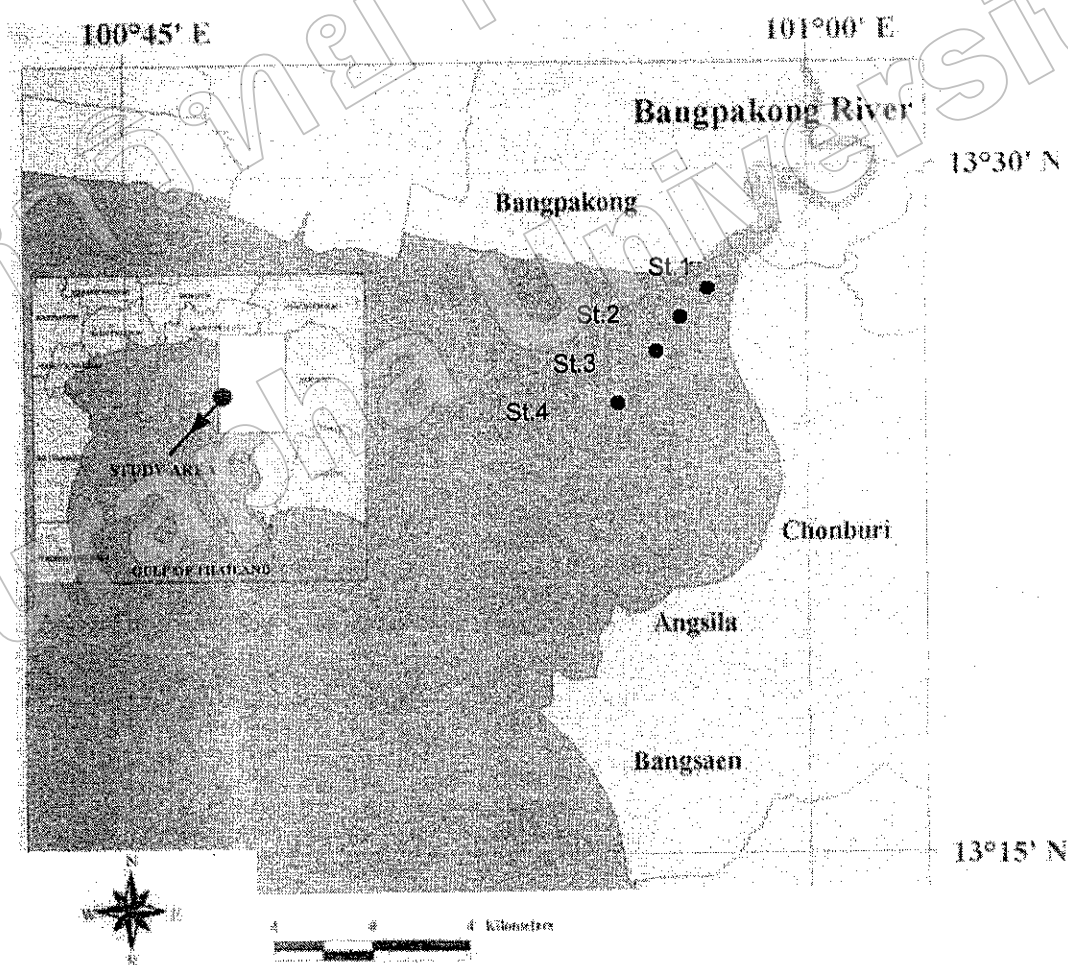


บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

พื้นที่ศึกษา

บริเวณปากแม่น้ำบางปะกงมีลักษณะภูมิอากาศแบ่งเป็น 2 ช่วง คือ ช่วงฤดูน้ำมาก ในช่วงเดือนพฤษภาคมถึงเดือนตุลาคม ซึ่งได้รับอิทธิพลจากลมมรสุมตะวันตกเฉียงใต้ และช่วงฤดูน้ำน้อย ในช่วงเดือนพฤศจิกายนถึงเดือนเมษายน ซึ่งได้รับอิทธิพลจากลมมรสุมตะวันออกเฉียงเหนือ (พิชาญ สว่างวงศ์ และคณะ, 2541) ทำการศึกษบริเวณปากแม่น้ำบางปะกง 4 สถานี ซึ่งมีจุดพักของพื้นที่ที่เก็บตัวอย่างดังนี้



ภาพที่ 3-1 จุดเก็บตัวอย่างบริเวณปากแม่น้ำบางปะกง (Pinkaew, 2003)

ตารางที่ 3-1 จุดพิกัดสถานีเก็บตัวอย่าง

สถานี	ทุ่น	ละติจูด	ลองจิจูด	ระยะห่างจากปากแม่น้ำ (กม.)
1.	9	13°27'55" N	100°57'64" E	0
2.	7	13°26'94" N	100°56'81" E	1.25
3.	5 (ประภาคาร)	13°26'25" N	100°55'54" E	2.50
4.	3 (ประภาคาร)	13°25'27" N	100°53'88" E	5.50

การเก็บตัวอย่าง

1. การเก็บตัวอย่างสัตว์หน้าดิน

การศึกษาครั้งนี้ทำการเก็บตัวอย่างเป็นประจำทุกเดือน ตั้งแต่เดือนมิถุนายน 2546 ถึงเดือนพฤษภาคม 2547 รวม 12 เดือน การเก็บตัวอย่างสัตว์หน้าดินทำโดยใช้เครื่องมือเก็บตัวอย่างดินขนาดเล็ก (15 x 15 cm. Ekman Grab) สถานีละ 5 ซ้ำ นำตัวอย่างดินที่เก็บแต่ละซ้าร่อนผ่านตะแกรง (Sieve) ขนาด 1 มิลลิเมตร และ 0.5 มิลลิเมตรตามลำดับ นำสิ่งมีชีวิตทั้งหมดที่ค้างอยู่บนตะแกรง หลังจากการร่อนลงในฟอร์มลิน 10 เปอร์เซ็นต์ และนำมาล้างเปลี่ยนเป็นแอลกอฮอล์ 75 เปอร์เซ็นต์ กลีเซอรอล 5 เปอร์เซ็นต์ เมื่อกลับเข้าฝั่ง

2. การเก็บตัวอย่างตะกอนดิน

การเก็บตัวอย่างดินโดยใช้แท่งเก็บตะกอนดิน (Corer) สถานีละ 3 ซ้ำ และตัดเก็บใส่ถุงพลาสติกมัดปากเป็นชั้น ๆ 0-0.5 เซนติเมตร 0.5-1 เซนติเมตร และ 1-5 เซนติเมตร ตามลำดับ นำถุงทั้งหมดใส่ลงในถุงซีปล็อกแยกเป็นแต่ละสถานี แล้วเก็บในถังน้ำแข็งในขณะปฏิบัติงานภาคสนาม และนำมาวิเคราะห์ต่อไปในห้องปฏิบัติการ

3. การเก็บตัวอย่างน้ำ

การเก็บตัวอย่างน้ำ ทำโดยใช้กระบอกเก็บน้ำ ทำการเก็บน้ำที่บริเวณผิวน้ำ และบริเวณพื้นท้องน้ำ สถานีละ 3 ซ้ำ ถ่ายตัวอย่างน้ำที่ได้ลงในขวดพลาสติก (Polyethylene) ขนาดความจุ 1 ลิตรเก็บรักษาขวดตัวอย่างทั้งหมดในถังน้ำแข็งในขณะปฏิบัติงานภาคสนาม และนำมาวิเคราะห์ต่อไปในห้องปฏิบัติการ

การวิเคราะห์ปัจจัยสิ่งแวดล้อม

ปัจจัยสิ่งแวดล้อมที่ตรวจวัดภาคสนาม

ทำการตรวจวัดปัจจัยต่าง ๆ ในขณะปฏิบัติการภาคสนาม โดยมีรายละเอียดของปัจจัยสิ่งแวดล้อม และเครื่องมือที่ใช้ในการตรวจวัดดังนี้

ตารางที่ 3-2 ปัจจัยสิ่งแวดล้อมที่ตรวจวัด และเครื่องมือที่ใช้วิเคราะห์

ปัจจัยสิ่งแวดล้อม	เครื่องมือวิเคราะห์
1. ความโปร่งแสง	Secchi Dish
2. ความลึกกรวม	Depth Grade
3. อุณหภูมิ	YSI 6820 Multiprobe
4. ความเค็ม	YSI 6820 Multiprobe
5. ค่าการนำไฟฟ้า	YSI 6820 Multiprobe
6. ความขุ่น	YSI 6820 Multiprobe
7. ค่าความเป็นกรด-เบส	YSI 6820 Multiprobe
8. ค่าออกซิเจนที่ละลายในน้ำ	YSI 6820 Multiprobe
9. ค่าของแข็งทั้งหมดที่ละลายในน้ำ	YSI 6820 Multiprobe

การวิเคราะห์ข้อมูลสัตว์หน้าดิน

นำตัวอย่างสัตว์หน้าดินที่ดองในแอลกอฮอล์ 75 เปอร์เซ็นต์ กลีเซอรอล 5 เปอร์เซ็นต์ มาวิเคราะห์ชนิด และนับจำนวนด้วยกล้องจุลทรรศน์ชนิดกำลังขยายต่ำ (Stereo Microscope) จนถึงระดับวงศ์ (Family) หรือระดับต่ำสุดเท่าที่สามารถแยกได้

การวิเคราะห์ข้อมูลตะกอนดิน

1. วิธีวิเคราะห์ปริมาณคลอโรฟิลล์ในดิน

1.1 ชั่งดินที่ทราบปริมาณแน่นอนใส่ในหลอดทดลองที่มีฝาปิด (Vial)
 1.2 ปิเปิด อะซิโตน 90 เปอร์เซ็นต์ มา 10 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดทดลองที่มี ฝาปิด (Vial) ที่บรรจุดินจากข้อ 1 ปิดฝาให้สนิท เขย่าโดยใช้เครื่องเขย่า (Vortex-Genie 2 Model G-560E) (ทำ Blank โดยใช้ อะซิโตน 90 เปอร์เซ็นต์ 10 มิลลิลิตร)

1.3 ใส่ในตู้เย็นที่มีด อุณหภูมิประมาณ 10 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

1.4 ถ่ายใส่หลอดทดลองขนาดเล็กปิดปากด้วยพาราฟิล์ม และนำไปปั่นเหวี่ยง (Centrifuge) ที่ 2500 รอบต่อนาที (rpm) เป็นเวลา 10 นาที

1.5 ดูดสารละลายใส่มาวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วย UV/ VIS Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น (Wavelength) 630, 645, 665 และ 750 นาโนเมตร (nm) บันทึกค่าที่ได้

1.6 คำนวณปริมาณคลอโรฟิลล์ และหาความชื้นในตะกอนดินเพื่อใช้ในการคำนวณปริมาณคลอโรฟิลล์ในดินตามวิธีของ Lorenzen's (1967 cited in Parsons et al., 1984)

2. วิธีวิเคราะห์ความชื้นในตะกอนดิน (Water Content)

2.1 พับอวลูมิเนียม ฟอยล์ ให้มีลักษณะเป็นถ้วย และชั่งน้ำหนักถ้วยอวลูมิเนียม ฟอยล์ จดบันทึกน้ำหนักที่แน่นอน (ทศนิยม 4 ตำแหน่ง)

2.2 ใส่ตะกอนดินเปียกในถ้วยอวลูมิเนียม ฟอยล์ ประมาณ 1 กรัม แล้วจดบันทึก น้ำหนักที่ได้ (ทศนิยม 4 ตำแหน่ง)

2.3 นำถ้วยอวลูมิเนียม ฟอยล์ ที่มีดินตะกอนเปียกอยู่ไปอบที่อุณหภูมิ 105-110 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

2.4 ทิ้งไว้ให้เย็นในโถสุญญากาศ แล้วชั่งน้ำหนักอีกครั้ง

2.5 คำนวณหาความชื้นของตะกอนดินตามวิธีของตามวิธีของ นิคม ละอองศิริวงศ์ และชัชวาล อินทมนตรี (2546)

3. วิธีวิเคราะห์ปริมาณสารอินทรีย์ในดินด้วยวิธีการเผา (Ignition Loss Method)

3.1 ชั่งตะกอนดินเปียกประมาณ 3-4 กรัม ใส่ลงในจานเพาะเชื้อ

3.2 นำไปอบที่อุณหภูมิ 105-110 องศาเซลเซียส นาน 12-24 ชั่วโมง (อบพร้อม ครุฑเข็ม) แล้วตั้งทิ้งไว้ให้เย็นในโถสุญญากาศ

3.3 ชั่งน้ำหนักครุฑเข็มแล้วจดบันทึกน้ำหนักที่ชั่งได้

3.4 ใส่ตะกอนดินที่อบแห้งแล้วลงในครุฑเข็มให้ได้น้ำหนักดินประมาณ 1-2 กรัม แล้วจดบันทึกน้ำหนักที่ชั่งได้

3.5 นำไปเผาในเตาเผาไฟฟ้าอุณหภูมิ 700 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง

3.6 ตั้งทิ้งไว้จนกระทั่งเย็น แล้วใส่ในโถสุญญากาศ

3.7 ชั่งน้ำหนัก บันทึกน้ำหนักที่ชั่งได้

3.8 คำนวณหาปริมาณสารอินทรีย์ตามวิธีของ นิคม ละอองศิริวงศ์ และชัชวาล อินทมนตรี (2546)

4. วิธีวิเคราะห์หาขนาดอนุภาคดินด้วยวิธี Sieve Analysis

4.1 นำตะกอนดินแห้งมาแยกเศษไม้ เศษเปลือกหอย เศษหญ้าต่าง ๆ ออก

4.2 ชั่งน้ำหนักตะกอนดินให้ละเอียดถึง 0.01 กรัม

4.3 ใช้ตะแกรง (Sieve) ขนาด 63 ไมโครเมตร ถึง 1000 ไมโครเมตร วางซ้อนกัน โดยให้ขนาดหยาบที่สุดอยู่ด้านบนสุด ปิดฝาแล้วเขย่าเป็นเวลานาน 15 นาที

4.4 ชั่งตัวอย่างตะกอนดินที่อยู่ในแต่ละตะแกรง แล้วบันทึกน้ำหนักที่ได้

4.5 คำนวณหาขนาดอนุภาคดินตามวิธีของ US Army Corps of Engineers (1970)

การวิเคราะห์ข้อมูลน้ำ

1. วิเคราะห์ปริมาณของแข็งแขวนลอยในน้ำ

1.1 เขย่าน้ำตัวอย่างให้ผสมกันดี บันทึกปริมาตรน้ำตัวอย่างที่กรองผ่านกระดาษกรอง GF/ C (ผ่านการเผาที่อุณหภูมิ 400 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4-6 ชั่วโมง แล้วนำมาใส่ในโถดูดความชื้น และชั่งน้ำหนักแห้งที่แน่นอนแล้วเก็บใส่ในซองอลูมิเนียม ฟอยล์ แยกแต่ละแผ่นก่อนนำมาใช้)

1.2 นำกระดาษกรองซึ่งมีตะกอนแขวนลอยตกค้างอยู่พับครึ่ง โดยใช้ปากคีบเก็บใส่ซอง อลูมิเนียม ฟอยล์ แล้วแช่ตู้ปรับอุณหภูมิ -40 องศาเซลเซียส เป็นเวลาไม่น้อยกว่า 24 ชั่วโมง

1.3 ทำให้แห้งด้วยวิธีแช่แข็งโดยใช้เครื่องทำแห้งเยือกแข็ง (Freeze Dryer: Heto Model LyoLab 3000) เป็นเวลาประมาณ 3-4 วัน ทำซ้ำจนน้ำหนักเปลี่ยนแปลงไม่เกิน 0.5 มิลลิกรัม

1.4 คำนวณหาปริมาณสารแขวนลอยตามวิธีของ APHA, AWWA, and WEF (1997)

2. วิเคราะห์คลอโรฟิลล์ในน้ำ

2.1 เขย่าน้ำตัวอย่างให้ผสมกันดี บันทึกปริมาตรน้ำตัวอย่างที่กรองผ่านกระดาษกรอง GF/ C ป้อนให้แห้ง

2.2 ปิเปต อะซีโตน 90 เปอร์เซ็นต์ มา 10 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดทดลองที่มีฝาปิด (Vial) ที่บรรจุกระดาษกรองจากข้อ 1 ปิดฝาให้สนิท เขย่าโดยใช้เครื่องเขย่า (Vortex-Genie 2 Model G-560E) (ทำ Blank โดยใช้ กระดาษกรอง GF/ C กรองน้ำกลั่น ใส่ใน อะซีโตน 90 เปอร์เซ็นต์ 10 มิลลิลิตร)

2.3 ใส่ในตู้เย็นที่มีด อุณหภูมิประมาณ 10 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

2.4 ถ่ายใส่หลอดทดลองขนาดเล็กปิดปากด้วยพาราฟิล์ม และนำไปปั่นเหวี่ยง (Centrifuge) ที่ 2500 รอบต่อนาที (rpm) เป็นเวลา 10 นาที

2.5 ดูดสารละลายใส่มาวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วย UV/ VIS Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น (Wavelength) 630, 645, 665 และ 750 นาโนเมตร (nm) บันทึกค่าที่ได้

2.6 คำนวณปริมาณคลอโรฟิลล์เอดาม่วิธีของ Parsons et al. (1984)

การวิเคราะห์ข้อมูล

สัตว์หน้าดิน

1. พารามิเตอร์ด้านประชากร

คำนวณความหนาแน่นของสัตว์หน้าดิน (ตัว/ ตารางเมตร) แต่ละชนิดที่ได้จากการสำรวจแต่ละครั้ง จากนั้นจึงนำมาวิเคราะห์หาค่าดัชนี Univariate Indices ได้แก่ ดัชนีความหลากหลาย

(Shannon Wiener's Diversity Index) จำนวนชนิด (Species Richness) และดัชนีความสม่ำเสมอ (Evenness Index)

2. องค์ประกอบชนิด

นำข้อมูลความชุกชุม และมวลชีวภาพของสัตว์หน้าดินมาวิเคราะห์องค์ประกอบพื้นฐาน (Principle Component Analysis: PCA) ด้วยวิธี Center Variance/ Co Variance Matrix โดยทำการ Transform ข้อมูลด้วย Power Transform ($P = 0.1$) เพื่อลดน้ำหนักของสัตว์หน้าดินกลุ่มเด่น

ความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยสิ่งแวดล้อมกับสัตว์หน้าดิน

ความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยสิ่งแวดล้อมกับ Univariate Indices โดยนำปัจจัยสิ่งแวดล้อม และสัตว์หน้าดินที่ได้จากการสำรวจแต่ละครั้งมาวิเคราะห์ความสัมพันธ์ด้วย Person Correlation

(SPSS Version 11.5)