

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 วัสดุ อุปกรณ์

3.1.1 พืชที่นำมาศึกษาคือหญ้าแฝก 2 ชนิดคือ

- 1) แฝกหอม (*Vetiveria zizanioides* (Linn.) Nash) โดยเลือกกลุ่มพันธุ์สุราษฎร์ธานี
- 2) แฝกดอน (*Vetiveria nemoralis* (Balansa) A. Camus) โดยเลือกกลุ่มพันธุ์ประจวบคีรีขันธ์

3.1.2 ดินที่นำมาศึกษาเป็นดินชั้นบนจากคลองห้าปทุมธานี ซึ่งมีคุณสมบัติดังแสดงในตารางที่ 3.1

ตารางที่ 3.1 คุณสมบัติของดินที่นำมาศึกษา

คุณสมบัติ	ค่า	วิธีการวิเคราะห์
ความชื้น (air dry)	20.21 %	Gravimetric Method
(oven dry)	22.25 %	
ความเป็นกรด-ด่าง(pH)	6.44	pH Meter
ลักษณะเนื้อดิน	Silt loam	Hydrometer Method
sand : silt : clay	16.83 : 58.17 : 25.01	
ความจุในการแลกเปลี่ยนประจุบวก	13.7518 me/100g	Ammonium acetate Method
ปริมาณสารอินทรีย์	0.9433 %	Walkey-Black Method
ปริมาณไนโตรเจน	0.05%	Kjeldahl Method
ปริมาณโปแตสเซียม	369.3 ppm	Flame photometer
ปริมาณฟอสฟอรัส	575 ppm	Perchloric acid (HClO ₄) Digestion
ปริมาณสารหนู	Non detectable	Nitric acid and Sulfuric acid Digestion Atomic Absorption Spectrophotometer

- 3.1.3 กระจกพลาสติกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 10 นิ้ว และจานรอง จำนวน 86 ชุด
- 3.1.4 อุปกรณ์สำหรับการปลูกพืช เช่น ช้อนปลูก บัวรดน้ำ เป็นต้น
- 3.1.5 สารเคมีที่นำมาทดลอง เป็นเกรดชนิดที่วิเคราะห์สำหรับห้องปฏิบัติการ (analytical grade)
- 3.1.6 เครื่องแก้วชนิดต่างๆ ได้แก่ บีกเกอร์ ปีเปต กรวย ขวดปรับปริมาตร เป็นต้น
- 3.1.7 เครื่องมือเพื่อการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ เช่น
- 1) เครื่องชั่งไฟฟ้าอย่างละเอียด
 - 2) ตู้อบ (oven)
 - 3) เครื่องบดตัวอย่างพืช (blender)
 - 4) เครื่องย่อยตัวอย่าง ของ Huge รุ่น DI 0500-6
 - 5) เครื่อง atomic absorption spectrophotometer ของ Varian รุ่น Spectr AA-10 Plus, VGA- 76 เป็นต้น

3.2 การดำเนินการศึกษา

3.2.1 สถานที่ทำการศึกษา

พื้นที่บริเวณบ้านพักของกรรณิคมอุตสาหกรรมบางปู และห้องปฏิบัติการของบริษัทเคมีเทรดท์ บีบี จำกัดซึ่งตั้งอยู่ในนิคมอุตสาหกรรมบางปู

3.2.2 ระยะเวลาที่ทำการศึกษา

ดำเนินการศึกษาในระหว่างเดือนมีนาคม พ.ศ.2543 ถึงเดือนมิถุนายน พ.ศ.2543 และในการเก็บตัวอย่างพืชจะทำการเก็บตัวอย่างทุกๆ 15 วัน เป็นระยะเวลา 90 วัน คือเก็บตัวอย่างทั้งหมด 6 ครั้ง ดังรายละเอียดในตารางที่ 3.2

ตารางที่ 3.2 รายละเอียดวันที่ทำการเก็บตัวอย่าง

การศึกษา	วันที่
เริ่มทำการศึกษา (ใส่สารประกอบสารหนู)	21 มีนาคม พ.ศ.2543
เก็บตัวอย่างครั้งที่ 1	5 เมษายน พ.ศ.2543
เก็บตัวอย่างครั้งที่ 2	20 เมษายน พ.ศ.2543
เก็บตัวอย่างครั้งที่ 3	5 พฤษภาคม พ.ศ.2543
เก็บตัวอย่างครั้งที่ 4	20 พฤษภาคม พ.ศ.2543
เก็บตัวอย่างครั้งที่ 5	4 มิถุนายน พ.ศ.2543
เก็บตัวอย่างครั้งที่ 6	19 มิถุนายน พ.ศ.2543

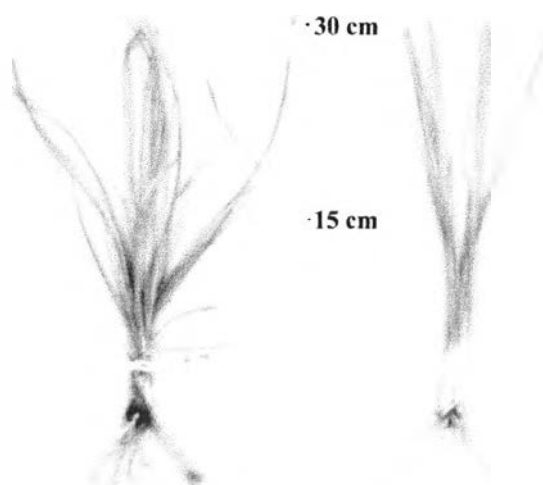
3.2.3 การเตรียมดิน

สุ่มตัวอย่างดินและซังดินใส่กระถาง กระถางละ 4.2 กิโลกรัม (ซึ่งมีค่าเท่ากับน้ำหนักแห้ง 3.5 กิโลกรัม) จำนวนทั้งหมด 86 กระถาง

3.2.4 การเตรียมพืชทดลอง

- นำต้นกล้าหญ้าแฝกออกจากถุงเพาะชำ ล้างน้ำเอาดินออก
- สุ่มตัวอย่างต้นกล้าหญ้าแฝกกลุ่มพันธุ์ละ 3 ต้นเพื่อวิเคราะห์หาปริมาณสารหนู โดยการย่อยด้วยกรดซัลฟูริก กรดไนตริก และไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ตามวิธีของ United States Environmental Protection Agency (USEPA) Method 3030 (USEPA, 1982) แล้วนำไปวิเคราะห์หาปริมาณสารหนูด้วยเครื่อง atomic absorption spectrophotometer พบว่าไม่สามารถวัดค่าได้ (non detectable)
- คัดเลือกต้นกล้าที่แข็งแรง มีจำนวนต้น 3 ต้นต่อกอ และมีขนาดและน้ำหนักใกล้เคียงกัน จำนวนทั้งหมดกลุ่มพันธุ์ละ 43 กอ
- ติดหมายเลขและตัดใบให้มีความยาว 30 เซนติเมตร และตัดรากให้มีความยาว 5 เซนติเมตร นับจากโคนต้น ดังรูปที่ 3.1 แล้วชั่งน้ำหนักด้วยเครื่องชั่งอย่างละเอียดจดบันทึกไว้
- แช่น้ำให้ท่วมสูงเหนือ โคนต้นขึ้นมาประมาณ 2 เซนติเมตร

- 6) นำต้นกล้าที่เตรียมไว้มาปลูกลงกระถาง กระถางละ 1 กอ
- 7) รดน้ำ ดูแลรักษา รोजनต้นกล้าหญ้าแฝกเป็นต้นเป็นระยะเวลาประมาณ 1 เดือน
- 8) จัดวางกระถางทดลองตามแบบ completely randomize design



(1) แฝกหอม
กลุ่มพันธุ์สุราษฎร์ธานี

(2) แฝกดอน
กลุ่มพันธุ์ประจวบคีรีขันธ์

รูปที่ 3.1 ต้นกล้าแฝกหอมกลุ่มพันธุ์สุราษฎร์ธานี (1) และแฝกดอนกลุ่มพันธุ์ประจวบคีรีขันธ์ (2) ที่เตรียมก่อนนำไปปลูก

3.2.5 การใส่สารประกอบสารหนูลงในดิน

ชั่งน้ำหนักสารประกอบ $\text{Na}_2\text{HAsO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ให้ได้น้ำหนักตามอัตราส่วนปริมาณความเข้มข้นของสารหนูในดินตามที่กำหนดไว้ ดังตารางที่ 3.3 แล้วละลายน้ำรกลงแต่ละกระถาง จำนวน 7 กระถางต่อหนึ่งระดับความเข้มข้น

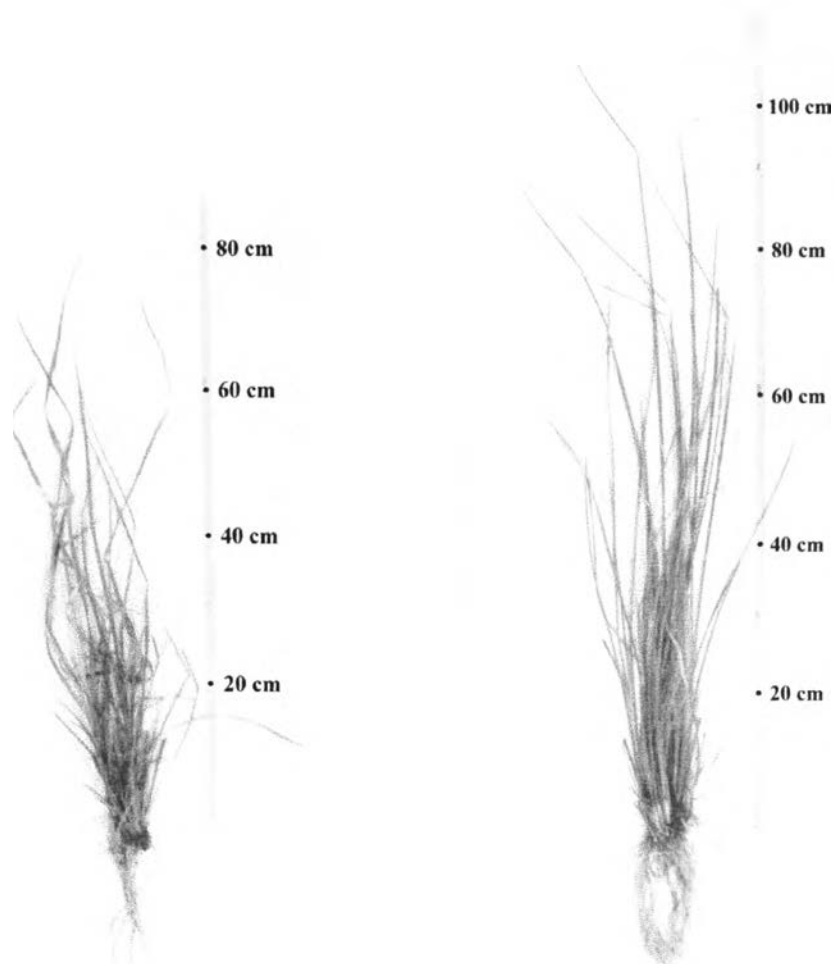
ตารางที่ 3.3 ปริมาณสารประกอบ $\text{Na}_2\text{HAsO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ที่ใส่ลงในดิน

อัตราความเข้มข้นของสารหนูในดิน มิลลิกรัม (As) / กิโลกรัมดิน (น้ำหนักแห้ง)	ปริมาณสารประกอบ $\text{Na}_2\text{HAsO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ กรัม/กระถาง *
50	0.7288
75	1.0932
100	1.4576
125	1.8220
150	2.1864

หมายเหตุ : * ใส่ดินน้ำหนัก 3.5 กิโลกรัม/กระถาง (น้ำหนักแห้ง)

3.2.6 การศึกษาอัตราการเจริญเติบโต และการเก็บเกี่ยว

- 1) ศึกษาอัตราการเจริญเติบโตของต้นหญ้าแฝกในวันที่เริ่มใส่สารประกอบสารหนูและทุกๆ 15 วันเป็นระยะเวลา 90 วันครั้งนี้ วัดความสูงของต้น (โดยวัดค่าที่สูงที่สุด 5 ค่าเพื่อหาค่าเฉลี่ย) วัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางกอ (โดยวัด 2 แนวตั้งฉากกันเพื่อหาค่าเฉลี่ย) และนับจำนวนต้นในหนึ่งกอ
- 2) เก็บตัวอย่างต้นหญ้าแฝกทุกๆ 15 วันนับจากที่เริ่มใส่สารประกอบสารหนู โดยเก็บเกี่ยวทุกระดับความเข้มข้นของสารหนู ล้างดินออกให้สะอาด ดังรูปที่ 3.2
- 3) นำตัวอย่างหญ้าแฝกที่เก็บเกี่ยวมาแยกเป็นส่วนใบ และส่วนราก ชั่งน้ำหนักสด และอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 3 วันจนน้ำหนักคงที่ ชั่งน้ำหนักแห้ง และบดเนื้อเยื่อแต่ละส่วน



(1) แผลกหอม
กลุ่มพันธุ์สุราษฎร์ธานี

(2) แผลกดอน
กลุ่มพันธุ์ประจวบคีรีขันธ์

รูปที่ 3.2 แผลกหอมกลุ่มพันธุ์สุราษฎร์ธานี (1) และแผลกดอนกลุ่มพันธุ์ประจวบคีรีขันธ์ (2) ที่เก็บเกี่ยว

3.2.7 การวิเคราะห์หาปริมาณสารหนูในตัวอย่างพืช

วิเคราะห์หาปริมาณสารหนูในหญ้าแฝก โดยนำตัวอย่างหญ้าแฝกที่บดละเอียดแล้วประมาณ 2 กรัม มาย่อยด้วยกรดซัลฟูริก กรดไนตริก และไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ จนได้สารละลายที่ใสไม่มีสี แล้วปรับปริมาตรเป็น 50 มิลลิลิตร ตามวิธีของ United States Environmental Protection Agency (USEPA) Method 3030 (USEPA, 1982) แล้วนำไปวิเคราะห์หาปริมาณสารหนูด้วยเครื่อง atomic absorption spectrophotometer

3.2.8 การรวบรวมข้อมูลและวิเคราะห์ข้อมูล

3.2.8.1 ข้อมูลการเจริญเติบโตของหญ้าแฝก

นำข้อมูลการเจริญเติบโตของหญ้าแฝกทั้งสองกลุ่มพันธุ์ มาศึกษาความสามารถในการเจริญเติบโต โดยเปรียบเทียบกันระหว่างกระถางควบคุมที่ไม่มีการใส่สารหนูลงในดินกับกระถางที่มีสารหนูที่ความเข้มข้นระดับต่างๆ และใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS ในการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าเฉลี่ย (ANOVA) ของข้อมูลการเจริญเติบโตว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ 0.05 หรือไม่ ถ้าแตกต่างกันจะทดสอบว่าค่าเฉลี่ยของข้อมูลการเจริญเติบโตใดที่แตกต่างไปจากกลุ่มอื่นที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 โดยวิธีของ Duncan's new multiple range test (DMRT)

3.2.8.2 ข้อมูลการสะสมสารหนูในส่วนต่างๆของหญ้าแฝก

นำค่าปริมาณสารหนูที่พบในส่วนใบและส่วนรากที่วิเคราะห์ได้ มาศึกษาการสะสมสารหนูโดยคิดเป็นค่าความเข้มข้นของสารหนูที่พบในแต่ละส่วน เปรียบเทียบกันในแต่ละกระถางที่มีสารหนูในดินที่ระดับความเข้มข้นต่างๆกัน และเปรียบเทียบการสะสมสารหนูที่ระยะเวลาต่างๆกัน ใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS ในการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าเฉลี่ย (ANOVA) ของปริมาณความเข้มข้นของสารหนูที่พบในใบและในราก ว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ 0.05 หรือไม่ ถ้าแตกต่างกันจะทดสอบว่าค่าเฉลี่ยใดที่แตกต่างไปจากกลุ่มอื่นที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 โดยวิธีของ Duncan's new multiple range test (DMRT)

3.2.8.3 การเปรียบเทียบประสิทธิภาพการดูดดึงสารหนูจากดินของหญ้าแฝกแต่ละชนิดและเปรียบเทียบทั้ง 2 ชนิด

นำค่าปริมาณสารหนูที่พบในเนื้อเยื่อทุกๆส่วน มาคำนวณประสิทธิภาพการดูดดึงสารหนูโดยคิดเป็นร้อยละของปริมาณสารหนูที่ใส่ลงในดิน ดังสมการต่อไปนี้

$$\text{ประสิทธิภาพการดูดดึงสารหนู (\%)} = \frac{\text{ปริมาณสารหนูทั้งหมดที่พบในหญ้าแฝก (mg)}}{\text{ปริมาณสารหนูที่ใส่ลงในดิน (mg)}} \times 100$$

และเปรียบเทียบค่าประสิทธิภาพในแต่ละกระถางที่มีสารหนูในดินที่ระดับความเข้มข้นต่างๆกัน และเปรียบเทียบการสะสมสารหนูที่ระยะเวลาต่างๆกัน ใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS ในการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าเฉลี่ย (ANOVA) ของประสิทธิภาพการดูดดึงสารหนู ว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ 0.05 หรือไม่ ถ้าแตกต่างกันจะทดสอบว่าค่าเฉลี่ยของประสิทธิภาพการดูดดึงสารหนูใดที่แตกต่างไปจากกลุ่มอื่นที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 โดยวิธีของ Duncan's new multiple range test (DMRT)