม์ดินทั้ง 2 ชนิด โดยใช้ตัวอย่างดินสด (fresh soil) ที่รู้ค่าความชื้นดินโดยน้ำหนัก (w/w) ที่วิเคราะห์ด้วยวิธีการอบและชั่ง

3.6.1. กิจกรรมของ acid phosphatase

วิเคราะห์โดยใช้ดิน 1 กรัม ผสมกับสารละลาย Modified Universal Buffer (MUB pH 6.5) 4 มล. เติมไทลูอิน 0.25 มล. และสารละลาย 0.115 M *p*-nitrophenyl phosphate (disodium salt hexahydrate) 1 มล. ผสมให้เข้ากันและนำตัวอย่างมา incubate ที่อุณหภูมิ 37°C. เป็นเวลา 1 ชั่วโมง หลังจากนั้นหยุดการทำงานของเอนไซม์โดยการเติม 0.5 M calcium chloride 1 มล. และสารละลาย 0.5 M sodium hydroxide 4 มล. ผสมให้เข้ากัน และทำการกรอง หลังจากนั้นทำการวัดการดูดกลืนแสงด้วยเทคนิค spectrophotometric ที่ความยาวคลื่น 420 nm. เพื่อหาความเข้มข้นของ *p*-nitrophenyl phosphate ที่เกิดขึ้นจากกิจกรรมเอนไซม์เทียบกับการกราฟมาตรฐาน ที่เตรียมจาก *p*-nitrophenol ที่ความเข้มข้น 0, 5, 10, 15 และ 20 mg *p*-NP/L ที่ผ่านขั้นตอนการวิเคราะห์เช่นเดียวกับสารละลายที่ได้จากตัวอย่าง (Tabatabai and Bremner, 1969) แสดงดังภาพ 3.6



ภาพที่ 3.6 แผนภาพแสดงวิธีวิเคราะห์กิจกรรม acid phosphatase

3.6.2 กิจกรรมของ urease

การบ่มดิน

วิเคราะห์โดยเตรียมดินตัวอย่าง 1 กรัม ผสมกับ 0.2 M urea ใน Na-phosphatase buffer (pH 7) นำตัวอย่างมา Incubate ที่อุณหภูมิ 30°C. เป็นเวลา 1 ชั่วโมงและนำไปแช่เย็น 10 นาที เพื่อหยุดการทำงานของเอนไซม์ หลังจากนั้นเติม 2 M KCL 10 มล. นำสารตัวอย่างไปเข้าเครื่อง vortex เพื่อให้ผสมกันและทำการกรอง (Sannino and Gianfreda, 2001) นำสารละลายใสมากรองและนำมาวิเคราะห์แอมโมเนียม (NH_4^+) โดยวิธี hypochlorite-alkaline method

การเตรียมสารละลายสำหรับ วิเคราะห์โดย hypochlorite-alkaline method ดังนี้

1) Alkaline phenol reagent (25% phenol ใน 2.7 N sodium hydroxide) โดยทำการชั่งสาร crystalline phenol 25 กรัม หลังจากนั้นเติม 5.0 N sodium hydroxide 54 มล. ผสมสารละลายให้เข้ากันและปรับปริมาตรเป็น 100 มล. เก็บสารตัวอย่างในขวดสีน้ำตาลในตู้เย็น

2) potassium carbonate solution ผสม anhydrous salt 30 กรัม ในน้ำอุ่น 150 มล. ที่ทำการต้มไล่แอมโมเนียออกแล้ว

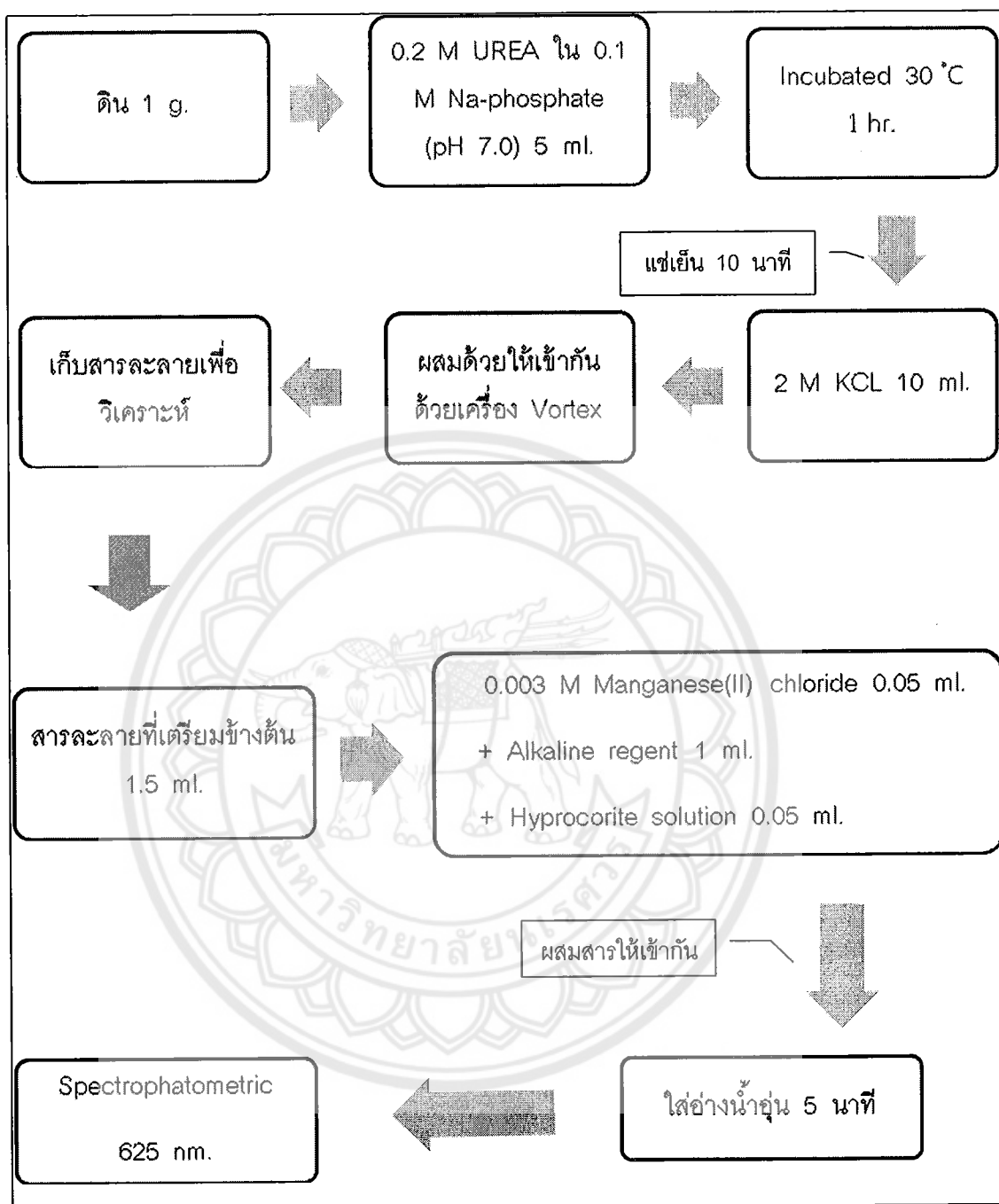
3) Hypochlorite solution บด calcium hypochlorite 25 กรัม ละลายในน้ำอุ่น 300 มล. นำสารละลายที่ได้ไปทำการผสมกับ potassium carbonate solution 135 มล. โดยคนให้เข้ากันและต้มที่อุณหภูมิ 90°C รอให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง ปรับปริมาตรเป็น 500 มล.

4) การทดสอบแคลเซียมไอออน (Ca^{2+}) ทดสอบโดยนำสารละลาย Hypochlorite solution 1 มล. โดยผสมกับ potassium carbonate solution ครึ่งเล็กน้อย และวางในน้ำร้อนสักครู่ หากสารละลายไม่มีผลึกแสดงว่าไม่มีแคลเซียมไอออน (Ca^{2+}) หรือให้ผลเป็นลบสามารถนำสารละลาย Hypochlorite solution ไปใช้ในขั้นตอนต่อไปได้ หากเกิดผลึกให้ทำซ้ำเดิมกับสารละลาย Hypochlorite solution 1 มล. ที่นำมาใหม่แต่ให้เพิ่มปริมาณ potassium carbonate solution ทำการทดสอบจนไม่เกิดผลึก ทำการเก็บสารตัวอย่างในขวดสีน้ำตาลในตู้เย็น

5) การทดสอบ free chlorine นำสารละลายที่ทำการทดสอบแคลเซียมไอออน (Ca^{2+}) ปริมาตร 2 มล. ผสมกับ น้ำกลั่น 10 มล. 5% of potassium iodide และ glacial acetic acid 1 มล. ในขวดรูปชมพู่ เตรียมสารละลาย 0.100 N sodium thiosulfate สำหรับใช้ในการไทเทรต ไทเทรตจนสารละลายในขวดรูปชมพู่เป็นสีใส (ปริมาตรที่เหมาะสมที่ใช้ในการไทเทรตประมาณ 7.5 – 8 มล.)

6) Manganese salt เตรียมสารละลาย สารละลาย 0.003 M manganese (II) chloride

วิเคราะห์แอมโมเนียโดย hypochlorite-alkaline method ตามขั้นตอน ดังนี้
นำสารตัวอย่างใส่ที่เตรียมไว้สำหรับวิเคราะห์แอมโมเนีย (NH_4^+) จากขั้นตอนการบ่ม 1.5 มล. ผสมกับสารละลาย 0.003 manganese (II) chloride ปริมาตร 0.05 มล. Alkaline phenol reagent 1 มล. และ hypochlorite solution 0.05 มล. (alkaline phenol reagent และ hypochlorite solution ควรเติมในขณะที่สารละลายทั้ง 2 ชนิดนี้เย็น และสารผสมต้องแช่เย็น ในอ่างน้ำแข็งขณะเตรียมเพื่อลดการสูญเสียแอมโมเนีย) นำตัวอย่างมาผสมโดยการหมุนตลอดทดลองเบาๆ และใส่ในอ่างน้ำอุ่นทันทีเป็นเวลา 5 นาที หลังจากนั้นนำตัวอย่างมาทิ้งไว้ให้เย็นและทำการปรับปริมาตรให้เหมาะสมกับปริมาตร cuvette และนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเทคนิค spectrophotometric ที่ความยาวคลื่น 625 nm. เพื่อหาความเข้มข้นของแอมโมเนียที่เกิดขึ้นจากกิจกรรมเอนไซม์เทียบกับกราฟมาตรฐาน ที่เตรียมจากแอมโมเนียมคลอไรด์ (NH_4Cl) ที่ความเข้มข้น 0, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0 และ 2.5 $\text{mg NH}_4^+/\text{L}$ ที่ผ่านขั้นตอนการวิเคราะห์แอมโมเนียโดย hypochlorite-alkaline method เช่นเดียวกับสารละลายที่ได้จากตัวอย่าง (Russell., 1944) แสดงดังภาพ 3.7



ภาพที่ 3.7 แผนภาพแสดงวิธีวิเคราะห์กิจกรรม urease

ปศ.
วทศพ
๒๕๖๕

17187026



สำนักหอสมุด

3.7 วิธีวิเคราะห์ทางสถิติ

3.7.1 การเปรียบเทียบอิทธิพลของชนิดโลหะหนัก ความเข้มข้นของโลหะหนัก และระยะเวลาที่มีผลต่อกิจกรรมเอนไซม์ในดิน โดยใช้สถิติ F-test ด้วยวิธีวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) 26 มิ.ย. 2560

3.7.2 การเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้ least significant difference ที่ $\alpha \leq 0.05$

3.7.3 หาค่าสหสัมพันธ์ระหว่างการเกิดกิจกรรมเอนไซม์ในดินกับคุณสมบัติดิน โดยใช้ Pearson Correlation ที่ $\alpha \leq 0.01$



บทที่ 4

ผลการศึกษาวิจัย

4.1 คุณสมบัติดินที่ทำการศึกษา

การทดสอบคุณสมบัติพื้นฐานดินตัวอย่างที่ใช้ในการทดลอง พบว่า ลักษณะของดินตัวอย่างจัดเป็นดินร่วนปนทราย มีความเป็นกรดเล็กน้อย (pH 6.1 – 6.5) มีค่าความจุแลกเปลี่ยนไอออนบวกสูง ($>30 \text{ cmol}_e/\text{kg}$) และปริมาณอินทรีย์วัตถุปานกลาง (1.5 – 2.5%) ปริมาณโลหะหนักในดินไม่เกินค่ามาตรฐานสามารถใช้ประโยชน์ได้ และทำการวิเคราะห์คุณสมบัติ ทางเคมี และวิเคราะห์ปริมาณโลหะหนักในดิน (Total Cu, Pb, Cd, Cr และ Zn) แสดงดังตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 คุณสมบัติดินที่ทำการศึกษา

คุณสมบัติดิน	
Texture	Sandy loam
pH	6.5
CEC (cmol_e/kg)	36.98
%Organic matter	2.03
Total Cu (mg/kg)	2.31
Total Pb (mg/kg)	96.81
Total Cd (mg/kg)	3.14
Total Cr (mg/kg)	n.d.*
Total Zn (mg/kg)	21.01

หมายเหตุ : *n.d. คือ not detected

4.2 การเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติดิน

4.2.1 ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด (Total Nitrogen in soil)

ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในดิน มีการเปลี่ยนแปลงตามระยะการเจริญเติบโตที่ทุกระดับ ความเข้มข้นของโลหะหนัก ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดมีค่าเพิ่มขึ้นที่ระยะ 45 และ 70 วัน เมื่อเทียบกับดินก่อนปลูกอย่างมีนัยสำคัญ แสดงดังตาราง 4.2

ตารางที่ 4.2 ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในดินตามชนิดและระดับของโลหะหนัก
ใน 3 ระยะการเจริญเติบโต

		Total Nitrogen, %		
		0 Days	45 Days	70 Days
Cr	Mo	0.098	0.133	0.133
	Low	0.091	0.105	0.119
	High	0.098	0.112	0.154
	mix-L	0.112	0.14	0.168
	mix-H	0.084	0.098	0.133
	\bar{x}	0.097a	0.118b	0.141c
Cd	Mo	0.098	0.133	0.133
	Low	0.056	0.119	0.126
	High	0.098	0.119	0.126
	mix-L	0.112	0.14	0.168
	mix-H	0.084	0.098	0.133
	\bar{x}	0.090a	0.122b	0.137c
Cu	Mo	0.098	0.133	0.133
	Low	0.091	0.112	0.126
	High	0.112	0.112	0.147
	mix-L	0.112	0.14	0.168
	mix-H	0.084	0.098	0.133
	\bar{x}	0.099a	0.119b	0.141c
Zn	Mo	0.133	0.133	0.133
	Low	0.105	0.105	0.119
	High	0.112	0.112	0.14
	mix-L	0.14	0.14	0.168
	mix-H	0.098	0.098	0.133
	\bar{x}	0.118a	0.118b	0.139c
Pb	Mo	0.098	0.133	0.133
	Low	0.105	0.119	0.154
	High	0.189	0.119	0.119
	mix-L	0.112	0.14	0.168
	mix-H	0.084	0.098	0.133
	\bar{x}	0.118a	0.122b	0.141c

หมายเหตุ : * อักษรตัวพิมพ์เล็กแสดงความแตกต่างระหว่างระยะการเจริญเติบโตอย่างมีนัยสำคัญที่ $\alpha \leq 0.05$

4.2.2 ปริมาณฟอสฟอรัส

การเปลี่ยนแปลงปริมาณฟอสฟอรัสทั้งหมด (Total Phosphorous) และปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ (Available Phosphorous) ของดินในทุกช่วงระยะเวลาการเจริญเติบโต แสดงในตารางที่ 4.3 ปริมาณฟอสฟอรัสทั้งหมดมีค่าลดลงในระยะที่ 45 และ 70 วัน เมื่อเทียบกับดินก่อนปลูก ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ลดลงในช่วงระยะเวลาการเจริญเติบโตที่ 40 วัน แต่เพิ่มขึ้นในระยะ 70 วัน เมื่อเทียบกับดินก่อนปลูกอย่างมีนัยสำคัญ แสดงดังตาราง 4.3

ตาราง 4.3 ปริมาณฟอสฟอรัสทั้งหมดและปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ในดินตามชนิดและระดับของโลหะหนักใน 3 ระยะเวลาการเจริญเติบโต

		Total Phosphorous, %			Available Phosphorous, mg/kg		
		0 Days	45 Days	70 Days	0 Days	45 Days	70 Days
Cr	Mo	0.032	0.018	0.005	77.247	73.400	80.089
	Low	0.035	0.015	0.003	72.229	63.551	68.098
	High	0.036	0.017	0.003	68.301	65.579	70.289
	mix-L	0.032	0.013	0.005	72.298	64.509	75.242
	mix-H	0.024	0.013	0.005	63.352	57.585	71.172
	\bar{x}	0.032c	0.015a	0.004b	70.69b	64.92a	72.98b
Cd	Mo	0.032	0.018	0.005	77.247	73.400	80.089
	Low	0.035	0.026	0.003	71.347	62.292	69.301
	High	0.036	0.013	0.004	66.156	59.638	68.171
	mix-L	0.032	0.013	0.005	72.298	64.509	75.242
	mix-H	0.024	0.013	0.005	63.352	57.585	71.172
	\bar{x}	0.032c	0.017a	0.004b	70.08b	63.48a	72.80b
Cu	Mo	0.032	0.018	0.005	77.247	73.400	80.089
	Low	0.035	0.016	0.004	70.049	61.098	67.958
	High	0.028	0.015	0.003	60.913	54.208	65.125
	mix-L	0.032	0.013	0.005	72.298	64.509	75.242
	mix-H	0.024	0.013	0.005	63.352	57.585	71.172
	\bar{x}	0.030c	0.015a	0.004b	68.77b	62.16a	71.92b

หมายเหตุ : * อักษรตัวพิมพ์เล็กแสดงความแตกต่างระหว่างระยะเวลาการเจริญเติบโตอย่างมีนัยสำคัญที่ $\alpha \leq 0.05$

ตาราง 4.3 (ต่อ)

	Total Phosphorous, %			Available Phosphorous, mg/kg			
	0 Days	45 Days	70 Days	0 Days	45 Days	70 Days	
Zn	Mo	0.032	0.018	0.005	77.247	73.400	80.089
	Low	0.027	0.019	0.003	71.624	59.880	68.377
	High	0.027	0.021	0.004	80.345	71.847	81.609
	mix-L	0.032	0.013	0.005	72.298	64.509	75.242
	mix-H	0.024	0.013	0.005	63.352	57.585	71.172
	\bar{x}	0.028c	0.017a	0.004b	72.97b	65.44a	75.30b
Pb	Mo	0.032	0.018	0.005	77.247	73.400	80.089
	Low	0.034	0.028	0.004	90.554	77.945	86.196
	High	0.029	0.022	0.003	66.900	59.794	67.086
	mix-L	0.032	0.013	0.005	72.298	64.509	75.242
	mix-H	0.024	0.013	0.005	63.352	57.585	71.172
	\bar{x}	0.030c	0.019a	0.004b	74.07b	66.65a	75.96b

หมายเหตุ : * อักษรตัวพิมพ์เล็กแสดงความแตกต่างระหว่างระยะการเจริญเติบโตอย่างมีนัยสำคัญที่ $\alpha \leq 0.05$

4.3 กิจกรรมเอนไซม์ดิน

การศึกษาการเกิดกิจกรรมเอนไซม์ดินที่ไม่มีการใส่โลหะหนัก การใส่โลหะหนัก ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ และการใส่โลหะหนักที่ระดับความเข้มข้นสูง ตลอดการทดลอง จำนวน 3 ช่วงการเจริญเติบโต คือ 0 45 และ 70 วัน หลังจากการปลูกพืชตัวอย่าง เพื่อวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงการเกิดกิจกรรมเอนไซม์ดิน acid phosphatase และ urease ที่มีการใส่โลหะหนักที่ระยะเวลาต่างๆ

4.3.1 กิจกรรม acid phosphatase

การศึกษาการเปลี่ยนแปลงของกิจกรรม acid phosphatase ที่มีการใส่โลหะหนัก ตลอดการทดลอง พบว่า การเกิดกิจกรรม acid phosphatase มีแนวโน้มลดลงจากช่วงระยะการเจริญเติบโตที่ 0, 45 และ 70 วัน ตามลำดับ ในดินที่ไม่เติมโลหะหนักและเติมโลหะหนักทุกๆธาตุอย่างมีนัยสำคัญ แสดงดังตารางที่ 4.4

ตาราง 4.4 กิจกรรมเอนไซม์ acid phosphatase ในดินตามชนิดและระดับของโลหะหนัก
ใน 3 ระยะการเจริญเติบโต

		Acid Phosphatase (mg p-NP/kg/hr)		
		0 Days	45 Days	70 Days
Cr	Mo	471.2	345.7	286.1
	Low	453.3	355.2	276.9
	High	461.2	361.6	277.9
	mix-L	482.1	358.8	277.7
	mix-H	471.8	342.0	266.4
	\bar{x}	467.9c	352.6b	277.0a
Cd	Mo	471.2	345.7	286.1
	Low	499.4	361.8	303.0
	High	463.5	361.8	299.7
	mix-L	482.1	358.8	277.7
	mix-H	471.8	342.0	266.4
	\bar{x}	477.6c	354.0b	286.6a
Cu	Mo	471.2	345.7	286.1
	Low	344.5	282.2	319.9
	High	391.2	363.7	289.4
	mix-L	482.1	358.8	277.7
	mix-H	471.8	342.0	266.4
	\bar{x}	432.2c	338.5b	287.9a
Zn	Mo	471.2	345.7	286.1
	Low	447.9	320.9	276.7
	High	435.2	319.2	296.4
	mix-L	482.1	358.8	277.7
	mix-H	471.8	342.0	266.4
	\bar{x}	461.6c	337.3b	280.6a

หมายเหตุ : * อักษรตัวพิมพ์เล็กแสดงความแตกต่างระหว่างระยะการเจริญเติบโตอย่างมีนัยสำคัญที่ $\alpha \leq 0.05$

ตาราง 4.4 (ต่อ)

		Acid Phosphatase (mg <i>p</i> -NP/kg/hr)		
		0 Days	45 Days	70 Days
Pb	Mo	471.2	345.7	286.1
	Low	496.5	360.3	336.3
	High	477.7	353.4	277.1
	mix-L	482.1	358.8	277.7
	mix-H	471.8	342.0	266.4
	\bar{x}	479.8c	352.0b	288.7a

หมายเหตุ : * อักษรตัวพิมพ์เล็กแสดงความแตกต่างระหว่างระยะการเจริญเติบโตอย่างมีนัยสำคัญที่ $\alpha \leq 0.05$

4.3.2 กิจกรรม urease

การศึกษาการเปลี่ยนแปลงการเกิดกิจกรรม urease ที่มีการใส่โลหะหนัก ตลอดจนการทดลอง พบว่า การเกิดกิจกรรม urease มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นที่ระยะ 45 และ 70 วัน เมื่อเทียบกับระยะก่อนปลูก ในดินที่ไม่เติมโลหะหนักและเติมโลหะหนักทุกธาตุอย่างมีนัยสำคัญ แสดงตารางที่ 4.5

ตาราง 4.5 กิจกรรมเอนไซม์ urease ในดินตามชนิดและระดับของโลหะหนัก ใน 3 ระยะการเจริญเติบโต

		Urease (mg NH ₄ ⁺ /kg/hr)		
		0 Days	45 Days	70 Days
Cr	Mo	10.28	10.79	11.10
	Low	10.02	11.87	11.25
	High	9.20	11.50	10.97
	mix-L	11.38	15.28	13.25
	mix-H	12.00	13.42	10.85
	\bar{x}	10.58a	12.57b	11.48a
Cd	Mo	10.28	10.79	11.10
	Low	7.90	14.99	13.52
	High	8.89	13.58	12.21
	mix-L	11.38	15.28	13.25
	mix-H	12.00	13.42	10.85
	\bar{x}	10.09a	13.61b	12.18a

หมายเหตุ : * อักษรตัวพิมพ์เล็กแสดงความแตกต่างระหว่างระยะการเจริญเติบโตอย่างมีนัยสำคัญที่ $\alpha \leq 0.05$

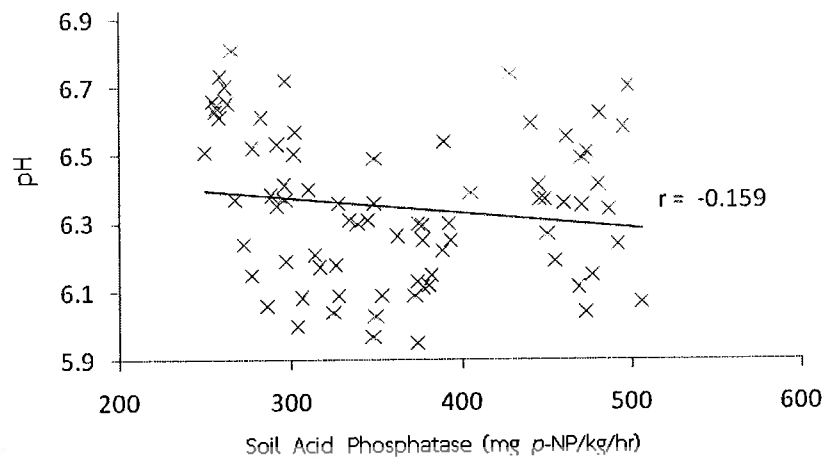
ตาราง 4.5 (ต่อ)

		Urease (mg NH ₄ ⁺ /kg/hr)		
		0 Days	45 Days	70 Days
Cu	Mo	10.28	10.79	11.10
	Low	6.03	12.44	13.46
	High	8.55	11.84	10.59
	mix-L	11.38	15.28	13.25
	mix-H	12.00	13.42	10.85
	\bar{x}	9.65a	12.75b	11.85b
Zn	Mo	10.28	10.79	11.10
	Low	9.73	12.65	11.60
	High	11.76	10.97	10.51
	mix-L	11.38	15.28	13.25
	mix-H	12.00	13.42	10.85
	\bar{x}	11.03a	12.62a	11.46a
Pb	Mo	10.28	10.79	11.10
	Low	15.55	14.39	14.01
	High	12.81	10.97	12.18
	mix-L	11.38	15.28	13.25
	mix-H	12.00	13.42	10.85
	\bar{x}	12.40a	12.97a	12.27a

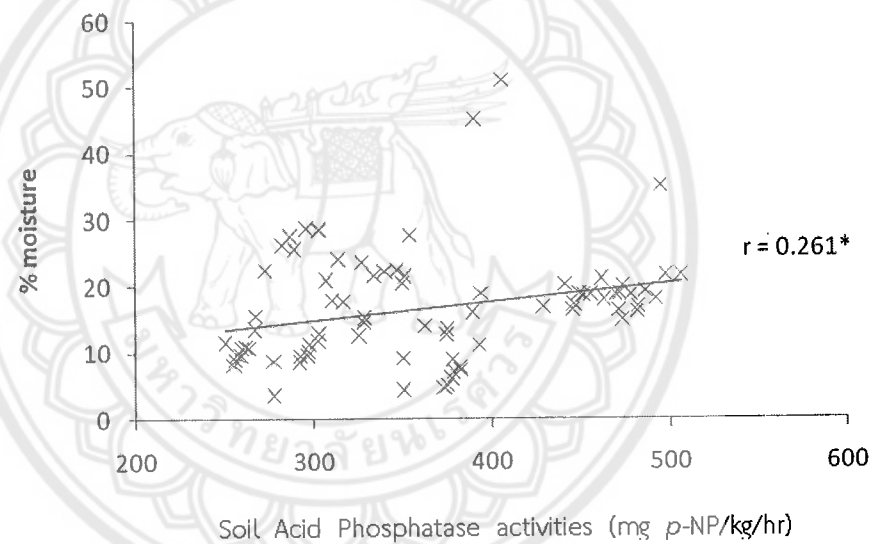
หมายเหตุ : * อักษรตัวพิมพ์เล็กแสดงความแตกต่างระหว่างระยะการเจริญเติบโตอย่างมีนัยสำคัญที่ $\alpha \leq 0.05$

4.4 ความสัมพันธ์ของกิจกรรมเอนไซม์ดินและคุณสมบัติดิน

การวิเคราะห์สหสัมพันธ์ระหว่างเอนไซม์สองชนิดกับคุณสมบัติต่างๆ พบว่า เอนไซม์ acid phosphatase มีความสัมพันธ์กับคุณสมบัติดินหลายด้าน โดยพบค่าสหสัมพันธ์เชิงบวกกับค่าความชื้นและปริมาณฟอสฟอรัสทั้งหมดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ มีค่าเป็น $r = 0.261^*$ และ $r = 0.736^{**}$ ตามลำดับ แสดงดังกราฟการกระจายในภาพที่ 4.2 และ 4.4 และมีความสัมพันธ์ในทางลบอย่างมีนัยสำคัญกับปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในดิน มีค่าเป็น $r = -0.379^{**}$ แสดงดังกราฟการกระจายในภาพที่ 4.5 และไม่พบความสัมพันธ์กับความเป็นกรด-ด่าง และปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ แสดงดังกราฟการกระจายในภาพ 4.1 และ 4.3 ตามลำดับ

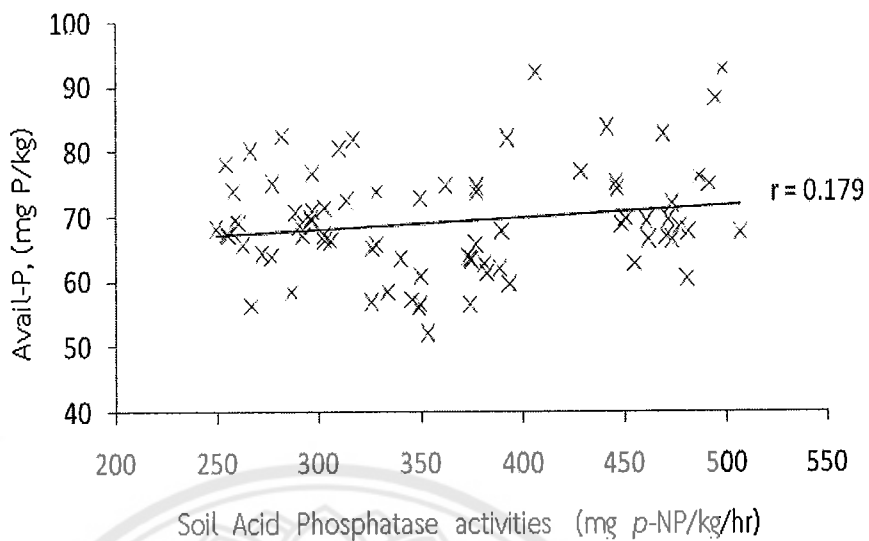


ภาพ 4..1 ความสัมพันธ์ระหว่าง acid phosphatase กับ ความเป็นกรด-ด่างของดิน (pH)

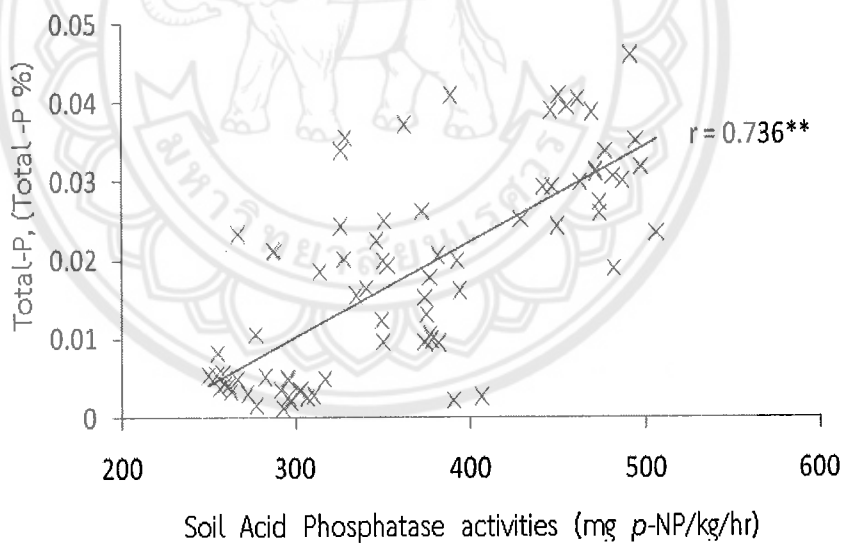


ภาพ 4.2 ความสัมพันธ์ระหว่าง acid phosphatase กับ ความชื้นดิน (%Moisture)

(* แสดงความแตกต่างระหว่างระยะการเจริญเติบโตอย่างมีนัยสำคัญที่ $\alpha \leq 0.05$)

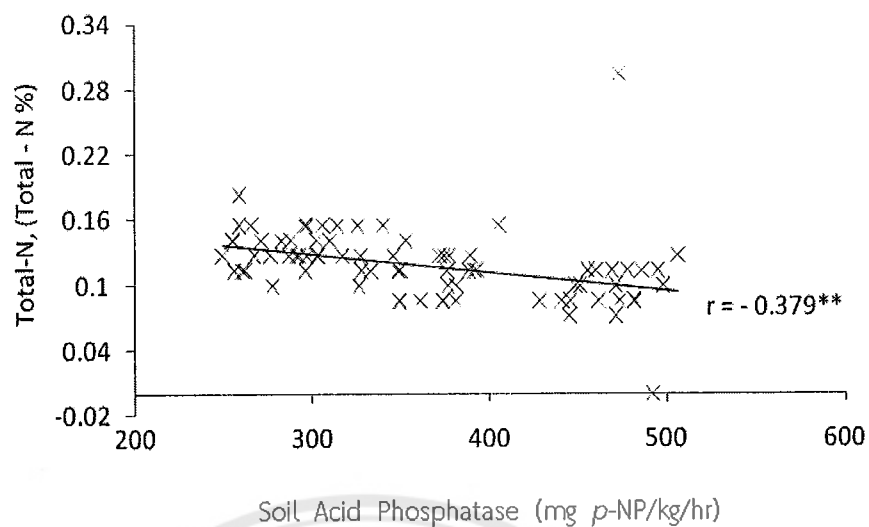


ภาพ 4.3 ความสัมพันธ์ระหว่าง acid phosphatase กับ ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ (Avail-P)



ภาพ 4.4 ความสัมพันธ์ระหว่าง acid phosphatase กับ ปริมาณฟอสฟอรัสทั้งหมด (Total-P)

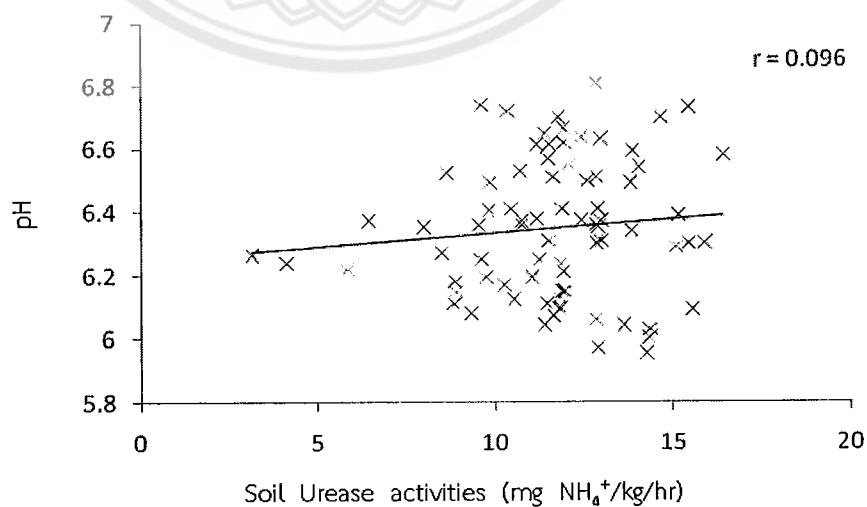
(** แสดงความแตกต่างระหว่างระยะการเจริญเติบโตอย่างมีนัยสำคัญที่ $\alpha \leq 0.01$)



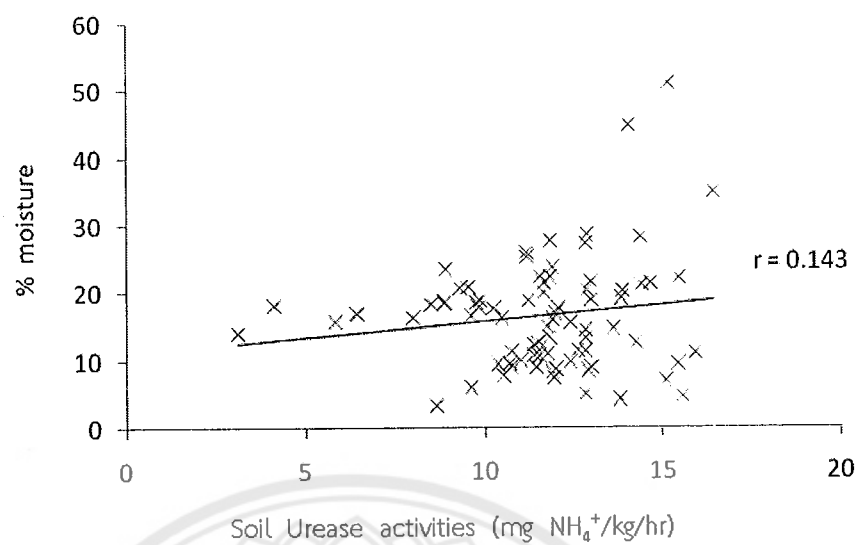
ภาพ 4.5 ความสัมพันธ์ระหว่าง acid phosphatase กับ ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด (Total-N)

(** แสดงความแตกต่างระหว่างระยะการเจริญเติบโตอย่างมีนัยสำคัญที่ $\alpha \leq 0.01$)

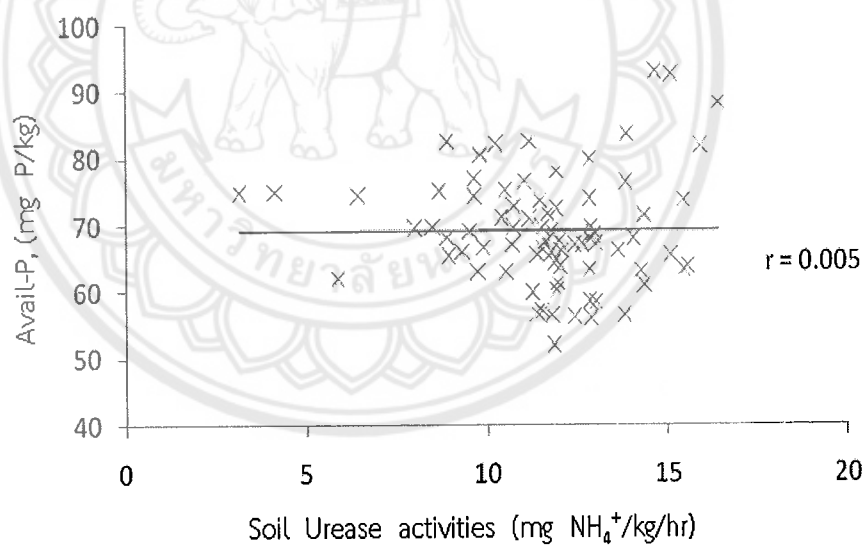
เอนไซม์ urease มีความสัมพันธ์กับคุณสมบัติดินหลายด้าน โดยพบค่าสหสัมพันธ์เชิงบวก กับปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ มีค่าเป็น $r = 0.370^{**}$ ตามกราฟการกระจายดังแสดงในภาพ 4.10 และมีค่าสัมพันธ์เชิงลบกับปริมาณฟอสฟอรัสทั้งหมดในดิน มีค่าเป็น $r = -0.352^{**}$ ตามกราฟการกระจายดังแสดงในภาพ 4.9 และไม่พบความสัมพันธ์กับความเป็นกรด-ด่าง ค่าความชื้นและปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ ตามกราฟการกระจายแสดงดังภาพ 4.6 4.7 และ 4.8



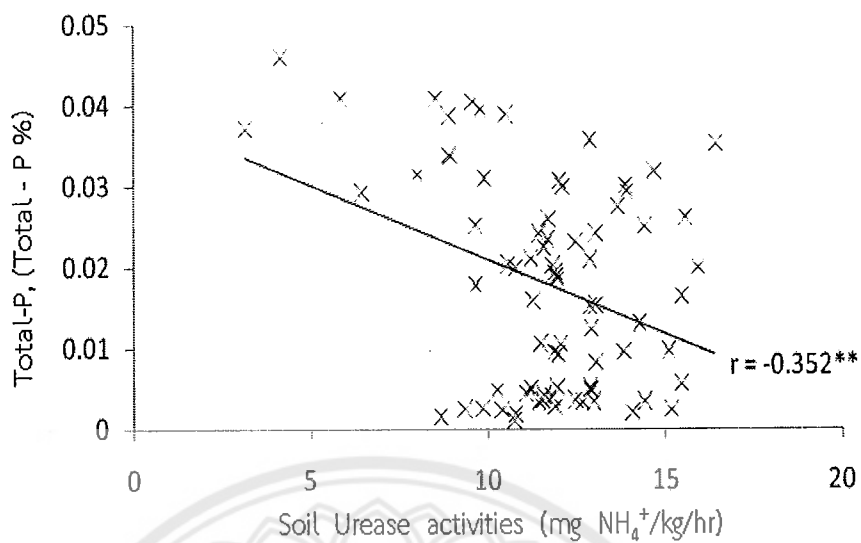
ภาพ 4.6 ความสัมพันธ์ระหว่างกิจกรรม urease กับ ความเป็นกรด - ด่างของดิน (pH)



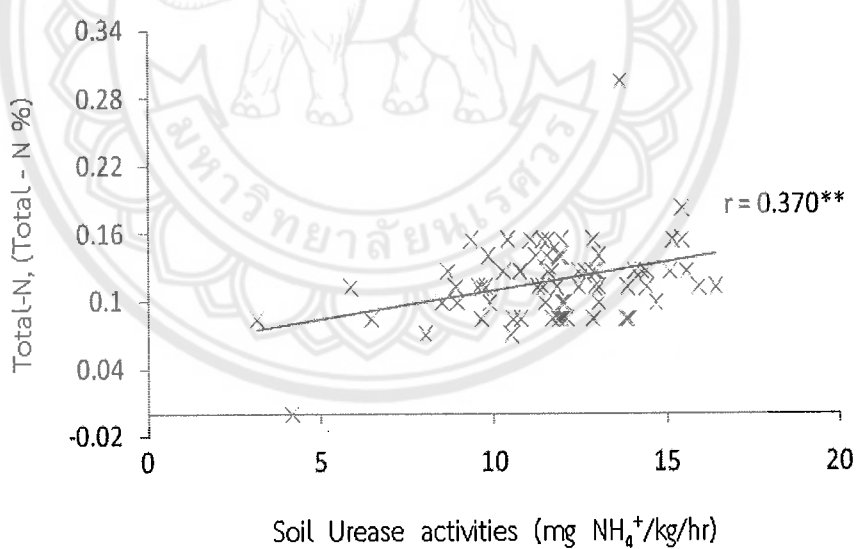
ภาพ 4.7 ความสัมพันธ์ระหว่าง urease กับ ความชื้นดิน (%moisture)



ภาพ 4.8 ความสัมพันธ์ระหว่าง urease กับปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ (Avail-P)



ภาพ 4.9 ความสัมพันธ์ระหว่าง urease กับ ปริมาณฟอสฟอรัสทั้งหมด (Total-P)
 (** แสดงความแตกต่างระหว่างระยะการเจริญเติบโตอย่างมีนัยสำคัญที่ $\alpha \leq 0.01$)



ภาพ 4.10 ความสัมพันธ์ระหว่าง urease กับ
 ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด (Total-N)
 (** แสดงความแตกต่างระหว่างระยะการเจริญเติบโตอย่างมีนัยสำคัญที่ $\alpha \leq 0.01$)

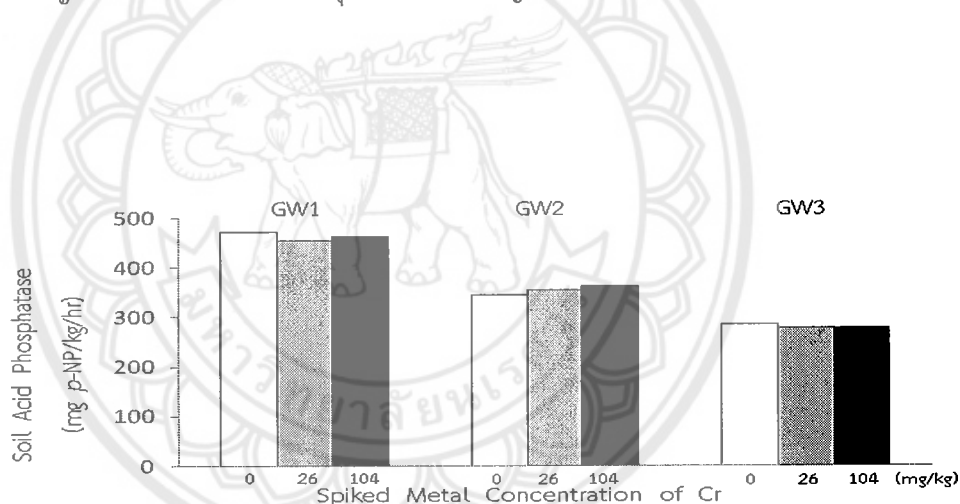
4.5 ผลของโลหะหนักต่อกิจกรรมเอนไซม์ดิน

กิจกรรมของ acid phosphatase และ urease ในดินที่ใส่โลหะหนักธาตุเดี่ยว และโลหะธาตุผสมที่ระดับความเข้มข้นและระยะเวลาการเจริญเติบโตต่างๆ

4.5.1 ผลของโลหะหนักต่อกิจกรรม acid phosphatase

โครเมียม

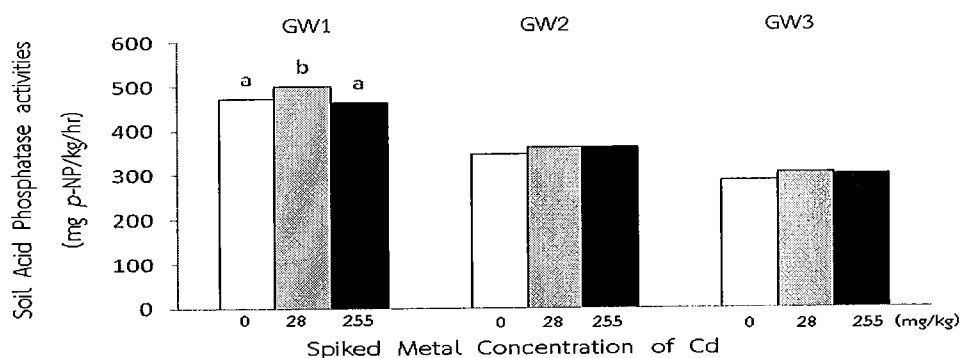
การเปรียบเทียบกิจกรรมกิจกรรม acid phosphatase กับ ปริมาณฟอสฟอรัส ที่เป็นประโยชน์ในดินที่มีการเติมโครเมียมเป็นธาตุเดี่ยวที่ระดับความเข้มข้น 0, 26 และ 104 มก./กก. แต่ระยะเวลาการเจริญเติบโต แสดงในภาพ 4.11 พบว่า ปริมาณฟอสฟอรัส ที่เป็นประโยชน์ในดินที่เติมโครเมียมทั้งสองระดับความเข้มข้นไม่แตกต่างกับดินที่ไม่เติมโครเมียม อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ $\alpha = 0.05$ ที่ทุกระยะการเจริญเติบโต



ภาพ 4.11 ผลของการเติมโครเมียมต่อกิจกรรม acid phosphatase

แคดเมียม

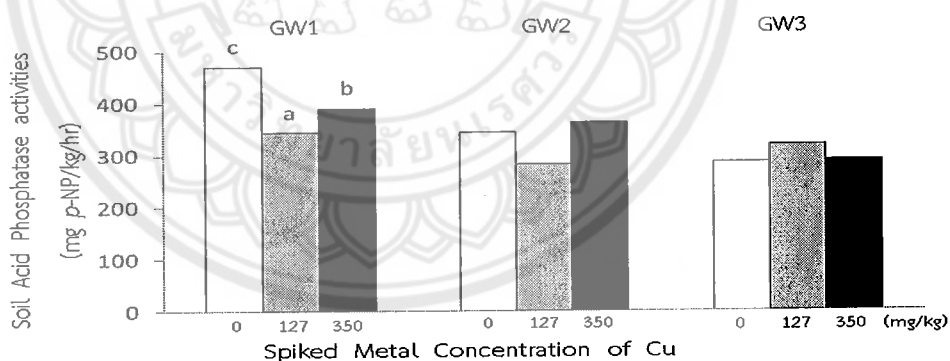
การเปรียบเทียบกิจกรรมกิจกรรม acid phosphatase กับ ปริมาณฟอสฟอรัส ที่เป็นประโยชน์ ในดินที่มีการเติมแคดเมียมเป็นธาตุเดี่ยวที่ระดับความเข้มข้น 0, 28 และ 255 มก./กก. ที่แต่ละ ระยะเวลาการเจริญเติบโต แสดงในภาพ 4.12 พบว่า ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ในดินที่มีการ แคดเมียมที่ระดับต่ำ 28 มก./กก. มีค่าสูงกว่าการเติมแคดเมียมในระดับสูงและการไม่เติมแคดเมียม อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ $\alpha = 0.05$ ที่ระยะเวลาการเจริญเติบโต 0 วัน อย่างไรก็ตาม ไม่พบความ แตกต่างของเอนไซม์ที่แต่ละระดับความเข้มข้นของแคดเมียมที่ระยะ 40 และ 75 วัน



ภาพ 4.12 ผลของการเติมแคดเมียมต่อกิจกรรม acid phosphatase

ทองแดง

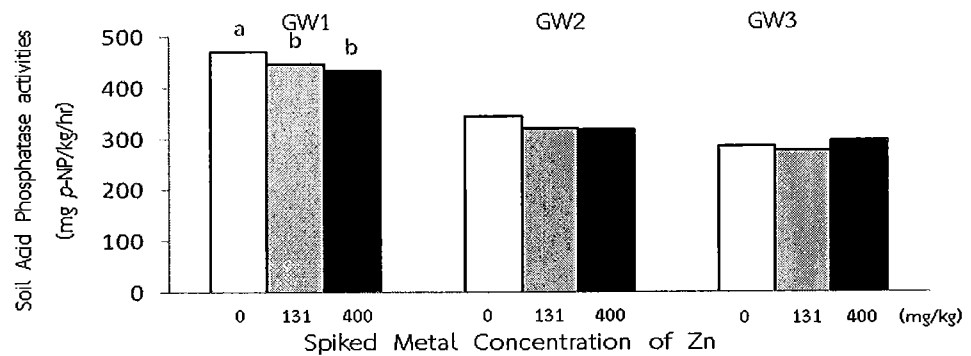
การเปรียบเทียบกิจกรรมกิจกรรม acid phosphatase กับ ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ในดินที่มีการเติมทองแดงเป็นธาตุเดี่ยวที่ระดับความเข้มข้น 0, 127 และ 350 มก./กก. ที่แต่ละระยะการเจริญเติบโต แสดงในภาพ 4.13 พบว่า ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ในดินที่มีการเติมทองแดงที่ระดับ 127 และ 350 มก./กก. มีค่าต่ำกว่าการไม่เติมทองแดงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ $\alpha = 0.05$ ที่ระยะการเจริญเติบโต 0 วัน อย่างไรก็ตามไม่พบความแตกต่างของเอนไซม์ที่แต่ละระดับความเข้มข้นของทองแดงที่ระยะ 40 และ 75 วัน



ภาพ 4.13 ผลของการเติมทองแดงต่อกิจกรรม acid phosphatase

สังกะสี

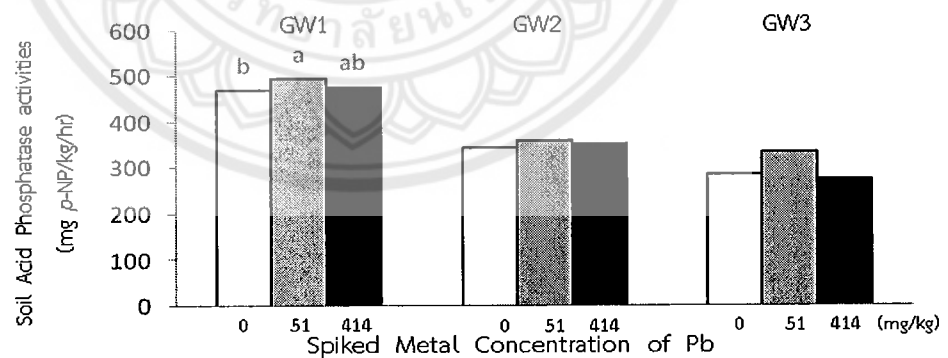
การเปรียบเทียบกิจกรรมกิจกรรม acid phosphatase กับ ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ในดินที่มีการเติมสังกะสีเป็นธาตุเดี่ยวที่ระดับความเข้มข้น 0, 131 และ 400 มก./กก. ที่แต่ละระยะการเจริญเติบโต แสดงในภาพ 4.14 พบว่า ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ในดินที่มีสังกะสีที่ระดับ 131 และ 400 มก./กก. มีค่าต่ำกว่าการไม่เติมสังกะสีอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ $\alpha = 0.05$ ที่ระยะการเจริญเติบโต 0 วัน อย่างไรก็ตามไม่พบความแตกต่างของเอนไซม์ที่แต่ละระดับความเข้มข้นของสังกะสีที่ระยะ 40 และ 75 วัน



ภาพ 4.14 ผลของการเติมสังกะสีต่อกิจกรรม acid phosphatase

ตะกั่ว

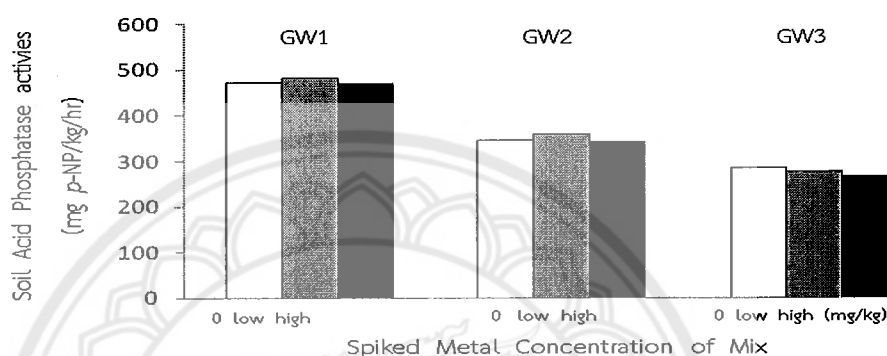
การเปรียบเทียบกิจกรรมกิจกรรม acid phosphatase กับ ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ในดินที่มีการเติมตะกั่วเป็นธาตุเดี่ยวที่ระดับความเข้มข้น 0, 51 และ 414 มก./กก. ที่แต่ละระยะการเจริญเติบโต แสดงในภาพ 4.15 พบว่า ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ในดินที่มีตะกั่วที่ระดับต่ำ 51 มก./กก. มีค่าสูงกว่าการไม่เติมตะกั่วแต่ไม่แตกต่างกับการเติมตะกั่วที่ระดับสูง 414 มก./กก. อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ $\alpha = 0.05$ ที่ระยะการเจริญเติบโต 0 วัน อย่างไรก็ตาม ไม่พบความแตกต่างของเอนไซม์ที่แต่ละระดับความเข้มข้นของตะกั่วที่ระยะ 40 และ 75 วัน



ภาพ 4.15 ผลของการเติมตะกั่วต่อกิจกรรม acid phosphatase

โลหะผสมของโครเมียม แคดเมียม ทองแดง สังกะสีและตะกั่ว

การเปรียบเทียบกิจกรรมกิจกรรม acid phosphatase กับ ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ในดินที่มีการเติมโลหะธาตุผสมที่มีการเติมโลหะที่ระดับความเข้มข้นต่ำและสูงและที่ไม่มีการเติมโลหะธาตุผสมแต่ละระยะการเจริญเติบโต แสดงในภาพ 4.16 ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ในดินที่เติมโลหะธาตุผสมทั้งสองระดับความเข้มข้นไม่แตกต่างกับดินที่ไม่เติมโลหะธาตุผสมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ $\alpha = 0.05$ ที่ทุกระยะการเจริญเติบโต

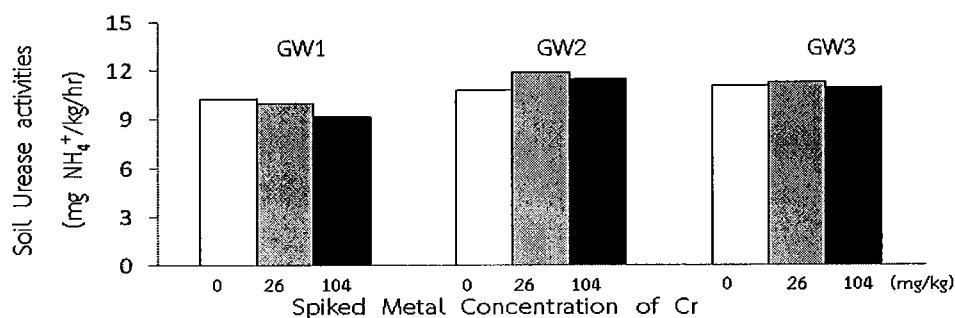


ภาพ 4.16 ผลของการเติมโลหะธาตุผสมต่อกิจกรรม acid phosphatase

4.5.2 ผลของโลหะหนักต่อกิจกรรม urease

โครเมียม

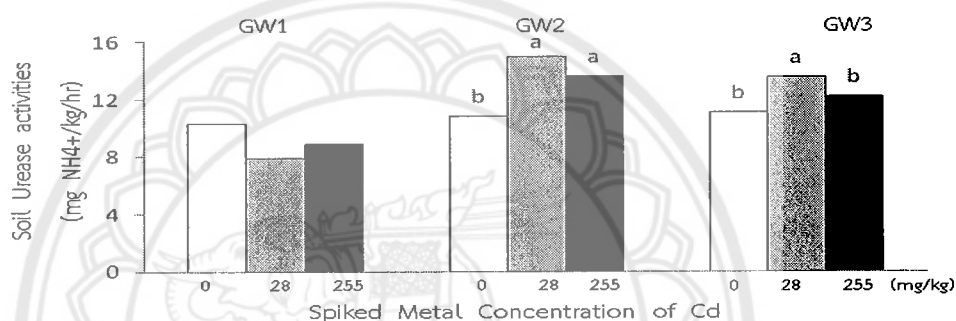
การเปรียบเทียบกิจกรรมกิจกรรม urease กับ ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในดินที่มีการเติมโครเมียมเป็นธาตุเดี่ยวที่ระดับความเข้มข้น 0, 26 และ 104 มก./กก. แต่ละระยะการเจริญเติบโต แสดงในภาพ 4.17 ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในดินที่เติมโครเมียมทั้งสองระดับความเข้มข้นไม่แตกต่างกับดินที่ไม่เติมโครเมียมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ $\alpha = 0.05$ ที่ทุกระยะการเจริญเติบโต



ภาพ 4.17 ผลของการเติมโลหะธาตุโครเมียมต่อกิจกรรม urease

แคดเมียม

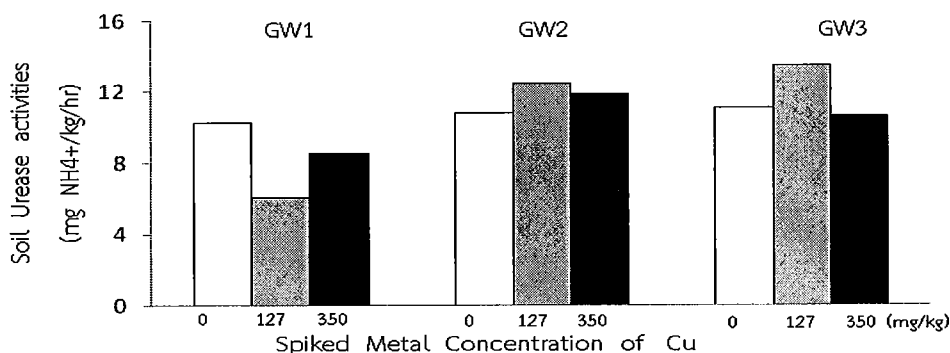
การเปรียบเทียบกิจกรรม urease กับ ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในดินที่เติมธาตุแคดเมียม เป็นธาตุเดี่ยวที่ระดับความเข้มข้น 0, 28 และ 255 มก./กก. แต่ระยะการเจริญเติบโต แสดงในภาพ 4.18 พบว่า ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในดินที่ระยะ 45 วัน การเติมแคดเมียมทั้งสองระดับความเข้มข้น 28 และ 255 มก./กก. มีค่าสูงกว่าการไม่เติมแคดเมียม แต่ที่ระยะ 70 วัน การเติมแคดเมียมระดับต่ำมีค่าสูงกว่าการเติมแคดเมียมในระดับสูงและการไม่เติมแคดเมียม อย่างไรก็ตามที่ระยะ 0 วัน การเติมแคดเมียมทั้งสองระดับความเข้มข้นไม่แตกต่างกับการไม่เติมแคดเมียมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ $\alpha = 0.05$



ภาพ 4.18 ผลของการเติมโลหะธาตุแคดเมียมต่อกิจกรรม urease

ทองแดง

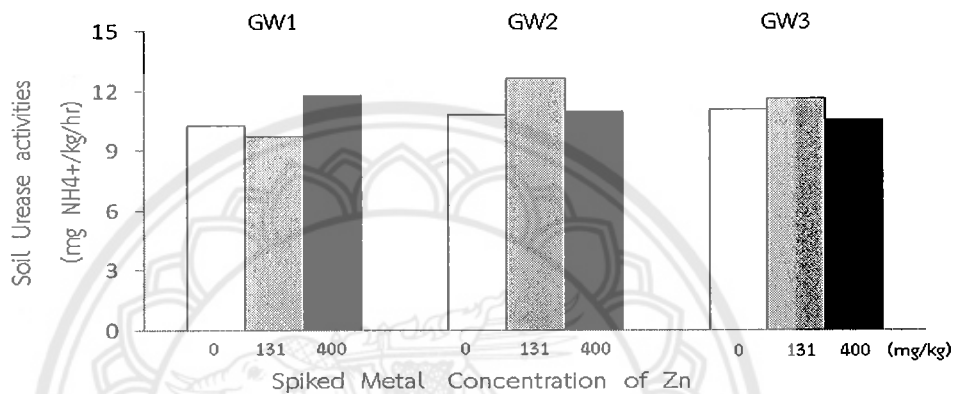
การเปรียบเทียบกิจกรรมกิจกรรม urease กับ ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในดินที่มีการเติมทองแดงเป็นธาตุเดี่ยวที่ระดับความเข้มข้น 0, 127 และ 350 มก./กก. แต่ระยะการเจริญเติบโต แสดงในภาพ 4.19 ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในดินที่เติมทองแดงทั้งสองระดับความเข้มข้นไม่แตกต่างกับดินที่ไม่เติมทองแดงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ $\alpha = 0.05$ ที่ทุกระยะการเจริญเติบโต



ภาพ 4.19 ผลของการเติมโลหะธาตุทองแดงต่อกิจกรรม urease

สังกะสี

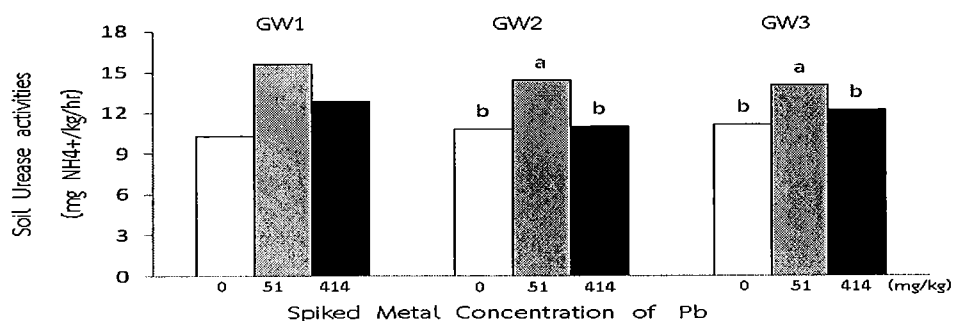
การเปรียบเทียบกิจกรรมกิจกรรม urease กับ ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในดินที่มีการเติมสังกะสีเป็นธาตุเดี่ยวที่ระดับความเข้มข้น 0, 131 และ 400 มก./กก. แต่ระยะการเจริญเติบโต แสดงในภาพ 4.20 ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในดินที่เติมสังกะสีทั้งสองระดับความเข้มข้นไม่แตกต่างกับดินที่ไม่เติมสังกะสีอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ $\alpha = 0.05$ ที่ทุกระยะการเจริญเติบโต



ภาพ 4.20 ผลของการเติมโลหะธาตุสังกะสีต่อกิจกรรม urease

ตะกั่ว

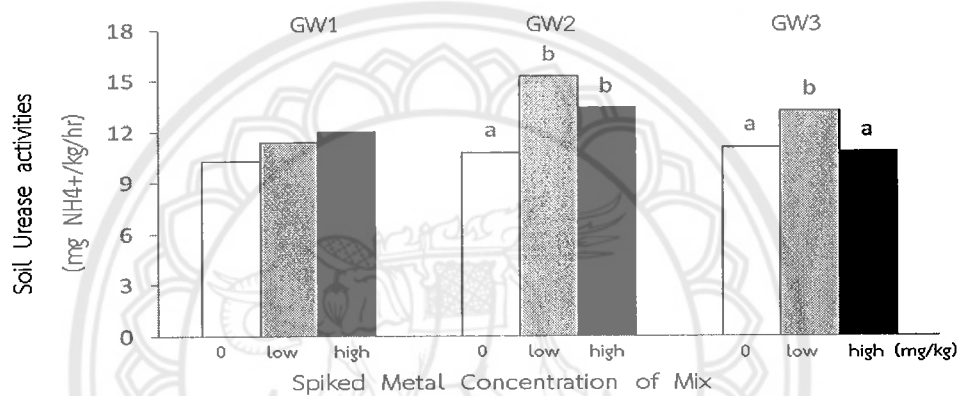
การเปรียบเทียบกิจกรรม urease กับ ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในดินที่เติมธาตุตะกั่วเป็นธาตุเดี่ยวที่ระดับความเข้มข้น 0, 51 และ 414 มก./กก. แต่ระยะการเจริญเติบโต แสดงในภาพ 4.21 พบว่า ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในดินที่ระยะ 45 และ 70 วัน การเติมแคดเมียมในระดับความเข้มข้นต่ำ 28 มก./กก. มีค่าสูงกว่าการเติมตะกั่วในระดับสูงและการไม่เติมตะกั่ว อย่างไรก็ตามที่ระยะ 0 วัน การเติมตะกั่วทั้งสองระดับความเข้มข้นไม่แตกต่างกับการไม่เติมตะกั่วอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ $\alpha = 0.05$



ภาพ 4.21 ผลของการเติมโลหะธาตุตะกั่วต่อกิจกรรม urease

โลหะผสมของโครเมียม แคดเมียม ทองแดง สังกะสีและตะกั่ว

การเปรียบเทียบกิจกรรม urease กับ ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในดินมีการเติมโลหะที่ระดับความเข้มข้นต่ำและสูง และที่ไม่มีการเติมโลหะธาตุผสมแต่ละระยะการเจริญเติบโตแสดงในภาพ 4.22 พบว่า ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในดินที่ระยะ 45 วัน การเติมโลหะธาตุผสมทั้งสองระดับความเข้มข้น มีค่าสูงกว่าการไม่เติมโลหะธาตุผสม แต่ที่ระยะ 70 วัน การเติมโลหะธาตุผสมระดับต่ำมีค่าสูงกว่าการเติมโลหะธาตุผสมในระดับสูงและการไม่เติมโลหะธาตุผสม อย่างไรก็ตามที่ระยะ 0 วัน การเติมโลหะธาตุผสมทั้งสองระดับความเข้มข้นไม่แตกต่างกับการไม่เติมโลหะธาตุผสมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ $\alpha = 0.05$



ภาพ 4.22 ผลของการเติมโลหะธาตุผสมต่อกิจกรรม urease

บทที่ 5

สรุปผลการทดลองและวิจารณ์

การวิจัยเพื่อศึกษากิจกรรมเอนไซม์ acid phosphatase และ urease ในดินที่มีการใส่โลหะหนัก คือ โลหะธาตุเดี่ยว (Cr, Cd, Cu, Zn, Pb) และโลหะธาตุผสม(Mix) ในระดับความเข้มข้นในระดับต่ำและความเข้มข้นในระดับสูง ทำการศึกษากิจกรรม 3 ระยะการเจริญเติบโต ได้แก่ ระยะการเจริญเติบโตที่ 0 วัน (ก่อนการย้ายกล้า) ระยะการเจริญเติบโตที่ 45 วัน และระยะการเจริญเติบโตที่ 70 วัน หลังจากการย้ายกล้า ในดินเนื้อหยาบที่มีการปลูกผักกาดเขียวปลี การศึกษาวิจัยสรุปได้ดังนี้

1. กิจกรรมเอนไซม์ดินที่มีการใส่โลหะหนักตลอดการทดลอง พบว่า กิจกรรม acid phosphatase มีแนวโน้มลดลงจากช่วงการเจริญเติบโตที่ 0, 45 และ 70 วัน ตามลำดับ ในดินที่ไม่เติมโลหะหนักและเติมโลหะหนักทุกธาตุ ปริมาณ acid phosphatase มีความสัมพันธ์กับปริมาณฟอสฟอรัสทั้งหมดในดิน โดยค่าสหสัมพันธ์ในทางบวกมีค่า $r = 0.736^{**}$

2. ผลของโลหะหนักต่อกิจกรรม acid phosphatase การเติมแคดเมียมและตะกั่ว ทั้งสองระดับความเข้มข้นจะเกิดกิจกรรมของเอนไซม์ดินได้สูงขึ้นเมื่อเทียบกับการไม่มีการเติมแคดเมียมและตะกั่ว และการเติมธาตุโลหะหนักดังกล่าวในระดับความเข้มข้นต่ำ จะเกิดกิจกรรมของเอนไซม์ดินที่สูงกว่าการใส่ธาตุโลหะหนักในระดับความเข้มข้นสูง

3. การใส่โครเมียมและโลหะธาตุผสม ทั้งสองระดับความเข้มข้นไม่ทำให้กิจกรรมของเอนไซม์แตกต่างกับการไม่เติมโลหะหนักในทุกการเจริญเติบโต การใส่สังกะสี และทองแดงทั้งสองระดับความเข้มข้นจะเกิดกิจกรรมเอนไซม์ลดลง เมื่อเทียบกับการไม่มีการเติมสังกะสีและทองแดง ในช่วงการเจริญเติบโต 0 วัน อย่างมีนัยสำคัญ การเติมแคดเมียม ทองแดง สังกะสี และตะกั่ว ทั้งสองระดับไม่ส่งผลต่อกิจกรรมเอนไซม์ดินในช่วงเจริญเติบโตที่ 45 วัน และระยะการเจริญเติบโตที่ 70 วัน

4. การเปลี่ยนแปลงและการเพิ่มขึ้นของ acid phosphatase ไม่สัมพันธ์กับการเพิ่มโลหะหนักแต่สอดคล้องกับปริมาณฟอสฟอรัสทั้งหมดในดิน โดยมีความสอดคล้องกันในการทดลองทุกธาตุ

5. การใส่โลหะหนักในดินจะส่งเสริมการกิจกรรม urease จากช่วงการเจริญเติบโตที่ 0, 45 และ 70 วัน ตามลำดับ อาจอธิบายได้ว่าการเพิ่มของ urease สัมพันธ์กับการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์รอบรากพืชทำให้ปริมาณ urease เพิ่มขึ้นที่ระยะการเจริญเติบโต 45 และ 70 วัน เมื่อเทียบกับไม่มีการปลูกพืช นอกจากนี้ยังสัมพันธ์กับปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในดิน เนื่องจากในช่วงการเจริญเติบโตดังกล่าวมีปริมาณไนโตรเจนที่สูงและการเกิดกิจกรรม urease จะเกิดได้สูง

ในดินที่มีการปลูกพืชมากกว่าดินที่ไม่มีการปลูกพืช สอดคล้องกับรายงานผลกระทบของแคดเมียม ทองแดงและสังกะสีต่อพืช จุลินทรีย์และกิจกรรมเอนไซม์ดิน พบว่า ในดินที่ทำการปลูกพืชจะเกิดกิจกรรมของเอนไซม์ urease ที่สูงกว่าในดินที่ไม่มีการปลูกพืช จากการที่ในดินปลูกจะมีปริมาณ กรดฮิวมิคที่สูงขึ้นและกรดฮิวมิคจะช่วยให้เอนไซม์ดินถูกทำลายจากทองแดงได้ลดลง (Wyszkowska et al., 2013)

6. การเปลี่ยนแปลงของกิจกรรม urease อย่างมีนัยสำคัญ พบได้เฉพาะในดินที่เติมแคดเมียมและตะกั่วในช่วงการเจริญเติบโต 45 และ 70 วัน เท่านั้น โดยการเติมโลหะทั้งสองธาตุในระดับความเข้มข้นต่ำจะทำให้กิจกรรม urease เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ แต่ไม่มีความแตกต่างในระดับความเข้มข้นสูงเมื่อเทียบกับการไม่เติมโลหะ ปริมาณ urease ที่เพิ่มขึ้น สอดคล้องกับปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดดินที่เพิ่มขึ้นจากการใส่โลหะหนักในรูปของเกลือไนเตรท แต่ปริมาณ urease ที่ลดลงเป็นผลมาจากความเป็นพิษของโลหะหนักที่เพิ่มขึ้น สอดคล้องกับรายงานผลกระทบจากโลหะหนักต่อกิจกรรมเอนไซม์ดิน พบว่า กิจกรรม urease จะขึ้นกับความสมดุลระหว่างปริมาณธาตุอาหารในดินและความเป็นพิษของโลหะหนัก การใส่โลหะหนักในรูปของเกลือไนเตรทและเกลือซัลเฟต จะส่งผลให้เกิดไนโตรเจนและซัลเฟอร์เพิ่มขึ้นในดิน ซึ่งไนโตรเจนและซัลเฟอร์เป็นธาตุอาหารสำหรับ microflora ในการสังเคราะห์เอนไซม์ดิน (Karaca et al., 2010) นอกจากนี้อนุมานได้ว่ากิจกรรม urease ในดินสัมพันธ์อย่างใกล้ชิดกับการเจริญของจุลินทรีย์ที่อาศัยบริเวณรากพืช

7. การเติมโลหะหนักสู่ดินส่งผลให้กิจกรรม acid phosphatase และ urease เปลี่ยนแปลงไป การเปลี่ยนแปลงกิจกรรมเอนไซม์ดินยังสัมพันธ์กับปริมาณธาตุอาหารในดิน จุลินทรีย์ดิน และการปลูกพืช เอนไซม์ดินจะตอบสนองต่อการเปลี่ยนแปลงต่อคุณสมบัติดินและการปนเปื้อนโลหะหนัก กิจกรรมของเอนไซม์ดินจึงเหมาะสมเป็นตัวชี้วัดคุณภาพดิน

บรรณานุกรม

- กรมควบคุมมลพิษ. (2555). แผนจัดการมลพิษ พ.ศ.๒๕๕๕ - ๒๕๕๙. (พิมพ์ครั้งที่ 1). สืบค้นเมื่อ 30 กันยายน 2558, จาก <http://oic.go.th>
- กรมพัฒนาที่ดิน. (2553). คู่มือการปฏิบัติงานกระบวนการวิเคราะห์ตรวจสอบทางเคมีดิน. (พิมพ์ครั้งที่ 1). สืบค้นเมื่อ 30 กันยายน 2558, จาก <http://www.ddd.go.th>
- กรมวิชาการเกษตร. (2558). สารพิษจากแหล่งเกษตรกรรมสู่แม่น้ำสายหลัก. สืบค้นเมื่อ 22 กันยายน 2558, จาก http://it.doa.go.th/pibai/pibai/n16/v_10-nov/korkui.html
- กรมส่งเสริมคุณภาพสิ่งแวดล้อม กระทรวงทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม. (2558). ทำไมต้องให้ความสำคัญกับปัญหาการปนเปื้อนของสารอันตรายในดินและน้ำใต้ดิน. สืบค้นเมื่อ 22 กันยายน 2558, จาก <http://www.deqp.go.th>
- ฐิตียา แซ่ปึง. (2551). พิษวิทยาสังแวดล้อม (พิมพ์ครั้งที่ 1). กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- ตุลญา มะสีพันธ์ และ ดร.ศรีเลิศ โชติพันธรัตน์. (2557). การประเมินการปนเปื้อนของทองแดง และ ตะกั่ว ผ่านชั้นดินที่ไม่อิ่มตัวด้วยน้ำ ในพื้นที่เกษตรกรรม ตำบลหัวเรือ จังหวัดอุบลราชธานี โดยใช้แบบจำลอง Hydrus-5D. ใน Graduate Research Conference (หน้า 385 - 391). ขอนแก่น: มหาวิทยาลัยขอนแก่น.
- มธุรส จุจิราวัฒน์ และ จุฑามาศ สัตยวิวัฒน์. (2549). พิษวิทยาสังแวดล้อม (พิมพ์ครั้งที่ 1). กรุงเทพฯ: ทรินิตี้ พับลิชชิ่ง จำกัด.
- มูลนิธิโลกสีเขียว. (2556). ข่าวสังแวดล้อม. เปิดแผนที่ปนเปื้อนสารพิษในประเทศไทย ผลลัพธ์จากการพัฒนา. สืบค้นเมื่อ 22 กันยายน 2558, จาก <http://www.web.greenworld.or.th>
- รักบ้านเกิด. (2552). ข้อมูลเกษตรกร. สืบค้นเมื่อ 22 กันยายน 2558, จาก <http://www.rakbankerd.com/>
- ศูนย์ข้อมูลพิษวิทยา. (2548). ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับสิ่งเป็นพิษ. ความเป็นพิษทองแดง. สืบค้นเมื่อ 22 กันยายน 2558, จาก <http://webdb.dmsc.moph.go.th>
- สุจิตรา ชูเกิด, ทิพย์ทิวา สัมพันธมิตร และ วิชุดา เกตุใหม่. (2554). การตกค้างของสารเคมีจากการทำนา. มหาวิทยาลัยพะเยา.
- สถาบันนวัตกรรมการเรียนรู้ มหาวิทยาลัยมหิดล. (2558). มลพิษโลหะหนัก สืบค้นเมื่อ 22 กันยายน 2558, จาก <http://www.il.mahidol.ac.th>
- บัญชาการ วินัยพานิช. (2548). การบำบัดดินที่ปนเปื้อนทองแดงโดยใช้ผักกาดเขียวปลี ต้อยตัง และไมยราบ. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ.
- ศุภมาศ พนิชศักดิ์พัฒนา. (2545). ภาวะมลพิษของดินจากการใช้สารเคมี. สืบค้นเมื่อ 22 กันยายน 2558, จาก <http://ag-ebook.lib.ku.ac.th>

- Cheng L. C. And Chang Y. H. (2006). Effects of lead contamination on soil enzymatic activities, microbial biomass, and physiological indices in soil-lead-rice (*Oryza sativa* L.) system. *Ecotoxicology and Environmental safety* 67: 67-74.
- Das, S. K. and Varma, A. (2011). Chapter 2 Role of Enzyme in Maintaining Soil Health, Chapter 2. In Shukla, G. and Verma, A. (eds). *Soil Enzymology, Soil Biology* 22. Springer-Verlag Berlin Heidelberg.
- Karaca, A., Cetin. C. S., Turgay. O. C., and Kizilikaya. R. (2010). Chapter 11 Effects of Heavy Metals on Soil Enzyme Activities. *Soil Heavy Metals, Soil Biology*. Vol 19. DOI 10.1007/978-3-642-02436-8_11. Springer-Verlag Berlin Heidelberg.
- M. A. Tabatabai, M. A. (1994). Soil Enzymes: Ch. 37. In Weaver, R. W., Angle, J. S. and Bottonley. P. S. (Eds.) *Methods of Soil Analysis: Part 2—Microbiological and Biochemical Properties*. SSSA, Inc.
- Nourbakhsh F., Henri, D., Carlos M., and Gity, E. (2002). Effects of Cr, Cd and Pb on L-asparaginase and urease activities in some soils of Central Iran. 17th WCSS. 14-21 August 2002, Thailand. 29: 118-1-5.
- NRCS East National Technology Support Centers. (2011). Soil Enzymes, Soil Quality for Environmental Health. สืบค้นเมื่อวันที่ 11 ธันวาคม 2558, จาก http://soilquality.org/indicators/Soil_enzymes.html
- Ofoegbu, C. J., Akubugwo, E. I., Dike, C. C., Maduka, H. C. C., Ugwu, C. E. and Obsi, N. A. (2013). Effects of Heavy Metals on Soil Enzymatic Activities in the Ishiagu Mining Area of Ebonyi State-Nigeria. *IOSR Journal Of Environmental Science*. Volume 5(6): 66-71.
- Russell, Jane. A. (1994). The Colorimetric Estimation of small amounts of Ammonia by the phenol-hypochlorite reaction.
- Sannino, F. and Gianfreda, L. (2001). Pesticide influence on soil enzymatic activities. *Chemosphere* 15: 417-425.
- Tabatabai, M. A. and Bremner, J.M. (1969). Use of *p*-nitrophenyl phosphate for assay of soil phosphatase activity. Great Britain: Iowa State University, Ames, Iowa.
- Wyszkowska, J., Borwik, A., Kucharski, M. and Kucharski, J. (2013). Effect of Cadmium, Copper and Zinc on plants, soil microorganisms and soil enzymes. DOI: 10.5601/jelem.2013.18.4.445. *Microbiology, University of Warmias and Mazury in Olszyn*, 10-727.

USDA Natural Resources Conservation Service. (2010). Soil Quality Indicators. (October 2010). สืบค้นเมื่อวันที่ 11 ธันวาคม 2558, จาก www.nrcs.usda.gov

Zeng, Lu. S., Min Liao. Ournal of Biological Chemistry. (2007) 156: 457-462.





ตารางที่ 1 การเกิดกิจกรรมเอนไซม์ acid Phosphatase และ urease ในช่วงระยะ
การเจริญเติบโตที่ 1 (GW 1)

	Urease			Acid Phosphatase		
	GW1 plot1	GW1 plot3	เฉลี่ย	GW1 plot1	GW1 plot3	เฉลี่ย
	(mg NH ₄ ⁺ /kg/hr)	(mg NH ₄ ⁺ /kg/hr)	(mg NH ₄ ⁺ /kg/hr)	(mg p- NP/kg/hr)	(mg p- NP/kg/hr)	(mg p- NP/kg/hr)
Cr (l)	10.494	9.553	10.024	445.751	460.865	453.308
Cr (h)	8.511	9.878	9.195	451.078	471.277	461.177
Cd (l)	4.154	11.652	7.903	491.971	506.772	499.371
Cd (h)	8.012	9.772	8.892	471.362	455.584	463.473
Cu (l)	3.140	8.928	6.034	362.235	326.730	344.483
Cu (h)	5.847	11.248	8.547	388.598	393.877	391.237
Zn (l)	6.441	13.010	9.726	446.469	449.287	447.878
Zn (h)	9.634	13.893	11.763	429.190	441.207	435.198
Pb (l)	14.681	16.417	15.549	497.979	494.987	496.483
Pb (h)	11.988	13.638	12.813	481.845	473.517	477.681
Mix (l)	13.864	8.898	11.381	486.670	477.533	482.102
Mix (h)	12.075	11.918	11.996	462.276	481.277	471.777
Mo	8.886	11.672	10.279	468.881	473.452	471.167

ตารางที่ 2 การเกิดกิจกรรมเอนไซม์ acid Phosphatase และ urease ในช่วงระยะ
การเจริญเติบโตที่ 2 (GW 2)

	Urease			APA		
	GW2 plot1	GW2 plot3	เฉลี่ย	GW2 plot1	GW2 plot3	เฉลี่ย
	(mg NH ₄ ⁺ /kg/hr)	(mg NH ₄ ⁺ /kg/hr)	(mg NH ₄ ⁺ /kg/hr)	(mg p- NP/kg/hr)	(mg p- NP/kg/hr)	(mg p- NP/kg/hr)
Cr (l)	11.947	11.790	11.868	382.269	328.121	355.195
Cr (h)	11.455	11.550	11.503	377.062	346.097	361.579
Cd (l)	15.571	14.410	14.990	372.920	350.611	361.766
Cd (h)	14.267	12.893	13.580	374.582	349.030	361.806
Cu (l)	12.017	12.855	12.436	277.643	286.766	282.204
Cu (h)	11.833	11.846	11.840	374.222	353.224	363.723
Zn (l)	12.863	12.433	12.648	374.214	267.504	320.859
Zn (h)	10.758	11.188	10.973	349.591	288.732	319.161
Pb (l)	15.933	12.852	14.392	392.279	328.389	360.334
Pb (h)	10.545	11.397	10.971	381.130	325.743	353.436
Mix (l)	15.101	15.455	15.278	377.565	340.058	358.812
Mix (h)	13.814	13.021	13.418	349.696	334.211	341.953
Mo	9.643	11.932	10.788	377.246	314.082	345.664

ตารางที่ 3 การเกิดกิจกรรมเอนไซม์ acid Phosphatase และ urease ในช่วงระยะ
การเจริญเติบโตที่ 3 (GW 3)

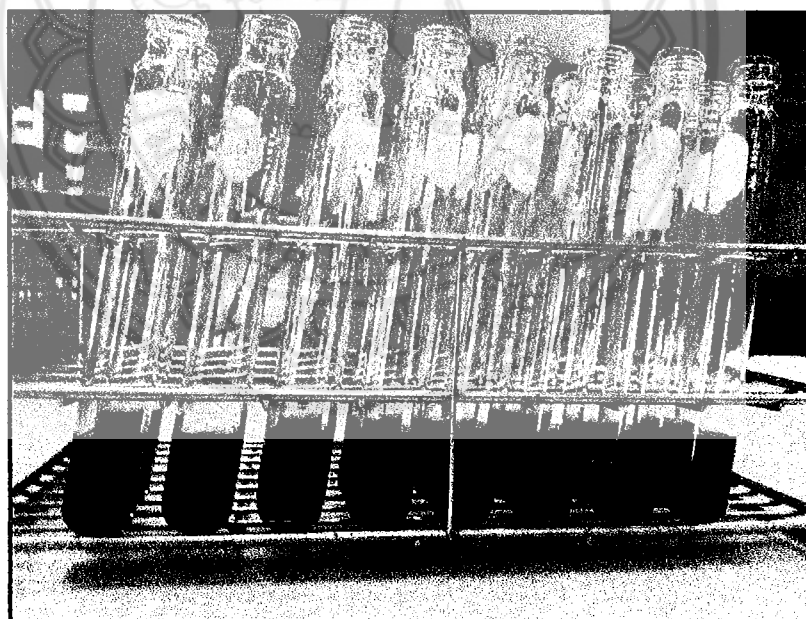
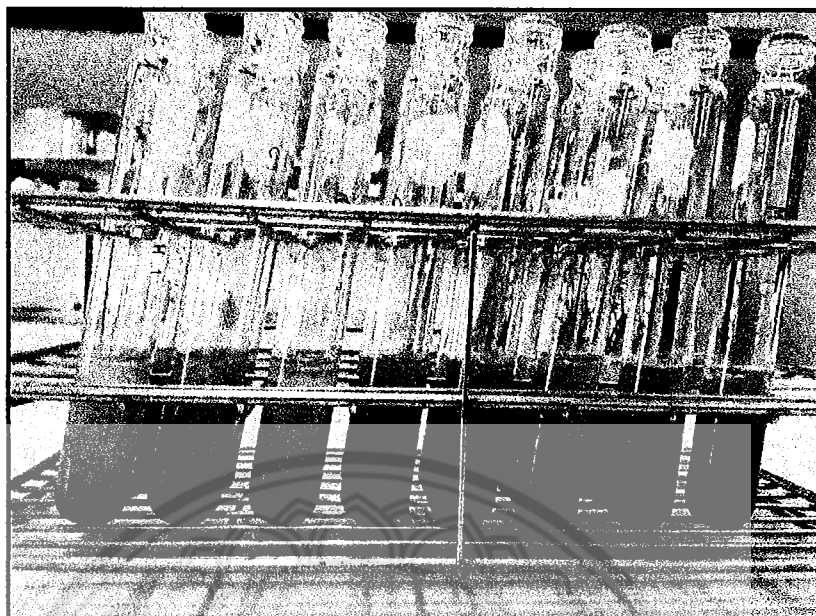
	Urease			APA		
	GW3 plot1	GW3 plot3	เฉลี่ย	GW3 plot1	GW3 plot3	เฉลี่ย
	(mg NH ₄ ⁺ /kg/hr)	(mg NH ₄ ⁺ /kg/hr)	(mg NH ₄ ⁺ /kg/hr)	(mg p- NP/kg/hr)	(mg p- NP/kg/hr)	(mg p- NP/kg/hr)
Cr (l)	11.790	10.717	11.253	261.311	292.586	276.949
Cr (h)	11.550	10.385	10.968	259.022	296.876	277.949
Cd (l)	14.410	12.626	13.518	303.346	302.563	302.955
Cd (h)	12.893	11.521	12.207	296.129	303.275	299.702
Cu (l)	12.855	14.061	13.458	249.715	390.171	319.943
Cu (h)	11.846	9.332	10.589	272.128	306.635	289.382
Zn (l)	12.433	10.757	11.595	256.160	297.162	276.661
Zn (h)	11.188	9.840	10.514	282.654	310.153	296.404
Pb (l)	12.852	15.161	14.006	266.476	406.127	336.302
Pb (h)	11.397	12.955	12.176	262.899	291.390	277.145
Mix (l)	15.455	11.038	13.247	258.666	296.656	277.661
Mix (h)	13.021	8.671	10.846	255.669	277.133	266.401
Mo	11.932	10.260	11.096	255.131	317.011	286.071



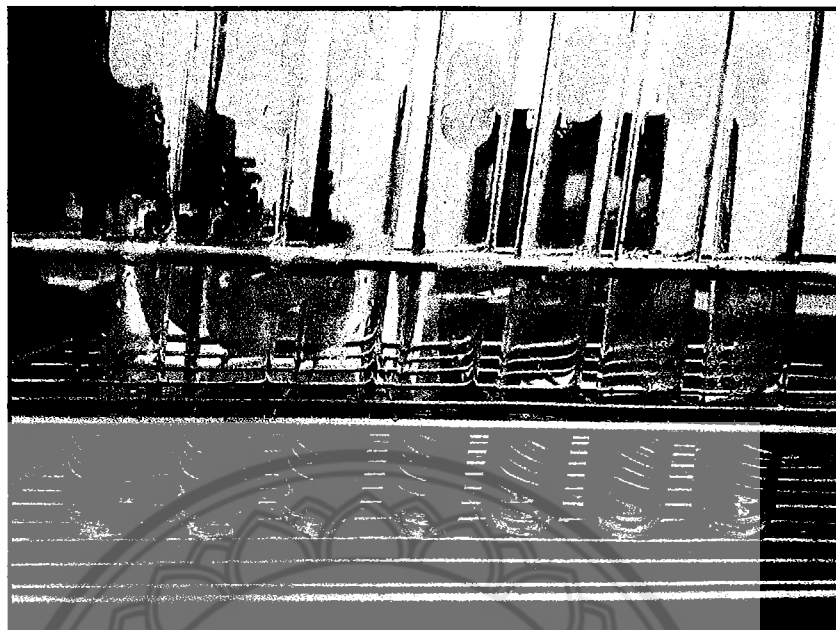
ภาคผนวก ข.

ภาพการปฏิบัติการวิเคราะห์กิจกรรมเอ็นไซม์

มหาวิทยาลัยนเรศวร



ภาพ 1 การวิเคราะห์กิจกรรม Acid Phosphatase



ภาพ 2 การวิเคราะห์กิจกรรม Urease



ภาคผนวก ค.
การศึกษาในห้องปฏิบัติการ

การวัด pH ของดิน โดยวิธี pHmeter

อุปกรณ์

1. pH meter
2. beakerขนาด 100 มล.
3. แท่งแก้ว

สารเคมี

1. Buffersolution, pH 7,4 และ 10
2. CaCl_2 , 0.01M

วิธีการ

1.วิธีการวัดโดยใช้อัตราส่วนดินต่อน้ำค่า 1:1 ซึ่งตัวอย่างดินที่บดร่อนผ่านตะแกรงขนาด 2 มล. จำนวน 20 กรัม ใส่ในบีกเกอร์ขนาด 100 มล. เติมน้ำกลั่น 20 มล. ใช้แท่งแก้วคนให้เข้ากัน แล้วตั้งทิ้งไว้ 30 นาที (ระหว่างนั้นควรคนเป็นครั้งคราว) ก่อนวัด pH ต้องปรับเครื่อง pH meter ด้วยบัฟเฟอร์ pH 7,4 และ 10 แล้วจึงดำเนินการวัด pH ของตัวอย่างต่อไป

การวิเคราะห์อินทรีย์วัตถุของดิน

(Walkley Black modified acid-dichromate digestion, FeSO_4 titration method)

อุปกรณ์

1. เครื่องชั่ง (analytical balance)
2. Erlenmeyerv flask ขนาด 250 มล.
3. Volumetric pipet ขนาด 5 และ 20 มล.
4. Cylinderขนาด 100 มล.
5. Buretขนาด 50 มล.
6. Volumetric flask ขนาด 100 และ 1,000 มล.

สารเคมี

1. สารละลาย 1N $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$: ละลาย $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ (อบที่ 105°C เป็นเวลา 3 ชั่วโมง) 49.04 กรัม ในน้ำกลั่นแล้วทำปริมาตรให้เป็น 1 ล. ใน Volumetric flask
2. H_2SO_4 เข้มข้น : ถ้าในตัวอย่างดินมี Cl^- อยู่มากให้เติม Ag_2SO_4 ลงในอัตรา 15 กรัม ต่อกรด H_2SO_4 1 ล. (ถ้าดินมีคลอไรด์อยู่มาก คลอไรด์จะทำปฏิกิริยากับ dichromate เหมือนกับคาร์บอน ผลวิเคราะห์จะได้ค่าคาร์บอนมากกว่าที่เป็นจริง การใส่ Ag_2SO_4 ลงใน H_2SO_4 ทำให้

Ag^+ ตกตะกอนกับ Cl^- เป็น AgCl ในขณะที่ทำการย่อยดิน ดังนั้นดินชายทะเลและดินเค็มในภาคตะวันออกเฉียงเหนือจึงควรเติม Ag_2SO_4

3. H_3PO_4 เข้มข้น: การเติมกรด H_3PO_4 เข้มข้นและ NaF ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงสีของ indicator เมื่อถึง end point ได้ชัดเจน ทำให้รู้ end point ของการไทเทรตแน่นอนยิ่งขึ้น

4. Barium diphenylamine sulfonate indicator (BDS) 0.16% : ละลาย BDS 0.16 กรัม ในน้ำกลั่น 100 มล. หรืออาจใช้ O-phenanthroline ferrous sulfate indicator 0.025 M ซึ่งเตรียมได้โดยละลาย O-phenanthroline 1.485 กรัม และ $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.70 กรัม ในน้ำกลั่นแล้วปรับปริมาตรเป็น 100 มล. หรืออาจใช้ diphenylamine indicator โดยละลาย diphenylamine 0.5 กรัม ในน้ำกลั่น 20 มล. และ H_2SO_4 เข้มข้น 100 มล.

5. สารละลาย 0.5 N Ferrous ammonium sulfate (FAS) : ละลาย $\text{Fe}(\text{NH}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 196.1 กรัม ในน้ำกลั่น 200 มล. ซึ่งมี H_2SO_4 เข้มข้น 20 มล. ทิ้งไว้ให้เย็นแล้วปรับปริมาตรเป็น 1 ล. ด้วยน้ำกลั่นใน Volumetric flask เก็บสารละลายในขวดสีน้ำตาลเพื่อกันแสงและปิดจุกให้แน่นเสมอ

6. NaF ชนิดผง (กรณีที่ใช้ diphenylamine เป็น indicator)

วิธีการ

1. ชั่งตัวอย่างดินซึ่งร่อนผ่านตะแกรงขนาด 0.2 มล. (80 mesh) หรือ 0.5 มล. (32 mesh) 0.2-2.0 กรัม ใส่ลงใน erlenmeyer flask ขนาด 250 มล. เติมสารละลาย 1N $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ ลงไป 10 มล. โดยใช้ piper แก้ว flask เบาๆ ให้ดินและสารละลายผสมกัน เติม H_2SO_4 เข้มข้น 20 มล. ลงไปโดยเร็ว แก้ว flask ค่อนข้างแรงประมาณ 1 นาที ตั้งทิ้งไว้ประมาณ 30 นาที (ถ้าพบว่าสารละลายของดินตัวอย่างใดเป็นสีเขียวก่อนที่จะไทเทรต ให้ทำการวิเคราะห์ใหม่โดยชั่งน้ำหนักดินให้น้อยกว่าเดิม)

2. เติมน้ำกลั่นลงไป 100 มล. และเติม H_3PO_4 เข้มข้นลงไป 10 มล. (และเติม NaF 0.2 กรัม ในกรณีที่ใช้ diphenylamine เป็น indicator) แก้ว flask แล้วเติม indicator 3-4 หยด สีของ suspension จะเปลี่ยนเป็นสีม่วงปนน้ำเงิน แต่ถ้าใช้ จะใช้ O-phenanthroline เป็น indicator สีของ suspension จะเปลี่ยนเป็นสีเขียว

3. ไทเทรต suspension ด้วยสารละลาย 0.5 N FAS จนกระทั่ง end point คือสีของ suspension จะเปลี่ยนจากสีม่วงหรือสีม่วงปนน้ำเงินเป็นสีเขียวใส (ใช้ BDS หรือ diphenylamine เป็น indicator) หรือสีของ suspension จะเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีน้ำตาลแดง (ใช้ O-phenanthroline เป็น indicator)

4. ทำ blank ซึ่งไม่มีตัวอย่างดินควบคุมไปกับการวิเคราะห์ดินตัวอย่าง

การคำนวณ

$$\%C = \frac{10(B - S)}{B} \times 0.30 \times \frac{1}{0.77} \times \frac{1}{\text{น.น.ดิน (g)}}$$

- เมื่อ B = จำนวน มิลลิลิตรของ 0.5 N FAS ที่ใช้ไทเทรตกับ blank
 S = จำนวน มิลลิลิตรของ 0.5 N FAS ที่ใช้ไทเทรตกับตัวอย่างดิน
 $0.03 =$ ค่าคงที่ที่ได้จากการคำนวณตามสมการ $\frac{1N}{1,000} \times \frac{12}{4} \times 100$
 $0.77 =$ % recovery ของอินทรีย์คาร์บอนในดินโดยวิธีซึ่งเท่ากับ 77
 $\%OM = \%OC \times 1.724$ (ถือว่า OM มี 58%OC)

%Easily oxidizing matter (EOM)

$$= \frac{10(B - S)}{B} \times 0.6717 \times \frac{1}{0.77} \times \frac{1}{\text{น. น. ดิน (g)}}$$

การวิเคราะห์ความจุแลกเปลี่ยนแคตไอออนของดิน
 โดยวิธี Ammonium acetate

อุปกรณ์

1. Leaching tube
2. Cotton wool
3. Asbestos powder
4. Erlenmeyer flask ขนาด 125 มล.
5. Volumetric flask ขนาด 200, 2000 มล.
6. Cylinder ขนาด 100 มล.
7. Volumetric pipet ขนาด 25 มล.
8. Distillation apparatus
9. Analytical balance
10. Buret

สารเคมี

1. Ammonium acetate 1 N, pH 7: เตรียมโดยชั่ง NH_4OAc 77.08 กรัม ละลายในน้ำกลั่นประมาณ 900-950 มล. แล้วปรับ pH ให้เป็น 7 ด้วย 1 N NH_4OH หรือ 0.2 N Acetic acid และปรับปริมาตรเป็น 1000 มล.
2. Acidified NaCl (10% in 0.05 N HCl) : โดยเตรียมสารละลาย NaCl 1000 กรัม ในน้ำกลั่น 9 ล. เติม 1N HCl ลงไป 50 มล. แล้วปรับปริมาตรให้เป็น 10 ล.
3. Ethyl alcohol 95%
4. Mixed indicator: ละลาย bromcresol green 0.033 กรัม และ methyl red 0.016 กรัม ใน ethanol 50 มล.

5. Boric acid – indicator 2% : ละลาย Boric acid(H_3BO_3) 40 กรัม ด้วยน้ำร้อน 800 มล. ใน volumetric flask ขนาด 2000 มล. ทิ้งไว้ให้เย็นแล้วเติม Mixed indicator (จากข้อ 4) 40 มล. หลังจากนั้นเติมน้ำกลั่นอีกประมาณ 800-900 มล. แล้วเขย่าส่วนผสมให้เข้ากันดี สารละลายที่ได้ควรเป็นสีม่วงแดง แต่ถ้ายังไม่ได้ให้ปรับสีด้วย 0.05 N NaOH จนได้สีม่วงแดง เราสามารถทดสอบได้โดยการนำสารละลาย boric acid 2% นี้มา 1 มล. ผสมน้ำ 1 มล. สารละลายจะเปลี่ยนเป็นสีเขียวอ่อนแสดงว่าสารละลายมี pH ประมาณ 5 ซึ่งใช้ได้ปรับปริมาตรให้เป็น 2 ล.
6. 0.02 N standard sulfuric acid : เตรียมจากสารละลายมาตรฐาน 1N H_2SO_4
7. MgO: เเผา heavy MgO ใน muffle furnace ที่อุณหภูมิ 600-700°C เป็นเวลา 5 ชั่วโมง แล้วทิ้งไว้ในเย็นใน dessicator เมื่อเย็นแล้วเก็บในภาชนะที่ปิดฝาแน่น
8. Asbestos : ชั่ง asbestos 20 กรัม ละลายในน้ำประมาณ 80 มล. แล้วปรับปริมาตรให้เป็น 100 มล. เขย่าให้เข้ากันดี

วิธีการ

1. ชั่งตัวอย่างดิน (ขนาด 2 มล.) 2 กรัม ใส่ใน leaching tube ซึ่งรองกันด้วยสำลีและเทสารละลาย asbestos ปริมาณ 5 มล.
2. ชะดินด้วยน้ำยา 1 N NH_4OAc , pH 7 จำนวน 100 ล. โดยค่อยๆ ปล่อยให้หยดทีละน้อยลงในขวดรองรับ leachate ที่ได้ นำไปวิเคราะห์หาปริมาณ exchangeable bases (Ca^{2+} , Mg^{2+} , K^+ และ Na^+) โดยใช้ atomic absorption spectrophotometer
3. ล้างดินใน leaching tube ด้วย ethyl alcohol 95% จำนวน 100 มล. เพื่อล้างเอา NH_4OAc ที่ซังและติดอยู่ตามซอกและหลืบของอนุภาคออกให้หมด
4. ชะดินด้วย 10% acidified NaCl จำนวน 100 มล. เพื่อที่ Na^+ จะไปไล่ที่ NH_4^+ ที่ดูดซับอยู่ที่ผิวดิน การชะดินนี้ต้องทำอย่างช้าๆ หลังจากนั้นนำ leachate ที่ได้มาปรับปริมาตรให้เป็น 200 มล. ด้วยน้ำกลั่น
5. นำ leachate จากข้อ 4. ไปกลั่นหาปริมาณ NH_4^+ โดย pipet สารละลายจาก ข้อ 4. มา 20 หรือ 25 มล. ใส่ลงใน Kjeldahl flask แล้วเติม MgO 0.2 กรัม จับ NH_3 ที่เกิดด้วย 2% boric acid – indicator 5 มล. กลั่นจนได้ปริมาตร 35 มล. สารละลายนี้จะมีสีเขียว หลังจากนั้นนำมา titrate ด้วย standard H_2SO_4 0.02 N จนถึง end point จะได้สารละลายสีม่วงอมชมพู บันทึกปริมาตรของ standard H_2SO_4 ที่ใช้ titrate เพื่อจะนำไปใช้คำนวณต่อไป
6. การคำนวณหาปริมาณ NH_4^+ ค่าที่คำนวณได้คิดเป็น เซนติโมล/กิโลกรัมของดินหรือวัสดุ ซึ่งจะสมมูลย์พอดีกับปริมาณ CEC ดังนั้นค่าที่คำนวณได้ถือว่าเป็นค่า CEC ของดินนั้น
7. ควรทำ blank 2 ตัวอย่าง ควบคุมไปกับการวิเคราะห์ทุกครั้ง

การคำนวณหาค่า CEC

สารละลายตัวอย่าง 200 มล. ดูดมาเพียง 25 มล. เพื่อนำมากลั่น หลังจากนั้น titrate ด้วย 0.02 N H₂SO₄ สมมุติใช้ไปเท่ากับ T มล. และของ blank ใช้ไป B มล.

Meq ของ NH₄⁺ ใน leachate = มิลลิลิตรของ H₂SO₄ ที่ใช้ในเตรท X normality ของกรด แล้วนำไปเทียบเป็นดิน 100 กรัม ค่าที่ได้ออกมาจะเป็น meq/100 กรัม ซึ่งมีค่าเท่ากับ c mole/kg ปัจจุบันนิยมรายงานเป็น c mole/kg

$$CEC \left(\frac{\text{meg}}{100 \text{ g}} \right) = \frac{N \times (T - B) \times A \times 100}{\text{mL. of aliquot ที่ใช้} \times \text{ดิน (g.)}}$$

เมื่อ

N = Normality ของ standard H₂SO₄

T = ปริมาณของ standard H₂SO₄ ที่ใช้ titrate sample

B = ปริมาณของ standard H₂SO₄ ที่ใช้ titrate blank

A = ปริมาณทั้งหมดของ aliquot

การวิเคราะห์โลหะหนักในดิน

อุปกรณ์

1. Atomic absorption spectrophotometer (AAS)
2. Analytical balance
3. Erlenmeyer flask 125 มล.
4. กระจกกรอง เบอร์ 42
5. Pipet
6. Beaker
7. Volumetric flask 25 มล.
8. Fume hood
9. Block digester
10. ขวดยา

สารเคมี

1. cone. HClO₄ และ cone. HNO₃ โดยนำกรดทั้งสองมาผสมกัน ในอัตราส่วน 3 : 1 คือ ผสมระหว่าง HClO₄ 3 ส่วน และ HNO₃ 1 ส่วน

วิธีการ

1. ชั่งตัวอย่างดิน (ผ่านตะแกรงร่อน 2 มล.) จำนวน 0.5 กรัม ใส่ใน Erlenmeyer flask 125 มล.
2. เติมกรดผสมระหว่าง $\text{HClO}_4 + \text{HNO}_3$ จำนวน 10 มล. ลงไปในตัวอย่าง
3. นำตัวอย่างไปย่อยบน Block digester ภายในตู้ดูดควัน จนได้ตัวอย่างดินสีขาว
4. นำตัวอย่างที่ย่อยได้ไปปรับปริมาตรให้เป็น 25 มล. โดยการเติมน้ำกลั่น
5. นำไปกรองโดยใช้กระดาษกรอง เบอร์ 42 แล้วนำตัวอย่างที่ได้ใส่ในขวดยา
6. ตรวจวัดตัวอย่างโดยใช้เครื่อง AAS เพื่อหาปริมาณโลหะหนัก





ตารางที่ 4 แสดงค่าอินทรีย์วัตถุในดิน ไนโตรเจนทั้งหมด ฟอสฟอรัส โพแทสเซียม และค่าความจุ แลกเปลี่ยนแคตไอออน

ระดับ (rating)	% OM	Total N (gm/Kg)	P (ppm)	K (ppm)	CEC
ต่ำมาก	< 0.5	< 0.25	<3	<30	<3
ต่ำ	0.5-1.0	0.50-0.75	3-6	30-60	3-5
ค่อนข้างต่ำ	1.0-1.5	-	6-10	-	5-10
ปานกลาง	1.5-2.5	0.75-1.25	10-15	60-90	10-15
ค่อนข้างสูง	2.5-3.5	-	15-25	-	15-20
สูง	3.5-4.5	1.25-1.75	25-45	90-120	20-30
สูงมาก	>4.5	>2.25	>45	>120	>30

ตารางที่ 5 แสดงค่าความเป็นกรดต่าง

ระดับ (rating)	pH
เป็นกรดจัดมาก (extremely acid)	< 4.5
เป็นกรดจัด (very strongly acid)	4.5-5.0
เป็นกรดแก่ (strongly acid)	5.1-5.5
เป็นกรดปานกลาง (moderately acid)	5.6-6.0
เป็นกรดเล็กน้อย (slightly acid)	6.1-6.5
เป็นกลาง (neutral)	6.6-7.3
เป็นด่างอย่างอ่อน (slightly alkaline)	7.4-7.8
เป็นด่างปานกลาง (moderately alkaline)	7.9-8.4
เป็นด่างแก่ (strongly alkaline)	8.5-9.0
เป็นด่างจัด (extremely alkaline)	>9.0