

บทที่ 3

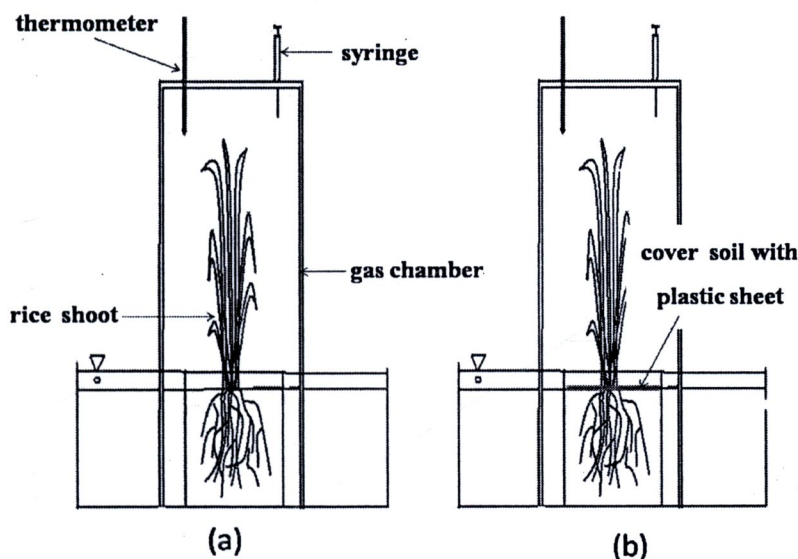
วิธีการดำเนินงานวิจัย

เพื่อให้เกิดความเข้าใจเกี่ยวกับปริมาณการผลิตสารคัดหลั่งจากรากข้าว จึงพิจารณาลักษณะต่างๆ ทางสัณฐานวิทยาของพันธุ์ข้าวที่อาจมีผลต่อการผลิตสารคัดหลั่งและการปลดปล่อยก๊าซมีเทนจากต้นข้าวและจากดินนาข้าว จึงได้พิจารณาใช้ข้าวพันธุ์ที่มีลักษณะทางกายภาพที่แตกต่างกันอันจะนำมาซึ่งความแตกต่างของความสัมพันธ์ของตัวชี้วัดต่างๆ กับการปลดปล่อยก๊าซมีเทนจากต้นข้าวอย่างชัดเจน ดำเนินงานวิจัยโดยใช้พันธุ์ข้าวที่มีลักษณะต่างกันคือ พันธุ์ข้าวที่มีลักษณะลำต้นเตี้ยได้แก่ ข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 (Chainat 1) และข้าวที่มีลำต้นสูงได้แก่ ข้าวพันธุ์สกลนคร (Sakon Nakhon)

3.1 การวางแผนงานวิจัย

3.1.1 การศึกษาปริมาณการปลดปล่อยก๊าซมีเทนจากต้นข้าวที่ปลูกในกระถางตลอดการเจริญเติบโต

ประกอบด้วย 2 คำรับของการเก็บตัวอย่างและวัดก๊าซมีเทนซึ่งได้จากกระถางเดียวกัน คือ 1) ปริมาณการปล่อยก๊าซมีเทนทั้งหมดจากดินและต้นข้าวตลอดการเจริญเติบโต 2) ปริมาณการปล่อยก๊าซมีเทนทั้งหมดจากต้นข้าวตลอดการเจริญเติบโต คำรับละ 4 ซ้ำ วางแผนการวิจัยแบบ completely randomized design (CRD) เตรียมดินและปลูกข้าวในกระถางตามที่กล่าวข้างต้น ทำการวิจัยและติดตามวัดอัตราการปล่อยก๊าซมีเทนในเดือนมีนาคม-มิถุนายน พ.ศ. 2552 เก็บตัวอย่างก๊าซมีเทนจากดินและต้นข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 (ไม่ปิดผิวดินด้วยแผ่นพลาสติก) (คำรับที่ 1) และเก็บตัวอย่างก๊าซมีเทนจากต้นข้าว (ใช้แผ่นพลาสติกคลุมผิวดินให้เหลือเฉพาะต้นข้าวโผล่ออกมา) (คำรับที่ 2) ทั้งนี้ทั้ง 2 คำรับทำการเก็บตัวอย่างก๊าซในกระถางเดียวกัน ด้วยวิธี closed chamber (IRRI, 1996) วิเคราะห์หาอัตราการปล่อยก๊าซมีเทนตลอดฤดู แล้วคำนวณปริมาณการผลิตก๊าซมีเทนทั้งหมดตลอดฤดูปลูก



ภาพที่ 3.1 การเก็บตัวอย่างก๊าซมีเทนจากดินและต้นข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 (a) และการเก็บตัวอย่างก๊าซมีเทนจากต้นข้าว (b)

3.1.2 การศึกษาปริมาณสารคัดหลั่งที่ปล่อยออกจากรากข้าวตลอดการเจริญเติบโต

โดยเก็บตัวอย่างสารคัดหลั่งที่ระยะการเจริญต่างๆ ได้แก่ระยะต้นกล้า(seedling) ระยะแตกกอ(tillering) ระยะออกดอก(flowering) ระยะสุกแก่ (ripening) และระยะเก็บเกี่ยว (harvest) ของข้าวสองพันธุ์ ได้แก่พันธุ์ข้าวชัยนาท 1 และพันธุ์สกลนคร ประกอบด้วย 2 คำรับ คือ 1) ข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 2) ข้าวพันธุ์สกลนคร คำรับละ 4 ซ้ำ วางแผนการวิจัยแบบ CRD (completely randomized design) เตรียมดินและปลูกข้าวในกระถางทำนองเดียวกับการวิจัยที่ 1 ทำการวิจัยในเดือนกรกฎาคม – พฤศจิกายน พ.ศ. 2552 เก็บสารคัดหลั่งที่ปล่อยออกจากรากข้าวทั้งสองพันธุ์ตามระยะการเจริญเติบโตที่กำหนด วัดปริมาณสารคัดหลั่งในรูปคาร์บอนอินทรีย์ (exudates carbon) โดยวิธี wet-digestion (Walkley and Black, 1934) วิธีการเก็บและวิเคราะห์ได้กล่าวไว้ในหัวข้อการเก็บสารคัดหลั่งจากรากข้าว (root exudate)

ขณะเดียวกันทำการเก็บตัวอย่างก๊าซมีเทนจากต้นข้าวทั้งสองพันธุ์เพื่อหาอัตราการปลดปล่อยก๊าซมีเทนจากข้าวทั้งสองพันธุ์ ด้วยวิธี closed chamber (IRRI, 1996) ข้างต้น วัดลักษณะทางสัณฐานวิทยาของต้นข้าวส่วนที่อยู่ใต้ดิน (ราก) ได้แก่ ความยาวราก ปริมาตรราก พื้นที่ผิวราก ปริมาตรช่องว่างในรากและน้ำหนักแห้งราก และส่วนที่อยู่เหนือดิน (ลำต้น) ได้แก่ความสูงของต้นข้าว จำนวนหน่อตอกอ เส้นผ่านศูนย์กลางลำต้น ปริมาตรช่องว่างในลำต้นและน้ำหนักแห้งของลำ

ต้นตลอดทั้งฤดูปลูก วิเคราะห์หาปริมาณช่องว่างในรากและลำต้นของข้าวทั้งสองพันธุ์ โดยวิธี pycnometer (Curran et al., 1996)

3.2 การเตรียมดิน พันธุ์ข้าว และการปลูกข้าว

3.2.1 การเตรียมดินปลูกข้าว

เก็บตัวอย่างดินจากพื้นที่นาของเกษตรกร นายสุรินทร์ อนุสุริยา ที่บ้านหนองน้ำเกลี้ยง ตำบลสำราญ อำเภอเมือง จังหวัดขอนแก่น ในวันที่ 27 พฤษภาคม พ.ศ. 2551 พิกัด $16^{\circ}32.864'N$ และ $102^{\circ}48.959'E$ ที่ความลึก 0-15 เซนติเมตร ลักษณะดินจัดอยู่ในชุดดินร้อยเอ็ด (Roi Et, Re) เนื้อดินเป็นดินร่วนปนทราย (sandy loam) ประกอบด้วยทราย (sand) 75% ทรายแป้ง (silt) 21% และดินเหนียว (clay) 3% ตามลำดับ ตากดินให้แห้งในที่ร่ม (air dried) ร่อนผ่านตะแกรกร่อนขนาด 2 มิลลิเมตร (10 mesh) ผสมดิน 3 กิโลกรัม กับปุ๋ยสูตร 16-16-8 ปริมาณ 0.3656 กรัม (อัตรา 25 กิโลกรัมต่อไร่) ใส่ลงกระถางพลาสติกใสขนาดกว้าง 15.3 เซนติเมตร ยาว 15.3 เซนติเมตร สูง 24 เซนติเมตร ชั่งน้ำให้ระดับน้ำอยู่ระดับผิวดินทิ้งไว้หนึ่งคืนก่อนปลูก

3.2.2 การเตรียมเมล็ดพันธุ์

นำเมล็ดข้าวเปลือกพันธุ์ชัยนาท 1 และพันธุ์สกลนคร จากศูนย์วิจัยข้าวขอนแก่น อำเภอเมือง จังหวัดขอนแก่น เบอร์เซ็นต์ความงอก 90% จำนวน 50 กรัม มาแช่ในน้ำสะอาดเป็นเวลา 1 คืน นำเมล็ดข้าวที่ได้ห่อด้วยผ้าขนหนูที่ชุ่มน้ำ แล้ววางไว้ในที่มีดที่มีอากาศถ่ายเทสะดวก รดน้ำเข้าเย็นเพื่อรักษาความชื้น เป็นเวลา 3 วัน เมล็ดข้าวจะงอก แล้วนำลงเพาะในกระบะเพาะกล้าที่บรรจุดิน 3 กิโลกรัมกับปุ๋ยสูตร 16-16-8 ปริมาณ 0.3656 กรัม (อัตรา 25 กิโลกรัมต่อไร่) ชั่งน้ำให้ระดับน้ำอยู่ระดับเดียวกับผิวดิน ทิ้งไว้ 1 คืนก่อนเพาะกล้า เมื่อข้าวอายุ 20 วัน นำต้นกล้าจำนวน 5 ต้น ปลูกลงในกระถางใสที่เตรียมดินไว้แล้ว

3.3 การเก็บตัวอย่าง

3.3.1 อุปกรณ์และการเก็บตัวอย่างก๊าซ

เก็บตัวอย่างก๊าซด้วยวิธี closed chamber ซึ่งอุปกรณ์ที่ใช้ประกอบด้วย กล่องเก็บตัวอย่างก๊าซ (gas chamber) ที่ทำด้วยแผ่นอะคริลิกใส (acrylic plate) มีความหนา 4 มิลลิเมตร ประกอบด้วย 2 ส่วนคือ ส่วนที่ครอบต้นข้าว (cover module) สำหรับครอบต้นข้าวเมื่อทำการเก็บตัวอย่างก๊าซ ขนาด 21 X 21 X 100 เซนติเมตร ลักษณะกล่องมีฝาปิดด้านบน ซึ่งมีช่องสำหรับเสียบเทอร์โมมิเตอร์เพื่อวัดอุณหภูมิ และช่องที่ปิดด้วย septum สำหรับเสียบเข็มฉีดยา (syringe) เพื่อดูดตัวอย่างก๊าซ พร้อมทั้งติดตั้งพัดลมขนาด 3.5 นิ้วไว้ที่เพดาน ใช้แบตเตอรี่ 12 โวลต์ สำหรับไล่

ก๊าซต่างๆ(อากาศ) ที่อยู่ภายในกล่องออกให้สะอาดก่อนเก็บตัวอย่างก๊าซ ส่วนขยายความสูง (extension module) เป็นกล่องที่ใช้ต่อกับส่วนที่ครอบต้นข้าวเพื่อขยายความสูงของกล่องเมื่อต้นข้าว สูงกว่าส่วนที่ครอบต้นข้าว ขนาด 23 X 23 X 20 เซนติเมตร ลักษณะไม่มีฝาปิดด้านบนและล่าง ขอบบนเป็นรางน้ำป้องกันการรั่วของก๊าซ (ภาคผนวกที่ 1)

ทำการเก็บตัวอย่างก๊าซสัปดาห์ละ 1 ครั้ง ในช่วงเวลา 09.00 - 11.00 นาฬิกา นำ กระถางที่ปลูกข้าววางลงในกะละมังพลาสติก ขนาด 49 X 20.5 เซนติเมตร เติมน้ำให้ระดับน้ำอยู่ต่ำกว่าระดับน้ำในกระถางเล็กน้อย (เมื่อครอบ gas chamber ระดับน้ำในกะละมังจะอยู่ในระดับเดียวกับ ระดับน้ำในกระถาง) ครอบ gas chamber ส่วนที่ครอบต้นข้าวลงในกะละมังอย่างระมัดระวัง ไม่ กระทบน้ำให้เป็นคลื่นหรือกระเด็นเข้าไปในกระถางที่ปลูกข้าว ทำการเก็บตัวอย่างก๊าซปริมาตร 1 มิลลิลิตร โดยใช้กระบอกฉีดยา (syringe) ดูดก๊าซจากกล่องทุก 10 นาที คือ ที่เวลา 0, 10 และ 20 นาที ช่วงเวลาละ 2 เซ็น (2 ชั่วโมง) ขณะเดียวกันทำการวัดอุณหภูมิภายในและภายนอก gas chamber วัดความสูงของที่ว่างเหนือผิวน้ำ และวัดระดับความสูงของน้ำในกะละมัง

3.3.2 การเก็บสารคัดหลั่งจากรากข้าว (root exudates)

ในการวิจัยที่ 3.1.2 เมื่อถึงกำหนดตามระยะการเจริญเติบโตต่างๆของต้นข้าว 5 ระยะ ได้แก่ระยะต้นกล้า(seedling), ระยะแตกกอ(tillering), ระยะออกดอก(flowering) ระยะสุกแก่ (ripening) และระยะเก็บเกี่ยว (harvest) นำต้นข้าวออกจากกระถาง แล้วล้างรากต้นข้าวเอาดินออก อย่างระมัดระวังด้วยน้ำปราศจากประจุ (deionized water) นำต้นข้าวที่ล้างสะอาดแช่ในสารละลาย 0.01 M CaSO_4 150 มิลลิลิตร ให้รากจมอยู่ในสารละลาย (ลำต้นตั้งตรง) ปล่อยให้สารคัดหลั่งออก จากรากนาน 2 ชั่วโมง นำสารละลายที่ได้มาใส่ลงในขวดพลาสติกใสรูปทรงกระบอกขนาด 1.2 ลิตร ในรายงานนี้เรียกสารละลายนี้ว่า “สารคัดหลั่ง” หาปริมาณสารคัดหลั่งจากรากข้าวในรูปคาร์บอน อินทรีย์ (exudate carbon) โดยวิธี wet-digestion (Walkley and Black, 1934)

3.3.3 การวัดปริมาตรช่องว่าง (gas volume) ในรากและลำต้นของต้นข้าว

เมื่อถึงกำหนดตามระยะการเจริญเติบโตต่างๆของต้นข้าว นำต้นข้าวออกจาก กระถางแล้วล้างรากต้นข้าวเอาดินออกอย่างระมัดระวังด้วยน้ำปราศจากประจุ (deionized water) นำตัวอย่างรากและลำต้นของต้นข้าวมาชั่งน้ำหนักสด แยกเอารากและลำต้นส่วนหนึ่งที่รู้น้ำหนักมา ตัดให้มีขนาด 1-2 มิลลิเมตร ใส่ลงในขวดพิคโนมิเตอร์(pycnometer bottle) ขนาด 25 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นให้เต็ม แล้วนำขวดพิคโนมิเตอร์ที่ได้ไปชั่งน้ำหนัก จากนั้นนำตัวอย่างรากหรือลำ ต้นของต้นข้าวออกจากขวดพิคโนมิเตอร์แล้วบดให้ละเอียด นำตัวอย่างที่ได้จากการบดใส่กลับ ลงไปในขวดพิคโนมิเตอร์อีกครั้ง เติมน้ำกลั่นให้เต็มแล้วนำขวดพิคโนมิเตอร์ที่ได้ไปชั่งน้ำหนัก คำนวณปริมาตรช่องว่างในรากและลำต้นของต้นข้าว (Curran et al., 1996)



3.3.4 การเก็บข้อมูลต้นข้าว

เก็บข้อมูลพืช 2 ส่วนคือ ส่วนที่อยู่ใต้ดิน (ราก) วัดความยาวราก, พื้นที่ผิวของราก และปริมาตรราก โดยใช้เครื่องสแกนราก ยี่ห้อ EPSON รุ่น Perfection V700/V750 และส่วนที่อยู่เหนือดิน (ลำต้น) วัดความสูงของต้นข้าวในกระถางทุกอาทิตย์ วัดเส้นผ่านศูนย์กลางของลำต้นสดของข้าว นับจำนวนหน่อต้อกอเริ่มจากต้นข้าวอายุ 30 วันทุกอาทิตย์ หาน้ำหนักแห้งของลำต้นโดยวิธี ash-free dry weight ทั้งสองส่วนข้างต้นเก็บข้อมูลที่ระยะต้นกล้า(seedling) ระยะแตกกอ(tillering) ระยะออกดอก (flowering) ระยะสุกแก่(ripening) และระยะเก็บเกี่ยว(harvest) และปริมาตรช่องว่างในรากและลำต้นข้าวทุกระยะการเจริญเติบโต โดยวิธี pycnometer

3.4 การวิเคราะห์ตัวอย่าง

3.4.1 การวิเคราะห์ความเข้มข้นของก๊าซมีเทน

วิเคราะห์ความเข้มข้นของก๊าซมีเทนด้วยเครื่อง Gas Chromatograph (Shimadzu, GC14B) ที่ติดตั้งด้วย detector ชนิด Flame Ionization Detector (FID) ที่จุดด้วยก๊าซไฮโดรเจน (H_2) ภายในเครื่อง GC มีคอลัมน์ยาว 100 เซนติเมตร บรรจุด้วย Porapak N ขนาด 80/100 mesh ใช้ก๊าซไนโตรเจน (N_2) เป็นก๊าซนำพา(carrier gas) ความดันภายในระบบ 60 kPa อุณหภูมิคอลัมน์ 60 องศาเซลเซียส อุณหภูมิ FID 100 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิ injection port 100 องศาเซลเซียส และในการสอบเทียบ(calibration) กับก๊าซมีเทนที่ผ่านการรับรองมาตรฐาน (standard CH_4) โดยใช้ความสัมพันธ์ระหว่าง peak area กับค่าความเข้มข้น แบบ linear และทำการวิเคราะห์ตัวอย่างก๊าซภายใน 6 ชั่วโมง (Saenjan et al., 2002)

3.4.2 การวิเคราะห์ตัวอย่างดิน

รายละเอียดและวิธีการวิเคราะห์คุณสมบัติทางฟิสิกส์และเคมีของตัวอย่างดินได้แสดงไว้ในตารางที่ 3.1

ตารางที่ 3.1 วิธีการวิเคราะห์คุณสมบัติทางฟิสิกส์และเคมีของดิน

คุณสมบัติของดิน	วิธีวิเคราะห์
เนื้อดิน (ปริมาณ sand silt clay)	วิธีไฮโดรมิเตอร์ (hydrometer method)
ปฏิกิริยาดิน pH 1:5	pH meter
ค่าความนำไฟฟ้า EC 1:5	EC meter
อินทรีย์วัตถุ (organic matter)	วิธี Walkley-Black (Walkley and Black,1934)
ไนโตรเจนทั้งหมด (total nitrogen)	วิธี Kjeldahl method (Bremner,1960)
ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ (available P)	วิธี Bray II & Murphy (Bray and Kurtz,1945)
โพแทสเซียม (K), แคลเซียม (CA), แมกนีเซียม (Mg) ที่แลกเปลี่ยนได้	สกัดด้วย 1 N NH ₄ OAc pH 7 แล้ววิเคราะห์ด้วย atomic absorption spectrophotometer (AAS) (Issac and Kerber, 1971)
ความจุในการแลกเปลี่ยนประจุบวก (cation exchange capacity, CEC)	สกัดด้วย 1 N NH ₄ OAc pH 7 ในสภาพอิ่มตัวและกลั่นหาแอมโมเนียมทั้งหมด (Schollenberger and Simon, 1945)

3.4.3 การคำนวณก๊าซมีเทน

3.4.3.1 คำนวณอัตราการปล่อยก๊าซมีเทน (CH₄ emission rate) ตลอดฤดูปลูก ในหน่วยมิลลิกรัมมีเทนต่อกระถางต่อวัน (mg CH₄/ pot/ day) ใช้ค่าความชัน (slope) ซึ่งคำนวณจากการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของก๊าซมีเทนที่เก็บ ณ เวลา 0, 10 และ 20 นาที โดยใช้สมการต่อไปนี้

$$Y = aX + b \dots\dots\dots[1]$$

โดยที่ Y คือ ความเข้มข้นของก๊าซมีเทนมีหน่วยเป็น ppm, X เป็นเวลาในการเก็บตัวอย่าง มีหน่วยเป็นนาที ค่า a เป็นค่าความชัน (slope) ของสมการ ซึ่งแสดงการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นเทียบกับเวลาหรือ $\frac{dc}{dt}$ ค่าความชันที่ได้จากแต่ละตำรับทดลองควรมีค่า R² ใกล้ 0.999 มากที่สุด ความชันที่ได้นำไปคำนวณอัตราการปล่อยก๊าซมีเทน (CH₄ emission rate) ในหน่วยของ มิลลิกรัมมีเทนต่อกระถางต่อวัน (mg CH₄/ pot/ day) จากสูตรต่อไปนี้

$$E = \left[\frac{dc}{dt} \times \left[\frac{h \times MW \times T_{st}}{MV \times (T_{st} + T)} \right] \times 60 \times 24 \right] \times A \dots\dots\dots[2]$$

เมื่อ

E = อัตราการปล่อยก๊าซมีเทนมีหน่วยเป็นมิลลิกรัมต่อกระถางต่อวัน (mg CH₄/pot/ day)
 $\frac{dc}{dt}$ = ค่าความชัน (slope) หรือ ค่าการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของก๊าซมีเทน

เทียบกับเวลามีหน่วยเป็น ppm ต่อนาที

- h = ความสูงของช่องว่างในกล่องวัดก๊าซมีเทนมีหน่วยเป็นเมตร (m)
- MW = น้ำหนักโมเลกุลของก๊าซมีเทนมีค่าเท่ากับ 16.123 X 10³ มิลลิกรัม (mg)
- MV = ปริมาตรโมเลกุลของก๊าซมีเทนมีค่าเท่ากับ 2241 X 10³ ลูกบาศก์เมตร (cm³)
- T = อุณหภูมิขณะทำการเก็บตัวอย่างมีหน่วยเป็นองศาเซลเซียส (°C)
- T_{st} = อุณหภูมิมาตรฐาน 273.2 องศาเคลวิน (°K)
- A = พื้นที่หน้าตัดของกระถางใส่ที่ใช้ปลูกข้าวมีหน่วยเป็นตารางเมตร (m²)

การคำนวณปริมาณมีเทนตลอดฤดูปลูกทำได้โดยการอินทิเกรต (integrate) สมการที่ [2] จากวันที่เก็บตัวอย่างก๊าซวันแรกจนถึงวันสุดท้าย (Saenjan at al.,2002) นำเสนอเป็นเส้นกราฟค่าเฉลี่ย 4 ชั่วโมง และคำนวณช่วงความเชื่อมั่น (confidence interval) ที่ 95% โดยแสดงผลเป็นเส้นกราฟ

3.4.3.2 **คำนวณการปล่อยปลดก๊าซมีเทนทั้งหมดตลอดฤดูปลูก (total methane emission, TME)** คำนวณโดยรวมปริมาณการปล่อยก๊าซมีเทนตั้งแต่วันแรกจนถึงวันเก็บเกี่ยว โดยวิธีหาผลรวมพื้นที่ใต้กราฟ มีหน่วยเป็นมิลลิกรัมมีเทนต่อกระถาง (mg CH₄/pot)

3.4.3.3 **การคำนวณปริมาตรช่องว่าง (gas volume) ในรากและลำต้นของต้นข้าว** ใช้สูตรคำนวณของ Curran et al. (1996) ในหน่วยมิลลิลิตร(ml) โดยมีสูตรคำนวณดังต่อไปนี้

$$\text{Gas volume} = \frac{W_2 - W_1}{\text{Density of water at } 20^\circ \text{C}}$$

เมื่อ

W_1 = น้ำหนักรากหรือลำต้นของต้นข้าว (ที่ตัดให้มีขนาด 2-3 มิลลิเมตร)และน้ำกลั่นที่ใส่ลงไปในขวดพิคโนมิเตอร์มีหน่วยเป็นกรัม (g)

W_2 = น้ำหนักรากหรือลำต้นของต้นข้าว(ที่บดละเอียด)และน้ำกลั่นที่ใส่ลงไป ในขวดพิคโนมิเตอร์มีหน่วยเป็นกรัม (g)

Density of water at 20 °C = 0.997 มีหน่วยเป็นกิโลกรัมต่อลิตร (Kg /L)

3.5 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติ (analysis of variance) ของข้อมูลทุกตัวแปรตามแผนการวิจัย CRD และมีการเปรียบเทียบค่ารับการวิจัยโดยวิธี Least Significant Difference ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป MSTATC และวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปร โดยใช้วิธีสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ของเพียร์สัน (Pearson's Product – Moment Correlation Coefficient) (ศิริชัย, 2547) ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูปเอ็กเซล (Excel verion 2007)