สารบัญรูป

หน้า

รูปที่ 4.1	คณะวิจัยลงพื้นที่ ณ โรงเรือนปลูกผักของเกษตรกร ศูนย์พัฒนาโครงการหลวงแม่โถ อ.ฮอด จ.เชียงใหม่ เพื่อคัดเลือกแปลงวิจัยที่มีรายงานการตกค้างของสารอาซินิคในดินในปริมาณ	28
รูปที่ 4.2	พืชตระกูลเฟิร์นที่ใช้ในการทดสอบการดูดสารอาซินิค	31
รูปที่ 4.3	การวางแผนการทดลองการปลูกพืชตามกรรมวิธีทดลอง โดยวางแผนการทดลองแบบ RCBD จำนวน 8 กรรมวิธี 3 ซ้ำ	34
รูปที่ 4.4	การเจริญเติบโตของพืชชนิดต่างๆ ภายใต้สภาพโรงเรือนที่ระยะ 1 เดือนหลังปลูก	35
รูปที่ 4.5	การเจริญเติบโตของพืชชนิดต่างๆ ที่ใช้ในการทดสอบการดูดสารอาซินิคจากดิน	35
รูปที่ 4.6	ผลของชนิดพืชที่ปลูกต่อปริมาณของอาซินิคที่ถูกดูดออกจากดิน	38
รูปที่ 4.7	ค่าเฉลี่ยความเข้มข้นของอาซินิคในดินหลังปลูกพืชทดสอบแต่ละชนิด	40
รูปที่ 4.8	การเก็บตัวอย่างดินที่มีการปนเปื้อนของสารอาซินิคในปริมาณที่แตกต่างกัน 2 แห่ง จากโรงเรือนของเกษตรกร ศูนย์พัฒนาโครงการหลวงแม่โถ อ.ฮอด จ.เชียงใหม่	41
รูปที่ 4.9	ผังการทดสอบการลดสารอาซินิคในสภาพแปลงทดสอบโดยใช้พืชทดสอบร่วมกับเชื้อแบคทีเรียในดินบนพื้นที่สูง	55
รูปที่ 4.10	การทดสอบการลดสารอาซินิคที่ปนเปื้อนในดิน โดยใช้ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ร่วมกับเชื้อแบคทีเรียไอโซเลท 29 ในโรงเรือนทดลอง ณ ศูนย์พัฒนาโครงการหลวงแม่โถ อ.ฮอด จ.เชียงใหม่	56
รูปที่ 4.11	ค่าเฉลี่ยความเข้มข้นของอาซินิคในดิน หลังการทดสอบการลดสารอาซินิคในสภาพแปลงทดลอง โดยใช้พืชทดสอบร่วมกับแบคทีเรียในดินบนพื้นที่สูง	58
รูปที่ 4.12	การปลูกผักกาดขาวปลีเพื่อทดสอบการปนเปื้อนของสารอาซินิค เมื่อวันที่ 7 สิงหาคม 2559 ณ โรงเรือน A1 ศูนย์พัฒนาโครงการหลวงแม่โถ อ.ฮอด จ.เชียงใหม่	59
รูปที่ 4.13	ความเข้มข้นของอาซินิคในดิน หลักการเก็บเกี่ยวผักกาดขาวปลี	61
รูปที่ 4.14	การทดสอบ leaching test ตัวอย่างข้าวโพดที่ปนเปื้อนสารอาซินิค ซึ่งถูกเคลือบทับด้วยซีเมนต์	63
รูปที่ 4.15	อุปกรณ์การทดสอบ leaching test ตัวอย่างข้าวโพดอาหารสัตว์ที่ปนเปื้อนสารอาซินิค ซึ่งถูกเคลือบทับด้วยซีเมนต์	64

บทคัดย่อ

การศึกษาและทดสอบเทคโนโลยีการลดปริมาณโลหะหนักในดินบนพื้นที่สูง มีวัตถุประสงค์ (1) เพื่อทดสอบและคัดเลือกวิธีการที่เหมาะสมสำหรับลดปริมาณโลหะหนักที่สะสมในดินเพาะปลูกพืชบน

พื้นที่สูง และ (2) เพื่อศึกษาและทดสอบแนวทางกำจัดพืชที่ใช้ดูดซับโลหะหนักในดินสำหรับการทำเกษตรบนพื้นที่สูง สำหรับการทดสอบและคัดเลือกวิธีการลดปริมาณโลหะหนักที่ปนเปื้อนในดิน ได้แบ่งการศึกษาทดลองออกเป็น 3 การทดลอง คือ การทดลองที่ 1 เป็นการทดสอบและคัดเลือกชนิดพืชที่มีคุณสมบัติดูดสารอาซินิคในดิน ซึ่งการทดสอบได้ดำเนินการในโรงเรือนปลูกผักของเกษตร บ้านแม่โถ อ.ฮอด จ.เชียงใหม่ ซึ่งมีการปนเปื้อนสารอาซินิคใน ระดับสูง (32.03 mg/kg) โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ภายในบล็อก โดยทำการปลูกพืชทดสอบ 7 ชนิด ได้แก่ ทานตะวัน *(Helianthus annuus)*, ถั่วพุ่มดำ *(Vigna unguiculata* L.), ดาวเรือง *(Tagetes erecta* L.), ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ *(Zea mays* Linn.), ผักกาดขาวปลี *(Brassica pekinensis)*, ผักชีไทย *(Coriandrum sativum* L.) และเฟิร์นตั้ง *(Selliguea heterocarpa)* ในแปลงทดลองขนาด 1.2 m x 5.0 m เมื่อพืชแต่ละชนิดเจริญเติบโตและสะสมอาซินิคสูงสุด หรือมีชีวมวลสูงสุด จะทำการเก็บเกี่ยวพืชแต่ละส่วน (ราก ส่วนเหนือดิน และดอก) และตัวอย่างดินไปวิเคราะห์ปริมาณอาซินิค เพื่อประเมินประสิทธิภาพของพืชในการดูดสารอาซินิค สำหรับการทดลองที่ 2 เป็นการคัดเลือกสายพันธุ์เชื้อจุลินทรีย์ที่มีคุณสมบัติในการดูดซับ/ย่อยสลาย/เปลี่ยนสถานะสารอาซินิคจนความเป็นพิษลดลง จากเชื้อจำนวน 3 ไอโซเลท ได้แก่ Ars. 8, Ars. 19 และ Ars. 29 ซึ่งทำการทดลอง ณ ห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยาทางดิน ภาควิชาพืชศาสตร์และปฐพีศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ โดยเก็บดินจากโรงเรือนปลูกผักของเกษตรกร บ้านแม่โถ อ.ฮอด จ.เชียงใหม่ ที่มีปริมาณสารอาซินิคสูงเกินค่ามาตรฐาน คือ โรงเรือน A1 (อาซินิค = 32.03 มิลลิกรัม/กิโลกรัม) และโรงเรือน A30 (อาซินิค = 30.97 มิลลิกรัม/กิโลกรัม) จากนั้นคลุกเชื้อที่ต้องการทดสอบแต่ละชนิดลงในดินที่มีการเติมปูนเพื่อปรับ pH ดิน และในดินที่ไม่มีการเติมปูน ในอัตรา 10^8 cfu/100 กรัมดิน ปรับความชื้นดินที่ 50-60% ของความจุความชื้นสูงสุด แล้วนำไปบ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง ที่ระยะ 15 และ 30 วัน นำดินมาวิเคราะห์หาปริมาณอาซินิคที่อยู่ในดิน เพื่อประเมินประสิทธิภาพของเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ทดสอบ และการทดลองที่ 3 เป็นการทดสอบวิธีการลดการปนเปื้อนของสารอาซินิคในดิน ซึ่งดำเนินการในพื้นที่เดียวกับการทดลองที่ 1 โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ภายในบล็อก จำนวน 4 ซ้ำ แบ่งเป็น 3 วิธี ประกอบด้วย การใช้พืช (ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์) การใช้จุลินทรีย์ (Ars. 29 isolate) และการใช้ทั้งพืชและจุลินทรีย์ร่วมกัน โดยมีกรรมวิธีที่ไม่ปลูกพืชและไม่คลุกเชื้อจุลินทรีย์ เป็นกรรมวิธีควบคุม เมื่อพืชที่ใช้บำบัด (ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์) เจริญเติบโตและสะสมอาซินิคสูงสุด จะเก็บเกี่ยวพืชออกจากแปลงทดสอบ แล้วปลูกผักกาดขาวปลีในทุกแปลง เมื่อถึงระยะเก็บเกี่ยวผลผลิต จะเก็บตัวอย่างผักกาดขาวปลี มาวิเคราะห์ปริมาณอาซินิค เพื่อประเมินและคัดเลือกวิธีการที่มีประสิทธิภาพในการลดสารอาซินิคที่ปนเปื้อนในดิน สำหรับการศึกษาแนวทางกำจัดพืชที่ใช้ดูดซับโลหะหนักในดินสำหรับการทำเกษตรบนพื้นที่สูง ดำเนินการโดยประมวลข้อมูลและคัดเลือกแนวทางกำจัดพืชที่ใช้ดูดซับสารอาซินิคในดินจากแหล่งข้อมูลที่เชื่อถือได้ และทดสอบวิธีกำจัดพืชที่ใช้ดูดซับสารอาซินิคในดินที่คัดเลือก โดยนำพืชที่ปนเปื้อนอาซินิคจากการทดลองที่ 3 ซึ่งได้แก่ ข้าวโพดอาหารสัตว์ นำมาอบและบดให้แห้ง แล้วนำไปทำให้แข็งตัวเป็นเม็ด โดยผสมกับซีเมนต์ ในอัตรา 1 ต่อ 3 หลังจากเม็ดซีเมนต์แข็งตัวดี

แล้วจึงนำไปทดสอบการปลดปล่อยอาซินิค โดยวิธีการชะล้าง (leaching test) ด้วยการนำเม็ดซีเมนต์ไปบรรจุในคอลัมน์แล้วทำการชะด้วยน้ำกลั่นเป็นเวลา 4 สัปดาห์ นำน้ำที่ผ่านการชะไปวิเคราะห์หาปริมาณอาซินิค เพื่อประเมินผลประสิทธิภาพของการกักเก็บสารอาซินิค

ผลการศึกษาพบว่าข้าวโพดเลี้ยงสัตว์เป็นพืชที่มีสามารถดูดสารอาซินิคจากดินมาสะสมในต้นพืชได้สูงสุดที่ 266 ไมโครกรัม/ต้น รองลงมาได้แก่ ทานตะวัน ผักกาดขาวปลี ดาวเรือง เฟิร์น ผักชี และ ถั่วพุ่มดำ ซึ่งสามารถดูดอาซินิคมาสะสมในต้นพืชได้ในปริมาณ 165, 109, 105, 18, 11 และ 8 ไมโครกรัม/ต้น ตามลำดับ นอกจากนี้ยังพบว่าส่วนต่างๆ ของพืชมีการสะสมอาซินิคในปริมาณที่แตกต่างกัน ส่วนใหญ่พบการสะสมอาซินิคสูงสุดในรากพืช ซึ่งพบว่ารากข้าวโพดเลี้ยงสัตว์สามารถสะสมอาซินิคได้สูงสุด 3.66 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ในขณะที่ผักชีมีการสะสมอาซินิคสูงสุดในส่วนเหนือดิน (ลำต้นและใบ) ที่ 3.31 มิลลิกรัม/กิโลกรัม สำหรับการทดสอบประสิทธิภาพเชื้อแบคทีเรีย จำนวน 3 ไอโซเลท ได้แก่ Ars. 8, Ars. 19 และ Ars. 29 ในการลดความเป็นพิษของอาซินิคในดินบนพื้นที่สูงนั้นพบว่า การใส่ปูนเพื่อปรับระดับ pH ดิน ทำให้จุลินทรีย์มีประสิทธิภาพในการลดปริมาณสารอาซินิคได้มากกว่าดินที่ไม่ปรับค่า pH และเชื้อแบคทีเรียไอโซเลท 29 แสดงให้เห็นศักยภาพและมีแนวโน้มในการลดสารอาซินิค จึงนำไปทดสอบในแปลงทดลอง

เมื่อนำข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ เชื้อแบคทีเรียไอโซเลท 29 และการปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ร่วมกับการใช้เชื้อแบคทีเรียไอโซเลท 29 ไปบำบัดดินที่มีการปนเปื้อนสารอาซินิค และปลูกผักกาดขาวปลีเพื่อทดสอบประสิทธิภาพของวิธีการที่ใช้ในการบำบัด พบว่าวิธีการคลุกเชื้อแบคทีเรียไอโซเลท 29 ก่อนการปลูกผักกาดขาวปลี ช่วยลดการดูดสารอาซินิคเข้าไปในส่วนลำต้นของผักกาดขาวปลีอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ พบความเข้มข้นของอาซินิค 0.22 มิลลิกรัม/กิโลกรัม เมื่อเปรียบเทียบกับดินที่ไม่ผ่านการบำบัด มีความเข้มข้นของอาซินิคในผักกาดขาวปลี 0.32 มิลลิกรัม/กิโลกรัม

การศึกษาและทดสอบแนวทางกำจัดพืชที่ใช้ดูดซับสารอาซินิคในดินสำหรับการทำเกษตรบนพื้นที่สูง ได้คัดเลือกวิธีการนำตัวอย่างพืชที่ปนเปื้อนมาทำให้แห้งแล้วบดอัด (compaction) เพื่อลดน้ำหนักและปริมาตรของตัวอย่าพืช แล้วนำมาทำให้แข็งตัวด้วยซีเมนต์ โดยผสมพืชและซีเมนต์ในอัตรา 1 ต่อ 3 ผลการศึกษา ไม่พบการปนเปื้อนของอาซินิคในสารละลายที่ชะล้างผ่านเม็ดซีเมนต์ที่ห้อหุ้มพืชที่ปนเปื้อนอาซินิค ซึ่งชี้ให้เห็นว่าการนำตัวอย่างพืชที่ปนเปื้อนอาซินิค มาทำให้แข็งตัวด้วยซีเมนต์สามารถกักเก็บอาซินิคไว้ไม่ถูกปลดปล่อยสู่สิ่งแวดล้อม

การบำบัดการปนเปื้อนของอาซินิคในดินบนพื้นที่สูง นอกจากการบำบัดโดยใช้พืชหรือ/และจุลินทรีย์ร่วมกันแล้ว การลดการนำเข้าหรืองดใช้ปัจจัยการผลิตที่มีสารอาซินิคปนเปื้อน เช่น ปุ๋ยคอก ปุ๋ยเคมี และสารป้องกันศัตรูพืชบางชนิด จำเป็นที่ต้องได้รับการพิจารณาดำเนินการควบคู่ไปด้วย ควรมีการตรวจวิเคราะห์

สารอาซินิคในปัจจัยการผลิตที่มีความเสี่ยงต่อการปนเปื้อนก่อนนำมาใช้ เพื่อเป็นมาตรการป้องกันการปนเปื้อนของสารอาซินิคในแปลงปลูกพืชของเกษตรกร

Abstract

This research was conducted in order to (a) to determine and select the most effective method for reduction of heavy metals from contaminated highland soil and (b) to evaluate appropriate method to handle heavy metal-contaminated plant that was used for extraction of heavy metals from agricultural highland area. For the first objective, three experiments were conducted, (1) selection of high arsenic-accumulating plant, (2) screening of effective microorganism for arsenic remediation and (3) determination of the appropriate method for reduction of arsenic-contaminated highland soil. The first experiment was carried out in vegetable growing greenhouse at Mae Tho village, Hot district, Chiang Mai province where the high concentration of arsenic (32.03 mg/kg) in soil has been reported. The experimental design was a randomized complete block (RCB) with 7 treatments. Sunflower *(Helianthus annuus)*, cowpea *(Vigna unguiculata* L.), nugget marigold *(Tagetes erecta* L.), field corn *(Zea mays* Linn.), Chinese cabbage *(Brassica pekinensis)*, coriander *(Coriandrum sativum* L.) and ferns *(Selliguea heterocarpa)* were used as the arsenic extracting plants. The second experiment was carried out at the laboratory of soil microbiology, Department of Plant Science and Soil Science, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University. The two soil samples having different levels of arsenic were collected from greenhouse A1 (As = 32.03 mg/kg) and greenhouse A30 (As = 30.97 mg/kg) located in Mae Tho Royal Project Development Center, Hot District, Chiang Mai Province used in this experiment. Complete randomized design was conducted with three bacterial isolates, Ars. 8, Ars. 19 and Ars. 29 and three replications. Each tested bacterial isolate was inoculated to limed and unlimed soil at the rate 10^8 cfu/100 g. Uninoculated soil was used as control treatment. The third experiment was carried out at the same place as the first experiment. The experiment design was a RCB with 4 treatments and 4 replications. Three methods for arsenic remediation including phytoremediation by using field corn bioremediation by using Ars. 19 isolate bacteria and bioremediation using Ars. 19 isolate bacteria in combination with phytoremediation by using field corn were tested. No inoculation of Ars. 19 isolate bacteria and unplanted plot was used as control treatment. After arsenic remediation by selected methods was completed, Chinese cabbage, a commercial cash crop in highland area, was planted in each plot. At harvest stage, total arsenic content in root and shoot of Chinese cabbage was analyzed, then the efficiency of arsenic remediation method was evaluated.

For the second objective, the phytoremediation by-product obtained from the third experiment (field corn residues) were dried and milled to reduce biomass. Then powder of field corn residues was mixed well with cement (1:3 w/w) and moisturized for granule making. The product was packed in a column and leaching test was performed to evaluate the risk to environment.

The result showed that field corn had highest arsenic accumulation (266 µg/plant) followed by sunflowers (165 µg/plant), Chinese cabbage (109 µg/plant), nugget marigold (105 µg/plant), ferns (18 µg/plant), coriander (11 µg/plant) and cowpea (8 µmg/plant). Each plant species accumulated arsenic in different organs. The highest accumulation plant organs was root. The maximum of arsenic accumulation was found in the root of field corn at 3.66 mg/kg. However arsenic in coriander was accumulated the maximum at shoot (3.31 mg/kg). Evaluation of the effectiveness of three selected bacterial isolates; Ars. 8, Ars. 19 and Ars. 29 in reducing arsenic contamination in two soil samples was performed under laboratory conditions. The results indicated that liming could enhance the effectiveness of the microbes to reduce soil arsenic and the Ars. 29 isolate bacteria showed the highest effectiveness in arsenic reduction, therefore, this isolate was selected for the field experiment.

When field corn and Ars. 29 isolate bacteria were used in combination to treat the arsenic-contaminated soil, followed by growing Chinese cabbage to test the efficiency of the treatments, it was found that inoculation of Ars. 29 isolate bacteria to soil reduced arsenic uptake by Chinese cabbage significantly. Arsenic content in the edible above ground part of Chinese cabbage was 22.0 mg/kg, while the control treatment was 0.32 mg/kg.

In a study on methods to eradicate plant materials which were used to absorb arsenic in soil for highland agriculture, contaminated samples were dried, milled and compacted in order to reduce weight and volume of the samples. Then the power of field corn residue was mixed well with cement powder (1:3 w/w) and moisturized for granule making. Results from the study did not show the contamination of arsenic in the solution that was leached through cement granules which enwrapped the arsenic-contaminated plant samples. This suggested that when arsenic-contaminated plant samples were solidified with cement powder, arsenic could be retained without being released to the environment.

In conclusion, field corn had highest arsenic removal ability (2.66 g/rai), followed by sunflowers (2.12 g/rai) and nugget marigold (1.05 g/rai). In other words, the soil inoculation with Ars. 29 bacterial isolate incorporated with soil pH improvement by liming material tended to reduce arsenic content in arsenic-contamination soil. However, arsenic remediation by those methods did not reduce arsenic contaminated in soil. The arsenic concentration in soil was still in the high level (28.61-29.18 mg/kg). Moreover, arsenic contaminated in Chinese cabbage planted after arsenic remediation was detected, however, inoculation of Ars. 29 isolate bacteria to soil reduced arsenic uptake by Chinese cabbage significantly. In addition, mixing dried powder of phytoremediation by-product with cement (1:3 w/w) was the proper method for preventing the release of arsenic to environment.

Even though phytoremediation and bioremediation seem to be suitable methods for arsenic remediation in contaminated highland soil, however, a risk from application of arsenic-contaminated input such as manure, chemical fertilizer and pesticide should be considered. Therefore, to prevent the arsenic contamination problem, arsenic content in the input should be analyzed before being introduced to farmland.

Highland Research and Development Institute (Public Organization)