



การเคลื่อนย้ายและการดูดซึมโลหะหนักโดยผักกาดเขียวปลี ตามระดับการปนเปื้อนของดิน

Metals Mobility and Uptake of Chinese Mustard at Different Levels of Soil Contamination

วภากร ศิริวงศ์^{1*} เบญจมาศ อุ๋นศรี¹ และ สุทธิชัย อินทปนาม¹

¹คณะเกษตรศาสตร์ ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยนเรศวร อ.เมือง จ.พิษณุโลก 65000

*Corresponding Author, E-mail: wapakorna@nu.ac.th

บทคัดย่อ

การศึกษาการเคลื่อนย้ายของธาตุโลหะหนักได้แก่แคดเมียม สังกะสี ทองแดง ตะกั่ว และ โครเมียม เป็นการทดลองหาผลของระดับการเติมโลหะหนักในดินต่อการเปลี่ยนแปลงของโลหะหนักที่สกัดโดยวิธีการสกัดตามลำดับ (sequential extraction) ออกเป็น 5 รูป ได้แก่ 1) รูปที่ละลายในสารละลายดิน 2) รูปแลกเปลี่ยนได้ 3) รูปคาร์บอเนต 4) รูปออกไซด์ 5) รูปอินทรีย์ และ 6) รูปที่ถูกตรึงในหีบ และความสัมพันธ์ของรูปต่างๆกับปริมาณการดูดซึมของผักกาดเขียวปลี ทำการทดลองกับดินในกระถางที่เป็นดินร่วนปนทรายที่มีอินทรีย์วัตถุสูงและเป็นกรดเล็กน้อย โดยเติมโลหะหนักเป็นธาตุเดี่ยว 3 ระดับการเติม คือ 1) ดินที่ไม่เติมโลหะ 2) ความเข้มข้นระดับต่ำตามปริมาณที่ยอมรับให้มีได้ในดิน และ 3) ความเข้มข้นระดับสูงอ้างอิงจากพื้นที่ปนเปื้อนรุนแรง ผลการวิจัย พบว่า ธาตุโลหะหนักทั้งห้าชนิดตอบสนองต่อการเพิ่มระดับการเติมโลหะในดินตามพฤติกรรมความชอบดูดซับกับองค์ประกอบต่างๆ ของดิน ได้แก่ แคดเมียมและสังกะสีในรูปออกไซด์ ทองแดงในรูปอินทรีย์ ธาตุตะกั่วและโครเมียมในผลึกแร่และรูปอินทรีย์ การเพิ่มแคดเมียม สังกะสีและทองแดงลงในดินทำให้ธาตุในรูปแลกเปลี่ยนได้และรูปคาร์บอเนตในดินเพิ่มขึ้นโดยมีความสัมพันธ์กับระดับการเติมแบบ L-curve ในแคดเมียมและสังกะสี และแบบ S-curve ในทองแดง แต่ไม่พบในการเพิ่มในธาตุตะกั่วและโครเมียม การเพิ่มขึ้นของรูปแลกเปลี่ยนได้และรูปคาร์บอเนตมีความสัมพันธ์กับความเข้มข้นของแคดเมียม สังกะสีและทองแดงในพืช แต่ค่าสหสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มข้นของโลหะหนักในพืชกับปริมาณในรูปแลกเปลี่ยนได้มีสูงอย่างมีนัยสำคัญกับทุกธาตุ ส่วนรูปคาร์บอเนตพบสหสัมพันธ์ในธาตุแคดเมียมและสังกะสีสรุปได้ว่า ปริมาณธาตุในรูปแลกเปลี่ยนได้ใช้เป็นตัวประเมินความเสี่ยงต่อการเคลื่อนย้ายและความพร้อมต่อการเข้าสู่สิ่งมีชีวิตครอบคลุมกับธาตุโลหะหนักทั้งห้าชนิด และอธิบายพฤติกรรมการเคลื่อนย้ายของโลหะหนักได้ดีกว่าปริมาณทั้งหมดในดิน

ABSTRACT

Mobility of metal as Cd, Zn, Cu, Pb and Cr were studied to determine effect of spiked concentration on metals fractions using sequential extraction procedure to identify metal in five forms, i.e., water soluble, exchangeable fraction, carbonate bound, oxide bound, organic bound and crystal lattice or interlayer and their relationship to metal uptake of Chinese mustard. Experiment had performed with sandy loam texture, high OM and slightly acid soil. Pot soils were spiked with single element metals at 3 concentrations; 1) no spiked 2) low level with regard to allowable level and 3) high level with regard to the severe contaminated land. The result

showed that the response of metals on spiked concentration related to their affinity to soil components such as cadmium and zinc in oxide fraction, copper in organic fraction, lead and chromium in crystal lattice and organic fraction. Effect of spiked concentration of cadmium, zinc and copper clearly explicated on exchangeable and carbonate fraction but not significant in lead and chromium. Concentration relationship of cadmium and zinc exhibited L-curve, while, copper exhibited S-curve. The relationships between the exchangeable fraction in soil and concentration in plant was significant correlated in cadmium, zinc and copper case, but carbonate fraction was significant correlated in cadmium and zinc case. The study provide the evident supported the applicable of exchangeable fraction on mobility and bioavailability of five metals in soil and conclude that metal fraction provide a better indicator for metal mobility and bioavailability than total metal content.

คำสำคัญ: โลหะหนัก, ดิน, การเคลื่อนย้าย, การสกัดตามลำดับ, การดูดซึม, ผักกาดเขียวปลี

Keywords: Heavy metals, Soil, Mobility, Sequential extraction, Uptake, Chinese Mustard

บทนำ

โลหะหนัก (heavy metal) ในดินเป็นกลุ่มของธาตุที่มีปริมาณเล็กน้อยตามธรรมชาติ (trace element) บางชนิดเป็นธาตุที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของสิ่งมีชีวิตในรูปธาตุอาหารเสริมของพืช (micronutrient) บางชนิดจัดว่าเป็นธาตุพิษ (toxic element) ที่เป็นอันตรายต่อสิ่งมีชีวิตที่ดูดซึมและรับสัมผัส ดินทั่วไปอาจมีธาตุโลหะหนักตามธรรมชาติในระดับที่ไม่เป็นอันตรายต่อพืช สัตว์และสิ่งมีชีวิตการปนเปื้อนโลหะหนักในดินจากการแพร่กระจายของเสียจากเหมืองแร่ แหล่งอุตสาหกรรมและพื้นที่ฝังกลบขยะรวมทั้ง การใช้สารปรับปรุงบำรุงดินที่มีธาตุโลหะหนักเจือปน ทำให้เกิดการปนเปื้อนในระดับที่สูงกว่าเกณฑ์มาตรฐานเกิดเป็นดินที่มีปัญหาปนเปื้อนมีผลต่อสมดุลทางกายภาพ เคมี และชีวภาพในดินและเกิดการแพร่กระจายไปสู่พืชและห่วงโซ่อาหาร ส่งผลเสียต่อสุขภาพของทรัพยากรดินในด้านการเป็นแหล่งเพาะปลูกและด้านการรักษาคุณภาพสิ่งแวดล้อม

ระดับความเสี่ยงของการปนเปื้อนโลหะหนักในดินต่อสิ่งมีชีวิต โดยทั่วไปประเมินจากตัวบ่งชี้ได้แก่ ปริมาณทั้งหมดในดิน (total content) ปริมาณที่เป็นประโยชน์หรือที่เคลื่อนย้ายสู่สิ่งแวดล้อมได้ง่าย (available content) และปริมาณที่ดูดซึมไปในส่วนต่างๆของพืช (plant uptake) ปริมาณทั้งหมดของโลหะในดินเป็นวิธีที่วิเคราะห์ได้ง่ายและมีขั้นตอนไม่ซับซ้อน แต่มีความสัมพันธ์ของค่าวิเคราะห์กับความพร้อมเข้าสู่สิ่งมีชีวิต (bioavailability) ความเป็นพิษของโลหะหนักและปริมาณการดูดซึมเข้าสู่พืชค่อนข้างต่ำ การแปลผลค่าดังกล่าวจำเป็นต้องใช้สมบัติดินอื่น เช่น ขนาดอนุภาคดิน ความเป็นกรดเป็นด่างและค่า

ความจุแลกเปลี่ยนแคตไอออนของดินเป็นตัวแปรร่วมในสมการถดถอย (Novotná et al., 2015) ปริมาณโลหะหนักทั้งหมดในดินไม่สะท้อนถึงความแข็งแรงของการดูดซับกับองค์ประกอบที่แตกต่างกันเช่น คาร์บอนเนต เหล็กและแมงกานีสออกไซด์และแร่ดินเหนียว (Tack and Verloo, 1995; Baize, 2006) ที่มีความสำคัญเนื่องจากองค์ประกอบเหล่านี้ส่งผลให้ดินแสดงพฤติกรรมการดูดซับโลหะหนักในแง่ความมากน้อย (intensity) และความชอบ (affinity) ของการดูดซับที่อธิบายได้โดย 4 isotherm ได้แก่ แบบ S-curve มีลักษณะความชอบน้อยความเข้มข้นต่ำและเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้น การดูดซับลดลงจนกระทั่งหยุดเมื่อพื้นผิวดูดซับเต็มแบบ L-curve แสดงความชอบสูงเมื่อความเข้มข้นต่ำและลดลงเมื่อความเข้มข้นมากขึ้นเนื่องจากพื้นที่ผิวที่ว่างเหลือน้อยลง แบบ H-curve แสดงถึงความสัมพันธ์ระหว่างตัวถูกดูดซับกับพื้นผิวดูดซับที่สูงมากเนื่องจากมีการตรึงเข้าสู่ช่องว่างภายในอนุภาคและ แบบ C-curve แสดงการดูดซับบนพื้นผิวโดยพันธะระหว่างตัวถูกดูดซับกับพื้นผิวดูดซับที่ไม่จำเพาะเจาะจง (Sparks, 1995) พฤติกรรมเหล่านี้สะท้อนถึงการดูดซับและปลดปล่อยออกจากอนุภาคดินปริมาณโลหะหนักในพืชเป็นวิธีประเมินที่บ่งถึงความเป็นประโยชน์ของธาตุโลหะหนักในดินต่อพืชได้โดยตรง แต่การใช้ตัวบ่งชี้ในการทดลองต้องใช้ระยะเวลาารับสัมผัสที่เพียงพอ ประกอบกับ การดูดซึมโลหะหนักมีความเฉพาะเจาะจงกับชนิดและส่วนของพืชและมีปัจจัยที่เกี่ยวข้องหลายด้าน เช่น ชนิด พันธุ์และอายุ รวมทั้งตัวแปรของสภาพอากาศ

พฤติกรรมของธาตุต่างๆในดินถูกควบคุมโดยองค์ประกอบต่างๆของดิน รูปของธาตุ (fractions) ที่วิเคราะห์ได้โดยวิธีการสกัดตามลำดับ (sequential extraction: SQE) เป็นการหาปริมาณธาตุที่สัมพันธ์กับองค์ประกอบต่างๆของดิน (Tessier et al., 1979) วิธีการวิเคราะห์ถูกพัฒนาขึ้นหลายกระบวนการ โดยทั่วไป ค่าที่วิเคราะห์ได้แสดงถึงเป็นปริมาณในรูปต่างๆ ได้แก่ 1) รูปที่ละลายในสารละลายดิน (water soluble form) เป็นธาตุที่แตกตัวเป็นไอออนอิสระในสารละลายดิน 2) รูปแลกเปลี่ยนได้ (exchangeable form) ที่ดูดซับด้วยกลไกที่ไม่จำเพาะ (non-specific) บนพื้นผิวแลกเปลี่ยนไอออนของคอลลอยด์ดิน 3) รูปคาร์บอเนต (carbonate form) ที่ตกตะกอนกับคาร์บอเนตในดิน 4) รูปออกไซด์ (oxide form) ที่เกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนกับแร่ออกไซด์ในดิน 5) รูปอินทรีย์ (organic form) เกิดสารประกอบเชิงซ้อนหรือคีเลตกับอินทรีย์วัตถุในดิน และ 6) รูปที่ถูกตรึงในหลัป (crystal lattice or interlayer) ของแร่ดินเหนียวลูมิโนซิลิเกตในดินซึ่งจัดเป็นรูปที่ตกค้าง (residue form) อยู่อย่างยาวนานในดิน (Tessier et al., 1979; McBride, 1980) ข้อมูลที่ได้สามารถบ่งชี้ได้ถึงความสามารถในการเคลื่อนย้าย (mobility) ซึ่งเป็นความพร้อมของธาตุในการเคลื่อนย้ายออกจากดินไปสู่ตัวกลางอื่น เช่น น้ำและพืช รวมทั้งสิ่งมีชีวิตต่างๆแบ่งได้เป็น 3 ส่วน ได้แก่ 1) ส่วนที่พร้อมเคลื่อนที่ (readily mobile fraction) ประกอบด้วยรูปละลายได้และรูปแลกเปลี่ยนได้ 2) ส่วนที่เคลื่อนย้ายได้ (mobilized fraction) ประกอบด้วย รูปคาร์บอเนต รูปออกไซด์ และรูปอินทรีย์ และ 3) ส่วนที่ไม่เคลื่อนย้าย (immobile fraction) คือ รูปที่ถูกตรึงในหลัปของแร่ดินเหนียวหรือรูปที่เหลือตกค้างในดิน (Tessier et al., 1979; McBride, 1980) ข้อมูลที่ได้สัมพันธ์กับองค์ประกอบและสมบัติของดิน และนำไปใช้แปรผลในด้านความสามารถในการเคลื่อนย้ายและความพร้อมเข้าสู่สิ่งมีชีวิตของธาตุต่างๆ รวมทั้งโลหะหนักได้โดยตรงโดยไม่ขึ้นกับปัจจัยด้านพืชและสิ่งแวดล้อม

รูปของโลหะหนักในดินมีการเปลี่ยนแปลงได้ตามองค์ประกอบดิน ระดับพีเอชและศักย์รีดอกซ์ของดิน และอาจมีการเปลี่ยนแปลงได้ตามระดับความเข้มข้นของการปนเปื้อนโลหะหนักในดินที่เพิ่มขึ้นทั้งโดยตั้งใจและไม่ตั้งใจ การปนเปื้อนร่วมโดยสารประกอบอื่นที่มีปฏิสัมพันธ์กับโลหะหนักอาจส่งผลต่อรูปของโลหะหนักต่างๆ แตกต่างกัน การเปลี่ยนแปลงรูปของโลหะหนัก

สามารถส่งผลต่อการตอบสนองของปริมาณการเคลื่อนย้ายเข้าสู่พืชแตกต่างกัน การศึกษาวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษารูปของโลหะหนักที่เปลี่ยนแปลงตามระดับการปนเปื้อนและความสัมพันธ์กับปริมาณการดูดซึมเข้าสู่พืชตามอายุพืช ข้อมูลที่ได้สามารถใช้เป็นตัวบ่งชี้ที่อธิบายพฤติกรรมการเคลื่อนย้ายโลหะหนักที่เป็นผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงสภาพการปนเปื้อนของดินได้ต่อไป

วิธีการดำเนินการวิจัย

ตัวอย่างดินที่ใช้ทำการศึกษา

การศึกษาการเคลื่อนย้ายของโลหะหนักในดินใช้ตัวอย่างดินเนื้อหยาบที่มีวัตถุต้นกำเนิดเป็นตะกอนลำนํ้าเก่าของหินตะกอนเนื้อหยาบที่เก็บในขอบเขตหน่วยแผนที่ชุดดินโคราช (Kt) (สำนักสำรวจและวิจัยทรัพยากรดิน, 2554) จากพื้นที่เกษตรบ้านหนองกว้างลี ตำบลดอนทอง อำเภอเมือง จังหวัดพิษณุโลก เก็บตัวอย่างดินที่ระดับความลึก 0-15 เซนติเมตร นำไปผึ่งและร่อนเพื่อใช้ทำการทดลองและทำการวิเคราะห์สมบัติของดิน ประกอบด้วย ความเป็นกรด-ด่างของดิน (ดิน : น้ำ 1 : 1) สัดส่วนขนาดอนุภาค (Hydrometer Method) ปริมาณอินทรีย์วัตถุในดิน (Walkley Black modified method) และความจุแลกเปลี่ยนไอออนบวกของดิน (Ammonium saturation method)

การศึกษาการเปลี่ยนแปลงการเคลื่อนย้ายโลหะหนัก

การศึกษาการเคลื่อนย้ายของโลหะหนักในดินเป็นการทดลองเพื่อวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงรูปของโลหะในดินและปริมาณการดูดซึมโดยพืช ศึกษาโลหะหนัก 5 ชนิด ได้แก่ แคดเมียม (Cd) สังกะสี (Zn) ทองแดง (Cu) ตะกั่ว (Pb) และโครเมียม (Cr) ทำการทดลองโดยเติมโลหะหนักในดินให้ปนเปื้อนโลหะหนักเป็นธาตุเดี่ยว 3 ระดับ คือ 1) None: ดินที่ไม่เติมโลหะ (มีโลหะหนักในดินเดิม) 2) Low: การเติมระดับต่ำที่อ้างอิงกับปริมาณที่ยอมรับให้มีได้ในดินเพื่อการเกษตรในหลายประเทศ ประกอบด้วย Cd, Zn, Cu, Pb และ Cr เข้มข้น 0.25, 2.0, 2.0, 0.5 และ 0.5 มิลลิโมลต่อกิโลกรัม ตามลำดับ และ 3) High: การเติมระดับสูงที่อ้างอิงจากข้อมูลความเข้มข้นในดินปนเปื้อนรุนแรงในหลายพื้นที่ ประกอบด้วย Cd, Zn, Cu, Pb และ Cr เข้มข้น 2.0, 6.1, 3.2, 2.0 และ 2.0 มิลลิโมลต่อกรัม ตามลำดับและศึกษาพฤติกรรมโลหะหนักที่เปลี่ยนแปลงตามระดับความเข้มข้น

การเตรียมตัวอย่างดินที่ปนเปื้อนใช้ดินเนื้อหยาบที่ผึ่งแห้งและร่อนผ่านตะแกรงขนาด 2 มิลลิเมตร ผสมกับสารละลายโลหะหนักที่เตรียมจากสารประกอบโลหะหนักเกรดห้องปฏิบัติการ (laboratory grade) ค่าความบริสุทธิ์ต่างๆ ได้แก่ $\text{CdNO}_3 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (99%), $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (98%), $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot 2.5\text{H}_2\text{O}$ (98%), $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ (99.5%) และ $\text{Cr}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ (98%) โดยผสมดินกับสารละลายโลหะหนักแต่ละชนิดตามความเข้มข้นที่กำหนด คลุกเคล้าให้สม่ำเสมอแล้วผึ่งดินให้แห้ง ตัวอย่างดินที่ไม่เติมโลหะหนักใช้การคลุกเคล้ากับน้ำกลั่นในปริมาตรเท่ากับสารละลายโลหะหนัก

การทดลองเพื่อศึกษาการดูดซึมโลหะหนักของพืชใช้ดิน 500 กรัมต่อกระถางและปลูกผักกาดเขียวปลี หรือ Chinese mustard (*Brassica juncea* (L.) Czern) เป็นพืชทดสอบ เนื่องจากเป็นพืชที่สามารถดูดซึมโลหะหนักได้สูง (hyperaccumulation plant) (Gupta and Sinha, 2007 และ Kumari and Singh, 2011) วางกระถางในโรงเรือนแบบสุ่มตลอด (Completely Random Design) จำนวน 3 ซ้ำ หลังจากดินในกระถางผ่านการปรับตัวเป็นเวลา 30 วันแล้วจึงทำการย้ายกล้าผักกาดเขียวปลีที่มีอายุ 20 วันลงปลูกกระถางละ 1 ต้น ทำการให้น้ำรักษาระดับความชื้นดินที่ 89% ของความจุ้มน้ำของดินที่หาโดยวิธี Harding and Ross (1964) ตลอดการทดลอง และเก็บตัวอย่างที่ระยะ 0 วัน 45 วัน และ 70 วันหลังการย้ายกล้านำตัวอย่างดินและพืชไปวิเคราะห์ปริมาณโลหะหนักทั้งหมดในดินปริมาณโลหะหนักในรูปแบบต่างๆในดินและปริมาณโลหะหนักทั้งหมดในพืช

การเปรียบเทียบอิทธิพลของความเข้มข้นของโลหะหนักที่เพิ่มลงในดินต่อรูปของโลหะหนักและการดูดซึมโดยวิธีวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) และ เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้ Duncan's Multiple range test ที่ $\alpha = 0.05$ และใช้ค่าสหสัมพันธ์ Pearson Correlation ที่ $\alpha = 0.01$ หาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณโลหะหนักรูปแบบต่างๆ กับปริมาณในต้นพืช

การวิเคราะห์ปริมาณโลหะหนักในดินและพืช

ปริมาณโลหะหนักทั้งหมดในดินและปริมาณโลหะในพืชใช้วิธีย่อยด้วยกรดผสม $\text{HClO}_4/\text{HNO}_3$ (2:1) และวัดความเข้มข้นของโลหะหนักด้วยวิธี Atomic Absorption Spectrophotometer (AAS)

การวิเคราะห์โลหะหนักโดยวิธี sequential extraction

ความสามารถในการเคลื่อนย้าย (mobility) ของโลหะหนักประเมินจากปริมาณโลหะหนักรูปแบบต่างๆ (forms) ที่วิเคราะห์จากวิธีสกัดตามลำดับ (sequential extraction) (Tessier, 1979) ประกอบด้วยการสกัดโดยสารสกัดต่างชนิดต่อเนื่องกัน 5 ขั้นตอนและวิเคราะห์ปริมาณโลหะหนักในสารสกัดที่มีการปลดปล่อยออกจากรูปแบบต่างๆในแต่ละขั้นตอน ดังนี้ ขั้นแรก F1: ใช้ตัวอย่างดินแห้ง 2 กรัมใน centrifuge tube สกัดด้วยน้ำกลั่น (deionized water) 20 มิลลิลิตร เขย่าที่อุณหภูมิ 25°C เป็นเวลา 1 ชั่วโมงแล้วนำไปปั่นเหวี่ยง (centrifuge) ที่ความเร็ว 10,000 รอบต่อนาที 30 นาที กรองสารละลายใส่ไว้วิเคราะห์ปริมาณโลหะหนักในรูปแบบที่ละลายได้ (WTS: water soluble form) ขั้นที่สอง F2: สกัดตะกอนที่เหลือจาก F1 ด้วยสารละลาย 1 M NH_4OAc pH7 ปริมาตร 20 มิลลิลิตร เขย่าที่อุณหภูมิ 25°C เป็นเวลา 2 ชั่วโมงแล้วปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 10,000 รอบต่อนาที 30 นาทีกรองสารละลายใส่ไว้วิเคราะห์ปริมาณธาตุโลหะรูปแบบที่แลกเปลี่ยนได้ (EXC: Exchangeable Fraction) ขั้นที่สาม F3: สกัดตะกอนที่เหลือจาก F2 ด้วยสารละลาย 1 M NH_4OAc pH5 ปริมาตร 20 มิลลิลิตร 20 มิลลิลิตร เขย่าที่อุณหภูมิ 25°C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง แล้วปั่นเหวี่ยง 10,000 รอบต่อนาที 30 นาที กรองสารละลายใส่ไว้วิเคราะห์ธาตุโลหะรูปแบบที่ยึดในรูปคาร์บอเนต (CBN: Carbonate Bound Fraction) ขั้นที่สี่ F4: สกัดตะกอนที่เหลือจาก F3 ด้วย 0.04 M $\text{NH}_4\text{OH} \cdot \text{HCl}$ in 25% (v/v) HOAc 20 มิลลิลิตร ใน water bath ที่ 85°C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง เขย่าที่อุณหภูมิ 25°C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง แล้วปั่นเหวี่ยง 10,000 รอบต่อนาที 30 นาที กรองสารละลายใส่ไว้วิเคราะห์หาปริมาณโลหะรูปแบบที่ยึดกับออกไซด์ในดิน (OXD: Oxide Bound Fraction) ขั้นที่ห้า F5: สกัดตะกอนที่เหลือจาก F4 ด้วย 0.02 M HNO_3 3 มิลลิลิตร และ 30% H_2O_2 ที่ pH 2 (ปรับ pH ด้วย HNO_3) 5 มิลลิลิตร ใน water bath ที่ 85°C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง เมื่อเย็นเติม 3.2 M NH_4OAc in 20% HNO_3 ปริมาตร 5 มิลลิลิตรและปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น 20 มิลลิลิตรเขย่าที่อุณหภูมิ 25°C เป็นเวลา 1 ชั่วโมงแล้วปั่นเหวี่ยง 10,000 รอบต่อนาที 30 นาที กรองสารละลายใส่ไว้วิเคราะห์หาปริมาณโลหะรูปแบบที่ยึดกับอินทรีย์สารในดิน (ORG: Organic Bound Fraction) และขั้นสุดท้าย F6: ซังตะกอนที่เหลือจาก F5 อบแห้งแล้ว 1 กรัม สกัดด้วย 7 M HNO_3 10 มิลลิลิตร ที่ 85°C 6 ชั่วโมงบน hot plate

หลังจากน้ำระเหย เดิม 2 M HNO₃ 1 มิลลิลิตร ปรับปริมาตร ส่วนที่ละลายแล้วด้วยน้ำกลั่น 10 มิลลิลิตร นำไปวิเคราะห์ ปริมาณโลหะรูปที่ตกค้างหรือถูกตรึงในผลึกแร่ LTC: Crystal Lattice Fraction) ในทุกชั้นตอนล้างตะกอนดินที่เหลือน้ำกลั่น 10 มิลลิลิตร ก่อนนำไปสกัดชั้นตอนต่อไปวิเคราะห์ปริมาณ โลหะหนักในสารสกัดแต่ละชั้นตอนด้วยวิธี Atomic Absorption Spectrophotometer (AAS) คำนวณค่าสัดส่วนของโลหะหนัก รูปต่างๆ (%Fraction) จากค่าร้อยละของรูปใดๆ (F(i)) ต่อผลรวม ของ F1 F2 F3 F4 และ F5 ในหน่วยมิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ดัง สมการ

ตารางที่ 1 สมบัติดินที่ทำการศึกษา

สมบัติดิน	ค่า
Clay, %	10.7
Soil Texture	Sandy Loam
pH (H ₂ O)	6.5
OM, %	2.03
Total Cadmium, mg.kg ⁻¹	0.3
Total Zinc, mg.kg ⁻¹	27.4
Total Copper, mg.kg ⁻¹	2.7
Total Lead, mg.kg ⁻¹	24.6
Total Chromium, mg.kg ⁻¹	3.8

การเปลี่ยนแปลงรูปของโลหะหนักตามระดับความเข้มข้น

ปริมาณโลหะหนักรูปต่างๆ ตามวิธีสกัดตามลำดับ (SQE) ได้แก่ รูปที่ละลายได้ (WTS) รูปที่แลกเปลี่ยนได้ (EXC) รูป คาร์บอเนต (CBN) รูปออกไซด์ (OXD) รูปที่ยึดกับอินทรีย์สาร (ORG) และโลหะในหลิบบรรดินเหนียว (LTC) ของดินที่ระดับการ เติบโตโลหะหนักต่ำและสูงเปรียบเทียบกับดินที่ไม่เติมโลหะหนัก แสดงในตารางที่ 2 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าสัดส่วนของรูปต่างๆ (%Fraction) กับระดับการเติมธาตุ Cd Zn Cu Pb และ Cr แสดงในรูปที่ 1

$$\% \text{Fraction}(i) = \frac{100 \times F(i)}{(F1 + F2 + F3 + F4 + F5 + F6)}$$

ผลการวิจัย

สมบัติดินที่ทำการศึกษา

ดินที่ใช้ในการทดลองเป็นดินร่วนปนทราย มีค่าความจุ แลกเปลี่ยนไอออนบวกสูง มีปริมาณอินทรีย์วัตถุอยู่ในระดับปาน กลางและมีความเป็นกรดเล็กน้อยดังข้อมูลในตารางที่ 1 ดินที่ นำมาใช้ทำการทดลองมีปริมาณ Cu Pb Cd Zn และ Cr ใน ระดับที่ไม่เกินค่ามาตรฐานของดินที่ใช้ประโยชน์ทางการเกษตร

ดินที่นำมาใช้ทำการทดลองมีปริมาณ Cd ทั้งหมด 0.3 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ซึ่งเป็นปริมาณต่ำจึงไม่สามารถตรวจพบการ กระจายของธาตุในรูปต่างๆ ได้ การเพิ่มธาตุในดินที่ระดับต่ำ (0.25 มิลลิโมลต่อกิโลกรัม) ทำให้มีรูปต่างๆ เพิ่มขึ้นเรียงลำดับได้ เป็น OXD>CBN>ORG>EXC และการเติมที่ระดับสูง (2.0 มิลลิ- โมล ต่อกิโลกรัม) ทำให้รูปต่างๆ มีลำดับ เป็น OXD>CBN>EXC>ORG ระดับการเติมธาตุ Cd ลงในดินทั้งระดับ ต่ำและระดับสูงมีผลทำให้ปริมาณธาตุทุกรูปในดินมีค่าเพิ่มขึ้น อย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ยกเว้นรูป WTS และ LTC

ตารางที่ 2 ปริมาณธาตุโลหะหนักในดินที่วิเคราะห์โดยการสกัดตามลำดับ

Spiked	Conc.,	Cd in each fraction, mg.kg ⁻¹					
Level	mmole/kg	WTS	EXC	CBN	OXD	ORG	LTC
None	0	0.00	0.00a	0.08a	0.00a	0.00a	0.00
Low	0.25	0.00	1.92b	5.44a	9.62b	2.51ab	0.00
High	2.0	0.00	28.21c	32.48b	38.35c	12.47b	0.00
Spiked	Conc.,	Zn in each fraction, mg.kg ⁻¹					
Level	mmole/kg	WTS	EXC	CBN	OXD	ORG	LTC
None	0	0.71a	1.46a	3.93a	7.88a	5.51a	7.88
Low	2.0	1.14ab	11.81b	18.06b	29.93b	16.94b	7.64
High	6.1	1.68b	29.42c	36.91c	38.44c	25.30b	7.81
Spiked	Conc.,	Cu in each fraction, mg.kg ⁻¹					
Level	mmole/kg	WTS	EXC	CBN	OXD	ORG	LTC
None	0	0.00a	0.00a	0.00a	0.89a	2.59a	3.18a
Low	2.0	0.09a	1.51a	9.04a	23.83a	82.79b	8.37b
High	3.2	0.39b	16.79b	51.77b	85.74b	156.41c	10.35b
Spiked	Conc.,	Pb in each fraction, mg.kg ⁻¹					
Level	mmole/kg	WTS	EXC	CBN	OXD	ORG	LTC
None	0	4.93	2.86a	4.36a	4.61a	7.25a	7.96
Low	0.5	4.77	2.86a	9.060a	29.09a	52.52a	23.88
High	2.0	4.84	11.83b	67.21b	203.92b	279.18b	98.55
Spiked	Conc.,	Cr in each fraction, mg.kg ⁻¹					
Level	mmole/kg	WTS	EXC	CBN	OXD	ORG	LTC
None	0	0.36	0.81	0.39	1.26	0.75a	4.60
Low	0.5	0.05	0.30	0.54	4.30	16.26b	4.33
High	2.0	0.27	0.73	1.28	9.92	59.91c	4.79

การเติม Cd ลงในดินมีผลต่อสัดส่วนของรูปต่างๆ (%fraction) ดังรูปที่ 1a แสดงให้เห็นว่ารูป EXC, CBN และ OXD มีสัดส่วนเพิ่มสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ตามระดับการเติมในดิน โดยรูป ORG และ WTS ไม่พบการเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ แสดงถึงความชอบต่อการดูดซับ (affinity) สูงกับรูปที่แลกเปลี่ยนได้ คาร์บอเนตและออกไซด์ โดยเส้นกราฟของ EXC มีลักษณะเป็น L-curve ส่วน CBN และ OXD เป็น H-curve

ธาตุ Zn ในดินเมื่อเริ่มต้นการทดลองมีปริมาณธาตุของรูปต่างๆ เป็น $LTC \approx OXD > ORG > CRB > EXC > WTS$ และเมื่อเติมธาตุลงไปในดินทำให้มีปริมาณธาตุรูปต่างๆ เป็น $OXD > CBN > ORG > EXC > LTC > WTS$ ที่ระดับต่ำ และ $OXD > CBN > EXC > ORG > LTC > WTS$ ที่ระดับสูง การเติมธาตุชนิดนี้ลงไปในดินมีผลต่อปริมาณของธาตุทุกรูปยกเว้นรูป LTC

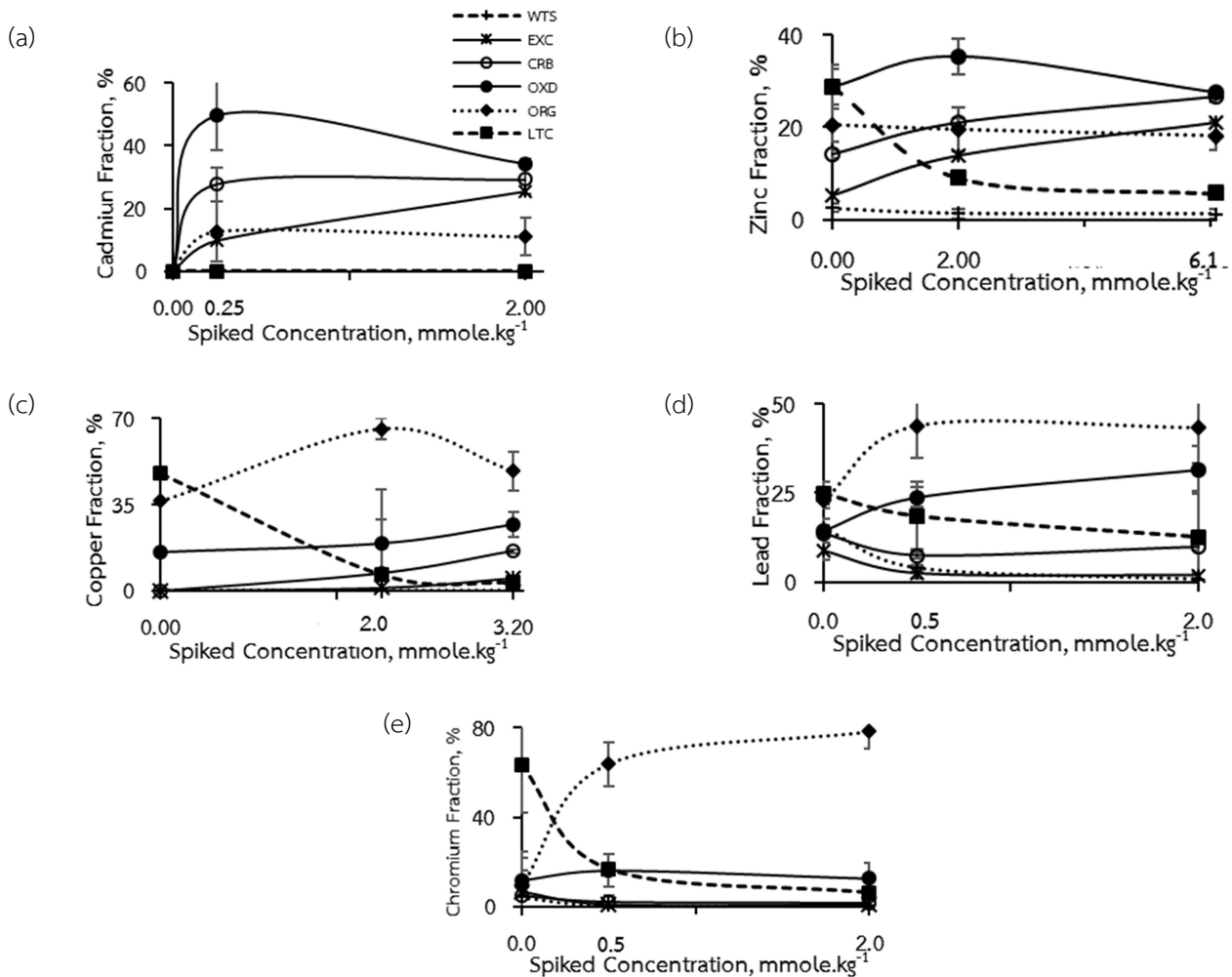
การเติมธาตุชนิดนี้ลงไปในดินมีผลอย่างมีนัยสำคัญต่อการเพิ่มขึ้นของปริมาณในรูป EXC, CBN, OXD และ ORG ที่ระดับ 2.0 มิลลิโมลต่อกิโลกรัมและมีผลต่อ WTS, EXC, CBN, OXD และ ORG ที่ระดับ 6.1 มิลลิโมลต่อกิโลกรัม การเติม Zn ลงในดินมีผลต่อสัดส่วน (%fraction) ของธาตุในรูป EXC และ CBN อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) สัดส่วนของทั้งสองรูปสัมพันธ์กับระดับการเติมแบบ L-curve ดังรูปที่ 1b

ดินมีปริมาณ Cu ทั้งหมดก่อนการทดลองเป็น 2.7 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม มีปริมาณธาตุในรูปต่างๆ เรียงลำดับเป็น $LTC > ORG > OXD$ เมื่อเติมธาตุลงไปในดินทำให้มีปริมาณธาตุรูปต่างๆ เป็น $ORG > OXD > CBN > LTC > EXC > WTS$ ที่ระดับต่ำ และ $ORG > OXD > CBN > EXC > LTC > WTS$ ที่ระดับสูง การเติมเติมธาตุชนิดนี้ลงไปในดินที่ระดับต่ำทำให้ปริมาณในรูป ORG และ LTC

เพิ่มขึ้นและการเติมที่ระดับสูงทำให้ปริมาณในดินในทุกกลุ่มเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับดินที่ไม่มีการเติม

การเติม Cu ลงในดินมีผลต่อสัดส่วนของรูปต่างๆ (%fraction) ดังรูปที่ 1c โดยรูป EXC CBN และ ORG มีสัดส่วนเพิ่มสูงขึ้นส่วนรูป LTC มีสัดส่วนลดลงตามระดับการเติมอย่างมีนัยสำคัญ แสดงถึงความชอบต่อรูป EXC CBN และ ORG โดย

รูป ORG เพิ่มขึ้นแบบ L-Curve ในช่วงแรกและลดลงที่ระดับ 2.0 มิลลิโมลต่อกิโลกรัม ส่วนรูป EXC และ CBN มีการเพิ่มในลักษณะ S-CURVE โดยเส้นกราฟของ EXC มีความชันสูงขึ้นที่ระดับการเติม 2.0 มิลลิโมลต่อกิโลกรัม ส่วนค่าสัดส่วนของรูป OXD และ WTS ไม่มีความสัมพันธ์กับระดับการเติมอย่างมีนัยสำคัญ



รูปที่ 1 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าสัดส่วนของรูปต่างๆกับความเข้มข้นของโลหะหนักที่เติมลงในดินของธาตุ (a) Cd (b) Zn (c) Cu (d) Pb และ (e) Cr (เส้นทึบและเส้นประแสดงการเปลี่ยนแปลงอย่างมีและไม่มีนัยสำคัญที่ $\alpha = 0.05$ และ ชีตบนเส้นกราฟแสดงค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน)

ธาตุ Pb ในดินเมื่อเริ่มต้นการทดลองมีปริมาณรูปต่างๆ เป็น LTC>ORG>WTS>OXC>CBN>EXC เมื่อเติมธาตุลงไปดินมีผลต่อการเปลี่ยนแปลง โดยทำให้มีปริมาณธาตุรูปต่างๆเป็น ORG>OXD>LTC>CBN>WTS>EXC ที่การเติมระดับต่ำ และ ORG>OXD>LTC>CBN>EXC>WTS ที่ระดับสูง การเติมธาตุลงในดินที่ระดับต่ำปริมาณ 0.5 มิลลิโมลต่อกิโลกรัม ไม่มีผลต่อการ

เปลี่ยนแปลงปริมาณของทุกรูป การเติมที่ระดับสูงในปริมาณ 2.0 มิลลิโมลต่อกิโลกรัม มีผลทำให้รูป EXC CBN OXC และ ORG เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) เมื่อเทียบกับดินที่ไม่เติมและที่เติมในระดับต่ำ สัดส่วน (%fraction) ของธาตุในรูป WTS และ EXC มีค่าลดลงตามระดับการเติมลงดิน ส่วนรูป OXD และ ORG มีเส้นกราฟเพิ่มขึ้นในลักษณะ L-Curve และ H-Curve ดังรูปที่

1d อย่างไรก็ตามธาตุ Pb ที่เติมลงในดินสามารถถูกตรึงเข้าสู่หีบของแร่ได้ โดยรูปผลึกแร่มีปริมาณเพิ่มขึ้นจาก 7.96 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมในดินที่ไม่เติม เป็น 23.88 และ 98.55 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ในดินที่เติมระดับต่ำและสูงตามลำดับ

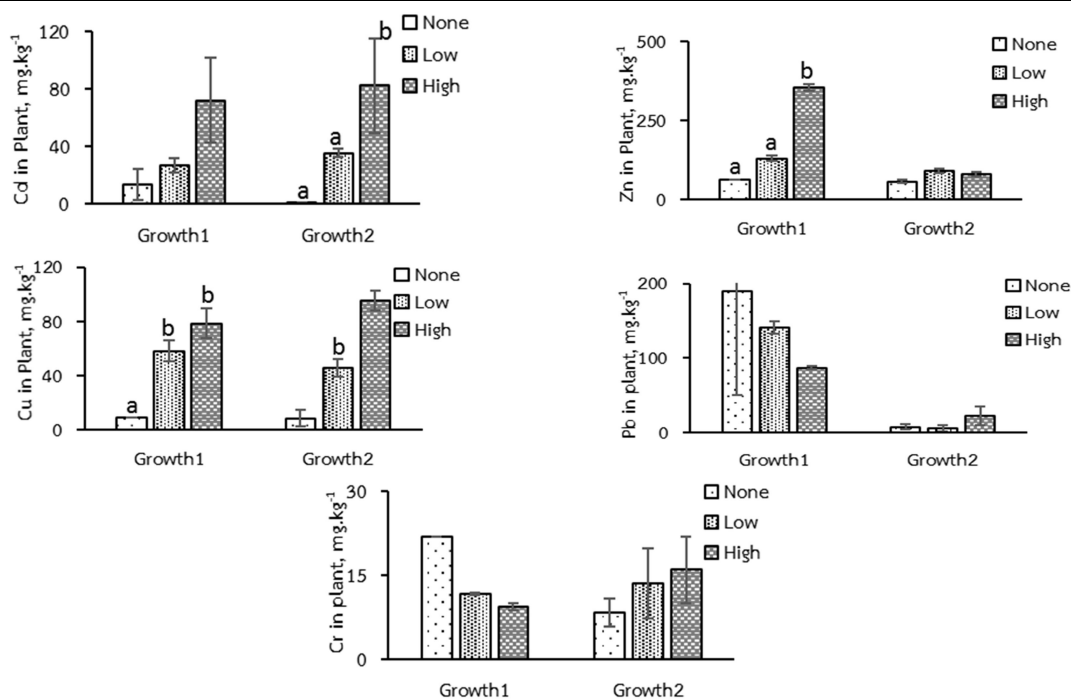
ธาตุ Cr ในดินเริ่มต้นการทดลองมีปริมาณของธาตุในรูปต่างๆเป็น LTC>OXD>EXC>ORG>CBN≈WTS เมื่อเติมธาตุชนิดนี้ลงไปดินทำให้มีปริมาณธาตุรูปต่างๆ เป็น ORG>LTC≈OXD>CBN>EXC>WTS ที่การเติมระดับต่ำ และ ORG>OXD>LTC>CBN>EXC>WTS ที่ระดับสูง การเพิ่มเติมธาตุ Cr ลงในดินมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณของรูป ORG เพียงรูปเดียว โดยมีค่าเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติทั้งสองระดับการเติม ($p \leq 0.05$) ค่าสัดส่วน (%fraction) ของรูป ORG มีการเพิ่มขึ้นลักษณะ L-Curve ดังรูปที่ 1e ดินมีการดูดซับ Cr ในรูปอินทรีย์ 63.7% และ 48.2% ที่ระดับการเติมต่ำและสูงตามลำดับ

การดูดซึมโลหะหลักในผักกาดเขียวปลี

ค่าความเข้มข้นของธาตุโลหะหนักในพืชแสดงในรูปที่ 2 และปริมาณการดูดซึมโลหะหนักทั้งหมดในพืชคำนวณจากค่าความเข้มข้นในพืชและปริมาณน้ำหนักแห้งของส่วนเหนือดินแสดงในตารางที่ 3 พบว่า การเพิ่มปริมาณ Cd Zn และ Cu ในดินมีผลต่อความเข้มข้นของธาตุดังกล่าวในพืช แต่ไม่พบอิทธิพลต่อปริมาณการดูดซึมเข้าสู่ต้นพืช การเติมโลหะหนักลงในดินทำให้ความเข้มข้นของโลหะหนักในต้นพืชสูงขึ้นจนมีผลกระทบต่อพืชที่มีการเจริญเติบโตลดลงเมื่อความเข้มข้นสูงขึ้น (ไม่แสดงข้อมูล) ปริมาณการดูดซึมโลหะหนักจึงไม่แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ อย่างไรก็ตาม การทดลองมีข้อจำกัดด้านความร่วมมือของสภาพโรงเรือนทดลองทำให้ต้นผักกาดเขียวปลีมีการเจริญเติบโตได้ไม่ดก

ตารางที่ 3 ปริมาณการดูดซึมธาตุโลหะหนักโดยพืช

Spiked Level	ปริมาณดูดซึมโดยพืช, mg pot ⁻¹				
	Cd	Zn	Cu	Pb	Cr
None	1.25	84.52	9.20	9.58	11.21
Low	44.58	58.94	50.39	5.07	20.65
High	30.85	61.71	13.15	21.37	18.98



รูปที่ 2 ปริมาณโลหะหนักในผักกาดเขียวปลีที่ 3 ระดับความเข้มข้น สองระยะการเจริญเติบโต (abc แสดงความแตกต่างของค่าเฉลี่ยที่ $\alpha = 0.05$ และขีดบนเส้นกราฟแสดงค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน)

การเปรียบเทียบความเข้มข้นของธาตุโลหะหนักในพืชตามระดับการเติมที่ระยะการเจริญเติบโต 45 และ 70 วัน พบว่าการเติมธาตุ Cu Zn และ Cd ลงในดินมีผลต่อการเพิ่มขึ้นของความเข้มข้นธาตุในต้นผักกาดเขียวปลี โดยความเข้มข้นของ Cu ในต้นพืชเพิ่มขึ้นที่ระยะ 45 และ 70 วัน ความเข้มข้นของธาตุ Cd ในพืชเพิ่มขึ้นที่ระยะ 70 วัน และธาตุ Zn ในพืชเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ที่ระยะ 45 วัน สำหรับความเข้มข้นของธาตุ Pb และ Cr ในพืชมีแนวโน้มลดลงที่ระยะ 45 วัน แต่ไม่แสดงความแตกต่างทางสถิติทั้งสองระยะการเจริญเติบโต

ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณในพืชกับรูปต่างๆในดิน

ค่าสหสัมพันธ์ระหว่างปริมาณโลหะหนักในพืชกับปริมาณรูปต่างๆ ในดินดังแสดงในตารางที่ 4 และ 5 แสดงให้เห็นว่า ความสัมพันธ์ดังกล่าวสอดคล้องกับการตอบสนองของการเปลี่ยนแปลงรูปต่อการเติมธาตุโลหะหนักลงในดิน ปริมาณ Cd ในพืชที่ระยะ 70 วันมีค่าสหสัมพันธ์ 0.815, 0.899 และ 0.835 กับปริมาณรูป EXE CRB และ OXC ตามลำดับ ปริมาณ Zn ในพืชที่ระยะ 45 วันมีค่าสหสัมพันธ์ 0.989 และ 0.946 กับปริมาณรูป EXE และ CRB ตามลำดับ และปริมาณ Cu ในพืชที่ระยะ 70 วันมีค่าสหสัมพันธ์ 0.916, 0.965 และ 0.928 กับธาตุในดินรูป EXE OXD และ ORG โดยมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99% ส่วนค่าสหสัมพันธ์ของปริมาณ Zn ในพืชไม่มีนัยสำคัญที่ระยะ 70 วัน สำหรับธาตุในกลุ่มหลัง พบว่า ค่าสหสัมพันธ์ระหว่างปริมาณ Pb และ Cr ในพืชไม่มีนัยสำคัญกับปริมาณของรูปต่างๆ ในดิน

วิจารณ์ผลการวิจัย

ดินที่ใช้ทำการศึกษาดทดลองเป็นดินเนื้อหยาบเกิดจากตะกอนน้ำพาเก่า (old alluvium) ข้อมูลการจำแนกจัดอยู่ในวงศ์ดิน Fine-loamy, siliceous, isohyperthermic (กรมพัฒนาที่ดิน, 2541) แร่หลักในกลุ่มอนุภาคดินเหนียวเป็นออกไซด์หรือแร่เฉื่อยซึ่งเป็นแร่ที่มีค่า point of zero charge ในช่วง 6.5 – 9.1 (Spark, 1995) ประกอบกับดินที่ศึกษามีความเป็นกรดเล็กน้อย ผิวแร่ออกไซด์ของเหล็กและอะลูมิเนียมเกิดการเติมโปรตอน (protonation) เกิดเป็นประจุบวกที่พื้นผิว ทำให้ดินมีปริมาณประจุลบต่ำ อย่างไรก็ตามปริมาณอินทรีย์วัตถุของดินมีค่าสูงถึง 2.03% ทำให้กระบวนการเก็บกักธาตุโลหะหนักเกิดได้จากกระบวนการอื่นๆที่นอกเหนือไปจากการแลกเปลี่ยนไอออน ได้แก่

การเกิดสารประกอบเชิงซ้อนหรือคีเลตกับอนุภาคอินทรีย์สารในดินที่ส่งผลต่อพฤติกรรม การดูดซับและการเคลื่อนย้ายของธาตุโลหะหนักของดิน

การตอบสนองของค่าสัดส่วนของโลหะหนักรูปต่างๆ (%fraction) ให้ข้อมูลพฤติกรรมด้านการเคลื่อนย้ายของธาตุโลหะหนักที่เพิ่มเติมลงไปในดินได้อย่างชัดเจน และสัมพันธ์กับความเข้มข้นในพืชที่สูงขึ้นตามระดับการเติม แต่ปริมาณการดูดซึมทั้งหมดของโลหะหนักเข้าสู่ต้นผักกาดเขียวปลี (total uptake) ไม่แตกต่างกันทางสถิติตามระดับการเติมลงในดิน เนื่องจากการเจริญเติบโตของต้นผักกาดเขียวปลีได้รับผลกระทบจากระดับความเข้มข้นสูงของโลหะหนักในพืช อย่างไรก็ตาม พฤติกรรมของโลหะหนักสามารถอธิบายได้เป็นสองกลุ่ม คือ กลุ่มของธาตุ Cd Zn และ Cu และกลุ่มของธาตุ Pb และ Cr พฤติกรรมของธาตุในแต่ละกลุ่มมีความสัมพันธ์กับปริมาณความเข้มข้นของธาตุในต้นพืชโดยกลุ่มแรกปริมาณความเข้มข้นของธาตุในพืชมีค่าเพิ่มขึ้น ส่วนกลุ่มหลังไม่มีค่าเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นตามระดับการเติม

ความสามารถในการเคลื่อนย้ายของธาตุโลหะหนักในดินที่ประเมินโดยวิธีการสกัดตามลำดับ พบว่า ธาตุ Zn Cu Pb และ Cr ในดินที่เริ่มทดลองที่ยังไม่เติมโลหะหนักมีรูปหลักอยู่ในรูปสปีกแร่ดินเหนียวซึ่งจัดเป็นส่วนที่ไม่เคลื่อนย้าย สอดคล้องกับการศึกษาในดินหลายชนิด (Hickey and Kittrick, 1984; Xing et al., 1995; Lee et al., 2011) สำหรับส่วนที่พร้อมเคลื่อนที่และเคลื่อนย้ายได้ พบว่า Cu และ Pb ส่วนใหญ่ในรูปอินทรีย์ ส่วน Zn และ Cr ส่วนใหญ่ในรูปออกไซด์ โดยลำดับรองลงมาเป็น Zn ในรูปอินทรีย์ และ Cr ในรูปแลกเปลี่ยนได้และอินทรีย์ (Chlopecka, 1996; Favas et al., 2011) ธาตุ Pb พบในรูปละลายได้ ออกไซด์ คาร์บอเนตและแลกเปลี่ยนได้ในปริมาณใกล้เคียงกัน สำหรับธาตุ Cd ไม่สามารถจำแนกรูปของ Cd ได้เนื่องจากปริมาณ Cd ที่มีอยู่มีความเข้มข้นต่ำ ข้อมูลจากการศึกษาในดินต่างๆ พบว่า Cd ในดินเขตร้อนส่วนใหญ่อยู่ในรูปออกไซด์ และดินทั่วไปมีแคดเมียมส่วนใหญ่อยู่ในรูปละลายได้ รูปแลกเปลี่ยนได้และรูปคาร์บอเนต (Anju and Banerjee, 2011) เช่น ดินจากพื้นที่ปนเปื้อน Cd อ.แม่สอด จ.ตาก พบรูปหลักของ Cd เป็นรูปออกไซด์ (Akkajit and Tongcumpou, 2010) และดินในบังคลาเทศ 12 ชนิดมีรูป Cd ตามลำดับจากมากไปน้อยเป็นรูปออกไซด์ รูปคาร์บอเนต รูปเกลือของแร่ รูปแลกเปลี่ยนได้

รูปอินทรีย์และรูปละลายได้ ตามลำดับ (Kashem and Singh, 2001) ความชอบต่อรูปออกไซด์ของ Cd และ Zn อธิบายได้ว่าอนุภาคสัณฐานของเหล็กออกไซด์เป็นองค์ประกอบหลักในการเก็บกักธาตุ Zn ในดิน (Xing et al., 1995) และอนุมูล citrate ซึ่งมีอยู่ในดินตามธรรมชาติทำหน้าที่เป็น ligand ของการยึดของโลหะบนแร่ $\alpha\text{-Al}_2\text{O}_3$ ที่ช่วงพีเอชต่ำกว่าค่า point of zero charge ของดิน (Chairidchai and Ritche, 1990; 1992) ซึ่งเป็นลักษณะดินในเขตร้อนที่ส่งเสริมการเกิด ligand complex ของโลหะกับออกไซด์ในดิน การดูดซับในรูปคาร์บอเนตเกิดจากธรรมชาติของ Cd ที่เป็น soft lewis acid จึงเกิดสารประกอบที่คงทนกับ hard lewis base เช่น HPO_4^{2-} และ CO_3^{2-} ได้ดี นอกจากนี้ Cd ยังสามารถแทนที่แคลเซียมบนพื้นผิวเฉพาะของแร่หรือตกตะกอนเป็นรูปฟอสเฟตและคาร์บอเนตได้ดี เนื่องจากมีรัศมีของอะตอม (Prauling radius) ใกล้เคียงกันกับธาตุ Ca ความชอบต่อการดูดซับบนพื้นผิวแลกเปลี่ยนได้เกิดจากธรรมชาติของ divalent cation ทำให้เกิดแรงไฟฟ้าสถิต (electrostatic force) บนอนุภาคดิน ธาตุ Cu เป็นธาตุที่เคลื่อนย้ายในดินได้

ค่อนข้างจำกัด มีความชอบดูดซับกับอินทรีย์วัตถุ แร่ดินเหนียว และออกไซด์ในดิน องค์ประกอบดินที่เป็นตัวการสำคัญในการดูดซับ Cu ได้แก่ แร่ออกไซด์ คาร์บอเนตและฟอสเฟต โดยกระบวนการที่สำคัญคือ ปฏิกิริยาซีเลตและสารเชิงซ้อนกับอินทรีย์สาร และการตกตะกอนที่ไม่เฉพาะเจาะจง (Hough, 2010) Cu เป็นธาตุที่ตกตะกอนเป็นรูปออกไซด์ได้ (oxidisable fraction) กับซัลเฟอร์ได้ดี แต่ในดินที่มีปริมาณซัลเฟอร์ต่ำ Cu จะเข้ายึดกับอินทรีย์วัตถุในดิน (Tessier et al., 1979; Hickey and Kittrick, 1984; Singh, et al., 1998) ธาตุ Pb เป็นธาตุที่เคลื่อนย้ายได้จำกัด (McLean et al., 1992) โดย Pb และ Cr มีความชอบต่อการดูดซับในหลัของผลึกแร่และรูปอินทรีย์ (Chlopecka, 1996; Favas, Pratas et al., 2011) การศึกษาในดินดั้งเดิมของประเทศจีน 25 ชนิดที่พบว่าธาตุ Cr ที่มีอยู่เดิมในดินส่วนใหญ่จะอยู่ในหลัของผลึกแร่ดินเหนียวและมีบางส่วนอยู่ยึดอยู่กับแร่ออกไซด์ โดยพบ Cr ในหลั 85.1% และ ผลึกแร่ ออกไซด์ 9.8% (Ma and Hooda, 2010)

ตารางที่ 4 ค่าสหสัมพันธ์ที่ระดับความเชื่อมั่น 99% (***) ระหว่างปริมาณโลหะหนักในพืชที่ระยะ 45 วันกับปริมาณโลหะหนักทั้งหมดและปริมาณโลหะหนักรูปต่างๆในดิน

Metal Fraction, mg.kg^{-1}	Total concentration in plant, mg.kg^{-1} , at 45 days				
	Cd	Zn	Cu	Pb	Cr
Total	-0.103	-0.094	0.027	-0.309	-0.608
WTS	-	-	0.707	-0.517	0.602
EXC	0.809	0.989***	0.722	-0.422	0.172
CRB	0.850	0.946***	0.605	-0.368	-0.295
OXD	0.761	0.811	0.874	-0.424	-0.744
ORG	0.445	0.662	0.934***	-0.436	-0.801
LTC	-	0.055	0.779	-0.278	-0.193

ธาตุ Cd Zn และ Cu มีการตอบสนองต่อการระดับการเติมลงไปดินแตกต่างกันไปตามความชอบต่อองค์ประกอบต่างๆของดินโดยมีผลต่อการเพิ่มขึ้นของสัดส่วนของ Cd ในรูปออกไซด์ และ Cu รูปอินทรีย์อย่างมีนัยสำคัญในลำดับแรก การเพิ่มขึ้นของ Cd รูปออกไซด์เกิดจากปฏิกิริยา dehydrate และการสร้างสารเชิงซ้อนที่พื้นผิวภายใน (inner-sphere) (Ma and Uren, 1998) ของแร่ออกไซด์ที่มีพื้นผิวจำกัด จึงมีความอึดตัวที่ระดับการเติมสูงดังแสดงความสัมพันธ์แบบ H-Curve ส่วน Zn

ซึ่งมีค่าการละลายสูงจึงตกตะกอนเป็นสารประกอบเชิงซ้อนได้ค่อนข้างยาก รวมทั้งการเข้าถึงพื้นผิวออกไซด์อาจเกิดขึ้นได้จำกัดและมีความอึดตัว ธาตุ Cu มีความชอบต่อรูปอินทรีย์สูงมากโดยมีความสัมพันธ์เป็นแบบ L-Curve แสดงถึงอัตราการดูดซับเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วแต่มีจุดอึดตัวโดยมีจุดสูงสุดที่ระดับการเติม 3.2 มิลลิโมลต่อกิโลกรัม สำหรับรูปผลึกแร่ดินเหนียวไม่พบการเพิ่มสัดส่วนอย่างมีนัยสำคัญ แต่ Cu เป็นเพียงธาตุเดียวในกลุ่มนี้ที่มีปริมาณ (ในหน่วยมิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) ของรูปหลัแร่ดินเหนียว

เพิ่มขึ้นตามระดับการเติม แสดงถึงความชอบดูดซับบนแร่ดินเหนียวของ Cu มีได้มากกว่า Cd และ Zn เนื่องจากมีค่าคงที่การแตกตัว (p_K) ได้เร็วกว่าจึงมีการเลือกดูดซับ (selectivity) บนแร่ดีกว่าตามลำดับดังนี้ Pb (6.2) > Cu (8.0) > Zn (9.0) > Cd

(10.1) (Yong et al., 2012) การเพิ่มปริมาณ Cu ในรูปสลิปแร่เกิดขึ้นอย่างจำกัดจึงไม่ทำให้สัดส่วนรูปในสลิปเพิ่มอย่างมีนัยสำคัญตามความเข้มข้นในดิน

ตารางที่ 5 ค่าสหสัมพันธ์ที่ระดับความเชื่อมั่น 99% (***) ปริมาณโลหะหนักในพืชที่ระยะ 70 วันกับปริมาณโลหะหนักทั้งหมดและปริมาณโลหะหนักรูปต่างๆ ในดิน

Metal Fraction, mg.kg^{-1}	Total concentration in plant, mg.kg^{-1} , at 70 days				
	Cd	Zn	Cu	Pb	Cr
Total	0.360	0.149	0.659	0.151	0.799
WTS	-	0.155	0.785	-0.132	-0.129
EXC	0.815***	0.117	0.916***	0.742	-0.103
CRB	0.899***	0.007	0.779	0.860***	0.762
OXD	0.835***	0.234	0.965***	0.596	0.078
ORG	0.373	0.105	0.928***	0.729	0.457
LTC	-	0.151	0.837	0.603	-0.008

การตอบสนองของธาตุ Cd Zn และ Cu ลำดับรองลงมาพบว่ารูปคาร์บอนเนตและรูปแลกเปลี่ยนได้ของทั้งสามธาตุมีสัดส่วนเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญความสัมพันธ์เป็นแบบ exponential โดยการเพิ่มขึ้นของรูปแลกเปลี่ยนได้มีลักษณะแบบ L-Curve ใน Cd และ Zn และ แบบ S-Curve ใน Cu แสดงถึงการเข้าถึงพื้นผิวดูดซับอย่างรวดเร็วและไม่อิ่มตัว โดยการเพิ่มของรูปแลกเปลี่ยนได้เริ่มมีความชันสูงขึ้นที่ระดับอิ่มตัวของรูปอินทรีย์ส่วนการเพิ่มของรูปคาร์บอนเนตมีลักษณะกราฟเป็น H L และ S ใน Cd Zn และ Cu ตามลำดับ การดูดซับเกิดขึ้นบนผิวแร่แคลไซต์เกิดขึ้นโดยตรงที่ความเข้มข้นต่ำและเกิดโดยการตกตะกอนคาร์บอนเนตของโลหะเคลือบบนผิวแร่แคลไซต์เมื่อความเข้มข้นสูงขึ้น (McBride, 1980; McLean, 1992) แม้ว่า แร่แคลไซต์ไม่มีปริมาณจำกัด แต่การดูดซับ Zn และ Cu ไม่ถึงระดับอิ่มตัวที่ความเข้มข้น 6.1 และ 3.2 มิลลิโมลต่อกิโลกรัม ในขณะที่ Cd ถึงจุดอิ่มตัวที่ระดับความเข้มข้น 2.0 มิลลิโมลต่อกิโลกรัม ซึ่งเป็นการเติมระดับสูงในการทดลอง

เมื่อพิจารณาค่าความเข้มข้นของธาตุ Cd Zn และ Cu ในส่วนเหนื่อดินของผักกาดเขียวปลี พบว่า มีการเพิ่มขึ้นตามระดับการเติม สอดคล้องกับการเพิ่มสัดส่วนของรูปแลกเปลี่ยนได้และคาร์บอนเนต แต่การตอบสนองแตกต่างกันในแต่ละระยะการเจริญเติบโต โดย Cd เพิ่มขึ้นที่ระยะ 45 วัน Cu เพิ่มขึ้นที่ระยะ

45 และ 70 วัน และ Zn เพิ่มขึ้นที่ระยะ 45 วัน อย่างไรก็ตามค่าสหสัมพันธ์ระหว่างปริมาณรูปแลกเปลี่ยนได้กับความเข้มข้นของธาตุในพืชค่าสูงอย่างมีนัยสำคัญกับทั้งสามธาตุ แต่ปริมาณรูปคาร์บอนเนตมีค่าสหสัมพันธ์สูงอย่างมีนัยสำคัญเฉพาะกับธาตุ Cd และ Zn เท่านั้น แสดงให้เห็นว่ารูปที่แลกเปลี่ยนได้เป็นตัวแปรที่สามารถบ่งบอกความพร้อมของธาตุโลหะหนักต่อการเคลื่อนย้ายสู่พืชได้เหมาะสมกับทั้งสามธาตุ ส่วนรูปคาร์บอนเนตใช้เพิ่มเติมได้กับธาตุ Cd และ Zn ปริมาณธาตุ Zn ในพืชที่ไม่ตอบสนองต่อระดับการเติมที่ระยะ 70 วัน อาจเกิดจากการเคลื่อนย้ายสูญหายของธาตุ Zn ออกไปจากดิน เนื่องจาก ธาตุรูปออกไซด์และอินทรีย์มีสัดส่วนลดลงตามระดับการเติมจึงไม่แสดงบทบาทในการเก็บกักธาตุไว้ในดิน ข้อมูลดังกล่าวสอดคล้องกับ (Cao et al., 2013) ที่พบว่า Zn ถูกชะละลายลงสู่ชั้นดินล่าง ระดับ 15-20 ซม.ได้เร็วมากเมื่อเทียบกับ Pb และ Cu

การเติม Pb และ Cr ลงไปในดินจะไม่มีผลต่อการเพิ่มขึ้นของธาตุทั้งสองในรูปพร้อมเคลื่อนที่ แต่จะมีผลต่อรูปอินทรีย์ที่เพิ่มแบบ H-Curve และ L-Curve ใน Pb และ Cr ตามลำดับ และมีผลต่อรูปออกไซด์ที่เพิ่ม ในลักษณะ L-Curve ธาตุ Pb จัดเป็นธาตุที่เคลื่อนย้ายได้จำกัด เมื่อมีการเพิ่มระดับการปนเปื้อนในดินจะถูกดูดซับในรูปอินทรีย์และออกไซด์ แม้ว่าทั้งสองรูปจัดเป็นส่วนที่เคลื่อนย้ายได้ (mobilized fraction)

โดยเฉพาะรูปอินทรีย์เป็นรูปที่ถูกออกซิไดซ์ได้ (oxidizable form) แต่การปลดปล่อยเมื่ออินทรีย์วัตถุถูกย่อยออกซิไดซ์หรือย่อยสลายเกิดขึ้นได้ค่อนข้างยาก เนื่องจากโลหะหนักถูกยึดด้วยสารประกอบฮิวมิกโมเลกุลใหญ่ที่มีความคงทนต่อการสลายตัว (Miragaya and Sosa, 1994; Chlopecka, 1996; Singh et al., 1998) ปริมาณธาตุ Pb และ Cr ในพืชค่าลดลงในวันที่ 45 และมีปริมาณไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญในวันที่ 70 ซึ่งสอดคล้องกับพฤติกรรมการตอบสนองต่อการเพิ่มระดับความเข้มข้นในดิน ธาตุทั้งสองถูกดูดซับเข้าสู่รูปอินทรีย์ รวมถึง Pb ในผลึกแร่ซึ่งไม่เป็นประโยชน์ต่อพืชโดยตรง จึงไม่เคลื่อนที่เข้าสู่พืชได้ในระยะสั้น แต่รูปเหล่านี้จะทำหน้าที่เป็นแหล่งสำรองและสามารถปลดปล่อยออกมาได้ในระยะเวลานานขึ้น นอกจากนี้ การเคลื่อนย้ายของ Pb จากรากสู่ต้นเกิดขึ้นได้จำกัด โดยมีกลไกการตกตะกอน Pb บริเวณเนื้อเยื่อรากแก้วของ *Brassica juncea* ธาตุ Pb มีการตกตะกอนบนพื้นผิวนอกของผนังเซลล์ที่มีพื้นผิวประจุลบ และตะกอนแบบผลึกหรือจุดที่เกิดขึ้นบริเวณ middle lamella ทำให้สูญเสียความสามารถในการเคลื่อนย้ายเข้าสู่ cytoplasm จึงเคลื่อนที่เข้าสู่ส่วนยอดได้จำกัด (Meyers et al., 2008) ปริมาณ Pb ในผักกาดเขียวปลีมีจึงค่าลดลงในระยะ 45 วัน

การศึกษาในบทความนี้ทำให้ได้ข้อมูลผลของระดับการปนเปื้อนที่มีต่อพฤติกรรมการดูดซับและแนวโน้มการเคลื่อนย้ายของโลหะหนักรวมทั้งความสัมพันธ์ระหว่างรูปของโลหะหนักกับปริมาณการดูดซับเข้าสู่พืชตามระยะการเจริญเติบโตที่เกิดในดิน Typic (Oxyaquic) Kandistults อย่างไรก็ตาม ความสัมพันธ์ที่ได้สามารถนำไปเป็นข้อมูลพื้นฐานในการอธิบายพฤติกรรมของโลหะหนักในดินชนิดอื่นๆ ที่มีองค์ประกอบแตกต่างกันได้ ซึ่งจะเป็ประโยชน์ในด้านการประเมินความเสี่ยงของการเคลื่อนย้ายและแพร่กระจายของโลหะหนักจากดินปนเปื้อนไปสู่สิ่งแวดล้อมที่เกิดขึ้นในดินชนิดต่างๆ การปนเปื้อนในดินที่มีอินทรีย์วัตถุสูงมีแนวโน้มเกิดความเสี่ยงแพร่กระจายน้อยกว่าดินชนิดอื่นๆ เนื่องจากอินทรีย์วัตถุมีการดูดซับสร้างเป็นสารประกอบเชิงซ้อนที่ปลดปล่อยได้ยาก การปนเปื้อนในดินที่มีคาร์บอนสูง เช่น ดินเหนือน้ำมันเกิดความเสี่ยงมากขึ้นเนื่องจากการดูดซับในรูปคาร์บอนที่มีความสัมพันธ์กับปริมาณที่ดูดซับในพืชและการดูดซับจะลดลงในสภาพต่าง ส่วนการปนเปื้อนโลหะหนักในดินในอันดับออกซิซอลส์ แร่ออกไซด์ในดินจะยึดโลหะหนักไว้ทำให้ลด

โอกาสการเคลื่อนย้ายลง แต่สามารถปลดปล่อยออกมาสู่สิ่งแวดล้อมได้เมื่อมีระยะเวลาเพิ่มขึ้นได้

สรุปผลการวิจัย

พฤติกรรมของโลหะหนักมีการตอบสนองต่อการเพิ่มขึ้นของระดับการเติมธาตุลงในดินแตกต่างกันไปตามลักษณะการชอบดูดยึด (affinity) ระหว่างโลหะหนักแต่ละชนิดกับองค์ประกอบต่างๆ ของดิน เมื่อมีการเติมธาตุโลหะหนักลงในดิน ธาตุจะตอบสนองโดยการดูดซับในส่วนที่มีความชอบของแต่ละธาตุเป็นลำดับแรก คือ แคลเซียมและสังกะสีในรูปออกไซด์ทองแดงในรูปอินทรีย์ ธาตุตะกั่วและโครเมียมในผลึกแร่และรูปอินทรีย์ ธาตุในรูปเหล่านี้จะไม่เคลื่อนย้ายทันที แต่มีบทบาทในการเป็นแหล่งสำรองที่ปลดปล่อยออกมาได้ในระยะต่อมา การเพิ่มขึ้นของรูปแลกเปลี่ยนได้และคาร์บอนตบได้กับธาตุแคลเซียม สังกะสีและทองแดง แต่ไม่พบในธาตุตะกั่วและโครเมียม พฤติกรรมเหล่านี้มีความสอดคล้องกับการเพิ่มขึ้นของปริมาณธาตุแคลเซียม สังกะสีและทองแดงในพืช ส่วนธาตุตะกั่วและโครเมียมมีการดูดซับในรูปอินทรีย์และไม่ทำให้ปริมาณในพืชเพิ่มขึ้น ดังนั้น การวิเคราะห์โลหะหนักในรูปแลกเปลี่ยนได้สามารถบ่งบอกความพร้อมต่อการเคลื่อนย้ายและความพร้อมต่อการเข้าสู่สิ่งมีชีวิตได้ครอบคลุมทั้งธาตุแคลเซียม สังกะสี ทองแดง ตะกั่วและโครเมียม ส่วนรูปและเปลี่ยนได้ร่วมกับรูปคาร์บอนตบสามารถบ่งบอกได้กับธาตุแคลเซียมและสังกะสี

พื้นที่เกษตรที่มีการปนเปื้อนโลหะหนักในดินจัดเป็นพื้นที่ที่มีความเสี่ยงในการใช้ประโยชน์ ระดับความเสี่ยงของการปนเปื้อนธาตุโลหะหนักในดินต่อการแพร่กระจายสู่ห่วงโซ่อาหารมีความแตกต่างกันไปตามพฤติกรรมการเคลื่อนย้ายของธาตุโลหะหนักแต่ละชนิด การวิเคราะห์ความเสี่ยงของดินปนเปื้อนโดยใช้ค่าปริมาณโลหะทั้งหมดในดินไม่สามารถให้ข้อมูลได้ครบถ้วน การวิเคราะห์รูปของโลหะหนักที่สอดคล้องกับองค์ประกอบต่างๆ ในดิน ร่วมกับปัจจัยต่างๆ เช่น ชนิดพืชที่ปลูก ระยะเวลาการเพาะปลูก องค์ประกอบดินและระดับความเข้มข้นของการปนเปื้อน จะช่วยให้ประเมินความเสี่ยงได้ของการเคลื่อนย้ายโลหะหนักสู่ห่วงโซ่อาหารได้อย่างถูกต้อง อย่างไรก็ตาม พฤติกรรมของโลหะหนักยังมีความเฉพาะกับชนิดดินและชนิดพืช จึงจำเป็นต้องมีการศึกษาให้กว้างขวางยิ่งขึ้นทั้งในแง่ชนิดดินและชนิดพืช

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนงบประมาณการวิจัยจากงบประมาณแผ่นดิน ปีงบประมาณ 2558 ของมหาวิทยาลัยนเรศวร

เอกสารอ้างอิง

- กรมพัฒนาที่ดิน. (2541). รายงานการจัดการทรัพยากรดินเพื่อการปลูกพืชเศรษฐกิจหลักตามกลุ่มชุดดิน เล่มที่ 2 ดินบนพื้นที่ดอน. กรมพัฒนาที่ดิน, กรุงเทพฯ. 484 หน้า.
- สำนักสำรวจและวิจัยทรัพยากรดิน. (2554). แผนที่ดินรายอำเภอ. แหล่งข้อมูล: http://oss101.ddd.go.th/web_th_soilseries/INDEX_th_series.htm. ค้นเมื่อวันที่ 30 กันยายน 2559.
- Akkajit, P. and Tongcumpou, C. (2010). Fractionation of metals in cadmium contaminated soil: Relation and effect on bioavailable cadmium. *Geoderma* 156(3-4): 126-132.
- Anju, M. and Banerjee, D.K. (2011). Associations of cadmium, zinc, and lead in soils from a lead and zinc mining area as studied by single and sequential extractions. *Environmental Monitoring and Assessment* 176(1-4): 67-85.
- Baize, D. (2006). Cadmium in soil and cereal grains after sewage-sludge application on French Soils: A Review. In Lichtfouse, L., Navarrete, M. Debaeke, P. Véronique, S. and Alberola, C.(eds). *Sustainable Agriculture*, Volume 1. New York: Springer. pp. 845-856.
- Cao, X., Y. Liang, L. Zhao and Le, H. (2013). Mobility of Pb, Cu, and Zn in the phosphorus-amended contaminated soils under simulated landfill and rainfall conditions. *Environmental Science and Pollution Research* 20(9): 5913-5921.
- Chlopecka, A. (1996). Assessment of form of Cd, Zn and Pb in contaminated calcareous and gleyed soils in Southwest Poland. *The Science of the Total Environment* 188: 253-362.
- Chairidchai, P. and Ritche, G. S. P. (1990). Zinc and adsorption by a laterite soil in the present of organic ligand. *SSSA.J.* 54: 1242-12448.
- Chairidchai, P. and Ritche, G. S. P. (1992). The effect of pH on zinc adsorption by a lateritic soil in the present of citrate and oxalate. *J. Soil Science.* 43(4): 597-816.
- Favas, P. J. C., J. Pratas, M. E. P. Gomes and Cala, V. (2011). Selective chemical extraction of heavy metals in tailings and soils contaminated by mining activity: Environmental implications. *Journal of Geochemical Exploration* 111(3): 160-171.
- Gupta, A. K. and Sinha, S. (2007). Assessment of single extraction methods for the prediction of bioavailability of metals to *Brassica juncea* L. Czern. (var. Vaibhav) grown on tannery waste contaminated Soil. *Journal of Hazardous Materials* 149(1): 144-150.
- Harding, D.E. and Ross, D.J. (1964). Some factors in low-temperature storage influencing the mineralisable nitrogen of soils. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 15: 829 – 834.
- Hickey, M. G. and Kittrick, J. A. (1984). Chemical partitioning of cadmium, copper, nickel and zinc in soils and sediments containing high levels of heavy metals. *Journal of Environmental Quality* 13(3): 372-376.
- Hough, R. L. (2010). Copper and Lead. In HOODA, P. S. (eds). *Trace Elements in Soils*. Blackwell Publishing Ltd.
- Kashem, M. A. and Singh, B. R. (2001). Solid phase speciation of Cd, Ni and Zn in some contaminated and noncontaminated tropical soils. In I. K. Iskandar & M. B. Krikham (Eds.), *Trace elements in soil. Bioavailability, flux and transfer*. Boca Raton: Lewis. pp. 213-227.
- Kumari, B. and Singh, S. N. (2011). Phytoremediation of metals from fly ash through bacterial augmentation. *Ecotoxicology* 20(1): 166-176.
- Lee, S. H., Park, H., Koo, N., Hyun, S. and Hwang, A. (2011). Evaluation of the effectiveness of various amendments on trace metals stabilization by chemical and biological methods. *Journal of Hazardous Materials* 188(1-3): 44-51.
- Ma, Y. and Hooda, P. S. (2010). Chromium, Nickel and Cobalt, Chapter 19. In Hooda, P. S (eds) *Trace elements in soils*. UK: Blackwell Publishing Ltd. pp. 461-479.
- Ma, Y.B. and Uren, N.C. (1998). Transformations of heavy metals added to soil-application of a new sequential extraction procedure. *Geoderma* 84(1-3): 157-168.
- McBride, M. B. (1980). Division S-2-soil chemistry. chemisorption of Cd²⁺ on calcite surfaces. *SSSA.J.* 44(1), 26-28.
- McLean, L. E and Bledsoe, B. E. (1992). Behavior of Metals in Soils. EPA Ground Water Issue.

- Meyers, D. E. R., G. J. Auchterlonie, R. I. Webb and Wood, B. (2008). Uptake and localisation of lead in the root system of *Brassica juncea*. *Environmental Pollution* 153(2): 323-332.
- Novotná, M., O. Mikeš, and Komprdová, K. (2015). Development and comparison of regression models for the uptake of metals into various field crops. *Environmental Pollution* 207: 357-364.
- Yong, R. N., Nakano, M. and Pusch, R. (2012). *Environmental Soil Properties and Behaviors*. CRC Press, Boca Raton.
- Singh, S. P., F. M. Tack and Verloo, M. G. (1998). Heavy metal fractionation and extractability in dredged sediment derived surface soils. *Water, Air, and Soil Pollution* 102(3-4): 313-328.
- Sparks, D.L. (1995). *Environmental soil chemistry*, San Diego: Academic Press. pp. 134.
- Tack, F. M. G., and Verloo, M. G. (1995). Chemical speciation and fractionation in soil and sediment heavy metal analysis: A review. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry* 59(2-4): 225-238.
- Tessier, A., Campbell, P.G.C. and Bisson, M. (1979). Sequential extraction procedure for the speciation of particulate trace metals. *Anal. Chem.* 51(7): 844-850.
- Xing, G. X., Xu, L. Y. and Hou, W. H. (1995). Role of amorphous Fe oxide on controlling retention of heavy metal elements in soils. *In Environmental Impacts of Soil Component Interactions: Metal, Others Inorganics and Microbial Activities*. London: Lewis Publications. p. 63-74.

