

### บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย

#### อุปกรณ์ เครื่องมือและสารเคมีที่ใช้ในงานวิจัย

##### 1) อุปกรณ์ เครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย

- เครื่อง pH meter : Delta 340, METTLER TOLEDO
- เครื่อง Inductive Couple Plasma Spectroscopy (ICP), Jobin Yvon model JY 124
- เครื่องเขย่า (vortex) : Genie-2, USA
- เตา Hot plate, Hanna Instruments C9800 Reactor
- เตาเผาอุณหภูมิสูง (muffle furnace) : VMK-S Linn, Germany
- ตู้อบ (hot air oven): DIN 12880-KI, METTLER, Germany
- เตาอบ (oven) รุ่น DIN 1288-KI
- กระดาษกรอง: Whatman No.2,42,542
- เครื่องชั่งละเอียด 4 ตำแหน่ง
- หลอดทดลอง (tube)
- หลอดหยด
- ปิเปต (pipette)
- บีกเกอร์ (beaker) ขนาด 100, 250 และ 500 มิลลิลิตร
- ขวดใส่ตัวอย่าง ขนาด 20 มิลลิลิตร
- กรวยกรอง(filter funnel)
- ขวดรูปชมพู่ (erlenmeyer flask)
- ไมโครปิเปต (micro pipette) ขนาด 1000, 5000 ไมโครลิตร
- ขามกระเบื้อง

##### 2) สารเคมีและวัสดุที่ใช้ในการวิจัย

- ต้นกล้า
- ดินที่ปนเปื้อนแคดเมียมจากดินนาที่บริเวณเทศบาลตำบลแม่กุ อำเภอแม่สอด จังหวัดตาก
- ขุยมะพร้าวจาก โรงงานทำที่นอน จังหวัดประจวบคีรีขันธ์
- ชั่งข้าวโพดนำมาจากบริษัทเบทาโก จำกัด กรุงเทพมหานคร
- เปลือกส้มนำมาจากร้านค้าขายน้ำส้มคั้น กรุงเทพมหานคร
- โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) , กรดไฮโดรคลอริก (HCl) , กรดซัลฟูริก (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) และกรดไนตริก (HNO<sub>3</sub>)

### การเตรียมวัสดุเหลือทิ้งปรับปรุงดินที่ปนเปื้อนแคดเมียม

#### 1) การเตรียมซังข้าวโพด

นำซังข้าวโพดมาบดแล้วนำไปแยกขนาดด้วยตะแกรง ให้มีขนาดในช่วง 75- 150 ไมโครเมตร

#### 2) การเตรียมขุยมะพร้าว

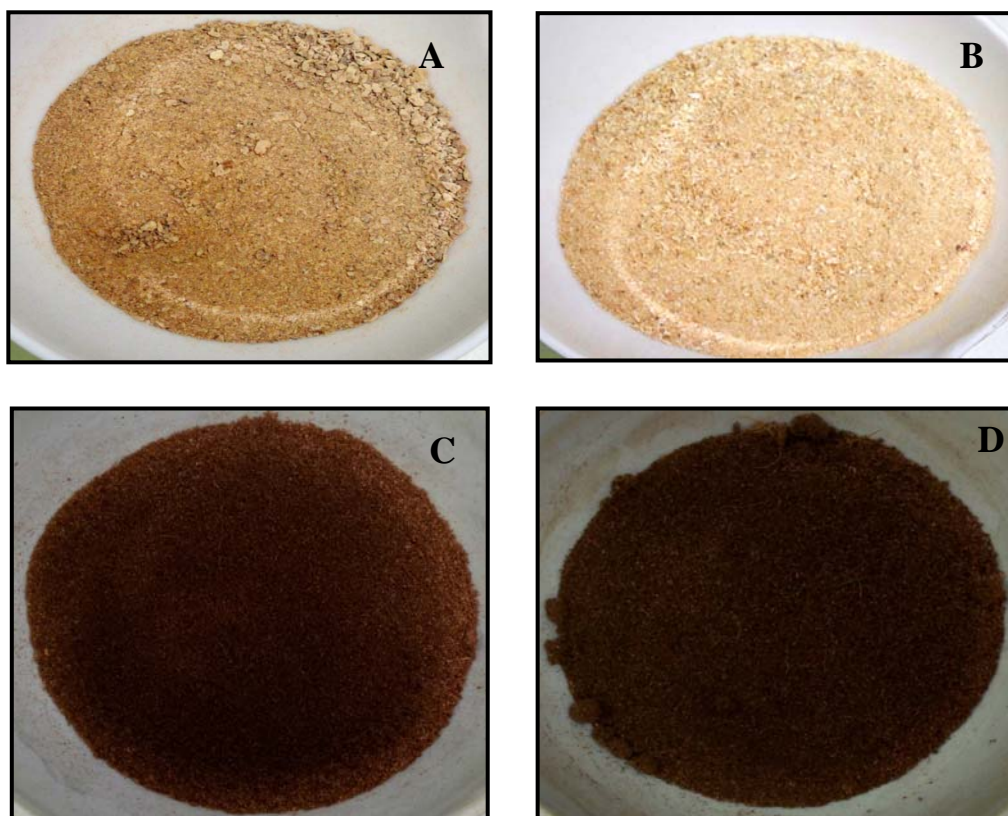
นำขุยมะพร้าว มาคัดขนาดโดยแยกด้วยตะแกรง ให้มีขนาดในช่วง 75-150 ไมโครเมตร

#### 3) การเตรียมเปลือกส้ม

นำเปลือกส้มมาตัดขนาด 1-2 เซนติเมตร จากนั้นนำมาตากให้แห้งในอากาศ และนำมาตัดบดให้มีขนาดเล็ก จากนั้นนำไปแยกขนาดด้วยตะแกรง ให้มีขนาด 75-150 ไมโครเมตร

#### 4) การเตรียมขุยมะพร้าวที่ปรับสภาพด้วยต่าง

นำขุยมะพร้าวที่แยกขนาดแล้ว 300 กรัม นำมาแช่ในโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) 0.1 โมลาร์ 3,000 มิลลิลิตร เป็นเวลา 2 ชั่วโมง หลังจากนั้นล้างขุยมะพร้าวเพื่อกำจัดส่วนเกินของโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ออก ด้วยน้ำกลั่นจนกระทั่งพีเอชคงที่ประมาณ 7.75 และ นำไป ผึ่งในอากาศให้แห้ง (air dried)



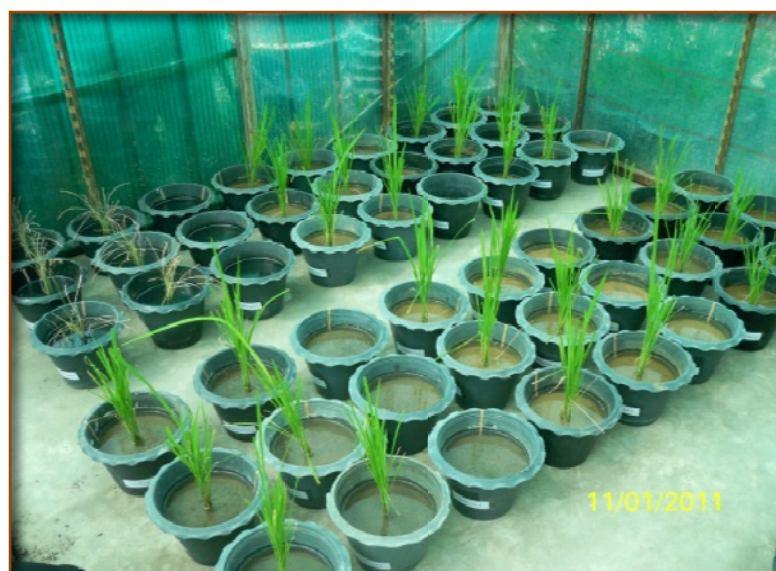
ภาพที่ 3.1 วัสดุเหลือทิ้งเพื่อปรับปรุงดิน: (A) เปลือกส้ม, (B) ซังข้าวโพด  
(C) ขุยมะพร้าว, (D) ขุยมะพร้าวที่ปรับสภาพด้วยต่าง

### การเตรียมต้นกล้า

นำต้นกล้าข้าวพันธุ์ 75 มีอายุ 40 วัน มาเพื่อเตรียมปลูกในกระถางทดลองที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 21 เซนติเมตร สูง 18 เซนติเมตร โดยก่อนที่จะปลูกต้องแช่ไว้ในน้ำประปาเพื่อปรับสภาพ 1 วันก่อน จากนั้นนำไปปลูกในกระถางทดลอง



ภาพที่ 3.2 ต้นกล้าเพื่อเตรียมปลูกในกระถางทดลอง



ก) ย้ายต้นกล้ามาปลูกในดินปนเปื้อนแคดเมียม



- ข) การเจริญเติบโตของต้นข้าวข้าวในดินที่ปนเปื้อนแคดเมียมเมื่อใช้วัสดุเหลือทิ้งปรับปรุงดินแตกต่างกัน

ภาพที่ 3.3 การปลูกข้าวในดินที่ปนเปื้อนแคดเมียมเมื่อใช้วัสดุเหลือทิ้งปรับปรุงดินแตกต่างกัน

#### การเตรียมดิน

เก็บตัวอย่างดินจากพื้นที่ที่มีการปนเปื้อนแคดเมียมจากดินนาที่บริเวณเทศบาลตำบลแม่กุ อำเภอมะนัง จังหวัดตาก โดยวิธีการแบบสุ่ม ที่ระดับความลึก 0-30 เซนติเมตร เป็นตัวอย่างรวม จากนั้นนำตัวอย่างดินปนเปื้อน มาตากแดด 3-4 วัน หลังจากนั้นนำดินมาทุบและร่อนด้วยตะแกรง ขนาด 117 ไมโครเมตร และทำการสุ่มตัวอย่างดินมาวิเคราะห์คุณสมบัติของดิน ตามพารามิเตอร์ตาม ตารางที่ 3.1

ตารางที่ 3.1 พารามิเตอร์และวิธีการวิเคราะห์ดินที่นำมาศึกษา

พารามิเตอร์	วิธีการวิเคราะห์
ค่าความเป็นกรด-ด่าง	pH meter
อินทรีย์วัตถุ	Walkley and Black Method
ปริมาณแคดเมียม	ICP

### ผลของชนิดของวัสดุเหลือทิ้งปรับปรุงดินต่อปริมาณการคายน้ำของต้นข้าวที่ปลูกในดินที่ไม่มีการปนเปื้อนแคดเมียม

นำต้นกล้าที่มีอายุ 40 วัน จำนวน 6 ต้น มาปลูกในกระถางที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 21 เซนติเมตร สูง 18 เซนติเมตร โดยใส่วัสดุปรับปรุงดิน+ดินที่ไม่ปนเปื้อนแคดเมียม รวมน้ำหนัก 2,000 กรัม จากนั้นเติมน้ำประปา 1,000 มิลลิลิตร โดยใช้ต้นกล้าปลูกกระถางละ 6 ต้น หลังจากปลูกแล้ว ทุกๆ วัน เติมน้ำ 600 มิลลิลิตรในแต่ละกระถางทดลอง ซึ่งเงื่อนไขในการทดลองในแต่ละกระถางการทดลองแตกต่างกันมี 5 การทดลอง ดังนี้

- กระถางการทดลองที่ 1 ดินที่ไม่ปนเปื้อนแคดเมียม (N) + ต้นกล้า
- กระถางการทดลองที่ 2 ดินที่ไม่ปนเปื้อนแคดเมียม (N) + ขุยมะพร้าว (CP) 1% + ต้นกล้า
- กระถางการทดลองที่ 3 ดินที่ไม่ปนเปื้อนแคดเมียม + ขุยมะพร้าวที่ปรับสภาพด้วยต่าง (CPm) 1% + ต้นกล้า
- กระถางการทดลองที่ 4 ดินที่ไม่ปนเปื้อนแคดเมียม (N) + ชังข้าวโพด (CC) 1% + ต้นกล้า
- กระถางการทดลองที่ 5 ดินที่ไม่ปนเปื้อนแคดเมียม (N) + + เปลือกส้ม (OP) 1% + ต้นกล้า

\*โดยแต่ละการทดลองมีการทดลอง 3 ซ้ำ

จากนั้นทำการหาปริมาณการคายน้ำของต้นข้าวในเงื่อนไขการทดลองที่ต่างกัน ในวันที่ 2, 5, 9, 12, 15, 19, 21, 26, 29, 32 โดยการวัดปริมาณน้ำที่หายไป (water loss) จากพืช โดยการวัดปริมาตรของน้ำทุกๆ 3-5 วัน โดยวัดความสูงของปริมาณของน้ำในกระถางเริ่มต้นลบกับปริมาณน้ำที่เหลืออยู่ ซึ่งก็สามารถคำนวณเป็นปริมาณน้ำที่สูญหายไป

### ผลของการสะสมของแคดเมียมในส่วนต่างๆ ของต้นข้าวที่ปลูกในดินที่ปนเปื้อนแคดเมียมต่ำ (4 mg Cd/kg Soil) และการคายน้ำของต้นข้าวเมื่อใช้วัสดุเหลือทิ้งปรับปรุงดินต่างชนิดกัน

นำต้นกล้าที่มีอายุ 40 วัน จำนวน 6 ต้น มาปลูกในกระถางที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 21 เซนติเมตร สูง 18 เซนติเมตร โดยใส่วัสดุปรับปรุงดิน+ดินที่ปนเปื้อนแคดเมียมที่เข้มข้น 4 mg Cd/kg Soil รวมน้ำหนัก 2,000 กรัม จากนั้นเติมน้ำประปา 1,000 มิลลิลิตร โดยใช้ต้นกล้าปลูกกระถางละ 6 ต้น หลังจากปลูกแล้วทุกๆ วัน เติมน้ำ 600 มิลลิลิตรในแต่ละกระถางทดลอง ซึ่งเงื่อนไขในการทดลองในแต่ละกระถางการทดลองแตกต่างกันมี 6 การทดลอง ดังนี้

- กระถางการทดลองที่ 1 ดินไม่มีแคดเมียมปนเปื้อน (N) + ต้นกล้า  
 กระถางการทดลองที่ 2 ดินปนเปื้อนแคดเมียม + ต้นกล้า  
 กระถางการทดลองที่ 3 ดินที่ปนเปื้อนแคดเมียม + ขุยมะพร้าว (CP)1% + ต้นกล้า  
 กระถางการทดลองที่ 4 ดินที่ปนเปื้อนแคดเมียม + ขุยมะพร้าวที่ปรับสภาพด้วยต่าง (CPm)  
 1% + ต้นกล้า  
 กระถางการทดลองที่ 5 ดินที่ปนเปื้อนแคดเมียม + ชั่งข้าวโพด (CC) 1% + ต้นกล้า  
 กระถางการทดลองที่ 6 ดินที่ปนเปื้อนแคดเมียม + เปลือกส้ม (OP) 1% + ต้นกล้า

\*โดยแต่การทดลองมีการทดลอง 3 ซ้ำ

เมื่อทำการทดลองได้ 40 วัน ทำการวิเคราะห์แคดเมียมใน รากข้าว ลำต้น และในเมล็ดข้าว รวมถึงวิเคราะห์แคดเมียมที่เหลือในดิน ด้วย ICP Inductive Couple Plasma Spectroscopy (ICP), Jobin Yvon model JY 124 และหาปริมาณการคายน้ำของต้นข้าวในเงื่อนไขการทดลองที่ต่างกัน ในวันที่ 5, 9, 15, 21, 26, 32 โดยการวัดปริมาณน้ำที่หายไป(water loss) จากพืช โดยการวัดปริมาตรของน้ำทุกๆ 3-5 วัน โดยวัดความสูงของปริมาณของน้ำในกระถางเริ่มต้นลบกับปริมาณน้ำที่เหลืออยู่ ซึ่งก็สามารถคำนวณเป็นปริมาณน้ำที่สูญหายไปได้

**ผลของการสะสมของแคดเมียมในส่วนต่างๆ ของต้นข้าวที่ปลูกในดินที่ปนเปื้อนแคดเมียมสูง (145 mg Cd/kg Soil) และการคายน้ำของต้นข้าวเมื่อใช้วัสดุเหลือทิ้งปรับปรุงดินต่างชนิดกัน**

นำต้นกล้าที่มีอายุ 40 วัน จำนวน 6 ต้น มาปลูกในกระถางที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 21 เซนติเมตร สูง 18 เซนติเมตร โดยใส่วัสดุปรับปรุงดิน+ดินที่ปนเปื้อนแคดเมียมที่เข้มข้น 145 mg Cd/kg Soil รวมน้ำหนัก 2,000 กรัม จากนั้นเติมน้ำประปา 1,000 มิลลิลิตร โดยใช้ต้นกล้าปลูก กระถางละ 6 ต้น หลังจากปลูกแล้วทุกๆ วัน เติมน้ำ 600 มิลลิลิตรในแต่ละกระถางทดลอง ซึ่งเงื่อนไขในการทดลองในแต่ละกระถางการทดลองแตกต่างกันมี 5 การทดลอง ดังนี้

- กระถางการทดลองที่ 1 ดินไม่มีแคดเมียมปนเปื้อน (N) + ต้นกล้า  
 กระถางการทดลองที่ 2 ดินปนเปื้อนแคดเมียม + ต้นกล้า  
 กระถางการทดลองที่ 3 ดินที่ปนเปื้อนแคดเมียม + ขุยมะพร้าว (CP)1% + ต้นกล้า  
 กระถางการทดลองที่ 4 ดินที่ปนเปื้อนแคดเมียม + ขุยมะพร้าวที่ปรับสภาพด้วยต่าง (CPm)  
 1% + ต้นกล้า  
 กระถางการทดลองที่ 5 ดินที่ปนเปื้อนแคดเมียม + ชั่งข้าวโพด (CC) 1% + ต้นกล้า

\*โดยแต่การทดลองมีการทดลอง 3 ซ้ำ และการทดลองนี้ไม่ได้ทำการทดลองปลูกข้าวเมื่อใช้เปลือกส้มเป็นวัสดุปรับปรุงดิน เนื่องจากต้นข้าวตายเนื่องจากความเป็นพิษเพราะในเปลือกมีสารมี

สารไลโมนีน (Limonene) เป็นน้ำมันหอมระเหยชนิดหนึ่ง มากทำให้การลดลงของคลอโรฟิลล์ และการอัตราการไหลออกของน้ำจากปากใบ (stomatal conductance)

เมื่อทำการทดลองได้ 40 วัน ทำการวิเคราะห์แคดเมียมใน ราก ลำต้น และใบเมล็ดข้าว รวมถึงวิเคราะห์แคดเมียมที่เหลือนในดิน ด้วย ICP Inductive Couple Plasma Spectroscopy (ICP), Jobin Yvon model JY 124 และหาปริมาณการคายน้ำของต้นข้าวในเงื่อนไขการทดลองที่ต่างกัน ในวันที่ 3, 5, 7, 14, 20, 29, 36, 45 โดยการวัดปริมาณน้ำที่หายไป (water loss) จากพืช โดยการวัดปริมาตรของน้ำทุกๆ 3-5 วัน โดยวัดความสูงของปริมาณของน้ำในกระถางเริ่มต้น ลบกับปริมาณน้ำที่เหลือนอยู่ ซึ่งก็สามารถคำนวณเป็นปริมาณน้ำที่สูญหายไป

### การวิเคราะห์ปริมาณแคดเมียมในส่วนต่างๆ ของข้าว

การเก็บตัวอย่างส่วนต่างๆ ของข้าว เช่น ราก ลำต้น ใบข้าวและเมล็ดข้าว แล้วนำไปอบด้วยตู้อบ (oven) ที่ อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นนำตัวอย่างไปเผาในเตาเผาที่ อุณหภูมิ 480 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง จากนั้นนำมาชั่งน้ำหนักแห้ง และนำไปบดให้ละเอียดเก็บไว้ในถุงซิปล เพื่อนำไปวิเคราะห์หาปริมาณแคดเมียมในส่วนต่างๆ ของข้าว โดยการวิเคราะห์ปริมาณแคดเมียมในต้นข้าว โดย นำส่วนต่างๆ ของต้นข้าวที่ต้องการวิเคราะห์ มาชั่งน้ำหนัก 0.5 กรัม จากนั้นทำการย่อยด้วยกรดไนตริก 9 มิลลิลิตร และกรดซัลฟูริก 3 มิลลิลิตร และกรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 2 เพื่อนำมาวิเคราะห์หาปริมาณแคดเมียมที่เหลือนอยู่โดยเครื่อง Inductive Coupled Plasma Spectroscopy (ICP) จากนั้นคำนวณหน่วยวัดเป็นมิลลิกรัมของแคดเมียม/กิโลกรัมของต้นข้าว

### วิเคราะห์หาปริมาณแคดเมียมในดิน

นำดินมาอบด้วยตู้อบ (oven) ที่ อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นนำมาชั่งน้ำหนักแห้ง 0.5 กรัม เพื่อนำมาย่อยด้วยกรดไนตริก 9 มิลลิลิตรและกรดซัลฟูริก 3 มิลลิลิตร จากนั้นกรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 2 เพื่อนำมาวิเคราะห์หาปริมาณแคดเมียมที่เหลือนอยู่ด้วยเครื่อง Inductive Coupled Plasma Spectroscopy (ICP) จากนั้นคำนวณหน่วยวัดเป็นมิลลิกรัมของแคดเมียม/กิโลกรัม ของต้นข้าว

### การวิเคราะห์ค่าพีเอชของดินและน้ำที่ปลูกข้าวเมื่อใช้วัสดุเหลือทิ้งในการปรับปรุงดินต่างกัน

เก็บตัวอย่างดิน 10 กรัม และเติมน้ำ 20 มิลลิลิตร และทิ้งไว้ 1 ชั่วโมง นำส่วนที่เป็นของเหลววิเคราะห์ด้วย pH meter ส่วน วัดพีเอชของดินก็วัด pH meter โดยตรงเช่นกัน

### สถิติที่ใช้ในการวิเคราะห์ข้อมูล

ทำการรายงานค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานโดยโปรแกรม SPSS เวอร์ชัน 15 โดย Descriptive statistical analysis และเปรียบเทียบความแปรปรวนของกลุ่มตัวอย่าง โดย ONE WAY ANOVA ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% จำแนกกลุ่มโดย Duncan multiple range test