

### บทที่ 3

#### วิธีการดำเนินงานวิจัย

#### 3.1 เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในงานวิจัย

##### 3.1.1 เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการเก็บตัวอย่างดินที่ใช้ในงานวิจัย

- 1) อุปกรณ์ที่ใช้ในการขุดดิน ได้แก่ จอบ และเสียม
- 2) ถังสำหรับเก็บตัวอย่างดิน

##### 3.1.2 เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการปลูกพืชของงานวิจัย

- 1) ดินที่ผ่านขั้นตอนการเตรียมดินมาเรียบร้อยแล้ว
- 2) เมล็ดพันธุ์ของพืชที่ใช้ในการทดลอง ได้แก่ ผักกาดเขียวปลี ใช้เมล็ดของเจียใต้ ต้อยติ่ง และไมยราบนั่น ใช้เมล็ดพันธุ์ที่เก็บตัวอย่างมาจากสถานที่เก็บดินที่ใช้ในการทดลองซึ่งได้ทำการทดสอบชนิดเป็นที่แน่นอนแล้ว
- 3) สารเคมีที่ใช้เติมในดินเพื่อใช้เป็นตัวคีเลต ได้แก่ DTPA (diethylenetriaminepentaacetic acid) ammonium sulfate และ citric acid
- 4)  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  เพื่อใช้ในการเติมในดินเพื่อปรับปริมาณ Cu ในดินให้มีความเข้มข้นตามที่ต้องการ
- 5) กระถางต้นไม้สีดำไม่มีรูขนาด 10 นิ้ว
- 6) ถังดำ
- 7) กระดาษ label
- 8) เครื่องชั่งไฟฟ้าอย่างละเอียด (analytical balance)

##### 3.1.3 เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการวิเคราะห์ตัวอย่างของงานวิจัย

- 1) เครื่องแก้วและอุปกรณ์ที่ใช้ในงานวิจัย เช่น บีกเกอร์ กระบอกตวง กรวยกรอง ขวดรูปชมพู่ ขวดปรับปริมาตร ปิเปต บิวเรต กระบอกฉีดน้ำกลั่น และกระดาษกรอง ฯลฯ
- 2) วัสดุวิทยาศาสตร์ที่ใช้ในงานวิจัย เช่น กระดาษกรอง กระดาษวัดค่าพีเอช และ พาราฟิล์ม ฯลฯ

- 3) สารเคมีที่ใช้ในงานวิจัย ใช้สารเคมีระดับงานวิเคราะห์ (analytical grade)
- 4) เครื่องมือที่ใช้ในงานวิจัย เช่น Atomic Absorption Spectrophotometer (AAS) เครื่องวัดพีเอช (pH meter) เครื่องชั่งไฟฟ้าอย่างละเอียด (analytical balance) เตาแผ่นความร้อน (hot plate) และเครื่องเขย่า (shaking machine) ฯลฯ

## 3.2 สถานที่ดำเนินงานวิจัย

### 3.2.1 สถานที่เก็บตัวอย่างดินที่ใช้ในงานวิจัย

ดินที่ใช้ในงานวิจัยเก็บมาจาก บ้านท่าแฉลบ หมู่ที่ 5 ตำบลศิระชะทอง อำเภอนครชัยศรี จังหวัดนครปฐม ซึ่งเคยเป็นพื้นที่ที่ใช้ในการเลี้ยงสุกรมาก่อน แต่ในปัจจุบันพื้นที่นี้ได้ถูกเปลี่ยนมาใช้ในการทำสวนผักแทน

### 3.2.2 สถานที่ในการใช้ปลูกพืชของงานวิจัย

งานวิจัยนี้ได้ทำการปลูกพืชในเรือนทดลองที่สร้างขึ้น ณ แปลงทดลองของภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

### 3.2.3 สถานที่ในการวิเคราะห์ตัวอย่างของงานวิจัย

งานวิจัยนี้ได้ดำเนินการวิเคราะห์ตัวอย่างที่ห้องปฏิบัติการชั้น 4 ตึกวิทยาศาสตร์ทั่วไป คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย และห้องปฏิบัติการชั้น 17 อาคารมหามกุฏ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## 3.3 ขั้นตอนงานวิจัย

### 3.3.1 เตรียมดิน

#### 1) ดินที่ใช้ในการปลูกพืช

นำดินมาผึ่งในที่ร่มจนดินแห้ง จากนั้นนำดินนั้นไปคัดแยกเศษไม้และเศษขยะต่างๆ ออก ให้เหลือแต่ส่วนที่เป็นดินเท่านั้น

## 2) ดินที่ใช้ในการวิเคราะห์

นำดินจากข้อ 1) มาบดและร่อนผ่านตะแกรงขนาด 0.5 และ 2 มิลลิเมตร จากนั้นนำเก็บใส่ถุง เพื่อนำไปวิเคราะห์สมบัติทางกายภาพและเคมีของดินดังตารางที่ 3.1

ตารางที่ 3.1 พารามิเตอร์และวิธีการวิเคราะห์สมบัติของดิน

พารามิเตอร์	วิธีวิเคราะห์
1. ลักษณะเนื้อดิน (soil texture)	Hydrometer method (ขณะทำงานปรับปรุงมาตรฐานการวิเคราะห์ดิน พืช น้ำ และปุ๋ยเคมี. 2536)
2. ปริมาณน้ำในดิน (soil water content)	Gravimetric method (Tan, 1996)
3. ความเป็นกรดต่างของดิน (pH)	Potentiometric method (ดิน : น้ำกลั่น = 1 : 1) (ทัศนีย์ อัดตะนันท์ และจรงค์ จันท์เจริญสุข, 2542)
4. ความจุในการแลกเปลี่ยนไอออนบวกของดิน (cation exchange capacity)	NH <sub>4</sub> OAc method (Tan, 1996)
5. ปริมาณอินทรีย์วัตถุในดิน (organic matter content)	Walkley and Black rapid titration (Tan, 1996)
6. ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด (total nitrogen)	Kjeldahl method (Tan, 1996)
7. ปริมาณฟอสฟอรัสที่พืชสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ (available phosphorus)	Mehlich's No.1 method (Tan, 1996)
8. ปริมาณโปแตสเซียมที่สามารถแลกเปลี่ยนได้ (exchangeable potassium)	Atomic Absorption Spectrophotometer (Tan, 1996)
9. ปริมาณทองแดง (total copper)	Atomic Absorption Spectrophotometer (Tan, 1996)

### 3.3.2 เตรียมแปลงทดลอง

ทำการถางต้นไม้และปรับปรุงสภาพพื้นที่บริเวณที่จะปลูกเรือนทดลองให้ความราบของพื้นที่อยู่ในระดับเดียวกัน จากนั้นทำการปลูกเรือนทดลองและจัดสภาพภายในตามที่ได้กำหนดไว้

### 3.3.3 เตรียมเมล็ดพันธุ์

ก่อนที่จะนำเมล็ดพืชมาใช้ในงานวิจัย ต้องมีการคัดเลือกเมล็ดที่จะนำมาปลูกเสียก่อน เพื่อให้ได้ต้นพืชที่แข็งแรงและอยู่ในคุณภาพเดียวกันทั้งหมด ซึ่งในพืชทั้ง 3 ชนิดจะใช้วิธีการต่างกันดังนี้

- 1) ผักกาดเขียวปลี จะทำการเลือกเมล็ดที่มีขนาดพอๆ กันลักษณะกลมสีน้ำตาลเข้ม เมล็ดเต็มเมล็ดไม่มีรอยแห้วหรือถูกกัดกิน เมื่อนำไปทดสอบโดยการลอยน้ำจะมีน้ำหนักมน้ำ
- 2) ต้อยติ่ง จะทำการคัดเลือกฝักที่มีขนาดพอๆ กัน ฝักมีสีน้ำตาลเข้มออกดำ ไม่มีรอยแตกหรือแห้วของฝัก เมื่อทำการทดสอบโดยการสัมผัสกับน้ำจะมีการแตกของฝักอย่างรวดเร็ว
- 3) ไม้ยราบ จะทำการคัดเลือกเมล็ดจากเมล็ดที่มีขนาดพอๆ กัน เมล็ดมีสีดำเข้ม เมล็ดเต็มเมล็ดไม่มีรอยแห้วหรือถูกกัดกิน เมื่อนำไปทดสอบโดยการลอยน้ำจะมีน้ำหนักมน้ำ

### 3.3.4 เตรียมการทดลอง

เตรียมการทดลอง โดยงานวิจัยนี้วางแผนการทดลองแบบ CRD (Complete Randomize Design) โดยใช้พืชในงานวิจัยทั้งหมด 3 ชนิด ซึ่งพืช 1 ชนิดมีตำรับการทดลอง 8 ตำรับการทดลอง แบ่งระยะเวลาการเก็บเกี่ยวพืชออกเป็น 3 ช่วงระยะเวลาเก็บเกี่ยว ทำการทดลอง 3 ซ้ำ รวมแล้วพืช 1 ชนิดมีหน่วยการทดลอง 72 หน่วย ดังนั้นเมื่อคิดรวมพืชทั้ง 3 ชนิดแล้วมีหน่วยการทดลองทั้งหมด 216 หน่วย โดยที่ 1 หน่วยทดลอง คือ 1 กระถาง

สำหรับตำรับการทดลองทั้ง 8 ตำรับนั้นมีการเติมสารลงไปดินต่างกัน ดังนี้

- 1) ดิน 3 กิโลกรัม
- 2) ดิน 3 กิโลกรัมที่มีการเติม  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  เพื่อให้ดินมี Cu เพิ่มขึ้น 50 mg/kg
- 3) ดิน 3 กิโลกรัมที่มีการเติม  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  เพื่อให้ดินมี Cu เพิ่มขึ้น 100 mg/kg
- 4) ดิน 3 กิโลกรัมที่มีการเติม  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  เพื่อให้ดินมี Cu เพิ่มขึ้น 150 mg/kg
- 5) ดิน 3 กิโลกรัมที่มีการเติม  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  เพื่อให้ดินมี Cu เพิ่มขึ้น 200 mg/kg

- 6) ดิน 3 กิโลกรัมที่มีการเติม  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  เพื่อให้ดินมี Cu เพิ่มขึ้น 100 mg/kg และ DTPA (Diethylenetriaminepentaacetic acid) 100 mg/kg
- 7) ดิน 3 กิโลกรัมที่มีการเติม  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  เพื่อให้ดินมี Cu เพิ่มขึ้น 100 mg/kg และ ammonium sulfate 100 mg/kg
- 8) ดิน 3 กิโลกรัมที่มีการเติม  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  เพื่อให้ดินมี Cu เพิ่มขึ้น 100 mg/kg และ citric acid 100 mg/kg

### 3.3.5 ดำเนินการเพาะปลูกพืช

ทำการปลูกพืชในกระถางที่จัดเตรียมไว้ทั้ง 216 กระถาง โดยที่ 1 กระถางจะใช้เมล็ดพืช 3 เมล็ด ทำการดูแลพืชเหล่านั้นจนงอกครบ 2 สัปดาห์ จึงทำการถอนพืชให้เหลือต้นที่แข็งแรงและมีขนาดสม่ำเสมอกันไว้เพียง 1 ต้นต่อ 1 กระถาง ทำการดูแลต่อไปจนวันที่ 21 ของการงอกจึงทำการเติม  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  และตัวเคิลต์ทั้ง 3 ชนิดที่เตรียมไว้ตามตำรับการทดลองทั้ง 8 ตำรับ จากนั้นดูแลต่อไปจนครบระยะเวลา 40 วัน 50 วัน และ 60 วันหลังการงอกจึงทำการเก็บเกี่ยวพืชและเก็บดินตามช่วงระยะเวลาที่กล่าวข้างต้น

### 3.3.6 นำตัวอย่างพืชและดินที่ได้จากงานวิจัยไปวิเคราะห์

นำตัวอย่างพืชที่ได้มาแยกส่วนยอด (shoot) และส่วนราก (root) จากนั้นนำพืชทั้งส่วนยอดและส่วนรากนั้นมาล้างทำความสะอาดนำเศษดินที่ติดอยู่ตามรากพืชออกให้หมด จากนั้นนำตัวอย่างพืช 2 ส่วนไปอบที่อุณหภูมิ  $60^\circ\text{C}$  เป็นเวลา 1 คืนจนตัวอย่างแห้ง จากนั้นนำตัวอย่างแห้งของพืชทั้งส่วนยอดและส่วนรากไปทำการย่อยด้วย hot plate โดยใช้ conc.HCl และ conc. $\text{HNO}_3$  ในอัตราส่วน 4 : 1 เพื่อวิเคราะห์ปริมาณ Cu ด้วยวิธี hot plate digestion (McGrath and Cunliffe, 1985) จากนั้นจึงนำไปวัดปริมาณของ Cu ด้วย Atomic Absorption Spectrophotometer (AAS) (Tan, 1996)

สำหรับดินที่เหลือจากการเก็บเกี่ยวตัวอย่างพืชแล้ว นำมาคลุกเคล้าให้เท่ากัน นำไปผึ่งลมให้แห้ง แล้วนำดินนั้นไปสกัดแยกเศษไม้และเศษขยะต่างๆ ออก ให้เหลือแต่ส่วนที่เป็นดินเท่านั้น จากนั้นนำดินนั้นมาบดและร่อนผ่านตะแกรงขนาด 0.5 มิลลิเมตร จากนั้นแบ่งตัวอย่างดินที่ได้ไปทำการย่อยด้วย hot plate โดยใช้ conc.HCl และ conc. $\text{HNO}_3$  ในอัตราส่วน 4 : 1 เพื่อวิเคราะห์ปริมาณ Cu ด้วยวิธี hot plate digestion (McGrath and Cunliffe, 1985) จากนั้นจึงนำไปวัดปริมาณของ Cu ด้วย Atomic Absorption Spectrophotometer (AAS) (Tan, 1996)

### 3.3.7 รวบรวมและประมวลผลของข้อมูลที่ได้จากงานวิจัย

ทำการรวบรวมผลการทดลองและนำข้อมูลที่ได้ไปวิเคราะห์ความแตกต่างของประสิทธิภาพของการสะสมทองแดงในดิน โดยใช้พืชทั้ง 3 ชนิดในระดับความเข้มข้นของทองแดงที่ต่างกันตามวัตถุประสงค์ของงานวิจัยโดยใช้ One-way ANOVA (SPSS for Windows) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%