บทที่ 2

วิธีการวิจัย

2.1 การกำหนดจุดเก็บตัวอย่าง

ในการศึกษานี้ เก็บตัวอย่างครอบคลุมพื้นที่ทะเลสาบสงขลาทั้งหมด โดยแบ่งออกเป็น 4 ส่วน ดังนี้ ทะเลน้อย ทะเลสาบตอนใน ทะเลสาบตอนกลาง และทะเลสาบตอนนอก เก็บตัวอย่างตะกอนผิวดินในช่วงเดือนตุลาคม 2546 ถึงเดือนมกราคม 2547 กำหนดจุดเก็บตัวอย่างแบบ Systematic Grid Sampling โดยแบ่งพื้นที่ศึกษาออกเป็นกริด (grid) เพื่อให้จุดเก็บตัวอย่างกระจายและครอบคลุมพื้นที่มากที่สุด (Mudroch and MacKnight, 1994) ดังนี้

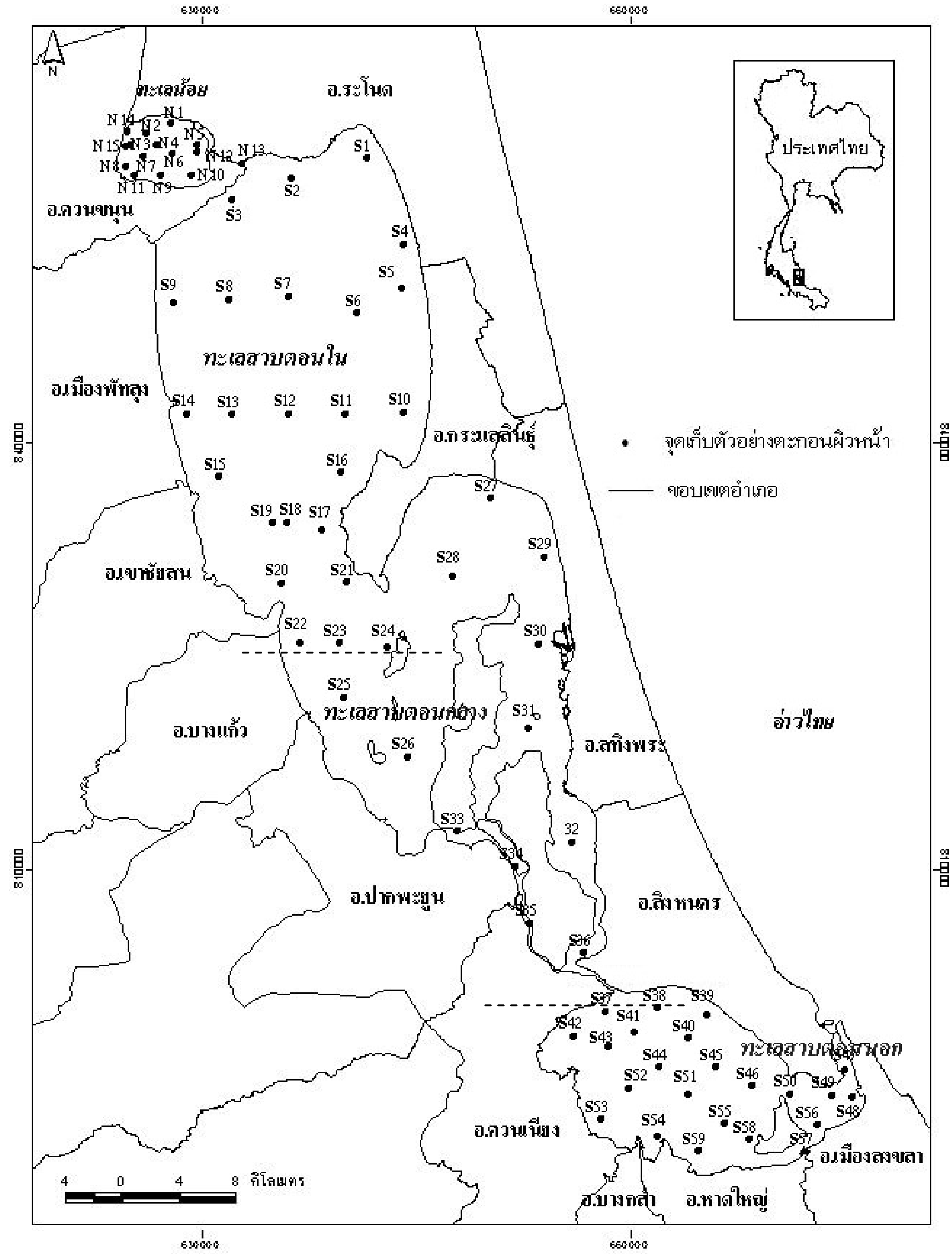
1) ทะเลน้อย แบ่งด้วย grid ขนาด 1x1 กิโลเมตร ได้ตำแหน่งเก็บตัวอย่าง 14 จุด
2) ทะเลสาบตอนในแบ่งด้วย grid ขนาด 2x4 กิโลเมตร ได้ตำแหน่งเก็บตัวอย่าง 22 จุด
3) ทะเลสาบตอนกลางแบ่งด้วย grid ขนาด 2x4 กิโลเมตร ได้ตำแหน่งเก็บตัวอย่าง 15 จุด
4) ทะเลสาบตอนนอกแบ่งด้วย grid ขนาด 1.5x1.5 กิโลเมตร ได้ตำแหน่งเก็บตัวอย่าง 23 จุด

โดยทะเลน้อยและทะเลสาบตอนนอกวาง grid ในแนวทะแยง เพื่อให้ได้ตำแหน่งจุดเก็บตัวอย่างครอบคลุมพื้นที่มากที่สุด รวมจำนวนจุดเก็บตัวอย่างทั้งสิ้น 74 จุด และการเก็บตัวอย่างได้พยายามเก็บให้ได้ตำแหน่งตามจุดที่กำหนดไว้มากที่สุด แต่ด้วยข้อจำกัดของพื้นที่ และพืชน้ำที่ปกคลุมอยู่ ทำให้จุดเก็บตัวอย่างบางจุดคลาดเคลื่อนจากจุดที่กำหนดไว้ในเบื้องต้นอยู่บ้าง ซึ่งภาพประกอบที่ 2-1 แสดงตำแหน่งที่ทำการเก็บตัวอย่างจริง ส่วนรายละเอียดพิกัดจุดเก็บตัวอย่างแสดงในตารางที่ ก-1 ในภาคผนวก ก

2.2 การเก็บและการเก็บรักษาตัวอย่าง

เก็บตัวอย่างตะกอนผิวดินด้วย Birge-Ekman grab ถ่ายลงในถาดพลาสติกที่ผ่านการแช่กรดแล้ว จากนั้นตักตะกอนจากตรงกลาง grab (เป็นส่วนที่ไม่สัมผัสกับโลหะ) ด้วยช้อนพลาสติก (ที่ผ่านการแช่กรด 10% (v/v) HNO_3 : ดูรายละเอียดวิธีการล้างทำความสะอาดในภาคผนวก ข) บรรจุลงถุงพลาสติกสะอาด ปิดผนึกให้แน่น และสวมทับด้วยถุงพลาสติกอีกชั้นหนึ่งก่อนเก็บรักษาในถังน้ำแข็ง เพื่อนำกลับมายังห้องปฏิบัติการ

เมื่อกลับถึงห้องปฏิบัติการเตรียมตัวอย่าง โดยดำเนินการในตู้ปลอดฝุ่น (laminar flow cabinet) class 100 ถ่ายตะกอนจากถุงพลาสติกลงในถาดพลาสติกที่ผ่านการแช่กรดแล้ว จากนั้นปิดผนึกด้วย plastic wrap และเก็บรักษาในตู้แช่แข็งก่อนนำไปทำให้แห้ง โดยการทำแห้งเยือกแข็ง (freeze dry) ด้วยเครื่อง lyophilizer



ภาพประกอบที่ 2-1 จุดเก็บตัวอย่างในทะเลสาบสงขลา

2.3 การเตรียมตัวอย่างและการวิเคราะห์ตะกอน

2.3.1 การเตรียมตัวอย่าง

นำตัวอย่างตะกอนที่แช่แข็ง เข้าเครื่อง lyophilizer เพื่อทำให้แห้งเยือกแข็ง การทำให้แห้งด้วยวิธีนี้ตะกอนแห้งจะมีลักษณะร่วน ไม่เกาะกันเป็นก้อน จากนั้นแบ่งตัวอย่างออกเป็น 2 ส่วน ส่วนหนึ่งไม่ต้องบด สำหรับใช้ในการวิเคราะห์หาองค์ประกอบขนาดอนุภาค (grain size) อีกส่วนหนึ่งบดด้วยโกร่งโมรา (agate mortar) จนละเอียดเพื่อนำไปใช้ในการวิเคราะห์ทางเคมีและโลหะหนักต่อไป

2.3.2 การหาองค์ประกอบของขนาดอนุภาค (grain size composition)

การหาองค์ประกอบของขนาดอนุภาคของตะกอน โดยใช้เทคนิคการร่อนเปียก (wet sieving) ผ่านตะแกรงขนาดตา 63 ไมครอน ส่วนที่ติดค้างอยู่บนตะแกรงคืออนุภาคขนาดทราย ส่วนที่ลอดตะแกรงนำไปหาสัดส่วนอนุภาคขนาดทรายแป้งและดินเหนียว โดยใช้วิธีการตกตะกอน (sedimentation) (Sompongchaiyakul, 1989) ดูรายละเอียดและวิธีการในภาคผนวก ค

2.3.3 การหาปริมาณสารอินทรีย์ที่ออกซิไดซ์ได้ง่าย

วิเคราะห์หาปริมาณสารอินทรีย์ที่ออกซิไดซ์ได้ง่าย (readily oxidisable organic matter) โดยวิธีวอลกี-แบล็ค (Walkey-Black Method) ซึ่งพัฒนาและปรับปรุงโดย Loring and Rantala (1995) รายละเอียดของสารเคมีและวิธีการแสดงในภาคผนวก ง

2.3.4 การหาปริมาณคาร์บอน ไฮโดรเจน ไนโตรเจน และซัลเฟอร์ทั้งหมด

วิเคราะห์หาปริมาณคาร์บอนทั้งหมด (Total Carbon) ไฮโดรเจนทั้งหมด (Total Hydrogen) ไนโตรเจนทั้งหมด (Total Nitrogen) และซัลเฟอร์ทั้งหมด (Total Sulfur) โดยวิธี combustion ด้วยเครื่อง PerkinElmer 2400 series II CHNS/O analyzer รายละเอียดแสดงในภาคผนวก จ (การวิเคราะห์ C,H,N และ S ทำร่วมกับงานวิจัยของ ยุทธนา บัวแก้ว (2548))

2.3.5 การวิเคราะห์หาปริมาณโลหะหนักในตะกอนและสารอ้างอิงมาตรฐาน (certified reference material)

ย่อยตะกอนและสารอ้างอิงมาตรฐาน MESS-1 ซึ่งเป็นตะกอนมาตรฐานซึ่งทราบค่าความเข้มข้นของโลหะหนัก ที่เตรียมโดย National Research Council of Canada โดยใช้วิธี Total

Digestion ด้วยกรดไฮโดรฟลูออริก (hydrofluoric acid: HF) ตามวิธีการของ Loring and Rantala (1995) รายละเอียดของสารเคมีและวิธีการย่อยตะกอนแสดงในภาคผนวก ฉ

จากนั้นวิเคราะห์หาความเข้มข้นของโลหะหนักในสารละลาย โดยวิเคราะห์ Al และ Fe ด้วยเครื่อง Flame Atomic Absorption Spectrometer (FAAS) และวิเคราะห์หาความเข้มข้นของ Cd, Cr, Cu, Mn, Pb และ Zn ด้วยเครื่อง Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometer (ICP-OES)

2.4 การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

2.4.1 วิเคราะห์ข้อมูลเบื้องต้น

วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้สถิติเบื้องต้น (descriptive statistics) โดยหาค่าเฉลี่ย (mean) ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (standard deviation) และค่ามัธยฐาน (median) ของข้อมูล

2.4.2 วิเคราะห์สถิติโดยใช้ principal components analysis (PCA)

วิเคราะห์สถิติแบบหลายตัวแปรโดยใช้ principal components analysis (รายละเอียดและหลักการอยู่ในภาคผนวก ช) วิเคราะห์องค์ประกอบพื้นฐาน เพื่อให้ทราบว่าข้อมูลมีการรวมตัวกันอย่างไร ซึ่งการศึกษาครั้งนี้เลือกใช้องค์ประกอบที่มีค่า Eigenvalue มากกว่า 2.0 โดยการวิเคราะห์ PCA ใช้โปรแกรม MINITAB 14

2.4.3 วิเคราะห์การแบ่งกลุ่มของสถานีเก็บตัวอย่างโดยใช้ cluster analysis

วิเคราะห์การแบ่งกลุ่มโดย cluster analysis (รายละเอียดและหลักการอยู่ในภาคผนวก ช) และเลือกเทคนิค Hierarchical ในการวิเคราะห์ โดยเลือกใช้ Square Euclidean distance วัดระยะห่างระหว่าง case แต่ละคู่ และเลือกใช้ Ward’s method เป็นหลักเกณฑ์ในการแบ่งกลุ่ม แล้วจากนั้นแสดงผลการแบ่งกลุ่มของสถานีด้วยกราฟ Dendogram และทำการจำแนกการแบ่งกลุ่มโดยเลือกระยะห่างของการรวมกลุ่ม = 5 โดยใช้โปรแกรม SPSS

2.5 การนำเสนอข้อมูลด้วยระบบสารสนเทศภูมิศาสตร์

นำเสนอข้อมูลการแพร่กระจายตามพื้นที่ (spatial distribution) ขององค์ประกอบขนาดอนุภาค และความเข้มข้นของตัวแปรต่างๆ ได้แก่ ปริมาณคาร์บอนอินทรีย์ คาร์บอนทั้งหมด ไฮโดรเจนทั้งหมด ไนโตรเจนทั้งหมด ซัลเฟอร์ทั้งหมด และปริมาณโลหะหนักแต่ละชนิด ด้วย

ข้อมูลภาพที่ทำขึ้นโดยวิธีการวิเคราะห์เชิงพื้นที่ (spatial analysis) ในระบบสารสนเทศภูมิศาสตร์ (geographic information system) ด้วยโปรแกรม ArcView 3.2a โดยในการวิเคราะห์ข้อมูลจะใช้ข้อมูลทั้งที่เป็นข้อมูลเชิงพื้นที่ (spatial data) และข้อมูลเชิงบรรยาย (non-spatial data หรือ attribute data) แล้วประมวลผลโดยอาศัยความสัมพันธ์ทั้งเชิงตรรกะและ/หรือชุดของสมการทางคณิตศาสตร์ จากนั้นก็นำเสนอผล โดยเน้นความสามารถในการนำเสนอบนแผนที่ ซึ่งช่วยให้เห็นความสัมพันธ์เชิงพื้นที่ชัดเจนขึ้น และสามารถนำไปใช้ประกอบการตัดสินใจได้ดีกว่าข้อมูลดิบ

2.6 วัสดุและอุปกรณ์

2.6.1 อุปกรณ์เก็บตัวอย่างในภาคสนาม

- เครื่องหาพิกัดผ่านดาวเทียม (global positioning system: GPS) ยี่ห้อ Garmin รุ่น GPS 12
- เครื่องมือเก็บตัวอย่างตะกอน (grab sampler) ชนิด Birge-Ekman ซึ่งทำด้วย stainless steel ขนาด 20 x 20 เซนติเมตร
- ถาดพลาสติกและช้อนพลาสติก
- ถุงพลาสติกและถุงซิปสำหรับเก็บตัวอย่างตะกอนดิน
- ปากกากันน้ำ
- ถังน้ำแข็ง
- เรือสำหรับเก็บตัวอย่าง

2.6.2 เครื่องมือในห้องปฏิบัติการ

- เครื่องวิเคราะห์หาปริมาณ คาร์บอน ไฮโดรเจน ไนโตรเจน ซัลเฟอร์ และออกซิเจน (CHNS/O analyzer) ผลิตภัณฑ์ Perkin Elmer รุ่น 2400 Series II
- เครื่องเฟลมอะตอมมิกแอบซอร์ปชันสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ (flame atomic absorption spectrophotometer) ผลิตภัณฑ์ Varian รุ่น Spectra 220
- เครื่องอินดัคทีฟลี คอร์ปเปิลพลาสมาออพติคัลอิมิสชั่นสเปคโตรมิเตอร์ (inductively coupled plasma optical emission spectrometer: ICP-OES) ผลิตภัณฑ์ Perkin Elmer รุ่น Optima 2000 DV
- ภาชนะอัดความดันเทฟลอน (teflon bomb) ผลิตภัณฑ์ LORRAN® International (Canada) ขนาด 20 มิลลิลิตร

- เตาอบไมโครเวฟ ผลิตภัณฑ์ Whirlpool รุ่น Pizzolo 850 W ระบบจานหมุน
- เครื่องกลั่นกรดแบบ sub-boiling ผลิตภัณฑ์ Berghof (Germany)
- หม้ออัดความดัน (microwave pressure cooker) ผลิตภัณฑ์ NordicWare® รุ่น TENDER COOKER
- โกร่งโมรา (agate mortar)
- เครื่องชั่งละเอียด 2 ตำแหน่ง (precision balance) ผลิตภัณฑ์ METTLER TOLEDO รุ่น PB3002-S
- เครื่องชั่งละเอียด 4 ตำแหน่ง (analytical balance) ผลิตภัณฑ์ METTLER TOLEDO รุ่น AB104-S
- เครื่องทำแห้งเยือกแข็ง (lyophilizer) ผลิตภัณฑ์ Dura-Stop™ (USA) รุ่น μP
- ตู้ปลอดฝุ่น (laminar flow cabinet) class 100
- กระบอกตวง (graduated cylinder) ขนาด 1000 มิลลิลิตร
- ขวดรูปชมพู่ (erlenmeyer flask หรือ conical flask) ขนาด 500 มิลลิลิตร
- ขวดปรับปริมาตร (volumetric flask) ขนาด 100 มิลลิลิตร
- บิวเรต (buret)
- ไมโครปิเปต (micro pipet)
- ดิจิตอลออโตบิวเรต (digital auto buret)
- ออโตเมติกปิเปต (automatic pipet)