

### บทที่ 3

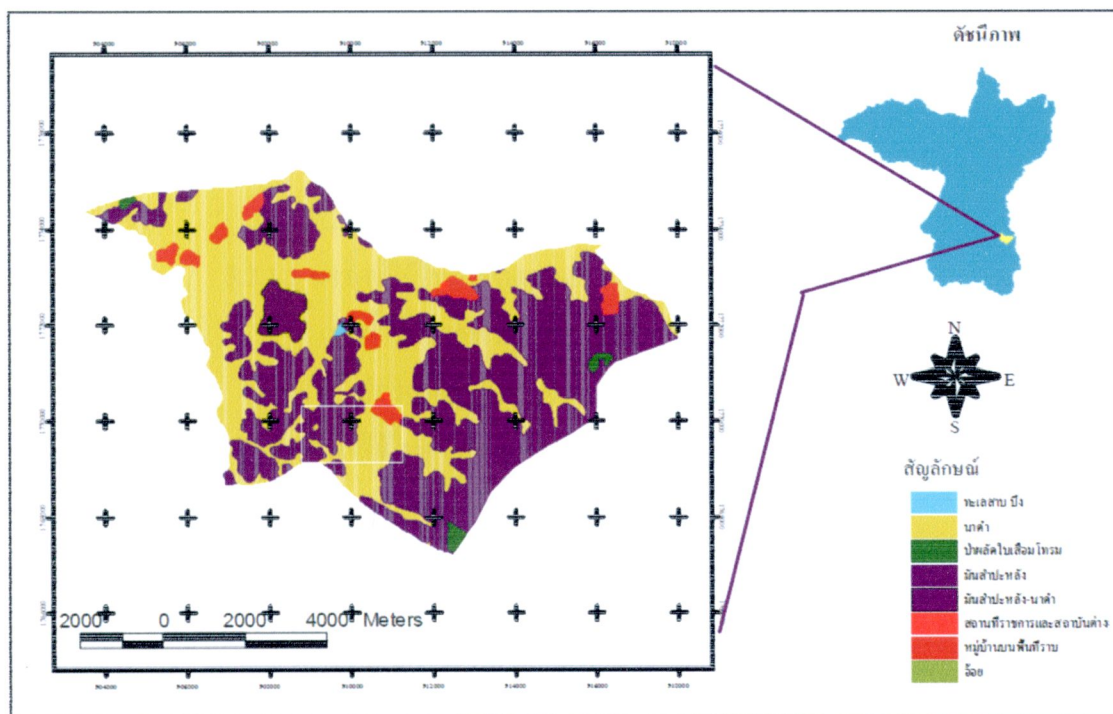
## วิธีการดำเนินงานวิจัย

### 3.1 ลักษณะพื้นที่ที่ทำการศึกษา

ในการศึกษาครั้งนี้ทำการศึกษาในพื้นที่ฟาร์มสุกรแห่งหนึ่ง ในตำบลบ้านลาน อำเภอบ้านไผ่ จังหวัดขอนแก่น ซึ่งบริเวณโดยรอบเป็นพื้นที่เกษตรกรรม ซึ่งเกษตรกรในพื้นที่บริเวณโดยรอบฟาร์มสุกรที่ทำการศึกษาลูกพีชชนิดเดียวกันคือ อ้อย มันสำปะหลัง และปลูกข้าว : มีเนื้อที่ประมาณ 115 ไร่ โดยมีการจัดสรรการใช้ประโยชน์ที่ดินภายใน ขนาดฟาร์มจัดเป็นฟาร์มขนาดใหญ่รวมสุกรในฟาร์มทั้งหมด 10,325 ตัว ประกอบด้วยสุกรพ่อพันธุ์ 15 ตัว, แม่พันธุ์ 860 ตัว, แม่สุกรเลี้ยงตลอด 270 ตัว, ลูกหมู 4,320 ตัว และสุกรขุน 4,860 ตัว ส่วนโรงเรือนทุกหลังเป็นแบบปิด โดยลูกหมูคลอดเฉลี่ย 1 เดือน หย่านมน้ำหนักเฉลี่ย 15 กิโลกรัม ลูกหมู (อนุบาล) เฉลี่ยประมาณ 3 เดือน น้ำหนักเฉลี่ย 30 กิโลกรัม บางส่วนจำหน่าย ส่วนลูกหมูไม่ได้จำหน่าย เฉลี่ยเป็นหมูขุนประมาณ 4 เดือน น้ำหนักเฉลี่ย 90-100 กิโลกรัม ส่งจำหน่ายสู่ท้องตลาดตามราคาหมู



ภาพที่ 4 พื้นที่ศึกษาตัวอย่าง บริเวณตำบลบ้านลาน อำเภอบ้านไผ่ จังหวัดขอนแก่น  
ที่มา : ปวริศ (2010) คัดแปลงจาก Google Earth



ภาพที่ 5 แผนที่การใช้ประโยชน์ที่ดินบริเวณโดยรอบฟาร์ม (ตำบลบ้านลาน)

ที่มา : ณัฐสิมา (2553)

### 3.2 วิธีการศึกษา

ในการศึกษานี้เป็นการประเมินผลกระทบ และความเสี่ยงทางนิเวศวิทยาและสิ่งแวดล้อมจากการใช้ประโยชน์น้ำทิ้งจากฟาร์มสุกรเพื่อการเกษตร โดยมีหัวข้อในการศึกษาหลักอยู่สองหัวข้อคือ

(1) ศึกษาผลกระทบสิ่งแวดล้อมของน้ำทิ้งฟาร์มสุกร และมูลสุกร ซึ่งในหัวข้อดังกล่าวนี้เป็นการศึกษาคุณภาพของน้ำทิ้งจากฟาร์มสุกร และรวมไปถึงการทดสอบการปนเปื้อนของทองแดง (Cu) ที่ปนเปื้อนมากับน้ำทิ้ง และมูลสุกร ซึ่งได้ทำการศึกษาผลของการตกค้างของทองแดง (Cu) กับชุดดินสองชุดดินที่มีลักษณะแตกต่างกัน โดยเป็นชุดดินที่พบได้ทั่วไปหรือเป็นเนื้อดินส่วนใหญ่ในเขตพื้นที่ศึกษา

(2) การศึกษาผลกระทบสิ่งแวดล้อมจากการใช้ประโยชน์น้ำทิ้งจากฟาร์มสุกรต่อระบบนิเวศดินในห้องปฏิบัติการ และพื้นที่การเกษตรที่มีการใช้น้ำทิ้งจากฟาร์มสุกร ซึ่งเป็นการศึกษาผลของการนำน้ำทิ้งจากฟาร์มสุกรในพื้นที่ที่ปลูกอ้อย โดยศึกษาถึงผลที่มีต่อคุณสมบัติของดิน การเจริญเติบโต และความหวานของต้นอ้อย และผลต่อสิ่งมีชีวิตในดิน (แมลงหางคืด และไส้เดือนดิน) และกิจกรรมจุลินทรีย์ดิน

### 3.2.1 วัสดุอุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

#### 3.2.1.1 สิ่งมีชีวิตที่ใช้ในการทดลอง

- (1) ไส้เดือนดิน (*Eudrilus eugeniae*)
- (2) แมลงหางคืด (*Lepidocyrtus* sp.)

#### 3.2.1.2 น้ำทิ้งที่ใช้ในการทดลอง

- (1) น้ำทิ้งจากฟาร์มสุกร ได้รับการอนุเคราะห์ให้เข้าไปศึกษาได้ โดยฟาร์มสุกรแห่งหนึ่งในอำเภอบ้านไผ่

#### 3.2.1.3 ดินที่ใช้ในการทดลอง

- (1) ชูดินน้ำพอง
- (2) ชูดินร่อยเอ็ด

#### 3.2.1.4 เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้สำหรับเลี้ยงสัตว์ทดลอง

##### 1) ไส้เดือนดิน

- (1) กล่องพลาสติกขนาด 30 x 45 x 24 ลูกบาศก์เซนติเมตร
- (2) วัสดุปลูกต้นไม้ผสมเปลือกมะพร้าวแห้งสับละเอียด
- (3) ปุ๋ยคอกกับผักสด
- (4) น้ำกลั่นสองขั้นตอน (deionized water)
- (5) ถู่มือพลาสติกสำหรับคลุกเคล้า
- (6) ขวดสเปรย์ฉีดน้ำ

##### 2) แมลงหางคืด

- (1) กล่องพลาสติกขนาด 11.5 x 16.5 x 6 ลูกบาศก์เซนติเมตร
- (2) ที่คูคแมลง
- (3) ซ้อนดักสารสแตนเลส
- (4) ยีสต์
- (5) น้ำกลั่นสองขั้นตอน (deionized water)
- (6) ขวดสเปรย์ฉีดน้ำ
- (7) เครื่องบ่มปรับอุณหภูมิ (incubator)



### 3.2.1.5 เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้สำหรับทดสอบคุณสมบัติดินและน้ำทางเคมี และกายภาพ

#### 1) คุณสมบัติทางเคมี

- (1) บีกเกอร์ขนาด 50 มิลลิลิตร
- (2) แท่งแก้วคนสาร (sterring rod)
- (3) น้ำกลั่น
- (4) ขวดรูปชมพู่ขนาด 125, 250 มิลลิลิตร
- (5) ขวดปรับปริมาตรขนาด 25, 50, 100, 500, 1,000 มิลลิลิตร
- (6) หลอดหย่อยตัวอย่างขนาด 100 มิลลิลิตร
- (7) Volumetric pipette 1, 2, 3, 5, 10, 25, 50 มิลลิลิตร
- (8) บิวเรต (burette) ขนาด 50 มิลลิลิตร
- (9) กระดาษกรองเบอร์ 1 และเบอร์ 5
- (10) ขวดพลาสติกสะอาดสำหรับเก็บสารละลาย
- (11) กรวยกรอง
- (12) ลูกยางดูดสาร
- (13) ตะแกรงร่อนดินขนาด 0.5 และ 2 มิลลิเมตร
- (14) เครื่องชั่ง 3 ตำแหน่ง
- (15) เครื่อง pH meter
- (16) เครื่อง Spectrophotometer
- (17) เครื่อง Atomic absorption
- (18) เครื่อง EC meter
- (19) กระจกตวงขนาด 1,000 มิลลิลิตร
- (20) โถทำแห้ง
- (21) เครื่อง water bath
- (22) ขวดบีโอดี ขนาด 300 มิลลิลิตร
- (23) เครื่องย่อยสลาย
- (24) เครื่องมือวัดความหวาน brix meter

#### 2) คุณสมบัติทางกายภาพ

- (1) ภาชนะป้องกันความชื้น (moisture can)
- (2) กระจกตวงขนาด 1,000 มิลลิลิตร

- (3) ที่คนสารละลาย (brass plunger)
- (4) ถ้วยสำหรับปั่นกวน (dispersion cup)
- (5) ไฮโดรมิเตอร์ (hydrometer)
- (6) เทอร์โมมิเตอร์ (thermometer)
- (7) แผ่นวัดอุณหภูมิตัว (pressure plate)
- (8) วงแหวนสำหรับใส่ตัวอย่างดิน (ceramic plate)
- (9) เครื่องปั่นไฟฟ้า
- (10) เตาอบ
- (11) เครื่องอัดแรงดัน (pressure cooker)
- (12) ถังน้ำสำหรับเก็บตัวอย่าง
- (13) ตลับเมตร

#### 3.2.1.6 เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้สำหรับทดสอบความเป็นพิษ

- (1) น้ำกลั่นสองชั้นตอน
- (2) ขวดแก้วขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 6 เซนติเมตร สูง 12.5 เซนติเมตร และขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 5.5 เซนติเมตร สูง 11 เซนติเมตร
- (3) ขวดปรับปริมาตรขนาด 25 และ 50 มิลลิลิตร
- (4) ปิเปตต์ขนาด 1, 2 และ 5 มิลลิลิตร
- (5) บีกเกอร์ขนาด 50 มิลลิลิตร
- (6) เครื่องชั่ง 3 ตำแหน่ง
- (7) น้ำหมึกสีดำ
- (8) ถาดพลาสติกขนาด 20 x 30 x 4 ลูกบาศก์เซนติเมตร
- (9) ช้อนพลาสติก และถุงมือแพทย์
- (10) ถังพลาสติกขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 30 เซนติเมตร

#### 3.2.1.7 สารเคมี

- (1) Calcium sulfate
- (2) Charcoal powder
- (3) Ferrous sulfate
- (4) Sulfuric acid
- (5) Potassium dichromate
- (6)  $H_3BO_3$

- (7) Bromocresol green
- (8) Methyl red
- (9) Ethanol
- (10) Sodium hydroxide
- (11) Catalyst mixture
- (12) Hydrochloric acid
- (13) Ammonium fluoride
- (14) Ammonium acetate
- (15) Sodium chloride
- (16) Buffer pH 7,4
- (17) DTNB (5, 5 dithiobis-2-ni5, 5 dithiobis-2-nitrobenzoic acid)
- (18) Acetyl thiocholine iodide
- (19) Brilliant Blue G
- (20) Phosphoric acid
- (21) Copper sulfate
- (22) Chloroform
- (23) Manganese sulfate
- (24) Salicylic acid
- (25) Starch
- (26) Potassium iodide
- (27) Sodium thiosulfate
- (28) Ethyl alcohol
- (29) Ammonium molybdate
- (30) Ascorbic acid

### 3.2.2 วิธีเตรียมการทดลอง

#### (1) การเตรียมไส้เดือนดินที่ใช้ในการทดลอง

ไส้เดือนดินที่ใช้ในการทดลองคือสายพันธุ์ *Eudrilus eugeniae* หรือ American nightcrawler นำมาเลี้ยงในห้องปฏิบัติการนิเวศพืชวิทยา และสิ่งแวดล้อม หมวดดินและปุ๋ย ภาควิชาทรัพยากรที่ดินและสิ่งแวดล้อม คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ที่อุณหภูมิล้าง โดยเลี้ยง

ในกล่องพลาสติกขนาด 30 x 45 x 24 ลูกบาศก์เซนติเมตร รองพื้นกล่องด้วยวัสดุปลูกต้นไม้ผสมกากมะพร้าวบดละเอียด และดินปริมาณเล็กน้อย เजाรูเล็กๆ ให้กล่องพลาสติกเพื่อให้อากาศถ่ายเท และ เจารูใหญ่บริเวณข้างกล่องด้านล่างใส่ท่อพลาสติกหุ้มด้วยตาข่ายเพื่อรองรับปีสสาวะของไส้เดือนให้เศษผัก และผลไม้เป็นอาหาร (ดัดแปลงจากวิธีการของยูฟินี, 2550)

### (2) การเตรียมแมลงหวี่ที่ใช้ในการทดลอง

แมลงหวี่ที่ใช้ในการทดลองได้มาจากแหล่งธรรมชาติที่ไม่มีการปนเปื้อนจากนั้นนำมาเลี้ยงในห้องปฏิบัติการที่อุณหภูมิ 20±1 องศาเซลเซียส และให้แสงที่ 8:16 ชั่วโมง (แสง : มีด) โดยเลี้ยงในกล่องพลาสติกขนาด 11.5 x 16.5 x 6 ลูกบาศก์เซนติเมตร รองพื้นกล่องพลาสติกด้วยแคลเซียมซัลเฟตผสมกับผงถ่าน และน้ำกลั่นสองชั้นตอน ให้ยีสต์เป็นอาหารจากนั้นรอนจนกระทั่งแมลงหวี่คิดเจริญเป็นตัวเต็มวัย ผสมพันธุ์แล้ววางไข่ จนได้สายพันธุ์ที่บริสุทธิ์ ตามวิธีการของยูฟินี (2550)

### (3) การเตรียมดินสำหรับทำการทดลอง

ดินที่ใช้ในการทดลองเป็นดินที่เก็บมาจากแหล่งธรรมชาติที่ไม่มีการปนเปื้อน เก็บดินที่ระดับความลึก 0-15 เซนติเมตร นำดินมาตากให้แห้งในที่ร่ม ร้อนผ่านตะแกรงขนาด 2 และ 0.5 มิลลิเมตร เพื่อใช้สำหรับทดสอบคุณสมบัติของดินทางเคมีและกายภาพ และนำดินที่ร้อนผ่านตะแกรงขนาด 2 มิลลิเมตร ไปอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 12 ชั่วโมง แล้วปล่อยให้เย็นที่อุณหภูมิห้องเพื่อใช้สำหรับทดสอบกับสิ่งมีชีวิต

### (4) การเตรียมสารละลายทองแดง

เตรียมสารละลายทองแดง(CuSO<sub>4</sub>)จากบริษัท FARMITALIA CARLO ERBA (ERBA Group) ที่ระดับความเข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร ในน้ำกลั่นสองชั้นตอนเก็บสารละลายทองแดงในภาชนะพลาสติกเพื่อป้องกันการสลายตัวของสารจากแสงแดด แล้วนำมาเจือจางด้วยน้ำกลั่นสองชั้นตอนให้ได้ความเข้มข้นตามที่ต้องการ โดยสารชนิดนี้สามารถเก็บไว้ได้นานไม่จำเป็นต้องทำการเตรียมใหม่ทุกครั้งที่ทำกรทดลองเพื่อให้ได้ความเข้มข้นตามที่ต้องการแต่ไม่ควรเกิน 3 เดือน

### 3.2.3 วิธีการทดลอง

ในการศึกษานี้เป็นการประเมินผลกระทบ และความเสียหายทางนิเวศวิทยาและสิ่งแวดล้อมจากการใช้ประโยชน์น้ำทิ้งจากฟาร์มสุกรเพื่อการเกษตร โดยมีหัวข้อในการศึกษาหลักอยู่สองหัวข้อคือ

(1) ศึกษาผลกระทบสิ่งแวดล้อมของน้ำทิ้งฟาร์มสุกร และมูลสุกร ซึ่งในหัวข้อดังกล่าวนี้เป็นการศึกษาคุณภาพของน้ำทิ้งจากฟาร์มสุกร และรวมไปถึงการทดสอบการปนเปื้อนของทองแดง (Cu) ที่ปนเปื้อนมากับน้ำทิ้ง และมูลสุกร ซึ่งเราได้ทำการศึกษาผลของการตกค้างของทองแดง(Cu)กับชุดดินสองชุดดินที่มีลักษณะแตกต่างกัน โดยเป็นชุดดินที่พบได้ทั่วไปหรือเป็นเนื้อดินส่วนใหญ่ในเขตพื้นที่ศึกษา

(2) การศึกษาผลกระทบสิ่งแวดล้อมจากการใช้ประโยชน์น้ำทิ้งจากฟาร์มสุกรต่อระบบนิเวศดินในห้องปฏิบัติการ และพื้นที่การเกษตรที่มีการใช้น้ำทิ้งจากฟาร์มสุกร ซึ่งเป็นการศึกษาผลของการนำน้ำทิ้งจากฟาร์มสุกรในพื้นที่ที่ปลูกอ้อย โดยศึกษาถึงผลที่มีต่อคุณสมบัติของดินการเจริญเติบโต และความหวานของต้นอ้อย และผลต่อสิ่งมีชีวิตในดิน(แมลงหางคืด และไส้เดือนดิน) และกิจกรรมจุลินทรีย์ดิน

### 3.2.3.1 การศึกษาคุณสมบัติน้ำทิ้งฟาร์มสุกร และการทดสอบการปนเปื้อนของทองแดง(Cu)กับดินสองชุดดินในห้องปฏิบัติการ

#### (1) การศึกษาคุณสมบัติทางเคมีของน้ำทิ้งฟาร์มสุกร

ผู้ศึกษาเก็บตัวอย่างน้ำทิ้งจากฟาร์มสุกรเพื่อทำการวิเคราะห์หาค่าคุณสมบัติทางเคมีของน้ำทิ้งจากฟาร์มสุกรเพื่อเปรียบเทียบกับมาตรฐานที่กรมควบคุมมลพิษกำหนดไว้ตามมาตรฐานเพื่อควบคุมการระบายน้ำทิ้งจากฟาร์มสุกร(กรมควบคุมมลพิษ, 2542ก) สำหรับวิธีการวิเคราะห์ และทดสอบ ซึ่งการวิเคราะห์คุณภาพน้ำเสีย และน้ำชะจากมูลสุกรได้ทำตามวิธีมาตรฐานสำหรับการวิเคราะห์น้ำและน้ำเสีย (20<sup>th</sup> ed.1998 APHA-AWWA-WEF)ของสหรัฐอเมริกา และตามคู่มือวิเคราะห์น้ำเสียของสมาคมวิศวกรรมสิ่งแวดล้อมแห่งประเทศไทย (2547) สามารถสรุปได้ (ตารางที่ 4) ดังรายละเอียดต่อไปนี้

ตารางที่ 4 วิธีการวิเคราะห์คุณภาพน้ำเสียจากฟาร์มสุกร

ดัชนีสิ่งแวดล้อม	วิธีที่เลือกวิเคราะห์
pH	pH meter
EC	Electrical conductivity meter
TDS	dried at 180±2°C
COD	Potassium dichromate digestion ; Close reflux method
BOD	Azide modification at temperature 20°C in 5 days
Total P	Digestion mixture (H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> -Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> -Se mixture); Colorimetric Method
TKN	Digestion mixture (H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> -Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> -Se mixture); Micro – Kjeldahl method
Heavy metal	Digestion mixture(HNO <sub>3</sub> -HClO <sub>4</sub> mixture); AAS method



1) พีเอช (pH) ใช้ น้ำกลั่นฉีดล้างแทงอีเล็กโทรดให้สะอาด ใช้ กระดาษทิชชูชนิดละเอียดซับน้ำให้แห้ง จากนั้นปรับเครื่องมือให้ได้ค่ามาตรฐานตามคำแนะนำใน คู่มือของเครื่องมืออื่นๆ โดยจุ่มอีเล็กโทรดลงในสารละลายมาตรฐานที่มีค่าพีเอชใกล้เคียงกับค่าของ น้ำทิ้งฟาร์มสุกรที่จะวัด แล้วใช้น้ำกลั่นฉีดล้างอีเล็กโทรดอีกครั้ง ซับน้ำให้แห้ง แล้วจึงวัดค่าพีเอช ของตัวอย่างน้ำทิ้ง

2) อีซี (Electrical Conductivity, EC) ใช้โพแทสเซียมคลอไรด์ 0.01 โมล/ลูกบาศก์เดซิเมตร ล้างเซลล์การนำไฟฟ้าอย่างน้อย 2 ครั้ง ใช้กระดาษทิชชูชนิดละเอียด ซับน้ำให้แห้ง จากนั้นปรับเครื่องมือให้ได้ค่ามาตรฐานตามคำแนะนำในคู่มือของเครื่องมืออื่นๆ แล้ว จึงวัดค่าอีซีของตัวอย่างน้ำทิ้ง

3) บีโอดี (Biochemical Oxygen Demand, BOD) เก็บน้ำทิ้งใส่ขวด บีโอดี ขนาด 300 มิลลิลิตร 2 ขวด โดยขวดหนึ่งนำไปอินคิวเบทที่อุณหภูมิ  $20 \pm 1$  องศาเซลเซียส ส่วน อีกขวดนำมาเติมสารละลายแมงกานีสซัลเฟต 1 มิลลิลิตร และอัลคาไล-ไฮไดรด์-ไฮโครรีเอเจนต์ 1 มิลลิลิตรลงในขวดบีโอดีที่ใส่ตัวอย่างน้ำ โดยให้ปลายปิเปตต์แต่ละอยู่ข้างปากขวดเหนือผิวของตัวอย่าง น้ำเพียงเล็กน้อย ปิดจุกขวดระวังอย่าให้มีฟองอากาศ ผสมให้เข้ากัน โดยคว่ำขวดลงอย่างน้อย 15 ครั้ง จากนั้นตั้งทิ้งไว้ให้ตกตะกอนจนได้ปริมาณน้ำใส  $\frac{1}{2}$  ของขวด แล้วจึงเติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 1 มิลลิลิตร โดยให้กรดค่อยๆ ไหลลงไปข้างๆ ขวด ปิดจุกผสมให้เข้ากัน โดยคว่ำขวดขึ้นลงจนกระทั่งตะกอน ละลายหมด จากนั้นรินน้ำทิ้งในขวดบีโอดีออก 99 มิลลิลิตรด้วยกระบอกตวงให้ได้ปริมาตร 201 มิลลิลิตร เพื่อนำไปไทเทรตกับสารละลายมาตรฐานโซเดียมไทโอซัลเฟต 0.025 โมล/ลูกบาศก์เดซิเมตร จนกระทั่งสารละลายมีสีเหลืองอ่อน แล้วจึงเติมน้ำแปปิง 2-3 หยดจะได้สีน้ำเงินเข้ม ไตเตรทต่อไป จนกระทั่งสีน้ำเงินจางหายไปแล้วจึงอ่านปริมาตรของสารละลาย หลังจาก 5 วัน นำตัวอย่างที่อินคิว เบทที่อุณหภูมิ  $20 \pm 1$  องศาเซลเซียส มาหาปริมาณออกซิเจนละลายที่เหลืออยู่

4) ซีโอดี (Chemical Oxygen Demand, COD) นำตัวอย่างน้ำทิ้ง มาใส่หลอดย่อยสลายขนาด  $16 \times 100$  มิลลิเมตร 2.5 มิลลิลิตร และเติมสารละลายที่ใช้ในการย่อย สลายซึ่งได้แก่สารละลายมาตรฐานโพแทสเซียมไดโครเมต 1.5 มิลลิลิตร และกรดซัลฟิวริกเอเจนต์ 3.5 มิลลิลิตร โดยค่อยๆ เทกรดซัลฟิวริกเอเจนต์ให้ไหลลงก้นหลอดแก้วเพื่อให้ชั้นของกรดอยู่ใต้ชั้น ตัวอย่างน้ำ และน้ำย่อยสลาย จากนั้นปิดจุกหลอดแก้วให้แน่น แล้วคว่ำหลอดแก้วไปมาหลายครั้ง เพื่อผสมให้เข้ากันอย่างทั่วถึง แล้วจึงนำหลอดทดลองเหล่านี้ไปใส่ในเครื่องย่อยสลาย ซึ่งได้ทำให้ ร้อนถึงอุณหภูมิ 150 องศาเซลเซียสก่อน ใช้เวลารีฟลักซ์ 2 ชั่วโมง แล้วทิ้งให้เย็นถึงอุณหภูมิห้อง เปิดฝาจุก แล้วไตเตรทด้วย 0.1 โมลาร์เอเฟเอเอส จุดยุติจะเปลี่ยนอย่างรวดเร็วจากฟ้ามเขียวเป็น น้ำตาลแดงถึงแม้บางครั้งสีฟ้ามเขียวอาจจะกลับมาปรากฏอีกในหลายนาทีถัดมา

5) ทีดีเอส (Total Dissolved Solids, TDS) นำน้ำทิ้งกรองของแข็งที่สามารถกรองได้ออกทิ้ง จากนั้นชั่งจานระเหยที่นำไปอบที่อุณหภูมิ 103-105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง และปล่อยให้เย็นลงในโถทำแห้งจนได้น้ำหนักคงที่ ตวงน้ำส่วนที่ได้จากการกรองใส่ในจานระเหย นำไปตั้งบนเครื่องอังน้ำให้น้ำระเหยจนแห้ง นำจานระเหยที่แห้งไปเข้าเตาอบที่อุณหภูมิ 103-105 องศาเซลเซียส อบจนแห้ง 1 ชั่วโมง แล้วปล่อยให้เย็นในโถทำแห้งแล้วจึงนำไปชั่งทันทีที่เย็น

6) ทีเคเอน (Total Kjeldahl Nitrogen, TKN) นำน้ำทิ้งไปหาปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดด้วยวิธี Semi-micro Kjeldahl โดยการทำตัวอย่างให้เจือจางเป็น 500 ลูกบาศก์เซนติเมตร ใส่ลงในขวดเจลดาคาร์ลขนาด 800 ลูกบาศก์เซนติเมตร ใส่ลูกแล้ว 3-4 เม็ด จากนั้นเติมสารละลายบอเรตบัฟเฟอร์ 25 มิลลิลิตร ลงในตัวอย่างที่ต้องการวิเคราะห์ปรับพีเอชให้ได้ 9.5 โดยใช้ 6 โมลาร์ โซเดียมไฮดรอกไซด์ จากนั้นนำตัวอย่างที่ได้ในขวดเจลดาคาร์ล ไปกลั่น โดยต่อกับคอนเนคติงบัลบ์ซึ่งจะต่อกับเครื่องควบแน่นอีกทีหนึ่ง โดยให้ปลายของเซฟตีบัลบ์จุ่มอยู่ใต้สารละลายจับแอมโมเนียมควบแน่นอัตราการเร็วในการกลั่นให้อยู่ระหว่าง 6-10 ลูกบาศก์เซนติเมตรต่อวินาที จากนั้นเก็บส่วนที่กลั่นออกมาให้ได้ประมาณ 200 ลูกบาศก์เซนติเมตรไว้ใน flask ขนาด 250 ลูกบาศก์เซนติเมตร ซึ่งมีสารละลายจับแอมโมเนียมปริมาตร 50 ลูกบาศก์เซนติเมตร นำส่วนที่กลั่นได้นี้ไปหาปริมาณแอมโมเนียม – ไนโตรเจนโดยวิธี ไทเทรต โดยสารละลายมาตรฐานกรดซัลฟิวริก 0.01 โมลต่อลูกบาศก์เดซิเมตร เมื่อถึงจุดยุติจะได้สีม่วงอ่อน

7) ทีพี (Total Phosphorus, TP) ทำกราฟมาตรฐาน (Standard curve) โดยการดูดสารละลายมาตรฐาน 50 มิลลิกรัมต่อลิตรมา 0.01, 0.05, 0.1, 0.2, 0.3 และ 0.5 มิลลิตรลงในขวดปรับปริมาตรขนาด 100 มิลลิตร และเติมน้ำกลั่นจนได้ปริมาตร 100 มิลลิตรแล้วทำการเตรียม blank ด้วยการดูดสารละลายมาตรฐาน 25 มิลลิตรและน้ำกลั่น 25 มิลลิตรลงในขวดปรับปริมาตรเติม mixed molybdate 5 มิลลิตร เขย่าให้ผสมกันตั้งทิ้งไว้ 5 นาทีแต่ไม่ควรเกิน 2 ชั่วโมง นำไปวัดค่า absorbance ด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 882 นาโนเมตร (สีน้ำเงิน) จากนั้นนำค่า absorbance และระดับความเข้มข้นต่างๆ ไปเขียนกราฟมาตรฐาน จากนั้นหาค่าปริมาณฟอสเฟตในน้ำตัวอย่าง โดยการดูดน้ำตัวอย่าง 25 มิลลิตรและน้ำกลั่น 25 มิลลิตร เพื่อเตรียม blank เหมือนตอนต้นที่กล่าวมาแล้ว

8) การวิเคราะห์ Heavy Metal (Cu) กรองน้ำตัวอย่างด้วยกระดาษกรองเบอร์ 5 เพื่อความรวดเร็วและใช้ 50 – 100 มิลลิตรแรกของตัวอย่างที่กรองได้ล้างขวดรองรับและเทน้ำส่วนนี้ทิ้ง แล้วเก็บตัวอย่างน้ำที่กรองได้ต่อมาจนได้ปริมาตรที่ต้องการ นำตัวอย่างน้ำที่กรองได้นี้มาทำให้เป็นกรดด้วยกรดไนตริกจนกระทั่งได้ค่าพีเอชเป็น 2 ก็เพียงพอที่จะเก็บตัวอย่าง

น้ำไว้ได้เพื่อทำการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง Atomic Absorbtion Spectrophotometer (AAS) ทองแดง (Cu) วัดที่ช่วงคลื่น 324.7 นาโนเมตร

## (2) การทดสอบการปนเปื้อนของทองแดง(Cu)กับดินสองชุดดินใน

### ห้องปฏิบัติการ

ผู้ศึกษาได้ทำการศึกษาการปนเปื้อนของทองแดงโดยการคัดเลือกโดยใช้แผนที่การใช้ประโยชน์ที่ดินจากสองพื้นที่ที่แตกต่างกันคือ พื้นที่แรกเป็นบริเวณที่มีการปลูกมันสำปะหลังบ้านชำจาน ตำบลบ้านคือ อำเภอเมือง จังหวัดขอนแก่นซึ่งเป็นตัวแทนของชุดดินน้ำพอง สำหรับพื้นที่ที่สองเป็นบริเวณที่มีการทำนาข้าวบ้านโนนม่วง ตำบลศิลา อำเภอเมือง จังหวัดขอนแก่นเป็นตัวแทนของชุดดินร้อยเอ็ด หลังจากนั้นนำมาวิเคราะห์คุณสมบัติทางกายภาพ และเคมีของชุดดินแต่ละชุด และทำการทดสอบการปนเปื้อนของทองแดงในชุดดินทั้งสองชุด (ดังแสดงไว้ในตารางที่ 5) โดยแบ่งออกเป็น 2 ขั้นตอนดังนี้

#### 1) การวิเคราะห์คุณสมบัติทางกายภาพ และเคมีของดิน

- เนื้อดิน (soil texture) นำตัวอย่างดินที่ตากแห้ง บดร่อนผ่านตะแกรงขนาด 2 มิลลิเมตร กำจัดอินทรีย์วัตถุโดย  $H_2O_2$  ชั่งน้ำหนักดิน ทำการวิเคราะห์โดยวิธีใช้สาร Calgon นำไปปั่นรวมกับดินในกระบอกตวงแล้ววัดโดย Hydrometer method แล้วนำค่าที่ได้ไปคำนวณหาเปอร์เซ็นต์ sand, silt และ clay ตามลำดับ

- ความเป็นกรด-ด่าง (pH) นำตัวอย่างดินที่ผึ่งแห้งสนิท และผ่านตะแกรงร่อนที่ขนาด 2 มิลลิเมตร 10 กรัม ใส่ในบีกเกอร์ขนาด 25 มิลลิลิตร ใส่ น้ำ 10 มิลลิลิตร (1:1) ลงในตัวอย่าง จากนั้นคนให้เข้ากัน เป็นระยะเวลา 30 นาที แล้วนำไปวัดด้วยเครื่องวัด pH meter

- ปริมาณอินทรีย์วัตถุในดิน (organic matter) นำตัวอย่างดินที่ทำให้แห้ง บด และร่อนดินผ่านตะแกรงขนาด 0.5 มิลลิเมตร ไปหาปริมาณอินทรีย์วัตถุโดยวิธี wet oxidation ของ Walkley and Black ทำการชั่งดิน 2 กรัมใส่ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตรเติม  $1N K_2Cr_2O_7$ , 5 มิลลิลิตรแล้วแกว่งขวดเบาๆเพื่อให้น้ำยากับตัวอย่างดินผสมเข้ากันดี จากนั้นเติม  $H_2SO_4$  เข้มข้น 10 มิลลิลิตร แกว่งขวดเบาๆแล้วทิ้งให้เย็น จากนั้นเติมน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตรแล้วหยด O-phenanthroline ferrous complex indicator 3 หยด แล้วนำไปไทเทรตกับ  $0.5N FeSO_4$  เมื่อถึงจุดยุติจะเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีน้ำตาลแดง

- ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในดิน (Total nitrogen) นำตัวอย่างดินที่ผึ่งให้แห้ง และผ่านตะแกรงร่อนที่ขนาด 2 มิลลิเมตร ไปหาปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในดินโดยวิธี wet oxidation ของ Kjeldahl method โดยชั่งดินใส่หลอดย่อย (Kjeldahl Digestion flask) 2 กรัม เติม catalyst mixture ประมาณ 1 กรัม จากนั้นเติม conc.  $H_2SO_4$  10 มิลลิลิตร นำเข้าเตาย่อยโดยใช้



อุณหภูมิ 360 °C ใช้เวลาประมาณ 2-3 ชั่วโมง นำตัวอย่างที่ยืนยันแล้วมาปรับปริมาตร 100 มิลลิลิตร แล้วนำตัวอย่าง 10 มิลลิลิตรใส่ใน digestion flask แล้วเติม 40 % NaOH นำเข้า distillation flask เข้ากับเครื่องกลั่น โดยมี 2 %  $H_3BO_3$  indicator solution ใส่ในขวดรูปชมพู่ขนาด 125 มิลลิลิตร ใส่ไว้ในปลายทางของ condenser เครื่องกลั่น จากนั้นนำขวดรูปชมพู่ที่มีตัวอย่างจากการกลั่นเรียบร้อยแล้ว มาไตเตรทกับ 0.005 N  $H_2SO_4$  จนถึงจุดยุติจะเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีม่วงแดง

- ความจุในการแลกเปลี่ยนแคทไอออน (Cation Exchange Capacity, CEC)

นำตัวอย่างดินที่ผึ่งให้แห้ง และผ่านตะแกรงร่อนที่ขนาด 2 มิลลิเมตรไปหาปริมาณ CEC โดยวิธี Peech method โดยชั่งดินลงในบีกเกอร์ขนาด 25 มิลลิลิตร 5 กรัม เติม 1N  $NH_4OAc$  pH 7 ที่ไว้ค้างคืน จากนั้นนำตัวอย่างดินถ่ายลงในกระดาษกรองเบอร์ 5 แล้วชะดินด้วย ethyl alcohol 50 มิลลิลิตร แล้วทิ้งส่วนนี้ไป ชะต่อด้วย 10% Acidified NaCl ประมาณ 40 มิลลิลิตร และนำสารสกัดตัวอย่างที่ได้จากการกรองชั้นตอนสุดท้ายไปเข้าขั้นตอนการกลั่นหาปริมาณการแลกเปลี่ยนแคทไอออนของดินต่อไป โดยนำสารสกัด 10 มิลลิลิตรใส่ในหลอด digestion flask แล้วเติม 40 % NaOH นำเข้า distillation flask เข้ากับเครื่องกลั่น โดยมี 2 %  $H_3BO_3$  indicator solution ใส่ในขวดรูปชมพู่ขนาด 125 มิลลิลิตร ใส่ไว้ในปลายทางของ condenser เครื่องกลั่น จากนั้นนำขวดรูปชมพู่ที่มีตัวอย่างจากการกลั่นเรียบร้อยแล้วมาไตเตรทกับ 0.005 N  $H_2SO_4$  จนถึงจุดยุติจะเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีม่วงแดง

- ความเป็นตัวนำไฟฟ้า (Electrical Conductivity) นำตัวอย่างดินที่ผึ่งให้แห้ง และผ่านตะแกรงร่อนที่ขนาด 2 มิลลิเมตร 10 กรัม ใส่ในบีกเกอร์ขนาด 50 มิลลิลิตร ใส่ น้ำ 50 มิลลิลิตร (1:5) ลงในตัวอย่างจากนั้นคนให้เข้ากันเป็นเวลา 30 นาที แล้ววัดโดยเครื่องวัด Electrical conductivity meter

- ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ในดิน (available phosphorus) นำตัวอย่างดินที่ผึ่งให้แห้ง และผ่านตะแกรงร่อนที่ขนาด 2 มิลลิเมตร โดยชั่งดินลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 125 มิลลิลิตร 5 กรัม เติมน้ำยาสกัด Bray II 50 มิลลิลิตร เขย่า 60 นาทีแล้วกรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 5 นำสารสกัดที่ได้พัฒนาสีด้วย 2 %  $H_3BO_3$ , Murphy's reagent และ 2.5 % Ascorbic acid solution แล้ววัดด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 820 นาโนเมตร

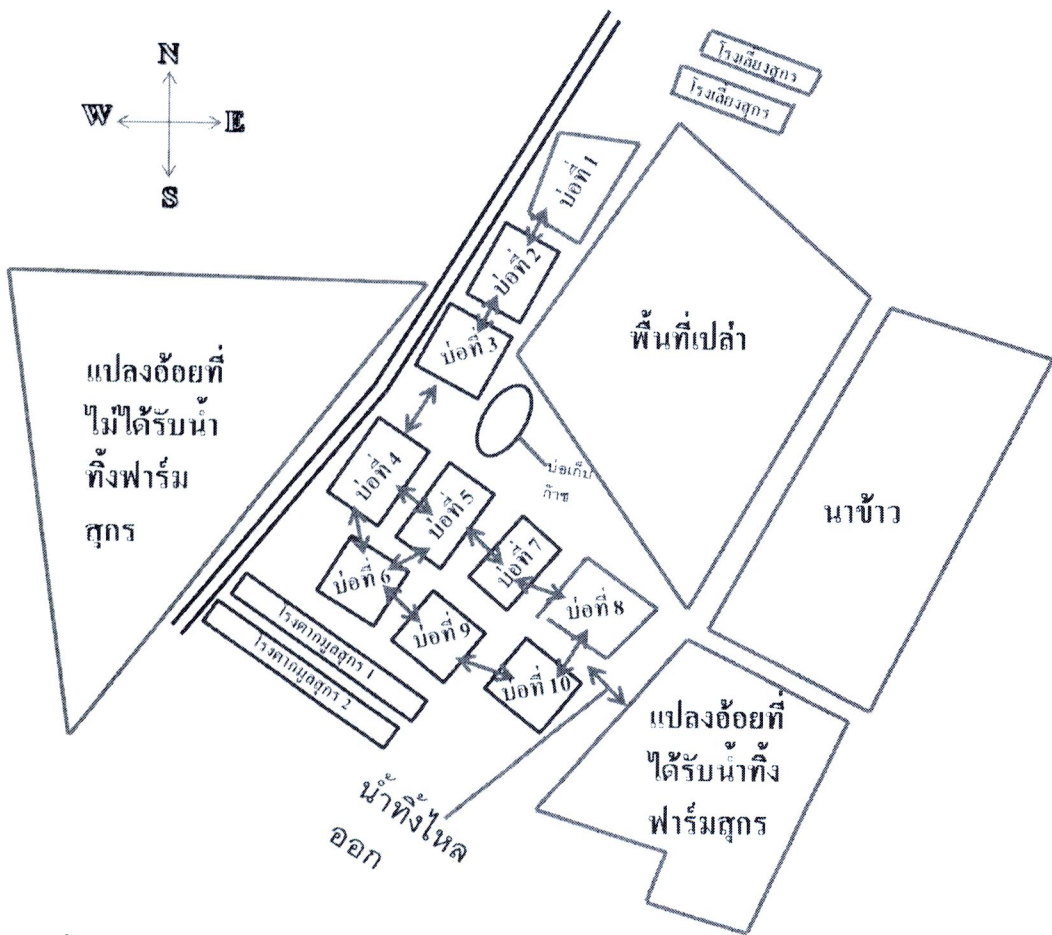
- ปริมาณเบสที่แลกเปลี่ยนได้ (exchangeable K, Na) นำตัวอย่างดินที่ผึ่งให้แห้ง และผ่านตะแกรงร่อนที่ขนาด 2 มิลลิเมตร โดยชั่งดินลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 125 มิลลิลิตร 5 กรัม วิเคราะห์โดยการเติมด้วย 1N  $NH_4OAc$  pH 7 50 มิลลิลิตร เขย่า 30 นาที แล้วนำสารสกัดที่ได้กรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 5 จากนั้นนำไปวิเคราะห์หาโพแทสเซียม โซเดียม ที่แลกเปลี่ยนได้ในดินโดยเครื่อง flame photometer

ตารางที่ 5 คุณสมบัติพื้นฐานของดินที่ใช้ในการทดลอง

คุณสมบัติดิน	วิธีวิเคราะห์	เอกสารอ้างอิง
<b>คุณสมบัติทางฟิสิกส์ดิน</b>		
Soil texture	Hydrometer method	มงคลและสัมฤทธิ์( 2539)
<b>คุณสมบัติทางเคมีดิน</b>		
pH (1:2.5 H <sub>2</sub> O)	Std. Glass electrode	Black (1965)
EC (1:5 H <sub>2</sub> O) (dS/m)	EC bridge	Jackson (1960)
OM (%)	Wakley and Black	Black (1965)
CEC(cmol+)/kg)	Peech method	วงศ์ศิริ (2538)
Total N (%)	Kjeldahl method	Black (1965)
Available P (mg/kg)	Bray II	Cottenie (1980)
Exchangeable K,Na (mg/kg)	NH <sub>4</sub> OAc and AAS	Black (1965)

2) หลังจากนั้นได้ทำการศึกษาปริมาณทองแดง (Cu) ในดิน 2 ชุดดินคือ ชุดดินร้อยเอ็ด (Re) และชุดดินน้ำพอง (Ng) จากการเตรียมทองแดง เริ่มต้นที่ 15 มิลลิกรัมต่อ กิโลกรัม ร่วมกับการใช้น้ำทิ้งฟาร์มสุกร โดยทำการเตรียมดินทั้งสองชุดดินที่แห้ง และผ่านการร่อน ให้ได้ขนาด 2 มิลลิเมตร ประมาณ 500 กรัมใส่ลงในกล่องพลาสติกที่ทำการเจาะรู และรองด้วยผ้า ขาวบางหลายชั้น และใช้ดินน้ำมันปิดรูที่เจาะไว้เพื่อกันไม่ให้เม็ดดิน ไหลออกจากรูที่เจาะจากนั้นนำ สารละลายทองแดงที่เตรียมไว้ใส่ลงในดินให้ท่วมผิวดินเล็กน้อยปิดฝาให้สนิท แช่ทิ้งไว้ 7 วัน แล้ว จึงนำดินน้ำมันที่ปิดรูที่เจาะไว้เออรอง รับสารละลายที่ชะผ่านดินด้วยขวดพลาสติก จากนั้นนำ ตัวอย่างดินหลังจากผ่านการทดลอง และสารละลายไปทำการวิเคราะห์หาปริมาณทองแดงต่อไปด้วย เครื่อง flame photometer

3.2.3.2 การศึกษาผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมจากการใช้ประโยชน์น้ำทิ้งจากฟาร์มสุกร  
**ต่อระบบนิเวศดิน** แบ่งการศึกษาออกเป็น 2 ส่วน ซึ่งส่วนแรกเป็นการศึกษาในภาคสนาม ได้แก่ การศึกษาอัตราการเจริญเติบโตกับความหวานของต้นอ้อย และการศึกษาความหลากหลายทางชีวภาพ ในส่วนที่สองเป็นการศึกษาภายในห้องปฏิบัติการ ได้แก่ การศึกษากิจกรรมจุลินทรีย์ในดิน การศึกษาการหลีกเลี่ยงสารพิษ การศึกษาพิษเฉียบพลัน และศึกษามวลชีวภาพจุลินทรีย์ โดยมีรายละเอียดดังนี้



ภาพที่ 6 แสดงแผนผังฟาร์มสุกรที่ทำการศึกษา

### (1) การศึกษาในภาคสนาม มีดังนี้

- การศึกษาอัตราการเจริญเติบโตของต้นอ้อย และค่าความหวาน

การศึกษากการเจริญเติบโตของอ้อยในพื้นที่ศึกษา โดยการวัดขนาดความสูง และความหวานของต้นอ้อยในแปลงพื้นที่ศึกษาทั้งสองพื้นที่คือ พื้นที่แปลงอ้อยที่ได้รับน้ำทิ้งฟาร์มสุกร และพื้นที่แปลงอ้อยที่ไม่ได้รับน้ำทิ้ง ซึ่งทำการสุ่มวัดขนาดความสูงของต้นอ้อยด้วยตลับเมตรโดยวัดจากโคนต้นไปจนถึงปลายใบที่ยาวที่สุดของต้นอ้อยนั้นๆ ทำซ้ำกันในพื้นที่ และนำมาหาค่าเฉลี่ยของความสูงอ้อยในแปลงนั้น และการวัดค่าความหวานของต้นอ้อยก็เช่นเดียวกันกับการวัดความสูง โดยทำการสุ่มทั่วทั้งแปลงซึ่งใช้เครื่องมือวัดความหวาน (brix meter) วิธีการคือการเจาะอ้อยให้เป็นรูด้วยเครื่องมือวัดจากนั้นนำน้ำอ้อยหยดลงบนเครื่องมือ และทำการอ่านค่าจากตัวเลขที่ปรากฏ แล้วจึงนำค่าที่ได้มาหาค่าเฉลี่ยความหวานของอ้อยในทั้ง 2 พื้นที่ และจึงนำไปเปรียบเทียบกับในโปรแกรม Statistic 8 ว่ามีความแตกต่างกันหรือไม่ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

- การศึกษาความหลากหลายทางชีวภาพของสิ่งมีชีวิตในดิน

การศึกษาความหลากหลายทางชีวภาพของสิ่งมีชีวิตในดิน เป็นการศึกษา โดยการกำหนดขอบเขตพื้นที่บริเวณใดบริเวณหนึ่งในพื้นที่ศึกษา โดยในการศึกษารั้งนี้ เป็นการสำรวจสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังในดินขนาดใหญ่ วัดพื้นที่ศึกษาขนาด 1×1 เมตร ทำการตรวจหาสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังในดินบนผิวดิน ตามซากพืช ใต้ใบไม้ และในดินโดยขุดดินลึก 5-7 เซนติเมตร ไล่ไปที่ละด้าน ตลอดพื้นที่ขนาด 1×1 เมตร ภายในเวลา 30 นาที เก็บตัวอย่างทุกชนิดที่พบ นำใส่ขวดที่มีแอลกอฮอล์ 70 % แล้วจำแนกชนิดและนับจำนวน การตรวจหาสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังในดินขนาดกลาง เก็บตัวอย่างดินในทุกพื้นที่ โดยใช้พลั่วมือขุดดินขนาด 20×20 เซนติเมตร ลึก 5-10 เซนติเมตร จำนวน 0.5 กิโลกรัมใส่ถุง แล้วนำตัวอย่างดินใส่ใน Berlese funnel ที่ด้านบนของ funnel ยังด้วยหลอดไฟฟ้าขนาด 60 วัตต์ ด้านล่างรองรับด้วยบีกเกอร์ที่มีแอลกอฮอล์ 70 % ทิ้งไว้ 1 สัปดาห์ นำมาตรวจหาสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังในดิน ด้วยกล้องจุลทรรศน์ 2 เท่า เพื่อจำแนกชนิดและนับจำนวน ซึ่งการหาดัชนีความหลากหลายของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังในดิน (Index of species diversity) โดยการคำนวณค่า Shannon – Wiener diversity index (H) ตามวิธีการของชูลิมาส (2552)

$$\text{จาก } H = - \sum P_i \log P_i$$

$$\text{เมื่อ } P_i = n_i/N$$

n = จำนวนตัวของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังในดินแต่ละชนิด

N = จำนวนตัวของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังในดินทุกชนิดรวมกัน

## (2) การศึกษาภายในห้องปฏิบัติการ มีดังนี้

### การศึกษากิจกรรมจุลินทรีย์ในดิน

การวิเคราะห์หากิจกรรมจุลินทรีย์โดยวัดจากการหายใจของจุลินทรีย์ดิน (soil respiration) เป็นการศึกษาโดยการวัดปริมาณก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่เกิดขึ้น โดยใช้ NaOH ที่มีปริมาณมากเกินพอจับก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ แล้วจึงไตเตรตหาปริมาณ NaOH ที่เหลือโดยใช้กรดที่ทราบความเข้มข้นที่แน่นอน แล้วจึงคำนวณหาปริมาณก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่เกิดขึ้น (Anderson, 1992; Rowell, 1997) นำตัวอย่างดินที่ใช้ในการบ่มในแต่ละกรรมวิธีมาหากิจกรรมจุลินทรีย์โดยก่อนครบกำหนด 24 ชั่วโมงของแต่ละช่วงเวลาของการบ่ม นำแต่ละหน่วยทดลองใส่ในขวดโหลแก้วซึ่งมีน้ำอยู่ที่ก้นภาชนะประมาณ 5 มิลลิลิตร เพื่อป้องกันการระเหยของน้ำจากหน่วยทดลอง เตรียม blank เช่นเดียวกันกับตัวอย่างแต่ไม่ใส่ตัวอย่างดิน นำกระบอกพลาสติกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 2.5 เซนติเมตร สูง 5 เซนติเมตร บรรจุด้วย 1N NaOH ปริมาณ 20 มิลลิลิตร วางในขวดแก้วเช่นเดียวกับหน่วยทดลองปิดฝาขวดโหลแก้วให้แน่นเพื่อป้องกันการรั่วซึมของก๊าซ

คาร์บอนไดออกไซด์ เมื่อครบ 24 ชั่วโมง นำกระบอกพลาสติกที่บรรจุ ออกมาจากภาชนะบรรจุ NaOH ตัวอย่างดินไปไตเตรดหาปริมาณ NaOH ที่เหลือโดยเติม 2.5 M BaCl<sub>2</sub> เพื่อให้สารละลายตกตะกอน กลายเป็นสีขาวขุ่น จากนั้นหยด Phenolphthalein indicator 2-3 หยด สารละลายจะเปลี่ยนเป็นสีชมพู แล้วไตเตรดด้วย 0.05 N HCl เมื่อถึงจุดยุติสารละลายจะเปลี่ยนเป็นสีขาวขุ่นอีกครั้ง นำปริมาตร 0.05 HCl ที่ใช้ในการไตเตรดไปคำนวณหาปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ที่เกิดขึ้น

#### การศึกษาการหลีกเลี่ยงสารพิษของไส้เดือนดิน

การทดสอบการหลีกเลี่ยงสารพิษ (% avoidance) ทำการทดสอบพฤติกรรมหลีกเลี่ยงสารพิษของไส้เดือนดิน โดยศึกษาผลของทองแดงที่มีต่อการหลีกเลี่ยงสารพิษของไส้เดือนดิน *Eudrilus eugeniae* โดยการเตรียมสารละลายทองแดง ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ โดยแบ่งความเข้มข้นเป็น 5 ระดับ คือ 0, 25, 75, 150, 225 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักดินแห้ง และ 1 ชุดควบคุม ในดินและ Artificial soil 500 กรัม การทดลองให้ความชื้นที่ 50% MHC ใส่ไส้เดือนดิน 10 ตัว ในช่องตรงกลางของอุปกรณ์ทดสอบพฤติกรรมหลีกเลี่ยงสารพิษของไส้เดือนดิน ควบคุมอุณหภูมิที่ห้อง  $\pm 2$  องศาเซลเซียส ที่ 7 วันและ 14 วัน เมื่อครบกำหนดนับจำนวนไส้เดือนดินที่อยู่ในช่องที่ผสมสารทองแดงแล้วคำนวณค่า % avoidance ดังสมการ (1) (OECD,2001)

$$A \% = B-C/B \times 100 \quad (1)$$

A = เปอร์เซ็นต์การหลีกเลี่ยงสารพิษ

B = จำนวนไส้เดือนดิน (ตัว) ทั้งหมดที่ใช้ในการทดลอง

C = จำนวนไส้เดือนดิน (ตัว) ที่หลีกเลี่ยงสารพิษในดินที่ไม่ปนเปื้อน

\*หากมีเปอร์เซ็นต์การหลีกเลี่ยงสารพิษที่มากแสดงถึงความเป็นพิษของสารนั้นที่มีผลต่อสัตว์ทดลอง

#### การศึกษาพิษเฉียบพลันของทองแดงต่อสิ่งมีชีวิตในดิน

การทดสอบพิษเฉียบพลัน เป็นการหาระดับความเข้มข้นของสารทองแดงที่ทำให้แมลงหางคืดตายร้อยละ 50 ในช่วงเวลา 7 และ 14 วัน โดยเตรียมสารละลายทองแดง จำนวน 4 ระดับความเข้มข้นและ 1 ชุดควบคุม ทำการทดลองจำนวน 3 ซ้ำ เพื่อให้ได้ผลการทดลองที่ถูกต้องยิ่งขึ้นทำการทดลองที่อุณหภูมิ 20 $\pm$ 1 องศาเซลเซียส และให้แสงที่ 8:16 ชั่วโมง (แสง : มืด) และควบคุมความชื้นให้อยู่ที่ระดับ 50% FC โดยนับจำนวนตัวตายของแมลงหางคืดหลังจากได้รับสารทองแดงที่ 4 ระดับความเข้มข้น และ 1 ชุดควบคุม อาหารเป็นยีสต์ปริมาณ 2-3 เม็ดต่อซ้ำ บันทึกผลการตายของแมลงหางคืดหลังจากได้รับสาร 7 และ 14 วัน จากนั้นนำมาหาค่า LC<sub>50</sub>



### การศึกษามวลชีวภาพจุลินทรีย์

การศึกษามวลชีวภาพจุลินทรีย์เป็นการศึกษาถึงปริมาณของจุลินทรีย์ในดินแบ่งออกเป็น 2 ประเภทคือ MBC (microbial biomass carbon) และ MBN (microbial biomass nitrogen) โดยทำการเก็บตัวอย่างดินจากพื้นที่ศึกษาเก็บดินที่ความลึก 0-20 เซนติเมตรสุ่มเก็บอย่างน้อย 3 จุด ตัวอย่างดินที่ใช้สำหรับวิเคราะห์มวลชีวภาพจุลินทรีย์ดินจะถูกเก็บรักษาอุณหภูมิไว้ภายในถังน้ำแข็ง และทำการวิเคราะห์ทันทีที่ถึงห้องปฏิบัติการ ซึ่งวิธีการวิเคราะห์มวลชีวภาพจุลินทรีย์ทั้ง 2 ประเภทเป็นการใช้วิธีหมักด้วยคลอโรฟอร์มแล้วตามด้วยการสกัด (Vance et al., 1987; Amato and Ladd, 1988) ดังนั้น ปริมาณมวลชีวภาพจุลินทรีย์จึงเป็นผลต่างระหว่างดินที่ผ่านการหมักคลอโรฟอร์มกับไม่หมักคลอโรฟอร์ม มีวิธีการดังนี้

การวิเคราะห์หาปริมาณ MBC ทำได้โดยชั่งดิน 10 กรัม ใส่ Erlenmeyer flask ขนาด 125 มิลลิลิตร สกัดด้วย 0.5 M  $K_2SO_4$  จำนวน 50 มิลลิลิตร เขย่านาน 30 นาที กรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 5 จากนั้นนำสารละลายที่ได้จำนวน 5 มิลลิลิตร ไปวิเคราะห์หาปริมาณคาร์บอน โดยวิธีสันดาปเปียก (wet oxidation) โดยเติม 0.07 N  $K_2Cr_2O_7$  5 มิลลิลิตร เพื่อเกิดการออกซิไดซ์ และเติมกรดซัลฟูริกเข้มข้น 10 มิลลิลิตร เพื่อให้เกิดความร้อน และเป็นการเร่งปฏิกิริยาทิ้งไว้ให้เกิดปฏิกิริยาสะกั้งแล้วเติมกรดฟอสฟอริก ( $H_3PO_4$ ) 5 มิลลิลิตร โดยทำในตู้ดูดควัน ไตเตรตสารละลายที่ได้ด้วย 0.01 N  $FeSO_4$  (หาความเข้มข้นที่แน่นอนของ 0.01 N  $FeSO_4$  โดยสารละลายมาตรฐานปฐมภูมิ 0.07 N  $K_2Cr_2O_7$ ) โดยมีสารละลายที่ผสมกันระหว่าง N-phenylanthranilic acid 0.1002 กรัม กับ  $Na_2CO_3$  0.107 กรัม ในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร เป็นอินดิเคเตอร์ ซึ่งจุดยุติจะเกิดขึ้นเมื่อสารละลายเปลี่ยนจากสีน้ำตาลเป็นสีเขียว แล้วนำปริมาตร และความเข้มข้นที่แน่นอนของ  $FeSO_4$  ที่ใช้ในการไตเตรตคำนวณหาปริมาณมวลชีวภาพจุลินทรีย์คาร์บอน

การวิเคราะห์หาปริมาณ MBN ทำได้โดยชั่งดิน 10 กรัม ใส่ Erlenmeyer flask ขนาด 125 มิลลิลิตร สกัดด้วย 1M  $KCl$  จำนวน 50 มิลลิลิตร เขย่านาน 30 นาที กรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 5 จากนั้นนำสารละลายที่ได้จำนวน 2 มิลลิลิตร เติม ninhydrin 2 มิลลิลิตร และ 0.07% ascorbic acid 2 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลองขนาด 20-25 มิลลิลิตร เขย่าเพื่อให้ส่วนผสมเข้ากัน ต้มใน water bath ที่อุณหภูมิ 85-90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที สารละลายในหลอดทดลองจะเปลี่ยนเป็นสีม่วงแดงทิ้งไว้ให้เย็นแล้วเทียบสีกับสารละลายมาตรฐาน โดยใช้เครื่อง spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 570 nm นำค่าที่ได้ไปคำนวณหาปริมาณมวลชีวภาพจุลินทรีย์ไนโตรเจน

### 3.3 การวิเคราะห์ข้อมูล

นำข้อมูลที่ได้จากการศึกษาแต่ละพารามิเตอร์มาหาค่าเฉลี่ยที่แน่นอนแล้วทำการเปรียบเทียบค่าที่ได้คร่าวๆจากนั้นทำการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติที่ได้จากการทดลอง นำมาวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติ (analysis of variance) และเปรียบเทียบความแตกต่างของข้อมูลเชิงซ้อน Least – Significant Difference (LSD) ในโปรแกรมสำเร็จรูป Statistix 8.0 ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

### 3.4 สถานที่ปฏิบัติการ

3.4.1 ห้องปฏิบัติการพืชวิทยานิวส และสิ่งแวดล้อม หมวดดินและปุ๋ย ภาควิชาพืชศาสตร์ และทรัพยากรการเกษตร คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

3.4.2 ห้องวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม สาขาทรัพยากรที่ดิน และสิ่งแวดล้อม ภาควิชาพืชศาสตร์ และทรัพยากรการเกษตร คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

3.4.3 ฟาร์มสุกร อำเภอบ้านไผ่ จังหวัดขอนแก่น

3.4.4 พื้นที่การเกษตรที่มีการปลูกอ้อย อำเภอบ้านไผ่ จังหวัดขอนแก่น

### 3.5 ระยะเวลาในการปฏิบัติการ

เริ่มการศึกษาตั้งแต่เดือนตุลาคม 2551 และถึงในเดือนตุลาคม 2552