บทที่ 3
วิธีดำเนินการวิจัย

กำหนดแปลงทดลอง

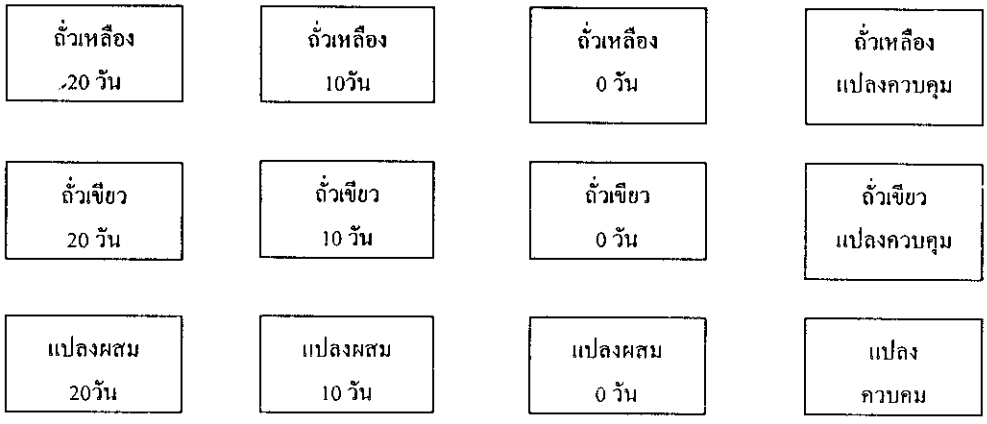
ทำการเก็บตัวอย่างดินนากุ้งร้าง จาก ดินนากุ้งร้างที่ปล่อยทิ้งไว้ 1 ปี เป็นแปลงศึกษาที่ ตำบลคลองสวน บ้านตะวันใหม่ จังหวัดสมุทรปราการ มีขนาด 900 ตารางเมตร แล้วนำไปบรรจุในแปลงทดลองดังนี้

1. กำหนดแปลงทดลองเพื่อศึกษาการเจริญเติบโตของต้นถั่วเหลืองพันธุ์ สจ.4 และถั่วเขียวพันธุ์ชัยนาท 36 บนดินนากุ้งร้าง

2. กำหนดแปลงทดลองเพื่อศึกษาคุณสมบัติทางเคมีและทางกายภาพของดินนากุ้งร้าง เมื่อทำการปลูกต้นถั่วที่มีประสิทธิภาพดีที่สุด

1. กำหนดแปลงทดลองการเจริญเติบโตของต้นถั่วเหลืองพันธุ์ สจ.4 และ ถั่วเขียวพันธุ์ชัยนาท 36

1.1 ทำการศึกษา การเจริญเติบโตของต้นถั่วดังนี้ แปลงที่ปลูกถั่วเหลืองพันธุ์ สจ. 4 อย่างเดียว แปลงถั่วเขียวพันธุ์ ชัยนาท 36 อย่างเดียว แปลงที่ปลูกผสมระหว่าง ถั่วเหลืองพันธุ์สจ. 4 และถั่วเขียวพันธุ์ชัยนาท 36 โดยทำการปลูกต้นถั่วที่อายุ 20 วัน 10 วัน และ 0 วัน ในดินนากุ้ง และทำการปลูกแปลงควบคุม ในดินปกติ รวมมีกระถางทดลองทั้งหมด 12 แปลง ดังภาพที่ 5



ภาพที่ 5 แสดงแแผนการเตรียมแปลงปลูกต้นถั่วเพื่อศึกษาการเจริญเติบโตในดินนากุ้งร้าง

1.2 เตรียมดินที่เก็บมาคลุกเคล้าให้เข้ากันแบ่งเป็นทั้งหมด 9 แปลง คือ ต้นถั่วที่อายุ 10 วัน ต้นถั่วอายุ 20 วัน ต้นถั่วอายุ 0 วัน อย่างละ 3 แปลง คือ แปลงที่ปลูกถั่วเหลืองพันธุ์ สจ.4 อย่างเดียว แปลงถั่วเขียวพันธุ์ ชัยนาท 36 อย่างเดียว แปลงที่ปลูกผสมระหว่าง ถั่วเหลืองพันธุ์สจ. 4 และถั่วเขียวพันธุ์ ชัยนาท 36 และอีก 3 แปลงเป็น แปลงที่ปลูกในดินสมบูรณ์

1.3 ขนาดของแปลงเป็นกระถางทรงกลมขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 49 เซนติเมตร และมีความลึก 18 เซนติเมตร จากนั้น บรรจุดินนากุ้งร้างลงไปในกระถาง กระถางละ 10 กิโลกรัม

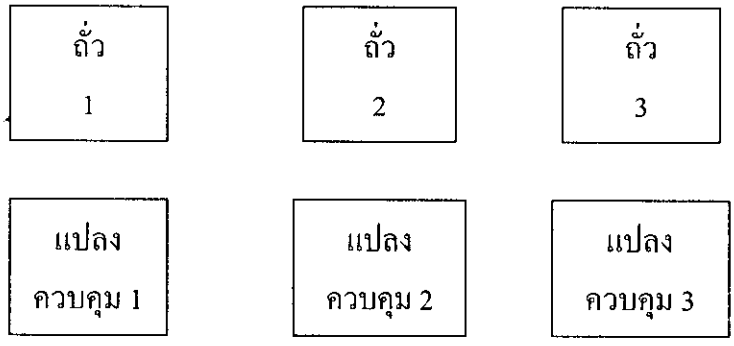
1.4 ก่อนทำการปลูกเมล็ดถั่วทั้ง สามช่วงอายุ จะทำการคลุกเมล็ดพันธุ์ด้วยไรโซเบียมก่อน

1.5 ทำการวัดความสูงของต้นถั่วในวันที่ 0 3 9 12 18 21 24 27 30 33 39 42 45 48 51 54 55 58 61 และ วันที่ 67

2. กำหนดแปลงทดลองเพื่อศึกษาคุณสมบัติทางเคมีและทางกายภาพของดินนากุ้งร้างเมื่อทำการปลูกต้นถั่วที่มีประสิทธิภาพดีที่สุด

2.1 นำเมล็ดพันธุ์ถั่วที่มีประสิทธิภาพดีที่สุด มาคลุก ไรโซเบียม และการปลูกในแปลงที่ออกแบบไว้เป็นรางไม้ ขนาด 100 x 50 x 30 เซนติเมตร เพื่อทำการปลูกต้นถั่วและศึกษาตามความลึกของดินคือ 0-10 11-20 และ 21 –30 เซนติเมตร

2.2 ทำการปลูก ทั้งหมด 6 แปลง คือ ถั่วเหลืองพันธุ์ สจ.4 3 แปลง (3 ซ้ำ) และแปลงควบคุม 3 ซ้ำ (3 แปลง) ดังภาพที่ 6

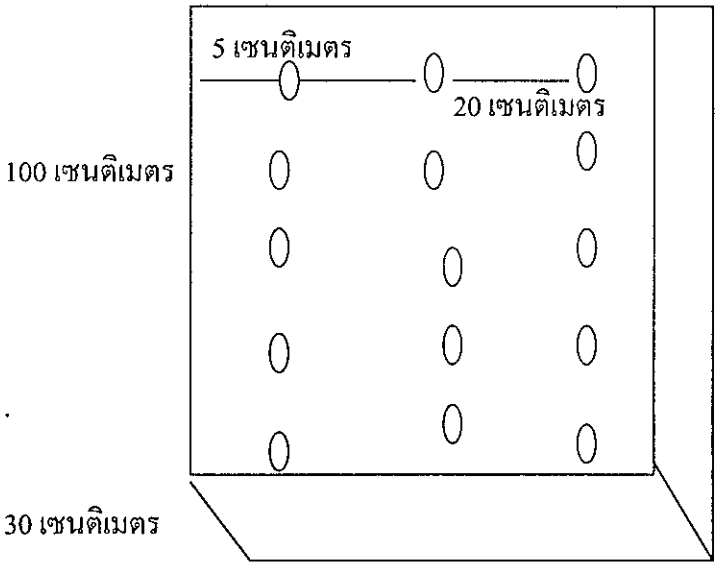


ภาพที่ 6 แสดงแผนการเตรียมแปลงทดลองการฟื้นฟูสภาพดินนากุ้งร้างโดยใช้ถั่วที่มีประสิทธิภาพดีที่สุด

การเตรียมแปลงปลูกพืชในแต่ละแปลงย่อย

1. บรรจุดินลงในแปลงทดลอง ขนาด 100 x 50 x 30 เซนติเมตรให้เต็ม ทั้งหมด 6 แปลง

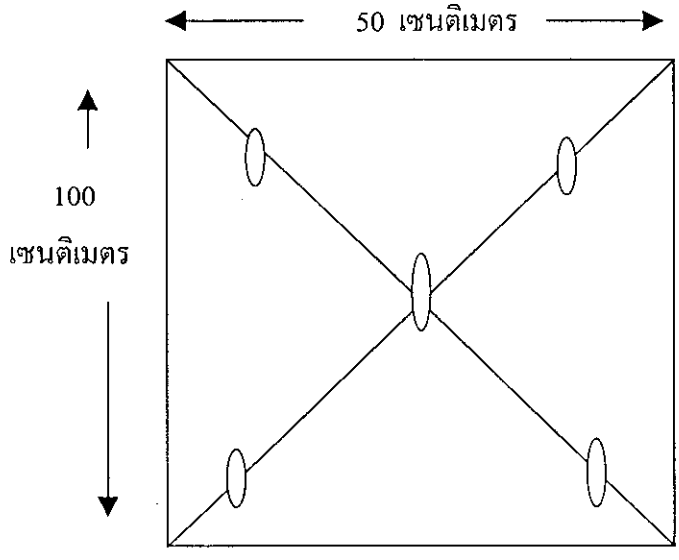
2. นำเมล็ดพันธุ์ คลุกเชื้อไรโซเบียมหยอดลงในหลุม 2-3 เมล็ด ได้ต้นถั่วทั้งหมด 15 หลุม แต่ละหลุมห่างกัน 20 เซนติเมตร ดังภาพที่ 7



ภาพที่ 7 แสดงการปลูกพืชในแปลงย่อย

การเก็บตัวอย่างดิน

1. สุ่มเก็บตัวอย่างดินในแปลง



ภาพที่ 8 แสดงการเก็บตัวอย่างดินในแปลงย่อย

2. ใช้ท่อพลาสติกเส้นผ่านศูนย์กลาง 1.5 นิ้ว ยาว 30 เซนติเมตรเก็บตัวอย่างดินตามระดับความลึก คือ 0-10 11-20 และ 21 –30 เซนติเมตรจากแปลงทดลองโดยใช้กระบอกเก็บตัวอย่างนำตัวอย่างดินที่เก็บตามความลึกต่าง ๆ

3. นำตัวอย่างดินมาผึ่งในที่ร่ม บดให้ละเอียดแล้วนำมาร่อนด้วยตะแกรงขนาด 2 มิลลิเมตร และ 0.5 มิลลิเมตร แยกเก็บ เพื่อนำไปวิเคราะห์ต่อไป

วิธีการทดลอง

เครื่องมือ-อุปกรณ์และสารเคมี

1. เครื่องมือและ อุปกรณ์

1.1 เครื่อง UV-Visible Spectroscopy

1.2 เครื่อง Hydrometer

1.3 เครื่อง วัดค่าการนำไฟฟ้า

1.4 เครื่อง pH meter

1.5 เครื่องมือที่ใช้ในการเก็บตัวอย่างดินตามความลึกของชั้นดิน

1.6 เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง

1.7 เครื่องชั่ง 2 ตำแหน่ง

1.8 ตู้อบ

1.9 เครื่องเขย่า

1.10 เตาอบควบคุมความร้อน

1.11 โถกันความชื้น

1.12 ปิเปตอัตโนมัติ

1.13 บิกเกอร์

1.14 ขวดวัดปริมาตร

1.15 กระบอกตวง

1.16 ปิเปต

1.17 ตะแกรงร่อนขนาด 2.0 และ 0.5 มิลลิเมตร

1.18 กระดาษกรองเบอร์ 42

1.19 แท่งแก้วคนสาร

1.20 กรวยกรอง

1.21 หลอดหยด

1.22 ช้อนตักสาร

1.23 กระจกนาฬิกา

1.24 กระบอกเก็บตัวอย่างดิน

1.25 จอบ

1.26 เสียม

1.27 ช้อนพรวนดิน

1.28 ครกบดดิน

2. สารเคมี

2.1 Ascorbic Acid $C_6H_8O_6$

2.2 Ulfuric Acid H_2SO_4

2.3 Sodium Hydroxide NaOH

2.4 Sodium Nitroprusside $Na_2[Fe(CN)_5NO].2H_2O$

2.5 Ammonium Chloride NH_4Cl

2.6 Potassium Chloride KCl

2.7 Potassium nitrate KNO_3

2.8 Sodium Hypochloride NaOCl

2.9 Phenol C_6H_5OH

2.10 Sodium Salicylate $C_7H_5NaO_3$

2.11 Ammonium Hydroxide NH_4OH

2.12 Hydrogen Perxide H_2O_2

2.13 Sodium Hexameta Phosphoric

2.14 Sodim Hydrogen Carbonate $NaHCO_3$

2.15 Ammonium Potassiumtartrate

2.16 Calcium Hydroxide $Ca(OH)_2$

2.17 Potassium Dihydrogen Phosphate KH_2PO_4

2.18 Ammonium Molydate

2.19 Antimony Potassiumtartate

การวิเคราะห์หาแอมโมเนียมโดยวิธี Colorimetric (ทัศนีย์ อัตตะนันท์ และจงรักษ์ จันทร์เจริญสุข, 2542)

การเตรียมสารละลายมาตรฐานแอมโมเนียม

1. นำสารละลายมาตรฐาน แอมโมเนียม 10 ppm นำมาเจือจางที่สารละลายมาตรฐาน 5 ความเข้มข้น อยู่ในช่วง 0- 5 ppm โดยมีความเข้มข้นดังนี้ 0 1 2 3 4 และ 5 ppm

2. โดยปิเปตสารละลายแอมโมเนียม 10 ppm มา 0 2.5 5 7.5 10 และ 12.5 มิลลิลิตร ในขวดวัดปริมาตร ขนาด 25 มิลลิลิตรใส่ Sodiumsalicylate 5 มิลลิลิตร Sodium Hypochlorite 3 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรให้เป็น 25 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น ตั้งทิ้งไว้ 30 นาที แล้ว เป็นตัววัดปริมาณการดูดกลืนคลื่นแสงที่ 650 นาโนเมตร ก่อนนำไปทำ กราฟมาตรฐานเพื่อเทียบกับสารละลายมาตรฐาน

การเตรียมดินตัวเพื่อนำไปวิเคราะห์หาปริมาณแอมโมเนียม

1. ชั่งดิน 10 กรัม ลงใน Elenmeryer Flask ขนาด 250 มิลลิลิตร เติม 2 N ของ KCl 100 มิลลิลิตร เข่ยาเป็นเวลา 1 ชั่วโมง กรองนำสิ่งที่กรองได้มาหาปริมาณแอมโมเนียม

2. นำสารละลายที่สกัดได้จากข้อ 1. มา 5 มิลลิลิตรลงใน ขวดวัดปริมาตร ขนาด 25 มิลลิลิตรใส่ Sodiumsalicylate 5 มิลลิลิตร Sodium Hypochlorite 3 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรให้เป็น

25 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น ตั้งทิ้งไว้ 30 นาที แล้ว นำไปวัดค่าความยาวคลื่นที่เหมาะสมเหมือนกับค่ากราฟมาตรฐาน 650 นาโนเมตร

การวิเคราะห์หาปริมาณไนเตรตโดยวิธี Colorimetric (ทัศนีย์ อัตตะนันท์ และจงรักษ์ จันทร์เจริญสุข, 2542)

การเตรียมสารละลายมาตรฐานไนเตรต

1. เตรียมโดยใช้ KNO_3 ที่บริสุทธิ์ 0.7221 กรัม ในน้ำกลั่นให้มีปริมาตรทั้งหมด 1 ลิตร จะมีปริมาณ ไนเตรต 100 ppmจากนั้นทำการเจือจางเพื่อทำสารละลายมาตร 5 ความเข้มข้น คือ 0 0.3 0.6 0.9 1.2 1.5 2 และ 2.5 ppm

2. โดยปิเปตจากสารละลายไนเตรต 100 ppm มา 0 0.3 0.6 0.9 1.2 1.5 2 และ 2.5 มิลลิลิตรแล้วปรับปริมาตรให้เป็น 100 มิตรลิลิตร นำสารละลายมาตรฐานแต่ละความเข้มข้นมา 25 มิลลิลิตร ลงใน บิกเกอร์ ขนาด 100 มิลลิลิตรเติมน้ำยา $Ca(OH)_2$ อีก 1 มิลลิลิตร แล้วนำไประเหยด้วย Hot Plate

3. เมื่อแห้งแล้วปล่อยให้เย็นเติม Phenoldisufonic acid ลงไป 1 มิลิลิตร เอียงบิกเกอร์ไปมารอบ ๆ เพื่อให้กรดคลุกเคล้าเข้ากับตะกอนที่แห้ง เติมน้ำกลั่น 14 มิลลิลิตร

4. แล้วตามด้วย Ammonium Hydroxide 1:1 5 มิลลิลิตร เขย่าให้น้ำเข้ากัน ได้ดีนำไปวัดความเข้มข้นของไนเตรต ที่ ค่าความดูดกลืนคลื่นแสงที่เหมาะสม 420 นาโนเมตร

การเตรียมดินตัวอย่างเพื่อนำไปวิเคราะห์หาปริมาณไนเตรต

1. ชั่งดิน 10 กรัม ลงไปใน ขวดรูปชมพู่ขนาด 100 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นลงไป 50 มิลลิลิตร วางขวดรูปชมพู แถว ลงในเครื่องเขย่าเป็นเวลา 10 นาที เติมผง $Ca(OH)_2$ 0.2 กรัม ลงไปใน แล้วเขย่าต่ออีก 5 นาที

2. ต่อจากนั้นก็นำมากรอง รองรับเอา Filtrate ไว้ถ่าย Aliquote 25 มิลลิลิตร ของ Filtrate ลงใน บิกเกอร์ ขนาด 100 มิลลิลิตรเติมน้ำยา $Ca(OH)_2$ อีก 1 มิลลิลิตร แล้วนำไประเหยด้วย Hot Plate

3. เมื่อแห้งแล้วปล่อยให้เย็นเติม Phenoldisufonic Acid ลงไป 1 มิลิลิตร เอียงบิกเกอร์ไปมารอบ ๆ เพื่อให้กรดคลุกเคล้าเข้ากับตะกอนที่แห้ง เติมน้ำกลั่น 14 มิลลิลิตร

4. แล้วตามด้วย Ammonium Hydroxide 1:1 5 มิลลิลิตร เขย่าให้น้ำเข้ากัน ได้ดีนำไปวัดความเข้มข้นของไนเตรรต ที่ค่าความดูดกลืนคลื่นแสงที่เหมาะสม 420 นาโนเมตร

การวิเคราะห์หาปริมาณฟอสฟอรัสในรูปที่มีเป็นประโยชน์ (Avaliable Phosphorus) (ทัศนีย์ อัตตะนันท์ และจงรักษ์ จันทร์เจริญสุข, 2542)

´การเตรียมสารละลายมาตรฐาน ฟอสฟอรัส

1. เจือจางมาจากสารละลายมาตรฐานฟอสฟอรัส 50 ppm ให้มีความเข้มข้น 10 ppm จากนั้นเตรียมสารละลายมาตรฐานที่ความเข้มข้น 0 , 1 ,2 ,3 ,4 และ 5 ppm ที่ปริมาตร 100มิลลิลิตร

2. ดูดสารละลาย Aliquot ที่สกัดได้จากข้อ 1. มา 5มิลลิลิตร เติมในขวดวัดปริมาตร ขนาด 25 มิลลิลิตร

3. เติม Reagent B 4 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรเป็น 25 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น ทิ้งไว้ 10 นาที ให้เกิดสีแล้วนำไปวัดเทียบกับกราฟสารละลายมาตรฐาน ฟอสฟอรัสที่ความยาวคลื่นที่เหมาะสมที่สามารถดูดกลืนได้ดีที่สุดประมาณ 882 นาโนเมตร (Reagent A ได้จากการเตรียม Ammonium Molydate 12 กรัม เติมน้ำกลั่น 150 มิลลิลิตร Antimony Potassium Tartrate 0.2908 กรัม เติมน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร และเติม 5 N Sulfusic Acid 1,000 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 2,000 มิลลิลิตร ส่วน Reagent B Ascobic Acid 1.05 กรัม และเติม Reagent A 200 มิลลิลิตร เก็บไว้ในที่เย็นและมืด ต้องใช้ภายใน 24 ชั่วโมง)

การเตรียมดินตัวอย่างสกัดด้วย 0.05 M $NaHCO_3$

1. ใช้ดินตัวอย่าง 5 กรัม ที่ผ่านตะแกงขนาด 0.5มิลลิเมตรใส่ใน ขวดรูปชมพู ขนาด 125 มิลลิลิตร รินน้ำยา 0.05 M $NaHCO_3$ ตามอัตราของดินและน้ำยาสกัดเป็น 1:5

2. เขย่าดินกับน้ำยาสกัดเป็นเวลา 30 นาที แล้วกรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 42 เก็บไว้ในขวดที่สะอาดปิดจุก นำไปวิเคราะห์ในขั้นต่อไป

3. ดูดสารละลาย Aliquot ที่สกัดได้จากข้อ 2. มา 5 มิลลิลิตร เติมในขวดวัดปริมาตร ขนาด 25 มิลลิลิตร

4. เติม Reagent B 4 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรเป็น 25 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น ทิ้งไว้ 10 นาที ให้เกิดสีแล้วนำไปวัดเทียบกับกราฟสารละลายมาตรฐาน ฟอสฟอรัสที่ความยาวคลื่นที่เหมาะสมที่สามารถดูดกลืนได้ดีที่สุดประมาณ 882 นาโนเมตร

การวิเคราะห์ pH ด้วย pH meter (ทัศนีย์ อัตตะนันท์ และจงรักษ์ จันทร์เจริญสุข, 2542)

1. ก่อนวัด pH จำเป็นต้อง Standardize pH meter ด้วย Buffer Solution pH 7.0 และ 4.0 ก่อน

2. ชั่งดิน 10 กรัม ผสมกับน้ำกลั่น 10 มิลลิลิตร ใน บิกเกอร์ ขนาด 100 มิลลิลิตร ใช้แท่งแก้วคนดินและน้ำเข้ากันก่อนวัดประมาณ 30 นาที ในระหว่างที่วางทิ้งไว้ 30 นาที ควรคนดินเป็นครั้งคราว

การวิเคราะห์อินทรีย์วัตถุโดยวิธี Loss on Ignition (ทัศนีย์ อัตตะนันท์ และจงรักษ์ จันทร์เจริญสุข, 2542)

1. ชั่งดิน มา 10 กรัม ใส่ลงในบีกเกอร์ขนาด 100 มิลลิลิตร

2. นำดินที่ชั่งใส่บีกเกอร์ไปเข้าตู้อบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซนเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง แล้วนำบีกเกอร์ออกมาทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง ชั่งน้ำหนักของดิน และจดบันทึกไว้

3. นำดินไปเข้าตู้อบอีกครั้งหนึ่งที่อุณหภูมิ 360 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง เมื่อครบ 2 ชั่วโมง นำบีกเกอร์ออกมาทิ้งไว้ให้เย็นอีกครั้งที่อุณหภูมิห้อง ชั่งน้ำหนักดิน จดบันทึกน้ำหนักไว้

การวัดปริมาณ Total Salinity โดยการวัดค่า Conductivity โดย การเตรียม 1:5 Extraction (ทัศนีย์ อัตตะนันท์ และจงรักษ์ จันทร์เจริญสุข, 2542)

ชั่งดินที่ผ่านตะแกรงร่อนขนาด 2 มิลลิลิตร มา 20 กรัม ใส่ลงใน Flask ขนาด 250 มิลลิลิตรเติมน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร เขย่าเป็นเวลา 30 นาที ตั้งทิ้งไว้ 15 นาที เพื่อให้ตกตะกอน Centrifuge นำน้ำใสที่ได้ไปวัดค่าการนำไฟฟ้า

การวิเคราะห์เนื้อดิน (Textural Analysis) โดยใช้ Hydrometer (วิทยา ตรีโลเกศ, 2543)

1. นำดินแห้งซึ่งผ่านตะแกรงร่อนขนาด 2.00มิลลิลิตร 20กรัมแล้วใส่ในบิกเกอร์ขนาด 600 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร แล้วเติม H_2O_2 ชนิด 30% 5-10 มิลลิลิตร ปิดด้วยกระจกนาฬิกา แล้วนำไปอุ่นด้วย Hot Plate จนกระทั่งไม่มีฟองก๊าซ CO_2 เกิดขึ้น

2. เติมสารละลาย Calgon ลงไปในตัวอย่างดิน 20 มิลลิลิตร

3. เทตัวอย่างดินทั้งหมดลงในเครื่องปั่น แล้วเติมน้ำกลั่นปรับปริมาตรให้ได้ 500 มิลลิเมตร ปั่นส่วนประกอบนี้เป็นเวลาประมาณ 5 นาที

4. เทส่วนผสมของอนุภาคขนาดต่าง ๆ ลงใน Cylinder ขนาด 1,000 มิลลิลิตร แล้วเติมน้ำลงไปปรับปริมาตร ให้ครบ 1,000 มิลลิลิตร

5. ทำ Blank โดยใช้ Calgon 20 มิลลิลิตร ใส่ลงใน กระบอกตวง แล้วใส่น้ำปรับให้ครบ 1,000 มิลลิลิตร

6. เขย่าสารแขวนลอยดิน และ Blank โดยใช้ Plunger แล้วทิ้งไวให้ตกตะกอนเป็นเวลา 40 วินาที อนุภาคขนาด Sand จะตกตะกอนลงไปหมด จากนั้น ใช้ Hydrometer วัดความหนาแน่นของอนุภาคขนาด Silt Clay และ Calgon ในสารแขวนลอย 1,000 มิลลิลิตร ขณะเดียวกันวัดปริมาณของ Calgon จาก Blank ด้วยเสร็จแล้ววัดอุณหภูมิของสารแขวนลอยและ Blank

7. จากนั้นปล่อยทิ้งให้ตกตะกอนเป็นเวลา 2 ชั่วโมง ซึ่งอนุภาคขนาด Sand และ Silt จะตกตะกอนจากนั้นใช้ Hydrometer วัดความหนาแน่นของ Clay และ Calgon ในสารแขวนลอยนั้น ขณะเดียวกันของ Calgon จาก Blank ด้วยเสร็จแล้ววัดอุณหภูมิของสารแขวนลอย และ Blank และนำมาค่าที่ได้มาคำนวณ หา %Sand %Silt และ %Clay (สูตรในการคำนวนอยู่ในภาคผนวก)