บทที่ 3
วิธีดำเนินการวิจัย

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ห้องสมุดงานวิจัย

3.1 ขั้นตอนการวิจัย

3.1.1 การสำรวจข้อมูล

ในช่วงต้นของการวิจัย ได้สำรวจข้อมูลเกี่ยวกับการกินดินของชาวบ้านในจังหวัดศรีสะเกษ โดยเบื้องต้นได้เข้าพบและสัมภาษณ์ คุณโกสินทร์ เกษทอง ซึ่งเป็นผู้ว่าราชการจังหวัดศรีสะเกษในขณะนั้น ซึ่งได้ให้ข้อมูลว่าปัจจุบันไม่มีชาวบ้านคนไหนกินดินอีกแล้ว แต่ก็ได้ประสานให้ผู้วิจัยไปสอบถามข้อมูลเพิ่มเติมกับเจ้าหน้าที่สาธารณสุขของจังหวัด และนายอำเภอปรางค์กู่ ซึ่งเป็นพื้นที่ที่มีข่าวการกินดินของชาวบ้านและเด็กตามสื่อต่าง ๆ บ่อยครั้ง (Komchadluek, 2001)

ข้อมูลจากเจ้าหน้าที่สาธารณสุขทำให้ทราบว่า อาจจะหาซื้อดินที่ชาวบ้านกินได้จากตลาดในตัวจังหวัด นอกจากนี้ เจ้าหน้าที่สาธารณสุขยังได้นำตัวบุคลากรของหน่วยงานซึ่งเป็นผู้ที่เคยกินดินมาให้ข้อมูลเพิ่มเติม เจ้าหน้าที่ผู้นั้นเล่าว่า ได้กินดินในระหว่างการตั้งครรภ์ หลังจากนั้นผู้วิจัยได้ไปสำรวจตลาดสดของเทศบาล พบว่ามีการขายดินที่นำมาปั้นเป็นแผ่นกลมแบน มีลักษณะเป็นดินเหนียว เส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 3 นิ้ว และหนาประมาณครึ่งนิ้ว (รูปที่ 3.1) จากการสอบถามผู้จำหน่าย ทราบว่าเป็นดินที่มาจากบ้านยางกุด ตำบลหมากเขียบ ซึ่งอยู่ในพื้นที่อำเภอเมืองจังหวัดศรีสะเกษ เมื่อผู้วิจัยเดินทางไปยังบ้านยางกุด พบว่าเป็นหมู่บ้านที่เรียกชื่อตัวเองว่า หมู่บ้านดินดำน้ำชุ่ม เมื่อสอบถามเกี่ยวกับดินที่มีจำหน่ายในตลาดสดเทศบาล ชาวบ้านจึงพาไปยังแหล่งที่ขุดดินขึ้นมาขาย ซึ่งเป็นดินที่มีลักษณะเป็นดินเหนียวสีดำ และอยู่ในแอ่งน้ำ (รูปที่ 3.2) ส่วนการลงพื้นที่ที่อำเภอปรางค์กู่นั้น นายอำเภอได้พาไปที่บ้านบ่อ ตำบลหนองเชียงทูน ซึ่งเป็นแหล่งต้นตอของข่าวเด็กกินดินที่ปรากฏในสื่อ ได้พบและพูดคุยกับหญิงชาวบ้านสูงอายุ ซึ่งเมื่อนำดินแผ่นที่ซื้อมาจากตลาดสดเทศบาลให้ดู ชาวบ้านก็ได้ขอไป และยังสาธิตการกินดินให้ดูด้วย โดยการนำไปปิ้งบนเตาถ่านก่อนกิน (รูปที่ 3.3) หลังจากนั้น ชาวบ้านได้พาไปเก็บตัวอย่างดิน ในบริเวณที่เขาขุดมากินกัน เป็นดินที่เรียกว่า ดินทาม อยู่บริเวณริมห้วยในทุ่งนา (รูปที่ 3.4) เมื่อชิมดูจะมีรสเปรี้ยว ๆ มัน ๆ ชาวบ้านบอกว่าถ้านำไปเผาก่อนจะมีกลิ่นหอมทำให้น่ากินมากขึ้น จากการสอบถามชาวบ้านในหมู่บ้าน ทำให้ทราบว่าบางคนกินดินเพื่อช่วยให้สร่างเมา ส่วนเด็ก ๆ คงชอบกินเพราะมีรสเปรี้ยว ๆ มัน ๆ ดังที่ได้กล่าวมาแล้ว

3.1.2 การเก็บตัวอย่างและการเก็บรักษา

ตัวอย่างดินจะมีอยู่ 2 ลักษณะ คือ ตัวอย่างดินที่ซื้อมาจากตลาดสดเทศบาลในตัวจังหวัดศรีสะเกษ และตัวอย่างดินที่เก็บจากการลงพื้นที่ โดยมีทั้งหมด 4 ตัวอย่างดังนี้

ตัวอย่าง 1, 2 จากตลาดสดเทศบาล จากผู้จำหน่าย 2 ราย ตัวอย่างละประมาณ 2 กิโลกรัม ในราคาแผ่นละ 50 สตางค์

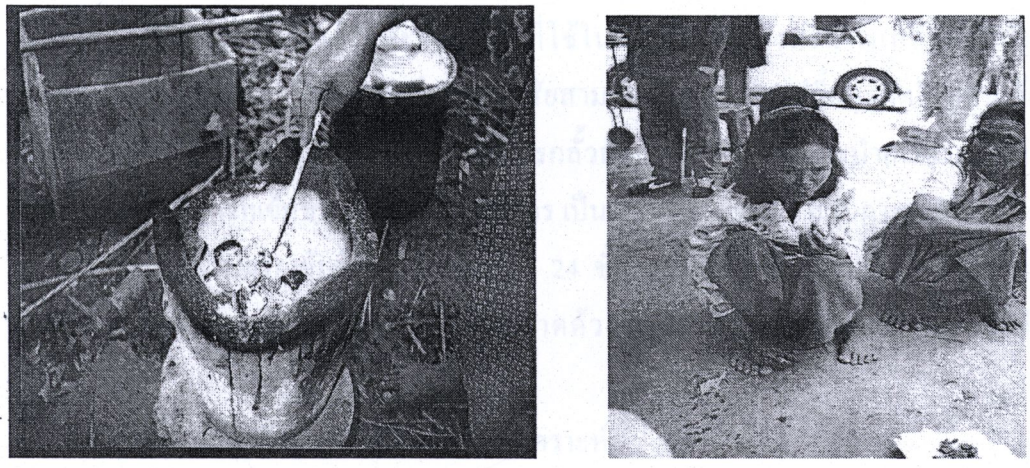
ตัวอย่าง 3 เป็นตัวอย่างดินจากบ้านยางกุด ตำบลหมากเขียบ อำเภอเมือง โดยการว่าจ้างให้ชาวบ้านลงไปขุดมาให้ประมาณ 2-3 กิโลกรัม

ตัวอย่าง 4 เป็นตัวอย่างดินจากบ้านบ่อ ตำบลหนองเชียงทูน อำเภอปรางค์กู่ โดยผู้ช่วยวิจัยเป็นผู้ขุดเก็บตัวอย่างดินประมาณ 2-3 กิโลกรัม

ผู้วิจัยเข้าใจว่าตัวอย่าง 1, 2 น่าจะมีแหล่งที่มาจากบ้านยางกุด ตำบลหมากเขียบ อำเภอเมือง เพียงแต่เก็บไว้เป็นเวลานานกว่าเท่านั้น

รูปที่ 3.1 ดินที่ขายกันอยู่ในตลาดสดเทศบาล อำเภอเมือง จังหวัดศรีสะเกษ

รูปที่ 3.2 แหล่งเก็บตัวอย่างดิน บ้านยางกุด ตำบลหมากเขียบ อำเภอเมือง จังหวัดศรีสะเกษ



รูปที่ 3.3 ชาวบ้านสาธิตการกินดิน

รูปที่ 3.4 แหล่งขุดดินทาม บ้านบ่อ ตำบลหนองเชียงทูน อำเภอเมือง จังหวัดศรีสะเกษ

ตัวอย่างดินทั้งหมดทั้งที่ซื้อจากตลาดสดและที่ขุดมา จะเก็บไว้ในถุงพลาสติก และเก็บไว้ในตู้เย็นที่ 4°C จนกว่าจะทำการวิเคราะห์ รูปที่ 3.5 เป็นแผนที่แสดงพื้นที่ที่เก็บตัวอย่างดิน

3.1.3 การเตรียมอุปกรณ์เครื่องแก้วและพลาสติกที่ใช้ในงานวิจัย

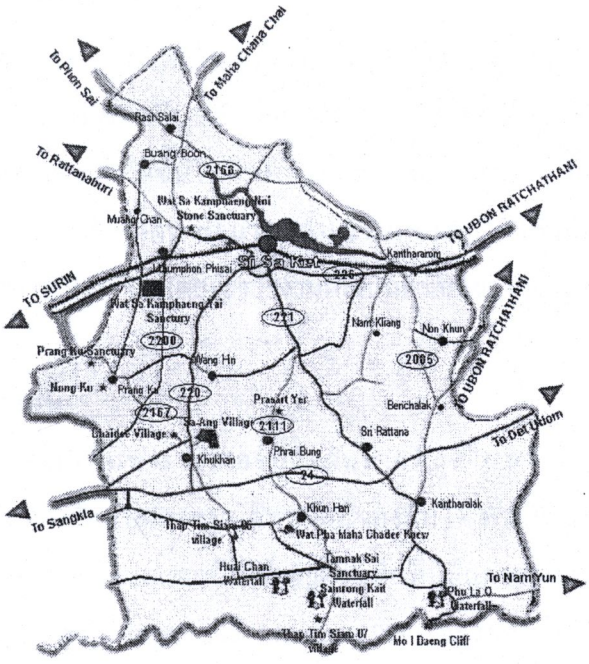
อุปกรณ์เครื่องแก้วและพลาสติกที่ใช้ในการศึกษาเรื่องปริมาณเหล็กและสังกะสีที่ร่างกายนำมาใช้ได้ และที่ใช้ในการศึกษาหาวิสัยสามารถในการแลกเปลี่ยนแคตไอออน ต้องผ่านการทำความสะอาดค่อนข้างพิเศษ หลังจากการกลั้วล้างให้สะอาดแล้ว จะนำเครื่องแก้วไปแช่ในสารละลายกรดไนตริกเข้มข้น 10% โดยปริมาตร เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ส่วนภาชนะพลาสติกจะแช่ในสารละลายกรดไนตริกเข้มข้น 1% เป็นเวลา 24 ชั่วโมงเช่นกัน และก่อนนำมาใช้งาน ต้องกลั้วล้างเครื่องแก้วและภาชนะพลาสติกให้สะอาดด้วยน้ำปราศจากไอออนแล้วปล่อยให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง

3.1.4 การเตรียมตัวอย่างดินสำหรับการวิเคราะห์

เตรียมตัวอย่างดินตามคู่มือการวิเคราะห์ดินและน้ำของ Lagen (1996) หลังจากนั้นลดปริมาณของดินให้มีขนาดเหมาะสมต่อการวิเคราะห์ตามวิธีของ Radojevic และ Bashkin (1999)

วัสดุและอุปกรณ์

- ถาดพลาสติกสำหรับผึ่งดิน
- โกร่งบดดิน (Agate mortar)
- ตะแกรงร่อนมาตรฐานขนาด 2 มิลลิเมตร (Analysensieb, Retch, USA)
- เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง (Model 205A, Precisa, Switzerland)



รูปที่ 3.5 แผนที่จังหวัดศรีสะเกษ แสดงตำแหน่งที่เก็บตัวอย่างดิน

วิธีการ

- นำตัวอย่างดินประมาณ 100 กรัม ผึ่งให้แห้งในอากาศโดยเกลี่ยให้สม่ำเสมอในถาดซึ่งวางไว้ในสถานที่ที่แห้งและปราศจากฝุ่น เป็นเวลาประมาณ 3 วัน ถ้าน้ำหนักของตัวอย่างดินในวันที่ 3 และวันที่ 4 เปลี่ยนแปลงไม่เกิน 5% ในเวลา 24 ชั่วโมง จะถือว่าดินนั้นแห้งแล้ว
- ร่อนตัวอย่างดินที่แห้งแล้วด้วยตะแกรงร่อนมาตรฐานขนาด 2 มิลลิเมตร
- นำส่วนของดินที่เหลืออยู่ในตะแกรงร่อนมาบดด้วยโกร่งบด จนได้อนุภาคที่มีขนาดเล็กกว่า 2 มิลลิเมตร
- ทำให้ตัวอย่างดินที่ร่อนได้เป็นเนื้อเดียวกัน โดยการใช้ช้อนตักสารที่สะอาดคนดินในบีกเกอร์ขนาด 1.5 ลิตร เป็นเวลาประมาณ 30 นาที แล้วลดปริมาณของดินโดยใช้วิธีการ cone and quatering ดังนี้
  - เทดินที่ผสมเข้ากันดีแล้วลงบนถาดให้เป็นรูปโคน (cone)
  - กดให้ยอดโคนแบนลงทำให้ดินเป็นแผ่นกลม
  - แบ่งแผ่นกลมเป็นสี่ส่วนเท่า ๆ กัน ทิ้งสองส่วนที่อยู่ตรงกันข้าม
  - รวมสองส่วนที่เหลือเข้าด้วยกัน ผสมให้เข้ากันดี แล้วทำเป็นรูปโคนอีกครั้ง
  - ทำซ้ำตามขั้นตอนที่ผ่านมา จนได้ตัวอย่างดินประมาณ 10 กรัม ซึ่งเป็นขนาดที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์ทางเคมีและทางกายภาพ

3.2 การวิเคราะห์ทางกายภาพ

พารามิเตอร์ทางกายภาพเป็นตัวอธิบายสมบัติของดิน และนอกจากจะมีความสัมพันธ์กับส่วนประกอบทางเคมีของดินแล้ว ยังมีความสัมพันธ์กับกระบวนการเชิงเคมีกายภาพและกระบวนการเชิงชีวภาพที่เกิดขึ้นในดินหลายกระบวนการด้วยกัน ในการวิจัยครั้งนี้พารามิเตอร์ทางกายภาพที่ศึกษาได้แก่ สีของดิน ปริมาณความชื้น แฟกเตอร์ที่ใช้แก้ไขเกี่ยวกับความชื้น และมวลที่สูญหายจากการเผาที่ 900°C โดยจะรายงานผลเป็นค่าเฉลี่ยจากการวัด 3 ครั้ง

3.2.1 สีของดิน

สีของดินเป็นพารามิเตอร์ที่วัดกันมากที่สุดในการศึกษาสมบัติทางกายภาพของดิน เพราะจะใช้ทำนายหรือคาดเดาสมบัติทางเคมีของดินได้ ตัวอย่างเช่น ดินสีขาวจะมีสารประกอบคาร์บอเนตของแคลเซียมและแมกนีเซียมอยู่ด้วย ดินที่มีสีแดงหรือสีเหลือง ก็เพราะมีเหล็กออกไซด์และเหล็กไฮดรอกไซด์ (Singer and Munns, 1999) จะวัดค่าสีของดินได้โดยการเปรียบเทียบกับแผนภูมิมาตรฐานของสี แผนภูมิมาตรฐานที่ใช้บอกสีของดินนั้น ดัดแปลงมาจากแผนภูมิของสีใน Munsell Book of Colors โดยนำมาใช้เฉพาะส่วนที่ใช้จำแนกสีของดินเท่านั้น

Munsell จำแนกสีโดยใช้ตัวแปร 3 ตัว คือ hue, value และ chroma โดยที่ hue คือสีในสเปกตรัมที่เด่นที่สุด ซึ่งอาจเป็นสีบริสุทธิ์ หรือสีผสมของสีบริสุทธิ์ โดยระบุสีผสมเป็นตัวเลข ซึ่งขึ้นอยู่กับปริมาณของสีบริสุทธิ์ในสีผสมนั้น ตัวอย่างเช่น 5YR จะเป็นสีผสมระหว่างสีเหลืองและสีแดงในปริมาณเท่ากัน เมื่อตัวเลขเพิ่มค่าขึ้น ปริมาณของสีตัวแรกคือสีเหลืองจะเพิ่มขึ้น ในขณะที่สีตัวที่สองคือสีแดงจะมีปริมาณลดลง ส่วนเทอม value และ chroma จะบอกว่าค่า hue ถูกดัดแปรไปอย่างไรเมื่อเติมสีเทาลงไป ค่า value จะบอกถึงระดับขั้นของความสว่างของ hue และบ่งบอกถึงสมบัติของสีเทาที่เติมลงไป โดยที่ค่า 0 จะเป็นสีดำ และค่า 10 จะเป็นสีขาว ส่วน chroma คือปริมาณสีเทาที่มีค่า value เฉพาะค่าหนึ่ง ที่เมื่อผสมกับสี hue บริสุทธิ์แล้วจะได้สีที่แท้จริงของดิน ยิ่ง chroma มีค่าน้อยลงเท่าใด สีก็จะมีความใกล้เคียงกับสีเทาบริสุทธิ์ของค่า value นั้น

วัสดุและอุปกรณ์

- แผนภูมิสีของ Munsell

วิธีการ

- เปรียบเทียบสีของดินกับสีมาตรฐานในแผนภูมิของ Munsell บันทึกผลเป็นรหัสตัวเลข ทั้งนี้ควรสังเกตสีในบริเวณที่มีแสงสว่างเพียงพอ เพราะความเข้มของแสงจะมีผลต่อการเปรียบเทียบสี

3.2.2 ปริมาณความชื้นและแฟกเตอร์ที่ใช้แก้ไข

การวัดปริมาณน้ำหรือปริมาณความชื้นมีความสำคัญต่อการวิเคราะห์ดิน น้ำมีบทบาทสำคัญในระบบของดิน ตัวอย่างเช่น น้ำทำหน้าที่เป็นตัวทำละลายและเป็นตัวขนส่งสารจำนวนมาก น้ำยังเป็นตัวกลางซึ่งทำให้ปฏิกิริยาเคมีหลายชนิดดำเนินไปได้

การหาปริมาณความชื้น ทำได้โดยใช้การวิเคราะห์เชิงมวล (Lagen, 1996) มวลที่ลดลงหลังจากอบตัวอย่างดินที่ 105°C เป็นเวลา 12 ชั่วโมง คือมวลของน้ำที่ถูกกำจัดออกไป หรือปริมาณความชื้นที่มีอยู่ในดิน ซึ่งคำนวณออกมาเป็นเปอร์เซ็นต์เมื่อเทียบกับน้ำหนักของดินที่อบแห้งแล้ว

วัสดุและอุปกรณ์

- เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง (Model 205A, Precisa, Switzerland)
- ตู้อบ (Model 400, Memmert, Germany)
- เบ้ากระเบื้องขาว
- โถอบแห้ง

วิธีการ

- อบเบ้ากระเบื้องที่ 105°C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง จนได้น้ำหนักคงที่
- ปล่อยให้เย็นถึงอุณหภูมิห้องในโถอบแห้งเป็นเวลา 1 ชั่วโมง
- ชั่งน้ำหนักของเบ้ากระเบื้อง (A กรัม)
- ตักดินใส่เบ้ากระเบื้องประมาณ 2 กรัม ชั่งน้ำหนักใหม่อีกครั้ง (B กรัม)
- อบเบ้ากระเบื้องในตู้อบที่ 105°C เป็นเวลา 12 ชั่วโมงจนได้น้ำหนักคงที่ แล้วนำเบ้ากระเบื้องไปไว้ในโถอบแห้ง ประมาณ 1 ชั่วโมง เบ้ากระเบื้องจะเย็นลงจนถึงอุณหภูมิห้อง
- ชั่งน้ำหนักเบ้ากระเบื้องอีกครั้งหนึ่ง (C กรัม)

การคำนวณหาปริมาณความชื้น

$$\text{ปริมาณความชื้น (M\%)} = \frac{(B - C) \times 100\%}{C - A} \qquad (3.1)$$

$$\text{แฟกเตอร์ที่แก้ไขเกี่ยวกับความชื้น} = \frac{(100 + M\%)}{100} \qquad (3.2)$$

Moisture correction factor (mcf)

3.2.3 มวลที่สูญหายจากการเผา

Loss on ignition (L.O.I) คือมวลของน้ำ สารอินทรีย์และสารอื่น ๆ ที่สลายตัวไปเมื่อเผาดินที่ 900°C โดยระบุเป็นเปอร์เซ็นต์ของมวลดินที่ถูกเผา มวลของดินตัวอย่างที่สูญหายไปหลังการเผาจะบอกปริมาณสารอินทรีย์ที่มีอยู่ในดินโดยประมาณได้ (Radojevic and Bashkin, 1999) ตามปกติจะใช้การเผาที่อุณหภูมิ 550°C แต่สารประกอบคาร์บอเนตที่มีอยู่ในดินจะสลายตัวไปด้วย

ที่อุณหภูมิสูง ค่า L.O.I ที่หาได้จึงมักจะสูงกว่าความเป็นจริง ในการวิจัยนี้ใช้วิธีของ Lagen (1996) ในการหาค่า L.O.I

วัสดุและอุปกรณ์

- เตาสุม (Muffle furnace; Model A-550, Vulcan™, USA)
- ตู้อบ (Model 400, Memmert, Germany)
- เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง (Model 205 A, Precisa, Switzerland)
- เบ้ากระเบื้องขาว
- โถอบแห้ง

วิธีการ

- อบเบ้ากระเบื้องในตู้อบที่ 105°C เป็นเวลา 2 ชั่วโมงจนได้น้ำหนักคงที่
- ปล่อยให้เย็นในโถอบแห้งเป็นเวลา 1 ชั่วโมง
- ชั่งน้ำหนักเบ้ากระเบื้อง (A กรัม)
- เติมดิน 2.0000 กรัม ลงในเบ้ากระเบื้อง
- อบเบ้ากระเบื้องในตู้อบที่ 105°C เป็นเวลา 12 ชั่วโมง จนได้น้ำหนักคงที่ ปล่อยให้เย็นในโถอบแห้งเป็นเวลา 1 ชั่วโมง
- ชั่งน้ำหนักเบ้ากระเบื้องอีกครั้ง (C กรัม)
- นำเบ้ากระเบื้องที่มีตัวอย่างดินอยู่ด้วยเข้าเตาสุม ค่อย ๆ เพิ่มอุณหภูมิจนถึง 900°C รักษาระดับอุณหภูมินี้ไว้เป็นเวลา 4 ชั่วโมง
- ปิดเตาสุม ทิ้งเบ้ากระเบื้องไว้ในเตาสุมประมาณ 3 ชั่วโมง เพื่อให้อุณหภูมิลดลงจนคีบเอาเบ้ากระเบื้องออกมาได้ นำมาไว้ในโถอบแห้ง 1 ชั่วโมง จนอุณหภูมิเท่ากับอุณหภูมิห้อง
- ชั่งน้ำหนักเบ้ากระเบื้องอีกครั้ง (D กรัม)

การคำนวณ L.O.I.

$$\text{L.O.I. (\%)} = \frac{(C - D)}{(C - A)} \times 100\% \qquad (3.3)$$

3.3 การวิเคราะห์ทางเคมี

สมบัติทางเคมีของดินที่จะศึกษาคือ ความเป็นกรด-เบสของดิน ปริมาณสารอินทรีย์ในดิน วิสัยสามารถในการแลกเปลี่ยนแคตไอออน ธาตุองค์ประกอบของดิน ปริมาณของเหล็กและสังกะสีที่นำไปใช้ได้ทางชีวภาพ โดยที่แต่ละตัวอย่างนั้นจะวิเคราะห์ 3 ซ้ำ และรายงานผลเพียงค่าเฉลี่ยที่ได้

3.3.1 ความเป็นกรด-เบสของดิน

การวัดความเป็นกรด-เบสหรือค่าพีเอชของดินนั้น ที่จริงแล้วคือการวัดค่าพีเอชของน้ำที่อยู่ในสมดุลกับดินนั่นเอง (Singer and Munns, 1999) โดยใช้วิธีมาตรฐาน (EPA, 1995)

วัสดุและอุปกรณ์

- เครื่องวัดพีเอชพร้อมขั้วไฟฟ้า (Model 50215, HACH, USA)
- เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง (Model 205A, Precisa, Switzerland)
- เครื่องกวนแม่เหล็ก

สารเคมี

- สารละลายบัฟเฟอร์มาตรฐาน pH 4.7 และ pH 10; Sigma Chemicals, USA
- น้ำปราศจากไอออน (Deionized water) หรือ น้ำ DI

วิธีการ

- เทียบมาตรฐานเครื่องวัดพีเอชก่อนวัดโดยใช้สารละลายบัฟเฟอร์มาตรฐาน
- ชั่งดินที่ตากแห้งแล้ว 20.0000 กรัมลงในบีกเกอร์ขนาด 50 มล.
- เติมน้ำ 20 มล. คนเป็นเวลา 5 นาทีโดยใช้เครื่องกวนแม่เหล็ก
- ปล่อยทิ้งไว้ 1 ชั่วโมงเพื่อให้ดินซึ่งแขวนลอยอยู่ในน้ำนอนก้น
- วัดค่าพีเอช 3 ครั้ง โดยวัดในสารละลายใสชั้นบน
- ถ้าอุณหภูมิของสารตัวอย่างแตกต่างจากอุณหภูมิของบัฟเฟอร์เกิน 2°C จะต้องแก้ไขค่าพีเอชด้วย
- รายงานผลที่ได้เป็นค่าพีเอชของดินที่วัดในน้ำ ณ อุณหภูมิที่วัด

3.3.2 ปริมาณสารอินทรีย์ในดิน

สารอินทรีย์ในดินมาจากส่วนที่เหลืออยู่ของพืช สิ่งมีชีวิต ซากสัตว์ต่าง ๆ จากกระบวนการทางเคมี กระบวนการทางชีวภาพและกระบวนการทางกายภาพในการสลายตัวของดิน และทำให้สารอาหารอนินทรีย์ อันได้แก่ ไนโตรเจน (N), ฟอสฟอรัส (P), โปตัสเซียม (K), แคลเซียม (Ca), แมกนีเซียม (Mg), เหล็ก (Fe), คอปเปอร์ (Cu), สังกะสี (Zn) และแมงกานีส (Mn) จากพืชและซากสัตว์ถูกปล่อยออกมาในดิน สารอินทรีย์นี้จะมีผลกระทบต่อสมบัติทางเคมีและชีวภาพของดิน ในทางกายภาพแล้ว สารอินทรีย์จะทำให้ดินมีสีดำมากขึ้น ทำให้ดินมีความหนาแน่นโดยรวมเพิ่มขึ้น และทำให้ดินจับตัวเป็นก้อนได้ดีขึ้น ส่วนทางเคมีนั้น สารอินทรีย์จะเพิ่มวิสัยสามารถในการแลกเปลี่ยนแคตไอออนของดิน เพราะสารอินทรีย์ในดินจะมีค่าพื้นที่ผิวจำเพาะสูงมาก คืออาจจะสูงถึง 800-900 $m^2 g^{-1}$ (Sparks, 1995) ในการหาปริมาณสารอินทรีย์นั้น จะใช้วิธีไดโครเมต หรือการออกซิเดชันแบบเปียก (Radojevic and Bashkin, 1999) ซึ่งในวิธีนี้สารคาร์บอนอินทรีย์จะถูกออกซิไดซ์อย่างสมบูรณ์ด้วยไดโครเมตที่มากเกินพอในสภาวะที่เป็นกรด และจะหาปริมาณไดโครเมตที่เหลืออยู่ได้โดยการไทเทรตแบบย้อนกลับด้วยเฟอรัสซัลเฟต โดยมีเฟอโรอิน

เป็นอินดิเคเตอร์ จากปริมาณสารคาร์บอนอินทรีย์ที่หาได้ เมื่อนำมาคูณด้วย 1.72 จะได้ปริมาณสารอินทรีย์ที่มีอยู่ในดิน แฟกเตอร์ 1.72 คำนวณมาจากปริมาณ สารอินทรีย์ในดินซึ่งมีรายงานว่าจะมีคาร์บอนเป็นส่วนประกอบอยู่ประมาณ 58% ($\frac{1}{0.58} = 1.72$) (Radojevic and Bashkin, 1999)

ในการวิเคราะห์ จะเติมไดโครเมต ($K_2Cr_2O_7$) ที่รู้ปริมาณและมากเกินพอลงในตัวอย่างดิน ในสภาวะที่เป็นกรด โดยใช้กรดซัลฟูริก (H_2SO_4) สารคาร์บอนอินทรีย์จะถูกออกซิไดซ์เป็นคาร์บอนไดออกไซด์ตามปฏิกิริยาเคมีนี้

$$2Cr_2O_7^{2-} + 3C_{org} + 16H^+ \rightarrow 4Cr^{3+} + 3CO_2 + 8H_2O \qquad (3.4)$$

ส่วนปฏิกิริยาที่ใช้หาปริมาณไดโครเมตที่เหลือโดยการไทเทรตย้อนกลับด้วยเฟอรัสซัลเฟต คือ

$$Cr_2O_7^{2-} + 6Fe^{2+} + 14H^+ \rightarrow 2Cr^{3+} + 6Fe^{3+} + 7H_2O \qquad (3.5)$$

จะคำนวณหาปริมาณสารคาร์บอนอินทรีย์ได้โดยใช้ผลต่างของปริมาตรไดโครเมตในสมการ (3.4) และ (3.5)

วัสดุและอุปกรณ์

- ชุดอุปกรณ์รีฟลักซ์ (ขวดแก้วก้นกลมขนาด 500 มล., คอนเดนเซอร์ และใช้ heating mantle เป็นอุปกรณ์ให้ความร้อน)

สารเคมี

- โปตัสเซียมไดโครเมต ($K_2Cr_2O_7$); Sigma Ultra, 99.5%, Sigma Chemicals, St. Louis, USA

  0.0830 M $K_2Cr_2O_7$

  อบ $K_2Cr_2O_7$ ในตู้อบที่ 105°C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง แล้วละลาย 24.5180 กรัมในน้ำ เจือจางให้ครบ 1 ลิตรในขวดวัดปริมาตร สารละลายที่ได้จะเสถียรตลอดไป

- เฟอรัสซัลเฟต ($FeSO_4.7H_2O$) และ 1,10-phenanthroline monohydrate; A.C.S. reagent, Aldrich Chemicals, Milwaukee, USA

  อินดิเคเตอร์เฟอโรอิน

  ละลาย $FeSO_4.7H_2O$ 0.7000 กรัม และ 1,10-phenanthroline monohydrate 1.4850 กรัม ในน้ำแล้วเจือจางให้ครบปริมาตรในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มล.

- conc H_2SO_4 ; Analytical Reagent, Labscan Asia, Thailand

- เฟอรัสแอมโมเนียมซัลเฟต ($Fe(NH_4)_2(SO_4)_2.6H_2O$); A.C.S. reagent, Aldrich Chemicals, Milwaukee, WI, USA

  0.2000 M $Fe(NH_4)_2(SO_4)_2$

ละลาย $Fe(NH_4)_2(SO_4)_2.6H_2O$ 78.3900 กรัมในน้ำ เติม conc H_2SO_4 20 มล. ปล่อยให้เย็นก่อนที่จะเจือจางจนครบปริมาตร 1 ลิตร ในขวดวัดปริมาตร

- น้ำปราศจากไอออน (น้ำ DI)

วิธีการ

- ชั่งดินตัวอย่าง 0.5000 กรัม ใส่ลงในขวดสำหรับรีฟลักซ์
- เติม 0.0830 M $K_2Cr_2O_7$ 10 มล. ลงในขวดรีฟลักซ์ แล้วค่อย ๆ รินกรด conc H_2SO_4 15 มล. ลงไปอย่างระมัดระวัง แล้วแกว่งเบาๆ เพื่อให้ผสมเข้ากัน
- จัดชุดอุปกรณ์รีฟลักซ์ โดยต่อเข้ากับคอนเดนเซอร์ เปิดน้ำหล่อเย็น ครอบด้านเปิดของคอนเดนเซอร์ด้วยบีกเกอร์ขนาดเล็ก
- รีฟลักซ์สารเป็นเวลา 1 ชั่วโมงโดยใช้ heating mantle เป็นอุปกรณ์ให้ความร้อน
- เมื่อเย็นแล้ว กลั้วล้างคอนเดนเซอร์ด้วยน้ำ DI ลงไปในขวดรีฟลักซ์
- ปลดชุดอุปกรณ์ออกจากกัน แล้วเติมน้ำ DI อีก 100 มล. ลงในขวดรีฟลักซ์
- แกว่งขวดให้สารเข้ากันแล้วเติมอินดิเคเตอร์เฟอโรอิน 5 หยด
- ไทเทรตสารละลายในขวดรีฟลักซ์ด้วยเฟอรัสแอมโมเนียมซัลเฟตจนถึงจุดยุติ ซึ่งสารละลายจะเปลี่ยนสีจากสีเขียวแกมน้ำเงินไปเป็นสีแดงแกมม่วง
- บันทึกปริมาตรของเฟอรัสแอมโมเนียมซัลเฟตที่ใช้ (V_1 มล.)
- ทำการทดลองซ้ำโดยใช้แบลงค์ คือ ใช้สารเคมีทุกอย่างเหมือนที่ใช้กับตัวอย่างดิน เพียงแต่ไม่มีตัวอย่างดิน รีฟลักซ์แล้วไทเทรตในลักษณะเดียวกับที่ทำกับตัวอย่างดิน

การคำนวณ

$$\text{ปริมาณคาร์บอนอินทรีย์} = \frac{0.3 \times C \times (V_2 - V_1)}{W} \qquad (3.6)$$

0.3 = แฟกเตอร์ที่ใช้แก้ไข

C = ความเข้มข้นของสารละลายเฟอรัสแอมโมเนียมซัลเฟต (0.2041 M)

V_1(ml) = ปริมาตรของเฟอรัสแอมโมเนียมซัลเฟตที่ใช้ในการไทเทรตดินตัวอย่าง

V_2(ml) = ปริมาตรของเฟอรัสแอมโมเนียมซัลเฟตในการไทเทรตแบลงค์

W(g) = น้ำหนักของดินตัวอย่างที่ใช้

$$\text{เปอร์เซ็นต์ของสารอินทรีย์} = 1.72 \times \text{คาร์บอนอินทรีย์ (\%)} \qquad (3.7)$$

3.3.3 วิสัยสามารถในการแลกเปลี่ยนแคตไอออน (Cation exchange capacity)

ดินเหนียวและฮิวมัสในดินประกอบด้วยอนุภาคคอลลอยด์ ซึ่งมีพื้นที่ผิวใหญ่มาก และบนพื้นผิวนั้นจะมีประจุไฟฟ้าอยู่ด้วย อนุภาคดินเหนียวส่วนใหญ่จะมีประจุลบ ซึ่งจะถูกทำให้เป็นกลางด้วยไอออนที่มีประจุตรงกันข้ามจากแรงดึงดูดทางไฟฟ้าสถิต ซึ่งเป็นแรงที่ไม่แข็งแรงนัก ทำให้ไอออนต่าง ๆ ที่จับอยู่กับพื้นผิวของอนุภาคดินเหนียวจะถูกแทนที่ได้โดยกระบวนการแลกเปลี่ยนไอออน แคตไอออนที่ถูกดึงดูดไว้บนพื้นผิวของอนุภาคดิน คือ Ca^{2+}, Mg^{2+}, K^{+}, NH_4^{+} ถ้าเป็นดินกรดจะมีปริมาณ H^{+}, Al^{3+} เพิ่มขึ้น และถ้าเป็นดินเค็มจะมี Na^{+} อยู่ด้วย

วิสัยสามารถในการแลกเปลี่ยนไอออน หรือ CEC (cation exchange capacity) จะบอกเป็นจำนวน milliequivalent (meq) ต่อดิน 100 กรัม ในการวิจัยครั้งนี้จะใช้วิธีของ Lagen (1996) ในการหาค่า CEC ของดิน โดยมี 3 ขั้นตอน คือ (1) กำจัดแคตไอออนที่ถูกดูดซับอยู่บนพื้นผิวของอนุภาคดินเหนียว โดยการใช้ Ba^{2+} ที่มากเกินพอ (2) กำจัด Ba^{2+} ที่ถูกดูดซับบนพื้นผิว โดยการเติม Mg^{2+} ที่มากเกินพอและรู้ปริมาณ (3) หาปริมาณ Mg^{2+} ที่ลดลงไปจากการแลกเปลี่ยนกับ Ba^{2+} ได้เป็นค่า CEC โดยใช้เทคนิคอะตอมิกแอบซอร์พชันสเปกโทรสโกปีชนิดใช้เปลวไฟ

วัสดุและอุปกรณ์

- กระดาษกรอง (Whatman No. 1)
- เครื่องเขย่า (Model GFL 3006, Germany)
- เครื่องหมุนเหวี่ยง (Model Universal 30RF, Hettich, Germany)
- หลอดสำหรับหมุนเหวี่ยง ขนาด 80 มล. ชนิดมีฝาเกลียว
- ไมโครปิเปต (Model Pipet Man, Gilson Medical Electronics, France)
- ปิเปตวัดปริมาตร
- เครื่องอะตอมิกแอบซอร์พชันสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ชนิดใช้เปลวไฟ (Flame Atomic Absorption Spectrophotometer, FAAS) (Model Spectra 250 plus, Varian, Australia)

สารเคมี

- แบเรียมคลอไรด์ ($BaCl_2.2H_2O$); Sigma Chemicals, St. Louis, USA 0.1000 M $BaCl_2$

  ละลาย $BaCl_2.2H_2O$ 24.4000 กรัมในน้ำ ถ่ายลงในขวดวัดปริมาตรแล้วเจือจางให้ครบปริมาตร 1 ลิตร

  0.0025 M $BaCl_2$

  ปิเปต 0.1000 M $BaCl_2$ 25.00 มล. ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 1 ลิตร แล้วทำให้ครบปริมาตรด้วยน้ำ DI

- แมกนีเซียมซัลเฟต ($MgSO_4.7H_2O$); Aldrich Chemicals, Milwaukee, USA

  0.0200 M $MgSO_4$

ละลาย $MgSO_4.7H_2O$ 4.9296 กรัมในน้ำ แล้วทำให้ครบปริมาตร 1 ลิตร ในขวดวัดปริมาตรด้วยน้ำ DI

- แลนทานัมคลอไรด์ ($LaCl_2.7H_2O$); Sigma Chemical, St.Louis, USA

สารละลายแลนทานัม 5.00%

- ชั่ง $LaCl_2.7H_2O$ 133.7000 กรัม ใส่ในบีกเกอร์ขนาด 1 ลิตร เติมน้ำประมาณ 800 มล. ค่อย ๆ เติม กรดไฮโดรคลอริก (HCl 37%) 10 มล. เมื่อสารละลายเย็นลงแล้ว ทำให้ครบปริมาตรด้วยน้ำ DI ในกระบอกตวงขนาด 1 ลิตร
- กรดไฮโดรคลอริก 37% ; Analytical Reagent, Labscan Asia, Thailand
- สารละลายมาตรฐาน Mg สำหรับเครื่อง Atomic Absorption Spectrophotometer (AAS); 1018 ppm Mg ใน 1 wt% HNO_3 ความหนาแน่น 1.010; Aldrich Chemicals, Milwaukee, USA

101.8 ppm Mg

ปิเปต 1018 ppm Mg มา 10.00 มล. แล้วปรับปริมาตรให้ครบ 100 มล. ในขวดวัดปริมาตรด้วยน้ำ DI

วิธีการ

- ชั่งดินตัวอย่าง 2.5000 กรัม ใส่ในหลอดหมุนเหวี่ยงขนาด 80 มล. ปิดด้วยฝาเกลียว ชั่งน้ำหนักอีกครั้งหนึ่ง
- เติม 0.1000 M $BaCl_2$ ลงไป 30 มล. ปิดฝาหลอดแล้วนำไปเขย่าบนเครื่องเขย่า 1 ชั่วโมงที่ 200/นาที
- เมื่อเขย่าเสร็จแล้ว นำหลอดเข้าเครื่องหมุนเหวี่ยง เป็นเวลา 15 นาที ที่ 9000 rpm
- ทิ้งสารละลายใสส่วนบน
- ทำซ้ำอีก 2 ครั้ง โดยทิ้งสารละลายใสส่วนบนในแต่ละครั้ง
- เติม 0.0025 M $BaCl_2$ 30 มล. ลงในหลอด ปิดฝาแล้วนำไปเขย่า 12 ชั่วโมง ที่ 200/นาที
- หลังจากเขย่าเสร็จแล้ว นำไปหมุนเหวี่ยงเป็นเวลา 15 นาทีที่ 9000 rpm ทิ้งสารละลายใสส่วนบน แล้วชั่งน้ำหนักหลอดหมุนเหวี่ยงอีกครั้งหนึ่ง
- เติม 0.0200 M $MgSO_4$ ลงในหลอดแล้วนำไปเขย่า 2 ชั่วโมง ที่ 200/นาที
- หลังการเขย่า นำไปหมุนเหวี่ยง 15 นาที ที่ 9000 rpm กรองสารละลายส่วนบนผ่านกระดาษกรอง Whatman No.1 ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มล.
- ใช้เครื่อง FAAS หาปริมาณ Mg ในสารละลายที่กรองได้โดยการเทียบมาตรฐานแบบ Standard addition

- ในการวัดด้วย FAAS นั้น สารตัวอย่างที่จะวัดหาปริมาณต้องมีความเข้มข้นที่เหมาะสม โดยต้องอยู่ในช่วงที่ค่าการดูดกลืนแสงมีความสัมพันธ์เชิงเส้นกับความเข้มข้นของสาร ซึ่งในงานวิจัยนี้ได้เจือจางสารละลาย Mg ลง 2500 เท่า
- ปิเปตสารละลายที่กรองได้ 2.00 มล. แล้วเจือจางด้วยน้ำ DI ให้ครบปริมาตร 50 มล. ในขวดวัดปริมาตร
- ปิเปตสารละลายที่เจือจางแล้วนี้ส่วนละ 0.50 มล. ใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 50 มล. 2 ใบ แล้วเติมสารละลายมาตรฐาน Mg เข้มข้น 101.8 ppm 0.05 มล. ลงในขวดวัดปริมาตรขวดหนึ่ง อีกขวดหนึ่งไม่ต้องเติม
- เติม 2.0 มล. สารละลายแลนทานัม 5% ลงไปในขวดแต่ละใบ แล้วใช้น้ำ DI ทำให้ครบปริมาตร ซึ่ง Standard addition ที่เตรียมนี้จะมีความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน Mg เป็น 0 ppm และ 0.102 ppm ตามลำดับ
- นำสารละลายทั้งสองไปวัดค่าการดูดกลืนแสงโดยใช้ FAAS

โดยมีพารามิเตอร์ต่าง ๆ ของเครื่องมือ ดังนี้

ความยาวคลื่น	285.2	nm
กระแสของหลอด	4	mA
ความกว้างของ slit	0.5	nm
อัตราการไหลของอากาศ	13.0	l/min
อัตราการไหลของแก๊สอะเซทิลีน	2.00	l/min

- คำนวณหาค่าความเข้มข้นของ Mg ในสารตัวอย่างจากค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้

3.3.4 การวิเคราะห์ธาตุในดินโดยเทคนิคเอกซ์เรย์ฟลูออเรสเซนส์ชนิดกระจายคลื่น (Wavelength dispersive X-ray Fluorescence, WDXRF)

ได้เลือกใช้วิธีการหลอมดินตัวอย่างกับฟลักซ์ในเบ้า ซึ่งเป็นอัลลอยของแพลทินัมกับทอง ก่อนเทลงในแบบหล่อซึ่งเป็นอัลลอยชนิดเดียวกับเบ้าหลอม ในการเตรียมตัวอย่าง เพื่อวิเคราะห์ด้วยเทคนิค WDXRF เพราะเป็นวิธีที่ลดปัญหาเกี่ยวกับความไม่เป็นเนื้อเดียวกันของดินตัวอย่างได้

วัสดุและอุปกรณ์

- Bis-crucible Pt/Au อัลลอย ปริมาตร 25 มล. หนัก 26 กรัม (Claisse 252, Chemin Saite-Foy, Canada)
- แบบหล่อ Pt/Au อัลลอย เส้นผ่าศูนย์กลาง 32 มม., น้ำหนัก 21 กรัม (Claisse 252, Chemin Saite-Foy, Canada)
- เครื่องหลอม Claisse Fluxer-Bis™ (Claisse 252, Chemin Saite-Foy, Canada)

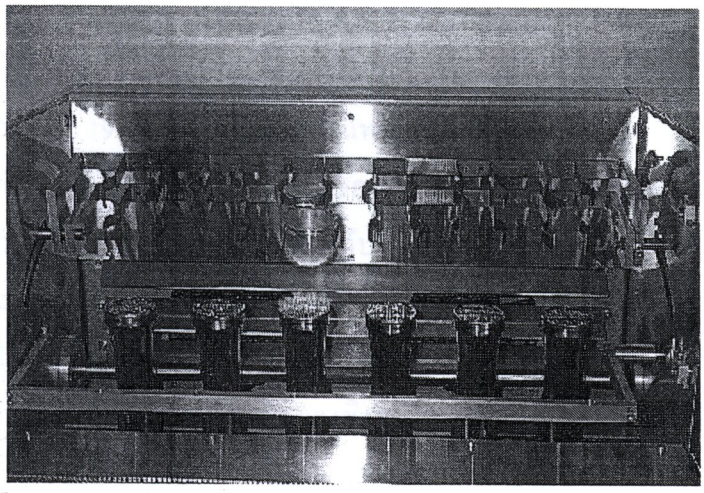
- เครื่องเอกซ์เรย์ฟลูออเรสเซนส์ชนิดกระจายคลื่น, WDXRF (Magix Pro PW 2404, Philips Analytical X-Ray, Almelo, Netherlands)
- โกร่งบด (Agate mortar and pestle)
- ตะแกรงร่อนมาตรฐาน ขนาด 75 ไมครอน (Analysensieb, Retch, USA)

สารเคมี

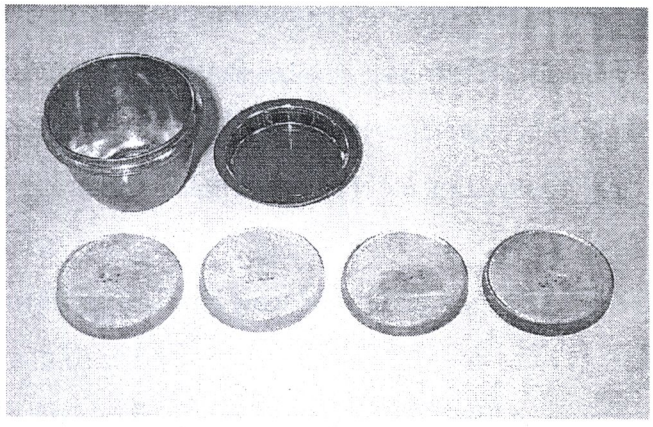
- ลิเทียมเททระบอเรตแอนไฮดรัส ($Li_2B_4O_7$) ทำหน้าที่เป็น fluxing reagent; Claisse 252, Chemin Saite-Foy, Canada
- ลิเทียมโบรไบด์ (LiBr) ทำหน้าที่เป็น wetting reagent; Claisse 252, Chemin Saite-Foy, Canada
- สารอ้างอิงมาตรฐานจาก NIST (National Institute of Standard and Technology, Department of Commerce, USA)
    - Standard Reference Material 2709 (San Joaquin Soil)
    - Standard Reference Material 986 (Plastic Clay)
    - Standard Reference Material 600 (Bauxite)
    - Standard Reference Material 679 (Brick Clay)
- สารอ้างอิง Kaolin; MBH Analytical Ltd., UK

วิธีการ

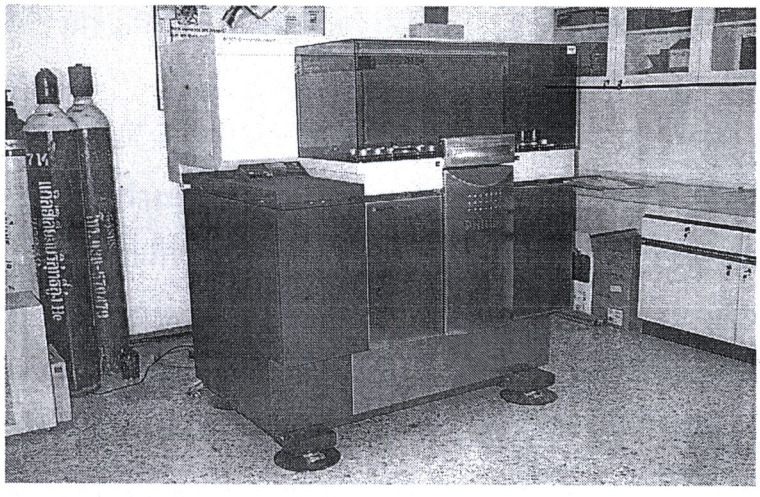
- บดดินตัวอย่าง 10.0000 กรัมในโกร่งบด แล้วร่อนผ่านตะแกรงขนาด 75 ไมครอน
- ชั่งดินที่บดแล้ว 1.0000 กรัมลงในเบ้า เติม $Li_2B_4O_7$ 7.0000 กรัม และ LiBr 0.0300 กรัมลงไป
- ผสมให้สารทั้งหมดเข้ากันดี โดยคนด้วยช้อนตักสารที่สะอาด
- นำเบ้าหลอมเข้าเครื่องหลอม (ดูรูปที่ 3.6) ซึ่งได้ตั้งโปรแกรมค่าความแรงและเวลาที่ใช้ตามที่คู่มือกำหนดล่วงหน้าไว้แล้ว
- หลังจากเย็นและตัวอย่างแข็งตัวเป็นแผ่นแก้ว (ดูรูปที่ 3.7) เรียบร้อยแล้ว นำออกมาชั่งน้ำหนัก แผ่นแก้วที่ได้จะใช้ในการวิเคราะห์ธาตุด้วยเทคนิค WDXRF
- เตรียมแผ่นแก้วของสารอ้างอิงมาตรฐานโดยวิธีการเดียวกับที่เตรียมแผ่นแก้วของดินตัวอย่าง รูปที่ 3.8 แสดงเครื่องมือเอกซ์เรย์ฟลูออเรสเซนส์ชนิดกระจายคลื่น



รูปที่ 3.6 เบ้าหลอมในเครื่องหลอม



รูปที่ 3.7 เบ้า แบบหล่อ และแผ่นแก้วตัวอย่างที่ได้



รูปที่ 3.8 เครื่องมือเอกซ์เรย์ฟลูออเรสเซนส์ชนิดกระจายคลื่น, MagiX Pro PW 2404 Philips Analytical

3.3.5 ปริมาณเหล็กและสังกะสีที่นำไปใช้ได้ทางชีวภาพ

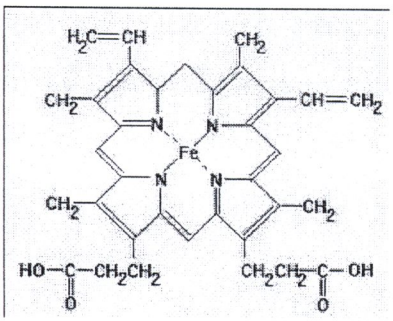
เหล็กเป็นโลหะที่มีอยู่ประมาณ 5% ในเปลือกโลก เป็นโลหะที่มีมากเป็นที่สองรองจากอะลูมิเนียม (McDowell, 1992) เหล็กเป็นโลหะแทรนซิชัน มีน้ำหนักอะตอม 56 มีเลขออกซิเดชันที่เสถียรสองค่า คือ +2 และ +3 เหล็กยังมีเลขออกซิเดชันที่ไม่เสถียรอีกหลายค่าในสารละลายเอเควียส และมีค่าศักย์รีดอกซ์ได้หลายค่าขึ้นอยู่กับชนิดของลิแกนด์ (McDowell, 1992) ด้วยสมบัติดังกล่าวทำให้สารเชิงซ้อนของเหล็กมีประโยชน์มากในปฏิกิริยาที่มีการถ่ายโอนอิเล็กตรอน ความเข้มข้นของเหล็กในดินจะอยู่ในช่วง 7,000-550,000 มก/กก (Hasset and Banwart, 1992)

เหล็กเป็นองค์ประกอบที่สำคัญของสิ่งมีชีวิต เซลล์ทุกเซลล์ที่มีชีวิตทั้งของพืชและของสัตว์จะมีเหล็กอยู่ด้วย (Sizer and Whitney, 2000) คนผู้ใหญ่ซึ่งมีน้ำหนักประมาณ 70 กก จะมีเหล็กในร่างกายประมาณ 4-5 กรัม หรือ 60-70 ppm (McDowell, 1992) เหล็กแทบทั้งหมดในร่างกายจะอยู่ในรูปสารเชิงซ้อนจับอยู่กับโปรตีน ซึ่งอาจจะเป็นสารประกอบของฮีมหรือพอร์ไฟริน (porphyrin) โดยเฉพาะอย่างยิ่งฮีโมโกลบินและไมโอโกลบิน หรืออาจเป็นสารเชิงซ้อนจับอยู่กับโปรตีนที่ไม่มีฮีม เช่น แทรนสเฟอริน (transferrin) และเฟอริทิน (ferritin) (รูปที่ 3.9) การดูดซึมเหล็กจะเกิดที่กระเพาะอาหารและลำไส้เล็ก โดยเฉพาะบริเวณลำไส้เล็กส่วนบน (duodenum) และส่วนกลาง (jejunum) ส่วนการขับถ่ายเหล็กออกจากร่างกายนั้น จะออกไปทางเหงื่อหรือถูกขับถ่ายทางอุจจาระและปัสสาวะ

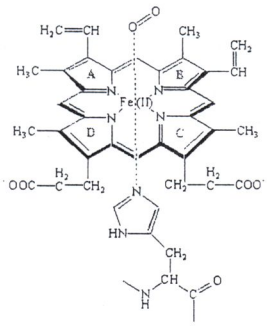
ปริมาณเหล็กที่แนะนำให้ร่างกายได้รับเมื่อปี พ.ศ. 2532 สำหรับคนไทยที่สุขภาพดีมีดังนี้ เด็กชาย (อายุ 10-12 ปี) 12 มิลลิกรัม/วัน เด็กหญิง (อายุ 10-12 ปี) 15 มิลลิกรัม/วัน ผู้ชาย (อายุ 20-29 ปี) 10 มิลลิกรัม/วัน และสำหรับผู้หญิง (อายุ 20-29 ปี) อยู่ที่ 15 มิลลิกรัม/วัน

สังกะสีเป็นธาตุที่มีอยู่มากเป็นอันดับที่ 24 มีเลขอะตอม 30 และมีน้ำหนักอะตอม 65.37 เมื่อเป็นแคตไอออนจะมีประจุ +2 ความเข้มข้นของสังกะสีในดินจะขึ้นอยู่กับแหล่งที่มา แต่ปกติแล้วจะพบสังกะสีรวมอยู่กับซัลไฟด์ของโลหะต่าง ๆ เช่น ตะกั่ว ทองแดง แคดเมียม และเหล็ก (McDowell, 1992)

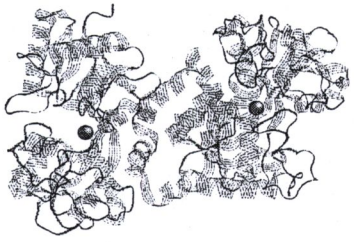
ช่วงความเข้มข้นของสังกะสีที่มีอยู่ในดินตามปกติ จะอยู่ระหว่าง 10-300 มก/กก สังกะสีมีบทบาทสำคัญในร่างกายของคนเรา เพราะสังกะสีเป็นส่วนประกอบของเมทัลโลเอนไซม์ (เอนไซม์ที่ต้องการโลหะในการทำหน้าที่) มากกว่า 100 ชนิด ตัวอย่างเช่น คาร์บอนิกแอนไฮเดรส แอลกอฮอล์ดีไฮโดรจีเนส ซุปเปอร์ออกไซด์ดิสมิวเทส ดีเอ็นเอ-พอลิเมอเรส อาร์เอ็นเอ-พอลิเมอเรส คาร์บอกซีเปปทิเดส เป็นต้น (รูปที่ 3.10) สังกะสีจึงเป็นธาตุที่มีความจำเป็นต่อการสังเคราะห์ดีเอ็นเอ การถ่ายทอดรหัสพันธุกรรม และการทำงานอื่น ๆ ของเซลล์ นอกจากนี้ สังกะสียังมีความจำเป็นในการรักษาสภาพโครงสร้างของเนื้อเยื่อและเยื่อต่าง ๆ จึงพบสังกะสีได้ในกระดูก ตับ ไต กล้ามเนื้อ และผิวหนัง



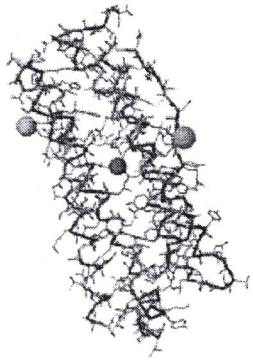
Hemoglobin



Myoglobin

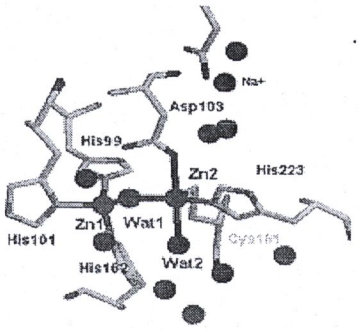


transferrin

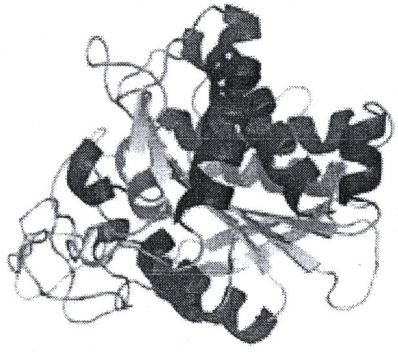


ferritin

รูปที่ 3.9 ตัวอย่างสารประกอบของเหล็กในร่างกายของสิ่งมีชีวิต



human carbonic anhydrase II



carboxypeptidase

รูปที่ 3.10 ตัวอย่างเมทัลโลเอนไซม์ที่ต้องใช้สังกะสีในการทำงาน

การดูดซึมสังกะสีเกิดได้ดีที่สุดบริเวณใกล้กับลำไส้เล็ก โดยเฉพาะที่เจจูนัม ส่วนการขับถ่ายสังกะสีทำได้ทางเหงื่อ อุจจาระ และปัสสาวะ แต่การขับถ่ายสังกะสีทางอุจจาระเกิดได้มากที่สุด การขับถ่ายทางปัสสาวะเกิดได้น้อยกว่า ตามปกติร่างกายจะมีสังกะสีอยู่ประมาณ 2.2 กรัม หรือมีความเข้มข้นโดยรวม 30 ppm (McDowell, 1992) ปริมาณสังกะสีที่แนะนำให้ร่างกายได้รับในปี พ.ศ. 2532 สำหรับคนไทย คือ 15 มิลลิกรัม/วัน ทั้งเด็กชายและเด็กหญิง (อายุ 10-12 ปี) ผู้ชายและผู้หญิง (อายุ 20-29 ปี)

ในการวิจัยครั้งนี้ ได้นิยามความหมายของปริมาณเหล็กและสังกะสีที่นำไปใช้ได้ทางชีวภาพว่า เป็นปริมาณเหล็กและสังกะสีที่ร่างกายของเราดูดซึมได้ผ่านทางระบบลำไส้ การหาปริมาณดังกล่าวใช้วิธีของ Geissler และคณะ (1998) และใช้การจำลองระบบการย่อยของมนุษย์เป็นสภาวะที่ใช้ในการสกัดเหล็กและสังกะสีที่ร่างกายนำไปใช้ได้ โดยใช้ค่า pH เท่ากับ pH ของกระเพาะ และควบคุมอุณหภูมิให้เท่ากับอุณหภูมิของร่างกาย คือ 37°C

วัสดุและอุปกรณ์

- เครื่องเขย่าชนิดที่มีเครื่องอังน้ำควบคุมอุณหภูมิได้ (Model SWB 5050, National Lanet, Denmark)
- อะตอมิกแอบซอร์พชัน สเปกโทรโฟโตมิเตอร์ (Model Spectra 250 plus, Varian, Australia)
- ไมโครปิเปต (Model Pipet Man, Gilson Medical Electronics, France)
- กระดาษกรอง (Whatman No 42)
- อะลูมิเนียมฟอยล์

สารเคมี

- กรดไฮโดรคลอริก 37% ; Analytical Reagent, Labscan Asia, Thailand
- สารละลายมาตรฐาน Fe, Zn ; Aldrich Chemicals, Milwaukee, USA

  สารละลายมาตรฐาน Fe 1020 ppm ในสารละลาย 1 wt% HCl ความหนาแน่น 1.010 กรัม/ลบ.ซม.

  สารละลายมาตรฐาน Zn 985 ppm ในสารละลาย 1 wt% HCl ความหนาแน่น 1.010 กรัม/ลบ.ซม.

- การเตรียมสารละลายมาตรฐาน ของ Zn และ Fe

  98.5 ppm Zn

  ปิเปตสารละลาย Zn 985 ppm ปริมาตร 10.00 มล. ใส่ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มล. แล้วทำให้ครบปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออน

  9.85 ppm Zn

  ปิเปตสารละลาย Zn 98.5 ppm ปริมาตร 10.00 มล. ใส่ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มล. แล้วทำให้ครบปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออน

102.0 ppm Fe

ปิเปตสารละลาย Fe 1020 ppm ปริมาตร 10.00 มล. ใส่ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มล. แล้วทำให้ครบปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออน

วิธีการหาปริมาณ Fe ที่ร่างกายนำไปใช้ได้

- ชั่งตัวอย่างดิน 10.0000 กรัม ใส่ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มล.
- เติมกรด 0.10 M HCl 100 มล. แล้วปิดฝาขวดด้วยอะลูมิเนียมฟอยล์
- นำไปวางในเครื่องเขย่าที่มีเครื่องอังน้ำควบคุมอุณหภูมิที่ 37°C แล้วเขย่า 2 ชั่วโมงที่ความเร็ว 180/นาที
- แล้วกรองสารละลายผ่านกระดาษกรองลงในกระบอกตวงขนาด 100 มล. บันทึกปริมาตรของสารละลายที่กรองได้
- ปิเปตสารละลายที่กรองได้ใส่ลงในบีกเกอร์ขนาด 50 มล. จำนวน 4 ใบ ใบละ 10.00 มล.
- วัดหาปริมาณ Fe ที่มีอยู่ในสารละลาย โดยใช้เทคนิคอะตอมิกแอบซอร์พชัน สเปกโทรสโกปี และเทคนิคการเติมสารละลายมาตรฐาน (Standard addition method)
- เติมสารละลายมาตรฐาน 102.0 ppm Fe ลงไปในบีกเกอร์ทั้ง 4 ใบ ด้วยปริมาตรต่าง ๆ กัน ดังนี้ 0, 0.50, 1.00, 1.50 มล.
- นำสารละลายไปวัดหาปริมาณ Fe โดยใช้เครื่องอะตอมิกแอบซอร์พชัน สเปกโทรโฟโตมิเตอร์ชนิดใช้เปลวไฟ
- คำนวณหาความเข้มข้นของ Fe ในดินโดยใช้ standard addition curve

พารามิเตอร์ที่ใช้กับเครื่องมือในการวัดมีดังนี้

ความยาวคลื่น	372	nm
กระแสของหลอด	5	mA
ความกว้างของ slit	0.2	nm
อัตราการไหลของอากาศ	20.0	l/min
อัตราการไหลของแก๊สอะเซทิลีน	2.00	l/min

การคำนวณ

$$\text{ปริมาณ Fe ที่ร่างกายนำไปใช้ได้ (mg/kg)} = \frac{Fe \times V}{W}$$

เมื่อ Fe : ความเข้มข้นของ Fe ที่อ่านได้จากกราฟมาตรฐาน

V : ปริมาตรของสารละลายที่กรองได้ (ml)

W : น้ำหนักตัวอย่างดิน (g)

วิธีการหาปริมาณ Zn ที่ร่างกายนำไปใช้ได้

- ชั่งตัวอย่างดิน 10.0000 กรัม ใส่ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มล.
- เติมกรด 0.10 M HCl 100 มล. แล้วปิดฝาขวดด้วยอะลูมิเนียมฟอยล์
- นำไปวางในเครื่องเขย่าที่มีเครื่องอังน้ำควบคุมอุณหภูมิที่ 37°C แล้วเขย่า 2 ชั่วโมงที่ความเร็ว 180/นาที
- แล้วกรองสารละลายผ่านกระดาษกรองลงในกระบอกตวงขนาด 100 มล. บันทึกปริมาตรของสารละลายที่กรองได้
- ปิเปตสารละลายที่กรองได้ใส่ลงในบีกเกอร์ขนาด 50 มล. จำนวน 4 ใบ ใบละ 10.00 มล.
- วัดหาปริมาณ Zn ที่มีอยู่ในสารละลาย โดยใช้เทคนิคอะตอมิกแอบซอร์พชัน สเปกโทรสโกปี โดยใช้เทคนิคการเติมสารละลายมาตรฐาน
- เติมสารละลายมาตรฐาน 9.85 ppm Zn ลงไปในบีกเกอร์ทั้ง 4 ใบด้วยปริมาตรต่าง ๆ กันดังนี้ 0, 0.50, 1.00, 1.50 มล.
- วัดหาปริมาณ Zn โดยใช้เครื่องอะตอมิกแอบซอร์พชัน สเปกโทรโฟโตมิเตอร์ชนิดใช้เปลวไฟ
- คำนวณหาความเข้มข้นของ Zn จาก standard addition curve

พารามิเตอร์ของเครื่องมือที่ใช้ในการวัดมีดังนี้

ความยาวคลื่น	213.9	nm
กระแสของหลอด	5	mA
ความกว้างของ slit	1.0	nm
อัตราการไหลของอากาศ	20.0	l/min
อัตราการไหลของแก๊สอะเซทิลีน	4.00	l/min

การคำนวณ

$$\text{ปริมาณ Zn ที่ร่างกายนำไปใช้ได้ (mg/kg)} = \frac{Zn \times V}{W}$$

เมื่อ Zn : ความเข้มข้นของ Zn ที่อ่านได้จากกราฟมาตรฐาน

V : ปริมาตรของสารละลายที่กรองได้ (ml)

W : น้ำหนักตัวอย่างดิน (g)