

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 แผนการทดลอง

การวิจัยเรื่อง “การบำบัดโลหะหนักที่ปนเปื้อนในดินด้วยพืชบริเวณพื้นที่กำจัดมูลฝอยชุมชน กรณีศึกษาเทศบาลตำบลในเมือง อำเภอพิชัย จังหวัดอุตรดิตถ์” เพื่อให้การวิจัยเป็นไปตามวัตถุประสงค์ที่ตั้งไว้ ผู้วิจัยได้ดำเนินการตามลำดับขั้นตอนดังนี้

เก็บตัวอย่างดินบริเวณผิวหน้าดินจากบ่อกำจัดขยะของเทศบาลตำบลในเมืองที่ระดับความลึกประมาณ 0–20 เซนติเมตร โดยการสุ่มตัวอย่างดินทั้งหมด 2 ปอ ปอละ 4 จุด คลุกเคล้าดินให้เข้ากัน ผึ่งให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นบดให้ละเอียดและร่อนด้วยกระแกรงขนาด 5 มิลลิเมตร ทำการวิเคราะห์อุณหภูมิ ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) และปริมาณโลหะหนักในดินก่อนปลูกพืช โดยออกแบบชุดการทดลองเป็น 7 ชุดดังนี้

ชุดการทดลองที่ 1 ชุดควบคุม

ชุดการทดลองที่ 2 (ดาวเรือง)

ชุดการทดลองที่ 3 (ดาวเรือง) + EDTA

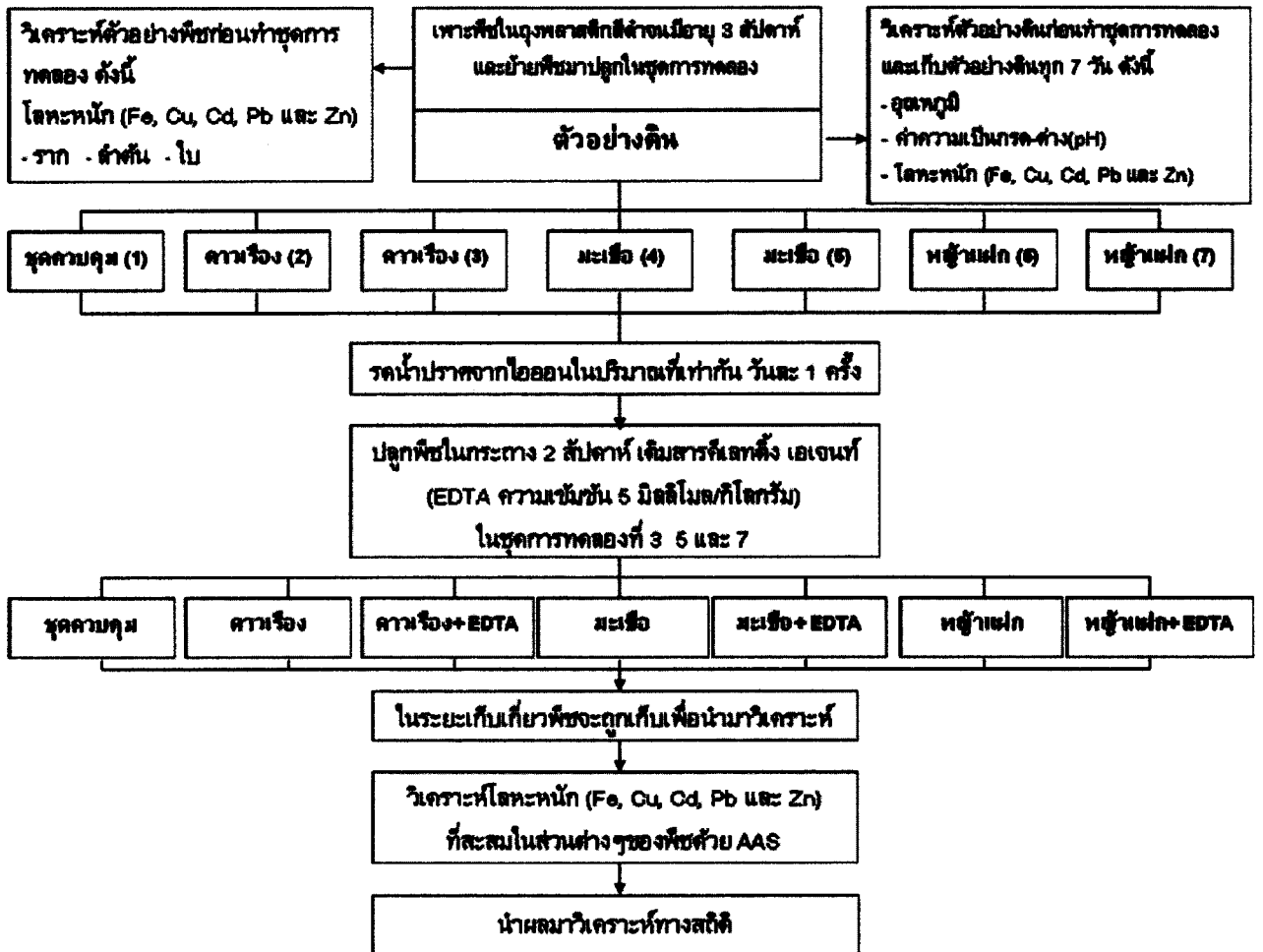
ชุดการทดลองที่ 4 (มะเขือ)

ชุดการทดลองที่ 5 (มะเขือ) + EDTA

ชุดการทดลองที่ 6 (หญ้าแฝก)

ชุดการทดลองที่ 7 (หญ้าแฝก) + EDTA

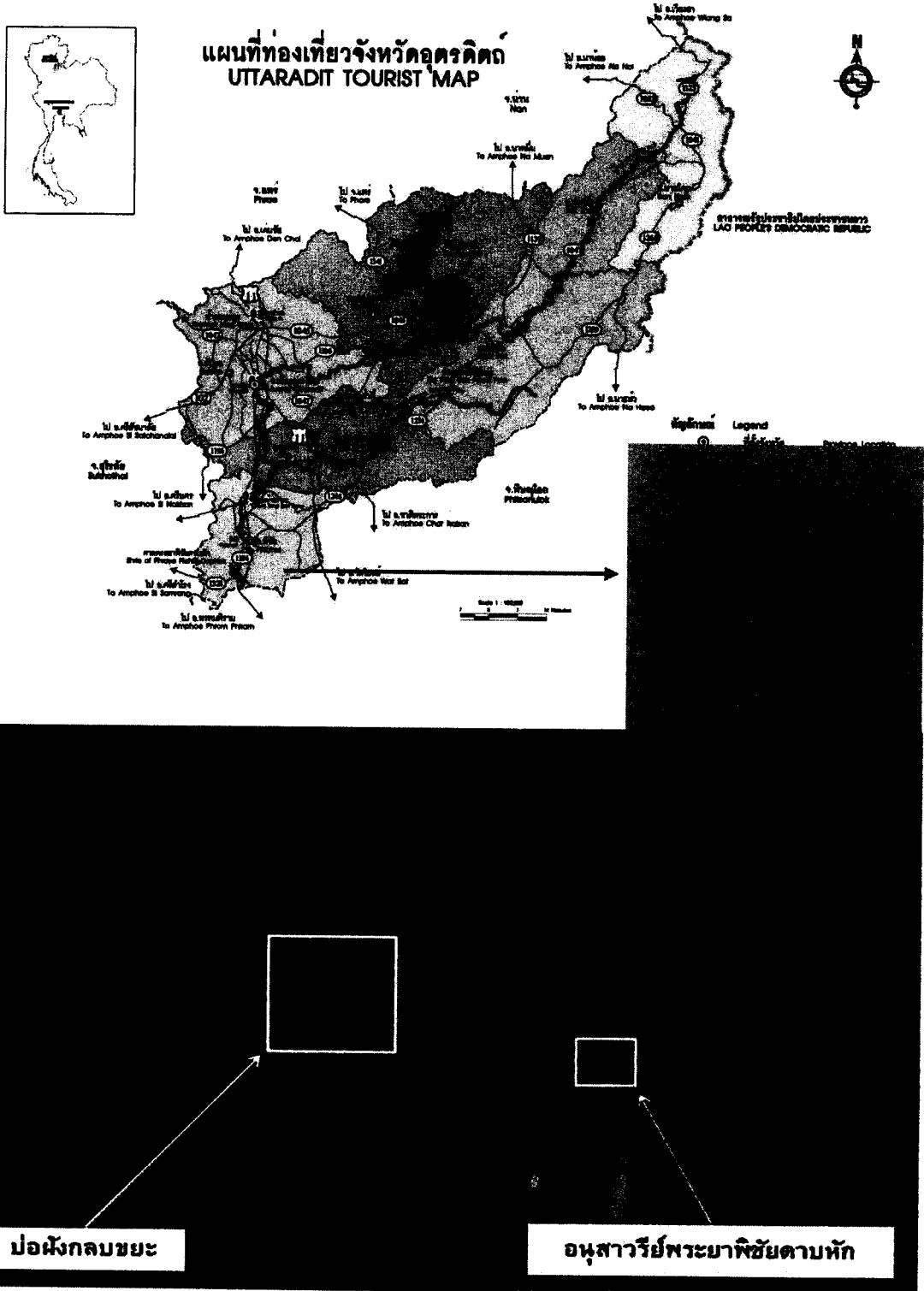
ทำการเพาะพืชในถุงพลาสติกสีดำจนมีอายุ 3 สัปดาห์ (พืชจะถูกนำมาวิเคราะห์หาปริมาณโลหะหนักที่สะสมอยู่ในส่วนต่างๆ ก่อนนำไปปลูกในชุดการทดลอง) จากนั้นจึงย้ายพืชมาปลูกในกระถางพลาสติกสีดำขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 8 นิ้ว ใส่ดินในแต่ละกระถางเท่ากับ 1.5 กิโลกรัม โดยวางกระถางปลูกพืชไว้ในเรือนทดลองให้ได้รับแสงแดดเท่ากัน ให้น้ำวันละ 1 ครั้ง ให้พืชทุกต้นได้รับน้ำเพียงพอในปริมาณที่เท่ากัน ซึ่งน้ำที่ใช้รดเป็นน้ำปราศจากไอออน หลังจากการปลูกพืชในกระถาง 2 สัปดาห์ เติมสารคีเลตติ้ง เอเจนท์ (EDTA ความเข้มข้น 5 มิลลิโมล/กิโลกรัม) ตามวิธีของ Chen et al., (2004) ในชุดการทดลองที่ 3 5 และ 7 โดยจะทำการเก็บตัวอย่างดินเพื่อนำมาวิเคราะห์อุณหภูมิ ความเป็นกรด-ด่าง (pH) และปริมาณโลหะหนักทุกๆ 7 วัน จนถึงระยะเก็บเกี่ยวจึงเก็บเกี่ยวพืชเพื่อนำมาวิเคราะห์หาปริมาณโลหะหนักที่สะสมอยู่ตามส่วนต่างๆ ต่อไป และนำผลที่ได้ไปวิเคราะห์ทางสถิติ แผนการทดลองดังภาพ 3.1



ภาพ 3.1 แผนการทดลอง

3.2 วิธีการทดลอง

3.2.1 พื้นที่ทำการวิจัย



ภาพ 3.2 พื้นที่ทำการศึกษาวิจัย

3.2.2 การเก็บตัวอย่างดิน

3.2.2.1 อุปกรณ์

3.2.2.1.1 จอบ เสียม พลั่ว

3.2.2.1.2 ถุงพลาสติก

3.2.2.1.3 ผ้าพลาสติก

3.2.2.2 วิธีการ

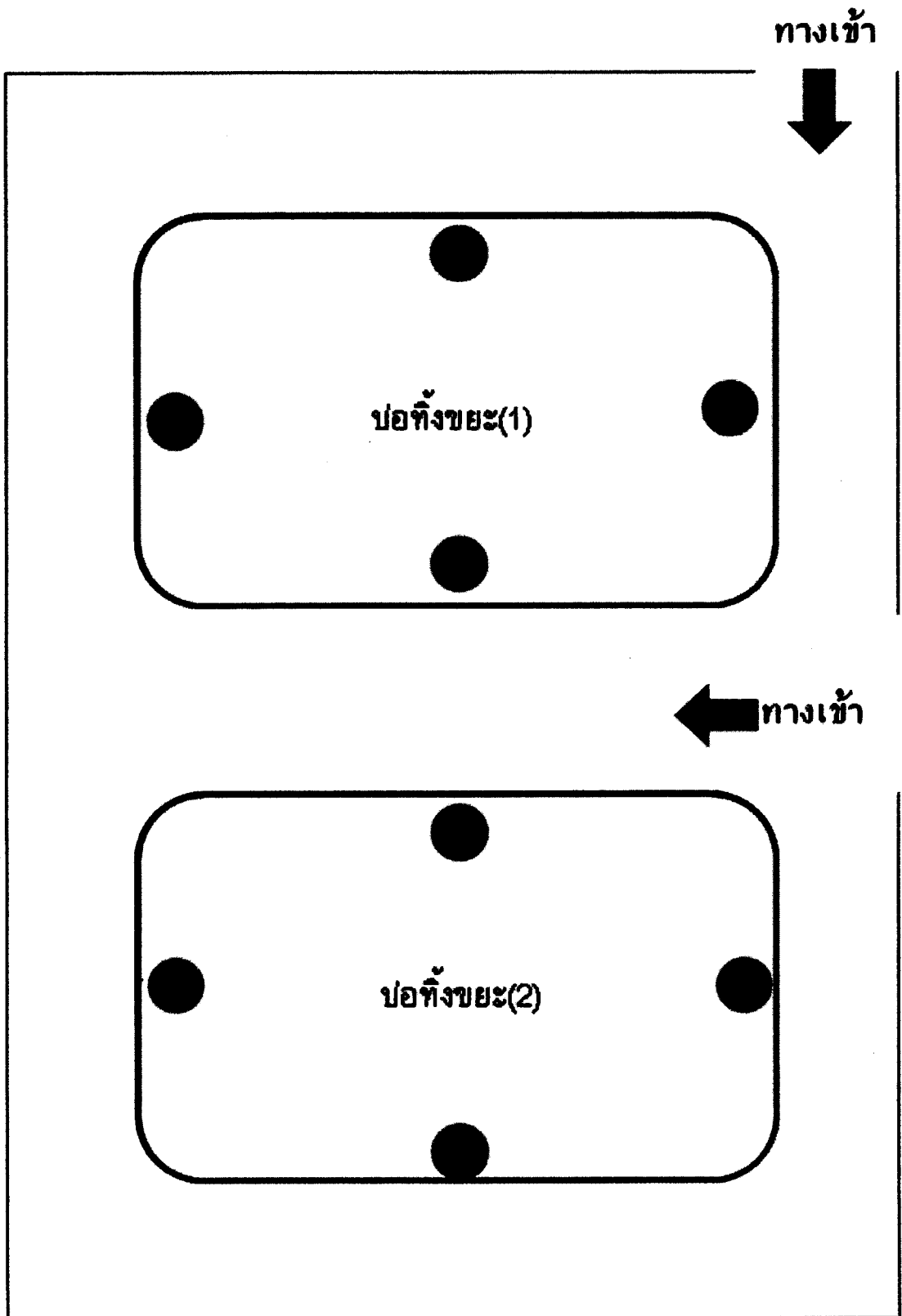
3.2.2.2.1 กำหนดจุดเก็บตัวอย่างดิน เพื่อให้แน่ใจว่าดินที่เก็บจะเป็นตัวแทนของดินบริเวณพื้นที่กำจัดขยะของเทศบาลตำบลในเมือง อำเภอพิชัย จังหวัดอุตรดิตถ์ ดังภาพ 3.3

3.2.2.2.2 ถางหญ้าหรือกวาดเศษพืชและใบไม้ที่คลุมดินอยู่ออกทิ้งเสียก่อน แล้วใช้จอบ เสียม หรือพลั่วขุดหลุมเป็นรูปตัว V ลึกประมาณ 0-20 เซนติเมตรจากผิวดินและเอาดินจากปากหลุมขนานลงไปตามหน้าดินที่ ขุดไว้ลึกถึงก้นหลุมแล้ววัดชั้น หน้าดินที่ต้องการก็จะติดตามมาบนพลั่ว จอบหรือเสียม แล้วเก็บใส่ถุงพลาสติก

3.2.2.2.3 คลุกเคล้าดินที่เก็บมาให้เข้ากันแล้วเทลงบนผ้าพลาสติก ทำการคลุกเคล้าอีกครั้งโดยยกมุมผ้าพลาสติกทีละ 2 มุม ที่อยู่ตรงข้ามกัน ทำสลับมุมกัน 3-4 ครั้ง

3.2.3 การเก็บรักษาตัวอย่าง

นำตัวอย่างดินที่ได้ฝังที่อุณหภูมิห้อง โดยใช้เวลาประมาณ 1 สัปดาห์ บดให้ละเอียดแล้วร่อนผ่านตะแกรงขนาด 5 มิลลิเมตร จากนั้นนำดินตัวอย่างไปทำการปลูกพืชต่อไป



ภาพ 3.3 แสดงตำแหน่งจุดเก็บตัวอย่างดิน

3.3 การวิเคราะห์ดิน

3.3.1 อุณหภูมิ

3.3.1.1 เครื่องมือและอุปกรณ์

3.3.1.1.1 เทอร์โมมิเตอร์วัดดิน (Thermometer)

3.3.1.2 วิธีการ

3.3.1.2.1 นำเทอร์โมมิเตอร์เสียบลงไปในตัวอย่างดิน และบันทึก

อุณหภูมิ

3.3.2 การวัดค่าความเป็นกรด-ด่างของดิน (pH)

3.3.2.1 เครื่องมือและอุปกรณ์

3.3.2.1.1 บีกเกอร์ (Beaker) ขนาด 50 มิลลิลิตร

3.3.2.1.2 แท่งแก้วคนสาร (Stirring Rod)

3.3.2.1.3 Buffer Solution pH 4 และ pH 7 ยี่ห้อ Merck

3.3.2.1.4 เครื่อง pH Meter ยี่ห้อ Mettler Toledo รุ่น Seven Easy

3.3.2.1.5 น้ำกลั่น DI (Dionized Water)

3.3.2.2 วิธีการ

3.3.2.2.1 ชั่งตัวอย่างดินที่ผึ่งจนแห้งและร่อนผ่านตะแกรงขนาด 5 มิลลิเมตร ปริมาณ 10 กรัม ลงในบีกเกอร์ขนาด 50 มิลลิลิตร

3.3.2.2.2 เติมน้ำกลั่น 10 มิลลิลิตร ใช้แท่งแก้วคนสารคนให้ตัวอย่างดินผสมกับน้ำ ตั้งทิ้งไว้ประมาณ 30 นาทีให้ตกตะกอน

3.3.2.2.3 วัดค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ของตัวอย่างดินด้วยเครื่อง pH Meter และบันทึกผล

3.3.3 การวิเคราะห์โลหะหนักในดิน ตามวิธี AOAC 999.11

3.3.3.1 เครื่องมือ อุปกรณ์และสารเคมี

3.3.3.1.1 ปิเปต (Pipett)

3.3.3.1.2 กรวยกรอง (Funnel)

3.3.3.1.3 ขวดวัดปริมาตร (Volumetric Flask)

3.3.3.1.4 ขวดรูปชมพู่ (Erlenmeyer Flask)

3.3.3.1.5 กระจกนาฬิกา (Watch Glass)

3.3.3.1.6 กระดาษกรองเบอร์ 42 ยี่ห้อ Whatman

3.3.3.1.7 ถ้วยครุซีเบล (Crucible)

3.3.3.1.8 ขวด Polyethylene ขนาด 60 มิลลิลิตร

3.3.3.1.9 เครื่องชั่ง (Balance) 4 ตำแหน่ง ยี่ห้อ Mettler Toledo

รุ่น AG 204

3.3.3.1.10 เตาไฟฟ้า (Hot Plate) ยี่ห้อ Jenway รุ่น 1203

3.3.3.1.11 เตาเผาความร้อนสูง (Muffer Furnace) ยี่ห้อ Carbolite

รุ่น 8/00/2145

3.3.3.1.12 ตู้ดูดควัน (Laboratory Fume Hood)

3.3.3.1.13 น้ำกลั่น DI (Dionized Water)

3.3.3.1.14 ลูกแก้วกันเคียด (Glass Bead)

3.3.3.1.15 กรดไนตริก 65 % (HNO_3) ยี่ห้อ Qrec

3.3.3.1.16 กรดไฮโดรคลอริก 37% (HCl) ยี่ห้อ Labscan

3.3.3.1.17 Standard (AAS) Cu, Cd, Zn, Pb, Fe ความเข้มข้น

1,000 ppm. ยี่ห้อ Merck

3.3.3.1.18 เครื่อง Atomic Absorption Spectrophotometer รุ่น

(ASS) Mold AA-6200 Shimadzu Japan

3.3.3.2 วิธีการ

3.3.3.2.1 อบดินที่ร้อนแล้วที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส นาน

24 ชั่วโมง

3.3.3.2.2 ชั่งตัวอย่างดิน 0.5 กรัม เผาที่อุณหภูมิ 450 องศา

เซลเซียส เป็นเวลา 8 ชั่วโมง

3.3.3.2.3 นำตัวอย่างดินที่เผาแล้วใส่ขวดรูปชมพู่ ขนาด 250

มิลลิลิตร เติมกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้นและกรดไนตริกเข้มข้น ในอัตราส่วน 2:1 (เพื่อทำการย่อยตัวอย่างดิน)

3.3.3.2.4 นำขวดรูปชมพู่ไปตั้งบนเตาไฟฟ้า ซึ่งตั้งอยู่ในตู้ดูดควัน

ย่อยตัวอย่างที่อุณหภูมิ 150 องศาเซลเซียส

3.3.3.2.5 ย่อยจนกระทั่งไม่มีควันสีขาว ได้สารละลายใสและมี

ตะกอนสีขาว ยกขวดรูปชมพู่ลงจากเตาไฟฟ้า ทิ้งให้เย็น

3.3.3.2.6 กรองตัวอย่างที่ไม่ละลายออกด้วยกระดาษกรองเบอร์ 42

โดยใช้กรดไนตริก 1% ปริมาตร 50 มิลลิลิตร เขย่าให้ตัวอย่างผสมเป็นเนื้อเดียวกัน

3.3.3.2.7 เก็บตัวอย่างที่ได้ใส่ขวดพลาสติก Polyethylene ขนาด

60 มิลลิลิตร

3.3.3.2.8 นำตัวอย่างไปหาปริมาณโลหะหนักด้วยเครื่อง Atomic

Absorption Spectrophotometer รุ่น (ASS) Mold AA-6200 Shimadzu Japan

3.3.4 การวิเคราะห์โลหะหนักในพืช (Sun et al., 2011)

3.3.4.1 เครื่องมือ อุปกรณ์และสารเคมี

3.3.4.1.1 ปิเปต (Pipett)

3.3.4.1.2 กรวยกรอง (Funnel)

3.3.4.1.3 ขวดวัดปริมาตร (Volumetric Flask)

3.3.4.1.4 ขวดรูปชมพู่ (Erlenmeyer Flask)

3.3.4.1.5 กระจกนาฬิกา (Watch Glass)

3.3.4.1.6 กระดาษกรองเบอร์ 42 ยี่ห้อ Whatman

3.3.4.1.7 ขวด Polyethylene ขนาด 60 มิลลิลิตร

3.3.4.1.8 เครื่องชั่ง (Balance) 4 ตำแหน่ง ยี่ห้อ Mettler Toledo

รุ่น AG 204

3.3.4.1.9 เตาไฟฟ้า (Hot Plate) ยี่ห้อ Jenway รุ่น 1203

3.3.4.1.10 ตู้ดูดควัน (Laboratory Fume Hood)

3.3.4.1.11 น้ำกลั่น DI (Dionized Water)

3.3.4.1.12 ลูกแก้วกันเคียด (Glass Bead)

3.3.4.1.13 กรดไนตริก 65 % (HNO_3) ยี่ห้อ Qrec

3.3.4.1.14 กรดเปอร์คลอริก 70% (HClO_4) ยี่ห้อ Merck

3.3.4.1.15 Standard (AAS) Cu, Cd, Zn, Pb, Fe ความเข้มข้น

1,000 ppm. ยี่ห้อ Merck

3.3.4.1.16 เครื่อง Atomic Absorption Spectrophotometer รุ่น

(ASS) Mold AA-6200 Shimadzu Japan

3.3.4.2 วิธีการ

3.3.4.2.1 อบตัวอย่างพืชที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส นาน 48

ชั่วโมง

3.3.4.2.2 ชั่งตัวอย่างพืช 1 กรัม

3.3.4.2.3 นำตัวอย่างพืชใส่ขวดรูปชมพู่ ขนาด 250 มิลลิลิตร เติม กรดเปอร์คลอริกและกรดไนตริกเข้มข้น ในอัตราส่วน 1:3 (เพื่อทำการย่อยตัวอย่างพืช)

3.3.4.2.4 นำขวดรูปชมพู่ไปตั้งบนเตาไฟฟ้า ซึ่งตั้งอยู่ในตู้ดูดควัน ย่อยตัวอย่างที่อุณหภูมิ 150 องศาเซลเซียส

3.3.4.2.5 ย่อยจนกระทั่งไม่มีควันสีขาว ได้สารละลายใสยกขวดรูปชมพู่ลงจากเตาไฟฟ้า ทิ้งให้เย็น

3.3.4.2.6 กรองตัวอย่างที่ไม่ละลายออกด้วยกระดาษกรองเบอร์ 42 โดยใช้กรดไนตริก 1% ปรับปริมาตร 50 มิลลิลิตร เขย่าให้ตัวอย่างผสมเป็นเนื้อเดียวกัน

3.3.4.2.7 เก็บตัวอย่างที่ได้ใส่ขวดพลาสติก Polyethylene ขนาด 60 มิลลิลิตร

3.3.4.2.8 นำตัวอย่างไปหาปริมาณโลหะหนักด้วยเครื่อง Atomic Absorption Spectrophotometer รุ่น (ASS) Mold AA-6200 Shimadzu Japan

3.4 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติโดยการคำนวณหาค่าเฉลี่ย (Mean) ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Standard Diviation) และหาค่าความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ ($P < 0.05$) โดยใช้ F-Test, One Way Anova ในการวิเคราะห์