

บทที่ 3 วิธีการดำเนินการวิจัย

อุปกรณ์ เครื่องมือและสารเคมีที่ใช้ในงานวิจัย

1. อุปกรณ์ เครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย

- เครื่อง pH meter : Delta 340, METTLER TOLEDO
- เครื่อง Inductive Couple Plasma Spectroscopy (ICP) (Jobin Yvon model JY 124
- เครื่องฟูเรียร์ทรานฟอร์มอินฟราเรดสเปกโทรสโกปี (Fourier transform infrared spectrophotometer(FTIR), Perkin-Elmer spectrum one
- เครื่อง X-ray fluorescence spectrometer, Philips model PW2400
- เครื่อง Scanning Electron Microscope with Electron Dispersive X-ray Spectroscopy (SEM/EDS) (Oxford รุ่น X-Max^N 50 UK
- เครื่องเขย่า (shaker)
- 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

- เมล็ดข้าวพันธุพันธุ์ 1
- กระดุกไก่
- กระดุกหมู

- แร่สังกะสีซิลิเกต (zinc silicate) ที่ปนเปื้อนแคดเมียม
- ดินนา
- โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH)
- กรดไฮโดรคลอริก (HCl)
- กรดซัลฟูริก (H₂SO₄)
- กรดไนตริก (HNO₃)
- กรดไฮโดรฟลูออริก (HF)

การเตรียมต้นกล้า

นำเมล็ดพันธุ์ข้าวปทุมธานี 1 มาแช่น้ำเป็นเวลา 2 วัน จนรากงอกออกมา 5 มิลลิเมตร จากนั้นนำไปหว่านในกระบะดินที่เตรียมไว้ (ดินที่ไม่ปนเปื้อนแคดเมียม) เมื่ออายุกล้า ครบ 30 เมื่ออายุกล้า ครบ 30 วัน ก็จะได้นำไปปลูกต่อไป



ภาพที่ 3.1 การเพาะกล้า

การเตรียมดิน

นำแร่สังกะสีซิลิเกต (zinc silicate) ที่มีแคดเมียมปนเปื้อน จาก บริษัทในจังหวัดภาคเหนือ ในอำเภอแม่สอด จังหวัดตาก มาทุบให้ละเอียดและผสมกับดินนาที่นำมาจากอำเภอแก่งคอย จังหวัดสระบุรี โดยเก็บที่ระดับความลึก 0-30 เซนติเมตร จากนั้นนำตัวอย่างดิน มาตากแดด 3-4 วัน หลังจากนั้นนำดินมาทุบให้ละเอียด นำแร่สังกะสีซิลิเกต (zinc silicate) ที่มีแคดเมียมปนเปื้อนมาผสมกับดินนาในอัตราส่วน 1:1 (Suksabye et al., 2016) (ภาพที่ 3.2) จากนั้นนำตัวอย่างดินมาวิเคราะห์คุณสมบัติของดินตามพารามิเตอร์ในตารางที่ 3.1

ตารางที่ 3.1 พารามิเตอร์และวิธีการวิเคราะห์ดินที่นำมาศึกษา

พารามิเตอร์	วิธีการวิเคราะห์
ค่าความเป็นกรด-ด่าง	pH meter
อินทรีย์วัตถุ	Walkley and Black Method
ความสามารถในการแลกเปลี่ยนประจุบวก (CEC)	Ammonium Saturation and Distillation
ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด	Kjeldahl method
ปริมาณฟอสฟอรัสทั้งหมด	Colorimetric
โพแทสเซียม	Extraction with Ammonium acetate and analyzed by ICP
ปริมาณแคดเมียม	ICP



ภาพที่ 3.2 ดินนาผสมกับแร่สังกะสีซิลิเกต (zinc silicate) ที่มีแคดเมียมปนเปื้อนเพื่อใช้ในการทดลอง

การเตรียมเศษกระดูกอาหารและไบโอชาร์ของเศษกระดูกอาหาร

เศษกระดูกอาหารที่ใช้ในการทดลองได้แก่ กระดูกหมู กระดูกไก่ โดยนำกระดูกไก่และกระดูกหมู มาล้างทำความสะอาดด้วยน้ำ 3-4 ครั้ง เพื่อกำจัดสิ่งปนเปื้อนออกให้สะอาด แล้วนำเข้าสู่ตูบที่อุณหภูมิ 60 °C เป็นเวลา 1-2 วัน หลังจากนั้น นำกระดูกไก่และกระดูกหมู มาทุบให้ละเอียดให้มีขนาดเล็กแล้วนำไปแยกขนาดด้วยตะแกรง ให้มีขนาดเล็กกว่า 150 ไมโครเมตร

ส่วนไบโอชาร์ของเศษกระดูกหมูและกระดูกไก่ จัดเตรียมโดยนำเศษกระดูกหมู กระดูกไก่ ไปเผาในเตา 2 ชั่วโมงที่อุณหภูมิ 500 °C และทุบให้ละเอียด โดยร่อนผ่านตะแกรง นำไปแยกขนาดด้วยตะแกรง ให้มีขนาดเล็กกว่า 150 ไมโครเมตร



ภาพที่ 3.3 กระดูกหมูและกระดูกไก่ก่อนเผาที่อุณหภูมิ 500 องศาเซลเซียส



ภาพที่ 3.4 กระดูกหมูและกระดูกไก่หลังเผาที่อุณหภูมิ 500 องศาเซลเซียส



ภาพที่ 3.5 กระจุกหมู กระจุกไก่ กระจุกหมูเผา กระจุกไก่เผา สำหรับใช้ในการทดลอง

การศึกษาองค์ประกอบและคุณลักษณะของสารปรับปรุงดิน

1. Scanning Electron Microscope with Electron Dispersive X-ray Spectroscopy (SEM/EDS)

การวิเคราะห์ด้วยเครื่อง SEM/EDS เป็นการส่องเพื่อดูพื้นที่ผิวของตัวสารปรับปรุงดินชนิดต่าง ๆ ที่ผ่านการอบแห้งแล้วทำการเคลือบตัวอย่างด้วยทองแล้วนำไปส่องดูที่กำลังขยายต่าง ๆ เพื่อดูลักษณะพื้นที่ผิวของของปรับปรุงดิน โดยเครื่อง SEM จะต่อเข้ากับ EDS ทำให้สามารถวิเคราะห์ปริมาณธาตุต่าง ๆ ของสารปรับปรุงดินได้

2. X-ray fluorescence (XRF)

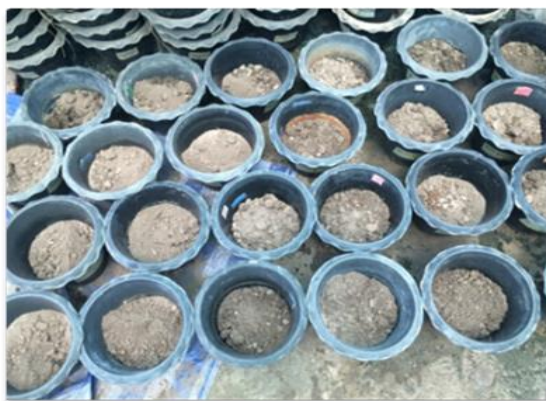
การวิเคราะห์หาองค์ประกอบของธาตุในรูปออกไซด์ของสารปรับปรุงดิน การวิเคราะห์นี้เครื่องมือที่ใช้วิเคราะห์คือ X-ray fluorescence spectrometry (Philips model PW2400) โดยนำ 1 กรัมของ สารปรับปรุงดินผสมกับ cassava powder จากนั้นนำไปอัดในดิสก์ (disc) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 32 นาโนเมตร จากนั้นนำไปวิเคราะห์ด้วย X-ray fluorescence spectrometry

แผนงานวิจัย

นำต้นกล้าที่มีอายุ 30 วัน จำนวน 3 ต้น มาปลูกในกระถางที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 21 เซนติเมตร สูง 18 เซนติเมตร ในดินที่ปนเปื้อนแคดเมียมและเติมกระจุกหมู กระจุกไก่ กระจุกหมูเผา กระจุกไก่เผา รวมน้ำหนัก 2,000 กรัม (ตั้งเงื่อนไขด้านล่าง) และปลูกในดินที่ไม่ปนเปื้อนแคดเมียม (control) และ ปลูกในดินที่ปนเปื้อนแคดเมียม (control) แต่ปราศจากการเติมสารปรับปรุงดิน

จากนั้นเติมน้ำประปา 1,000 มิลลิลิตร หลังจากปลูกแล้วทุก ๆ วัน เติมน้ำ 300 มิลลิลิตรในแต่ละกระถางทดลอง และระหว่างการปลูกข้าว มีการใส่ปุ๋ยเคมี สูตร (N:P:K) 16-20-0 จำนวน 2 ครั้ง เพื่อมิให้เป็นตัวจำกัด (limited factor) โดยเงื่อนไขการทดลอง มีรายละเอียดดังนี้

- เงื่อนไขการทดลองที่ 1: ดินที่ไม่ปนเปื้อนแคดเมียม + ต้นกล้า (control)
 เงื่อนไขการทดลองที่ 2: ดินที่ปนเปื้อนแคดเมียม + ต้นกล้า (control)
 เงื่อนไขการทดลองที่ 3: ดินที่ปนเปื้อนแคดเมียม + เศษกระดุกหมู (0.5%w/w)+ ต้นกล้า
 เงื่อนไขการทดลองที่ 4: ดินที่ปนเปื้อนแคดเมียม + เศษกระดุกไก่ (0.5%w/w)+ ต้นกล้า
 เงื่อนไขการทดลองที่ 5: ดินที่ปนเปื้อนแคดเมียม + ไบโอสาร์จากเศษกระดุกหมู (0.5%w/w)+ ต้นกล้า
 เงื่อนไขการทดลองที่ 6: ดินที่ปนเปื้อนแคดเมียม + ไบโอสาร์จากเศษกระดุกไก่ (0.5%w/w)+ ต้นกล้า
 เงื่อนไขการทดลองที่ 7: ดินที่ปนเปื้อนแคดเมียม + เศษกระดุกหมู (1%w/w)+ ต้นกล้า
 เงื่อนไขการทดลองที่ 8: ดินที่ปนเปื้อนแคดเมียม + เศษกระดุกไก่ (1%w/w)+ ต้นกล้า
 เงื่อนไขการทดลองที่ 9: ดินที่ปนเปื้อนแคดเมียม + ไบโอสาร์จากเศษกระดุกหมู (1%w/w)+ ต้นกล้า
 เงื่อนไขการทดลองที่ 10: ดินที่ปนเปื้อนแคดเมียม + ไบโอสาร์จากเศษกระดุกไก่ (1%w/w)+ ต้นกล้า
 *โดยแต่การทดลองทำการทดลอง 3 ซ้ำ



ภาพที่ 3.6 การปลูกต้นกล้าในกระถางทดลอง

การวิเคราะห์ปริมาณแคดเมียมในส่วนต่าง ๆ ของข้าว

เก็บตัวอย่างส่วนต่าง ๆ ของต้นข้าว เช่น ราก ลำต้น เปลือกและเมล็ดข้าว หลังจากเก็บเกี่ยว 90 วัน จากนั้นนำตัวอย่างไปอบด้วยตู้อบ (oven) ที่ อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง และชั่งน้ำหนัก น้ำหนักแห้ง และนำตัวอย่างไปบดให้ละเอียดเพื่อนำไปวิเคราะห์หาปริมาณแคดเมียมในส่วนต่างของข้าว ซึ่งการวิเคราะห์ปริมาณแคดเมียมในต้นข้าว จะนำส่วนต่าง ๆ ของต้นข้าวที่ต้องการวิเคราะห์ มาชั่งน้ำหนัก 0.2 กรัม จากนั้นทำการย่อยด้วยกรดซัลฟูริก (H_2SO_4) และ กรดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) ในอัตราส่วน 1:1 (Harmon and Lajtha, 1999) และกรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 42 เพื่อนำมาวิเคราะห์หาปริมาณแคดเมียมที่เหลืออยู่โดยเครื่อง Inductive Couple Plasma Spectroscopy (ICP) (Jobin Yvon model JY 124) จากนั้นคำนวณหน่วยวัดเป็นมิลลิกรัมของแคดเมียม/กิโลกรัมของน้ำหนักแห้งของข้าว

วิเคราะห์หาปริมาณแคดเมียมในดิน

นำดินมาอบด้วยตู้อบ (oven) ที่ อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง จากนั้นนำมาชั่งน้ำหนักแห้ง 0.5 กรัม เพื่อนำมาย่อยด้วยกรดไฮโดรคลอริก (HCl) และ กรดไนตริก (HNO_3) ในอัตราส่วน 3:1 (McGrath and Cunliffe, 1985) และกรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 42 เพื่อนำมาวิเคราะห์หาปริมาณแคดเมียมที่เหลืออยู่ด้วยเครื่อง Inductive Couple Plasma Spectroscopy (ICP) (Jobin Yvon model JY 124) จากนั้นคำนวณหน่วยวัดเป็นมิลลิกรัมของแคดเมียม/กิโลกรัมของดิน

ศึกษาการเปลี่ยนแปลงความเป็นกรด-ด่าง ของระบบในการปลูกข้าว

ก่อนและหลังเก็บเกี่ยว 90 วัน เก็บตัวอย่างดินมาวิเคราะห์ พีเอช ด้วย pH meter

การวิเคราะห์ปริมาณแคลเซียมและแมกนีเซียมในข้าว

หลังเก็บเกี่ยว 90 วัน ชั่งน้ำหนัก 0.5 กรัมของราก ลำต้น เปลือก และเมล็ด แล้วนำมาอบที่ตู้อบ (oven) ที่ อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นนำไปย่อยด้วย 70% ไนตริก (HNO_3) และ 30% ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) ที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง (Cho et al., 2012 ; Chou, et al., 2011) จากนั้นกรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 42 เพื่อนำมาวิเคราะห์หาปริมาณแคลเซียมและแมกนีเซียมที่มีอยู่ด้วยเครื่อง Inductive Couple Plasma Spectroscopy (ICP) (Jobin Yvon model JY 124).

ศึกษาผลผลิตของข้าวในรูปน้ำหนักแห้งของข้าวหลังเก็บเกี่ยว

หลังเก็บเกี่ยว 90 วัน นำตัวอย่างของต้นข้าวในแต่ละกระถางมาอบด้วยตู้อบ (oven) ที่ อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นนำมาชั่งน้ำหนักแห้ง (dry weight) ของต้นข้าวเพื่อเปรียบเทียบน้ำหนักแห้งของต้นข้าวด้วยเงื่อนไขการใส่สารปรับปรุงดินแตกต่างกัน

ศึกษากลไกการดูดซับสารละลายแคดเมียมด้วยวัสดุปรับปรุงดินชนิดต่าง ๆ

1. การดูดซับ (Adsorption) ละลายแคดเมียมด้วยวัสดุปรับปรุงดินชนิดต่าง ๆ

สารละลายแคดเมียมที่ใช้ในการทดลองโดยการนำดินที่ปนเปื้อนแคดเมียมมา 2 กิโลกรัม เติมน้ำกลั่น 4 ลิตร ปรับ พีเอชประมาณ 4 ตั้งทิ้งไว้ประมาณ 1 วัน จากนั้นนำน้ำส่วนใสมากรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 5 หลังจากนั้นนำสารละลายแคดเมียมที่เตรียมได้จำนวน 20 มิลลิลิตร มาใส่ขวดรูปชมพู่ ขนาด 250 มิลลิลิตร แล้วเติม กระจกหนู กระจกไก่ กระจกหนูเผาและกระจกไก่เผา ปริมาณ 0.4 กรัม (2% w/v) จากนั้นนำไปเขย่าที่เครื่องเขย่า (shaker) ความเร็วรอบ 150 rpm 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นกรองส่วนใสผ่านกระดาษกรองเบอร์ 5 และนำไปวัดปริมาณแคดเมียมด้วยเครื่อง ICP

2. การศึกษาการแยกชะ (Desorption) สารละลายแคดเมียมออกจากวัสดุปรับปรุงดินชนิดต่าง ๆ

นำตัวดูดซับต่าง ๆ ที่ผ่านการดูดซับสารละลายแคดเมียมมาแล้ว ปริมาณ 0.4 กรัม นำไปใส่ในขวดทดลองที่มีสารแยกชะ (eluent) จำนวน 20 มิลลิลิตร โดยสารแยกชะที่ใช้ในการทดลองได้แก่ น้ำปราศจากไอออน (DI) กรดซัลฟูริก 1 โมลาร์ และโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.5 โมลาร์ (0.5 M NaOH) แล้วมาแยกชะออก เพื่อหาปริมาณแคดเมียมที่ดูดซับเข้าไป ด้วยน้ำปราศจากไอออน (DI) กรดซัลฟูริก และโซเดียมไฮดรอกไซด์ โดยการนำตัวดูดซับใส่ขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร เติมน้ำปราศจากไอออน (DI) กรดซัลฟูริก และโซเดียมไฮดรอกไซด์ ขวดละ 20 มิลลิลิตร จากนั้นนำขวดทดลองไปเขย่าที่เครื่องเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง นำมากรองอีกครั้งด้วยกระดาษกรองเบอร์ 5 และนำไปวิเคราะห์ค่าแคดเมียมด้วยเครื่อง ICP

3. การศึกษาหมู่ฟังก์ชันของตัวดูดซับชนิดต่าง ๆ

การวิเคราะห์ด้วยเครื่องฟูเรียร์ทรานส์ฟอร์มแนฟราเรดสเปกโทรสโกปี (Fourier Transform Infrared Spectrophotometer, FTIR) จะเป็นการวิเคราะห์หมู่ฟังก์ชัน (functional group) ของตัวดูดซับโดยการวิเคราะห์จะนำตัวดูดซับที่ผ่านการอบแห้งแล้วไปทำการบดผสมกับโพรแตสเซียมโบรไมด์ (KBr) ในอัตราส่วนวัสดุปรับปรุงดิน : โพรแตสเซียมโบรไมด์=1:100 ผสมให้เข้ากันแล้วนำไปบรรจุในที่ใส่ตัวอย่างแล้วนำไปวิเคราะห์ การทดลองเปรียบเทียบหมู่ฟังก์ชันที่เปลี่ยนไปก่อนและหลังการดูดซับสารละลายแคดเมียม

การปริมาณแคลเซียม แมกนีเซียม จากตัวดูดซับที่แยกชะด้วยน้ำ DI

การทดลองนำตัวกระจกหนู กระจกไก่ กระจกหนูเผา และ กระจกไก่เผา ปริมาณ 0.4 กรัม เติมน้ำปราศจากไอออน (DI) 20 มิลลิลิตร ในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร นำไปเข้าไปเขย่าใน

เครื่องเขย่า (shaker) เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำมากรองอีกครั้งด้วยกระดาษกรองเบอร์ 5 และนำไปวิเคราะห์ปริมาณแคลเซียมและแมกนีเซียมที่ละลายออกมาในน้ำ DI ด้วยเครื่อง ICP

สถิติที่ใช้ในการวิเคราะห์ข้อมูล

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