

บทที่ 3

วิธีการศึกษาวิจัย

โครงการวิจัยเรื่องการศึกษาอิทธิพลของสารพาราควอตและไกลโฟเสทในดินที่มีต่อความสามารถในการดูดซับของดิน เป็นการวิจัยที่มุ่งเน้นการศึกษาเพื่ออธิบายพฤติกรรมการดูดซับของสารพาราควอตและไกลโฟเสทในดินตัวอย่าง และศึกษาผลกระทบของสารพาราควอตและไกลโฟเสทที่มีต่อความสามารถของดินในการดูดซับธาตุต่าง ๆ

3.1 กรอบและแผนผังโครงการวิจัย

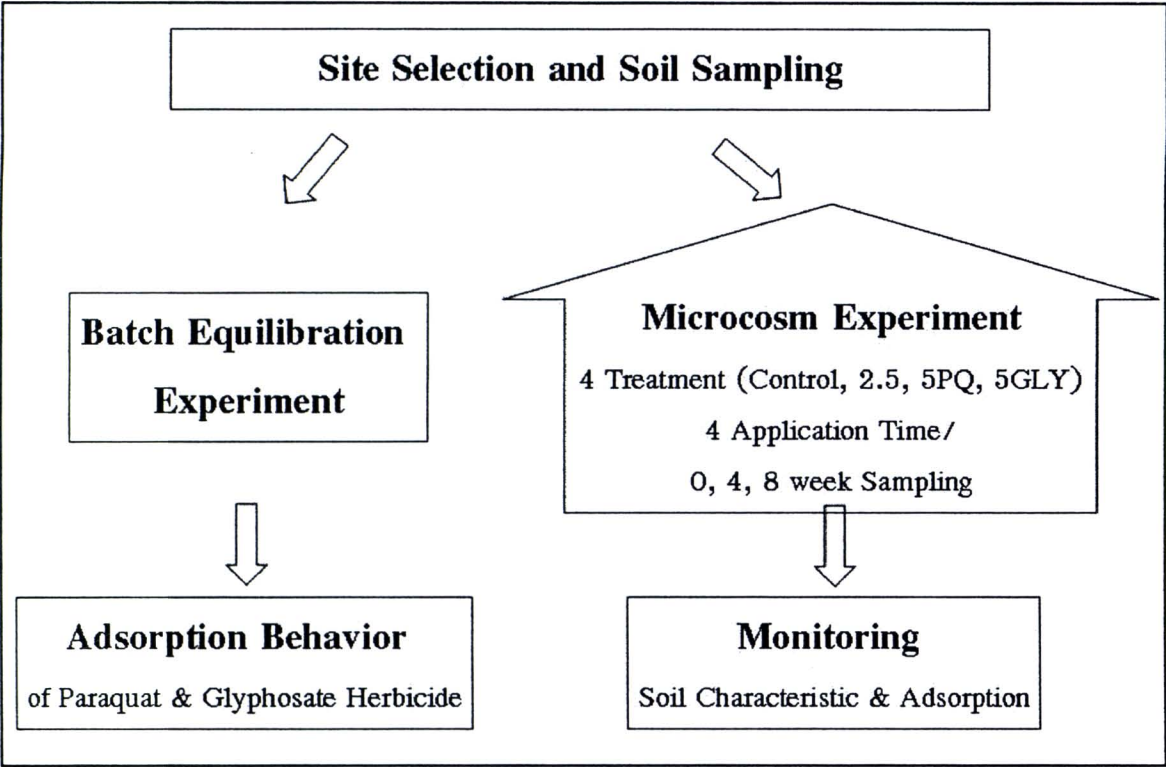
กรอบการศึกษาของโครงการวิจัยนี้ ประกอบด้วย การศึกษาพฤติกรรมการดูดซับสารพาราควอตและไกลโฟเสทในดินในห้องปฏิบัติการ และการทดลองในแปลงทดลองเพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงการดูดซับของดินใน microcosm experiment ตามกรอบและแผนผังการวิจัยในภาพที่ 3.1

การศึกษากฎการดูดซับ (adsorption behavior) สารพาราควอตและไกลโฟเสทใช้เทคนิควิธี batch equilibration experiment ทำการทดสอบการดูดซับสารไกลโฟเสทในตัวอย่างดินหลากหลายชนิดที่เป็นตัวแทนของภูมิภาคเพื่ออธิบายพฤติกรรมและความสัมพันธ์ระหว่างความสามารถในการดูดซับสารไกลโฟเสทกับคุณสมบัติด้านต่างๆของดินซึ่งเป็นข้อมูลที่ยังไม่เพียงพอในภูมิภาค สำหรับสารพาราควอตเน้นศึกษาด้วยตัวอย่างดินของโครงการวิจัยนี้เท่านั้น

การศึกษาค่าผลของสารกำจัดวัชพืชต่อความสามารถในการดูดซับของดินในแปลงทดลอง (microcosm experiment) เน้นศึกษาการเปลี่ยนแปลงของความสามารถในการดูดซับสารประกอบและไอออนชนิดต่างๆในดิน ทั้งที่เป็นอิทธิพลเชิงเดี่ยว (single effect) และอิทธิพลร่วม (interaction) ที่เกิดจากสารกำจัดวัชพืชแต่ละชนิด โดยมีการใส่สารกำจัดวัชพืชซ้ำกัน 4 ครั้งแต่ละครั้งห่างกัน 8 สัปดาห์ ทำการติดตาม (monitoring) การเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติดินและการดูดซับในดินในระยะเวลา 8 สัปดาห์หลังการใส่สารแต่ละครั้งและติดตามต่อเนื่องต่อไปอีกตามระยะเวลา 16, 24, 32 และ 40 สัปดาห์หลังจากการใส่สารกำจัดวัชพืชครั้งสุดท้าย

3.2 การคัดเลือกตัวอย่างดินและคุณสมบัติของดินที่ใช้ในการศึกษา

เก็บตัวอย่างดินต่างๆจากพื้นที่เกษตรกรรมที่กระจายอยู่ในหลายจังหวัด อาทิ พิจิตร โลก อุดรดิตถ์ สุโขทัย พิจิตรและนครสวรรค์ ทำการคัดเลือกตัวอย่างดินมา 10 ตัวอย่างสำหรับการทดสอบเพื่ออธิบายพฤติกรรมการดูดซับสารไกลโฟเสท และคัดเลือกตัวอย่างดินเพียงหนึ่งตัวอย่างคือตัวอย่างดิน SIT ไปใช้สำหรับการศึกษาตามวัตถุประสงค์ต่างๆของโครงการวิจัย ตัวอย่างดิน SIT เก็บจากแปลงพืชสวนของเกษตรกรบริเวณหมู่บ้านกรทอง ในเขตอำเภอศรีสำโรง จังหวัดสุโขทัย ซึ่งมีการปลูกไม้ผลแบบผสมผสานมีสภาพพื้นที่ดังแสดงในภาพที่ 3.2 และมีคุณสมบัติของตัวอย่างดินต่างๆ แสดงในตารางที่ 3.1



ภาพที่ 3.1 กรอบและแผนผังการทดลองภายใต้กรอบโครงการวิจัย

ตารางที่ 3.1 คุณสมบัติต่างๆของดิน 10 ตัวอย่าง

Soil Samples	Soil Characteristics					Exchangeable Base, cmol _c kg ⁻¹				
	Clay, %	1:1 H ₂ O	1:2 CaCl ₂	OM, %	CEC, cmol _c kg ⁻¹	Na	Ca	Mg	K	Base
RBR	57.9	4.51	4.14	3.62	11.70	0.153	1.193	0.514	0.246	2.106
CHU51	24.8	4.63	3.92	1.95	4.20	0.094	0.244	0.728	0.086	1.152
MS10	36.0	4.71	4.20	1.73	8.50	0.197	0.856	0.470	0.217	1.740
SR13	44.6	4.88	4.22	3.99	10.00	0.181	0.730	0.516	0.120	1.547
CHU52	13.9	4.96	4.26	1.32	2.90	0.101	0.247	0.031	0.072	0.450
KR4	9.3	5.01	4.05	0.75	2.40	0.070	0.180	0.024	0.082	0.356
NK12	32.2	5.12	4.31	1.51	5.70	0.191	0.394	0.083	0.154	0.822
TL2	34.8	6.02	5.61	2.55	9.60	0.055	1.275	2.319	0.120	3.769
SIT	39.3	6.13	5.85	3.27	8.60	0.035	1.187	0.461	0.343	2.027
TL1	32.5	6.31	5.28	2.68	8.40	0.086	0.808	1.166	0.099	2.159



3.3 การศึกษาพฤติกรรมการดูดซับพาราควอตและไกลโฟเสทในดิน

การศึกษาพฤติกรรมการดูดซับสารกำจัดวัชพืชทั้งสองชนิดในดินเป็นการทดลองในห้องปฏิบัติการโดยวิธี batch equilibration technique ตามแนวทางการทดสอบสารเคมีหมายเลข 106 ของ OECD (OECD Guideline for the testing of chemicals 106) (OECD, 1993) ในช่วงความเข้มข้นที่สามารถอธิบายได้โดยสมการของ Freundlich Adsorption Isotherm และคำนวณค่าคงที่การดูดซับประกอบด้วย adsorption capacity (K_f) และ adsorption intensity ($1/n$) ตาม ดังสมการ

$$Q = K_f C_e^{1/n}$$

เมื่อ Q = คือปริมาณพาราควอตที่ถูกดูดซับบนดิน, mg kg^{-1}
 C_e = ค่าความเข้มข้นของพาราควอตที่จุดสมดุล, mg L^{-1}
 K_f = Freundlich Adsorption Capacity, $(\text{mg kg}^{-1}) (\text{mg L}^{-1})^{-1}$
 $1/n$ = Adsorption Intensity

สารละลายพาราควอตที่ใช้ในการทดลองเตรียมจากสาร paraquat dichloride ซึ่งมีชื่อ IUPAC ว่า 1,1'-dimethyl-4,4'-bipyridinium ความบริสุทธิ์ 98% ของ Sigma-Aldrich การทดลองการดูดซับสารพาราควอต ใช้สัดส่วนของดินต่อสารละลาย 1:25 และ ระยะเวลาในเขย่าจนถึงจุดสมดุล 24 ชั่วโมง ตามที่รายงานโดย Amondham (2006)

สารละลายไกลโฟเสทเตรียมจากสาร N-(phosphonomethyl)glycine ความบริสุทธิ์ 98% ของ Sigma-Aldrich และทำการทดสอบเงื่อนไขต่าง ๆ ก่อนการทดลอง เพื่อหาสัดส่วนระหว่างดินต่อสารละลาย และระยะเวลาเขย่าจนถึงจุดสมดุล

3.4 การศึกษาอิทธิพลของสารกำจัดวัชพืชต่อการเปลี่ยนแปลงการดูดซับของดิน

การทดลองในเรือนทดลองเพื่อติดตามการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติดินและความสามารถในการดูดซับของดินใช้ตัวอย่างดิน SIT ที่บรรจุใน soil microcosm ซึ่งทำจากท่อพีวีซี (เส้นผ่านศูนย์กลาง 10 เซนติเมตร ความยาว 15 เซนติเมตร) การบรรจุดินใช้วิธีการเก็บแบบไม่รบกวนโครงสร้างดิน (undisturbed soil) โดยตอกท่อพีวีซีลงไปในดินให้เหลือขอบด้านบน 3 เซนติเมตรจากผิวดิน ขุดท่อพีวีซีที่มีดินบรรจุอยู่สูงประมาณ 12 เซนติเมตรออกไปใช้ในการทดลอง ดังภาพที่ 3.2 และภาพที่ 3.3

Soil microcosm ที่มีดินลึกประมาณ 12 เซนติเมตรถูกนำไปจัดเรียงในเรือนทดลองซึ่งเป็นโรงเรือนที่มีหลังคาพลาสติกใสป้องกันน้ำฝน โดยทำการจัดผังการทดลองแบบสุ่มภายในบล็อก (randomized block design) ประกอบด้วย 3 บล็อก โดยมีการควบคุมให้มีความชื้นในช่วง 20-80% ของความจุความชื้นที่เป็นประโยชน์ตลอดการทดลองโดยวิธีการให้น้ำจากด้านล่าง ดังภาพที่ 3.4

3.4.1 แผนการทดลอง

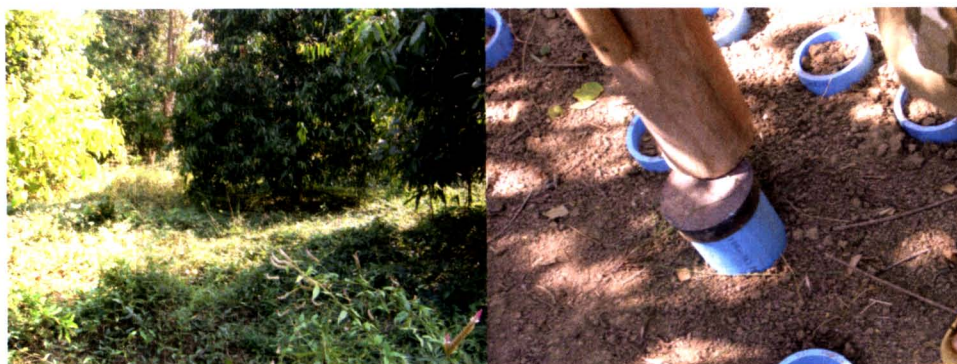
การศึกษาอิทธิพลของสารพาราควอตและไกลโฟเสทประกอบด้วยอิทธิพลเชิงเดี่ยว (single effect) ของสารแต่ละชนิดและอิทธิพลร่วม (interaction) ระหว่างสารพาราควอตและสารไกลโฟเสท การใส่สารกำจัดวัชพืชในการทดลองประกอบด้วย 4 ตำรับทดลอง คือ

- การไม่ใส่สารกำจัดวัชพืช
- การใส่สารพาราควอตร่วมกับสารไกลโฟเสท (ปริมาณอย่างละ 2.5 เท่าของอัตราที่แนะนำแก่เกษตรกร)
- การใส่สารพาราควอต (ปริมาณ 5 เท่าของอัตราที่แนะนำแก่เกษตรกร)
- การใส่สารไกลโฟเสท (ปริมาณ 5 เท่าของอัตราที่แนะนำแก่เกษตรกร)

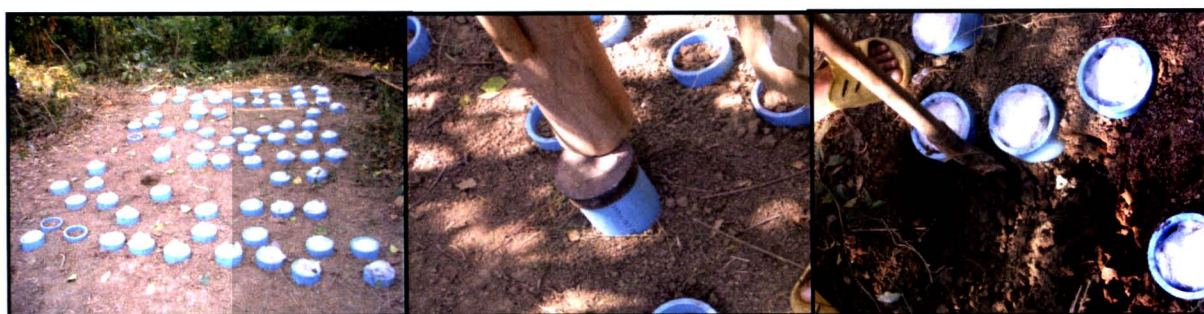
สารกำจัดวัชพืชที่ใช้ในการทดลองเป็นสารละลายที่เตรียมจากสารมาตรฐาน คือ สารพาราควอต 1,1’-dimethyl-4,4’bipyridinium, 98% (Sigma-Aldrich) และ สารไกลโฟเสท N-(phosphonomethyl)-glycine, 96% (Sigma-Aldrich) เพื่อกำจัดอิทธิพลของส่วนผสมตัวเติมที่มีอยู่ในผลิตภัณฑ์กำจัดวัชพืช โดยใช้สารละลายพาราควอตเข้มข้น 982 mg L⁻¹ และสารไกลโฟเสทเข้มข้น 1,964 mg L⁻¹ การใส่สารกำจัดวัชพืชลงในดินตามตำรับการทดลองต่างๆในแต่ละครั้งใช้ปริมาตรของสารละลายพาราควอตและไกลโฟเสทตามตารางที่ 3.2

ตารางที่ 3.2 ปริมาณสารพาราควอตและไกลโฟเสทที่ใส่ในดินตามตำรับการทดลองในแต่ละครั้ง

Treatment	Symbol	Volume of Standard Solution, mL.	
		Paraquat	Glyphosate
การไม่ใส่สารกำจัดวัชพืช	Control	0	0
การใส่พาราควอตและไกลโฟเสท (ชนิดละ 2.5 เท่าของอัตราแนะนำแก่เกษตรกร)	2.5PQ2.5GLY	1.5	1.5
การใส่สารพาราควอต (5 เท่าของอัตราแนะนำแก่เกษตรกร)	5PQ	3	0
การใส่สารไกลโฟเสท (5 เท่าของอัตราแนะนำแก่เกษตรกร)	5GLY	0	3



ภาพที่ 3.2 สภาพพื้นที่เก็บตัวอย่าง



ภาพที่ 3.3 การบรรจุตัวอย่างดินแบบไม่รบกวนโครงสร้างใน Soil Microcosm



ภาพที่ 3.4 สภาพโรงเรือนทดลองและลักษณะการให้น้ำ

3.4.2 การใส่สารกำจัดวัชพืช การเก็บตัวอย่างและการวิเคราะห์ตัวอย่าง

การใส่สารพาราควอตและไกลโฟเสทลงดินทำโดยการใส่สารละลายมาตรฐานอย่างทั่วถึงบนผิวดิน ภายใน microcosm จำนวน 4 ครั้ง คือ T1, T2, T3 และ T4 แต่ละครั้งห่างกัน 8 สัปดาห์ และทำการเก็บตัวอย่างดินหลังจากใส่สารทันที หลังจากนั้นเก็บตัวอย่างเมื่อระยะเวลา 8 สัปดาห์หลังจากการใส่สารกำจัดวัชพืชแต่ละครั้งและที่ระยะเวลา 16, 24, 32 และ 40 สัปดาห์หลังจากการใส่ครั้งสุดท้าย

การเก็บตัวอย่างดินจากแต่ละ microcosm เป็นการเก็บตัวอย่างดินรวมภายในระดับความลึก 5 เซนติเมตรจากผิวดิน หลังจากการฝังแห้งในที่ร่ม บดและร่อนผ่านตะแกรงร่อนขนาด 2 มิลลิเมตรแล้ว นำตัวอย่างดินไปวิเคราะห์คุณสมบัติของดินและความสามารถในการดูดซับ ประกอบด้วย ค่าความเป็นกรดต่างของดิน โดยวิธี ดิน:น้ำ 1:1 และ ดิน : CaCl₂ 1:2 ความหนาแน่นรวมของดินโดย cylindrical core และ ปริมาณอินทรีย์วัตถุในดิน โดยวิธี oxidation with K₂Cr₂O₇ (Walkley-Black, 1934)

การวัดผลของสารกำจัดวัชพืชต่อปริมาณการดูดซับธาตุประจุบวก ประกอบด้วย แคลเซียม แมกนีเซียม ทองแดงและสังกะสี ทำโดยใช้ตัวอย่างดินแห้งจากการเก็บตัวอย่างดินแต่ละครั้งไปทดสอบการดูดซับในห้องปฏิบัติการโดยวิธี batch equilibration technique (OECD, 1993) โดยแต่ละรอบการทดลองใส่สารละลายมาตรฐานของแคลเซียม แมกนีเซียม ทองแดงและสังกะสีที่ระดับความเข้มข้น 250, 50, 2000 และ 2,000 mg L⁻¹ ตามลำดับลงดินในสัดส่วนดินต่อสารละลาย 1: 10 หลังจากเขย่าเป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำไปวัดความเข้มข้นที่เหลือในสารละลาย ค่าความเข้มข้นและสัดส่วนที่ใช้ได้จากการทดสอบก่อนการทดลอง

ตารางที่ 3.3 แผนการใส่สารกำจัดวัชพืช

Application Time	Sampling Time	Symbol	Date
First	0 wk	T1/WK0	21 July 2551
	8 wks	T1/WK8	15 September 2551
Second	8 wks	T2/WK8	15 September 2551
			17 November 2551
Third	8 wks	T3/WK8	24 November 2551
			12 January 2552
Fourth	0 wks	T4/WK0	19 January 2552
	8 wks	T4/WK8	4 May 2552
	16 wks	T4/WK16	22 June 2552
	24 wks	T4/WK24	17 August 2552
	32 wks	T4/WK32	12 October 2552
	40 wks	T4/WK40	7 December 2552