

บทที่ 2

อุปกรณ์และวิธีการวิจัย



1. การเก็บตัวอย่างคิน

เก็บตัวอย่างคินโดยใช้เครื่องตักคินแบบบีเตอร์ เสน (Petersen grab) เก็บตัวอย่างคินเพื่อการวิเคราะห์ประมาณ 1 กิโลกรัม ใส่ถุงพลาสติกแซ็งไว้

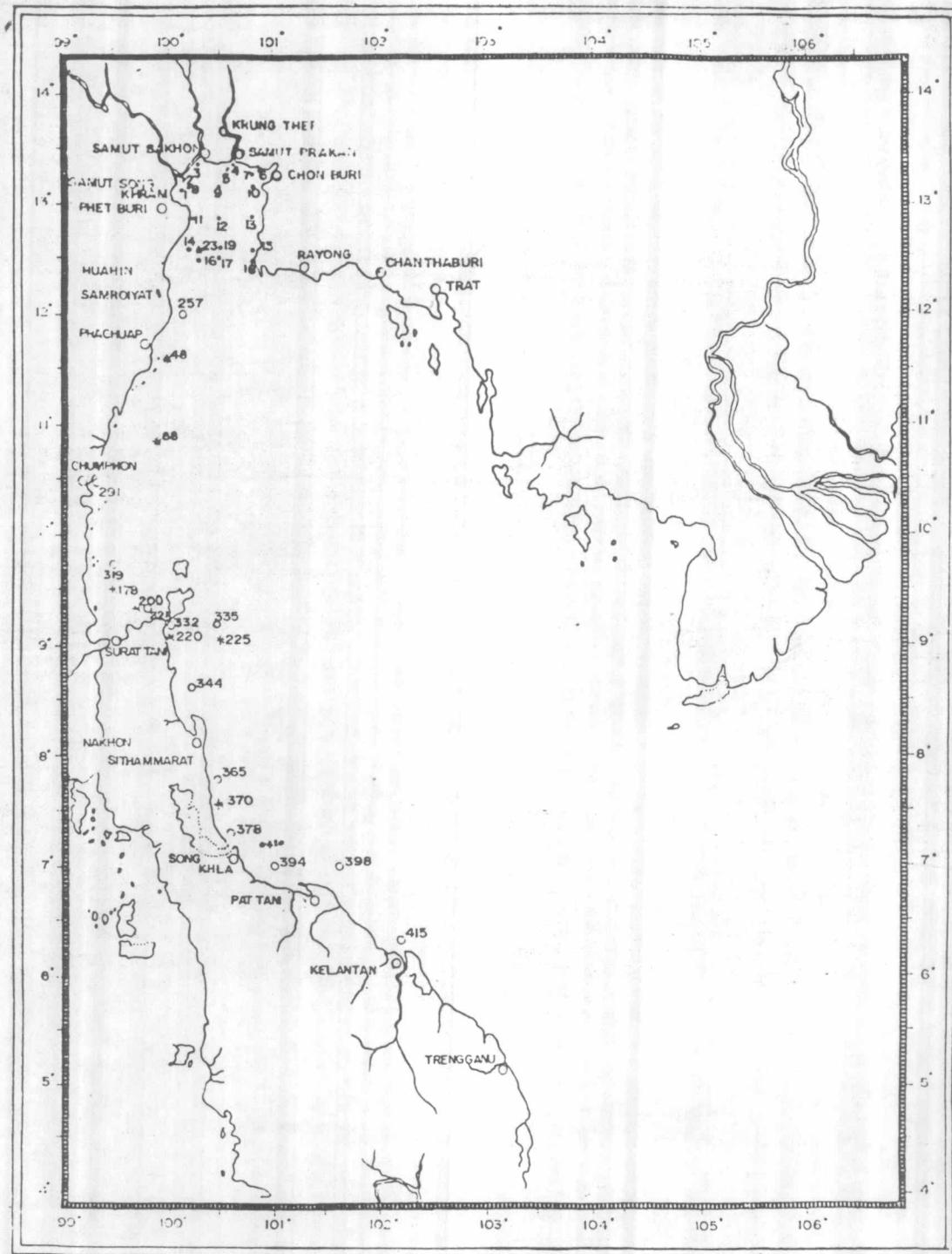
2. การกำหนดสถานี

เก็บตัวอย่างคินในอ่าวไทยแบ่งเป็น 2 ตอน คือ อ่าวไทยตอนบนและตอนล่าง ตามโครงการวิจัยคุณภาพน้ำและคุณภาพทรัพยากรสิ่งมีชีวิตในน่านน้ำไทย โดยเรือประมง 1 กั้งภาพที่ 2 โดยมีรายละเอียดดังต่อไปนี้

2.1 อ่าวไทยตอนบน 19 สถานี (สถานีที่ 1 – 19) สำรวจเก็บตัวอย่าง 2 ครั้ง ระหว่างวันที่ 6 – 10 มิถุนายน ซึ่งเป็นช่วงฤดูกาลฝน และวันที่ 4 – 8 กันยายน พ.ศ. 2523 ซึ่งเป็นช่วงปลายฤดูฝน

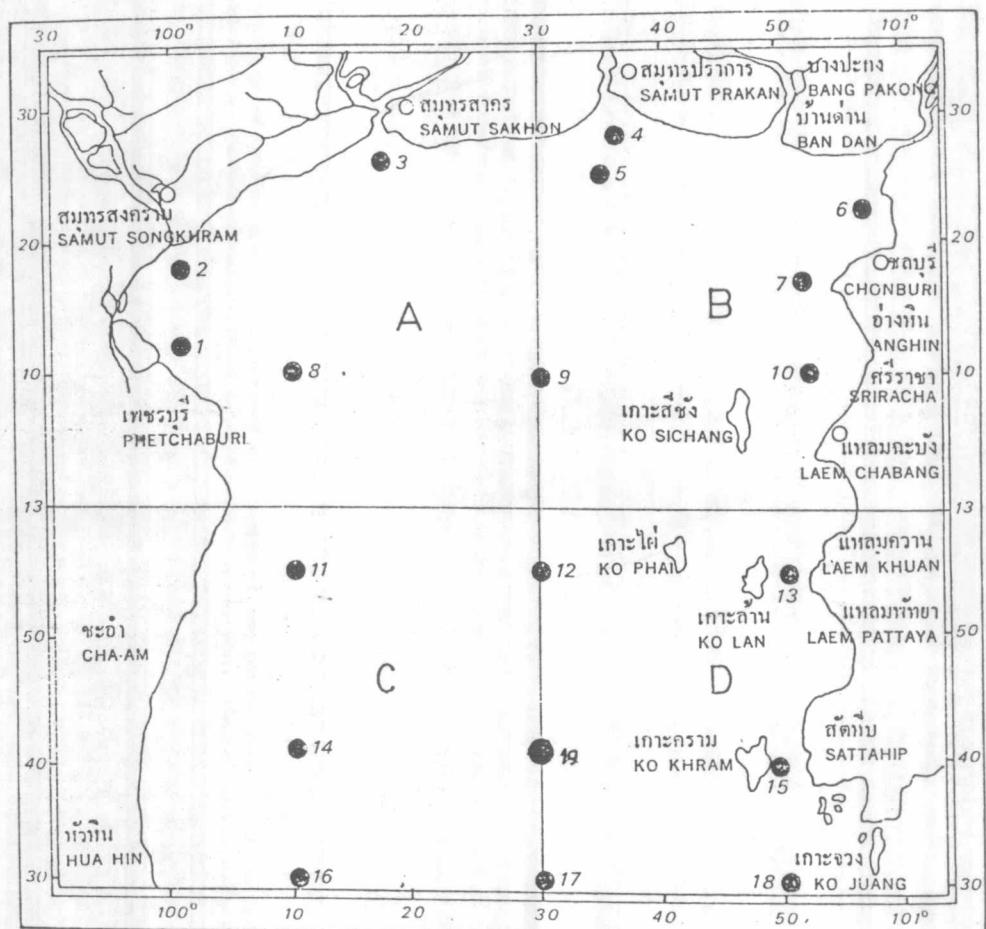
อ่าวไทยตอนบนแบ่งเป็น 2 ส่วน คือ บริเวณปากแม่น้ำ (estuarine area คือบริเวณ A + B ตั้งแต่สถานีที่ 1 – 10 รวม 10 สถานี) และบริเวณห่างฝั่งออกไป (off-shore area คือบริเวณ C + D ตั้งแต่สถานีที่ 11 – 19 รวม 9 สถานี) ตามภาพที่ 3

2.2 อ่าวไทยตอนล่างชุกที่ 1 จำนวน 9 สถานี (สถานีที่ 23, 48, 88, 178, 200, 220, 225, 370 และ 420) สำรวจเก็บตัวอย่าง 1 ครั้ง ตามโครงการวิจัยคุณภาพน้ำและคุณภาพทรัพยากรสิ่งมีชีวิตในน่านน้ำไทย ระหว่างวันที่ 9 – 30 กันยายน พ.ศ. 2523



ภาพที่ 2 แผนที่เก็บค้าอย่างกินทะกอนในอ่าวไทย

- ศึกษาดูที่เก็บกินทะกอนในอ่าวไทยตอนบน ตามโครงการวิจัย คุณภาพน้ำและคุณภาพทรัพยากรสิ่งมีชีวิตในนานน้ำไทย
- * ศึกษาดูที่เก็บกินทะกอนในอ่าวไทยตอนล่าง ตามโครงการวิจัย คุณภาพน้ำและคุณภาพทรัพยากรสิ่งมีชีวิตในนานน้ำไทย
- ศึกษาดูที่เก็บกินทะกอนในอ่าวไทยตอนล่าง ตามแผนการสำรวจ ของกรมอุทยานฯ กองทัพเรือ



ภาพที่ 3 การแบ่งเขตระหว่างบริเวณปากแม่น้ำ (บริเวณ A และ B) กับบริเวณที่น้ำมีความถ่วงต่ำกว่า (C และ D)

2.3 อ่าวไทยตอนล่างชุกที่ 2 จำนวน 12 สถานี (สถานีที่ 257, 291, 319, 325, 332, 335, 344, 365, 378, 394, 398 และ 415) สำรวจเก็บตัวอย่าง 1 ครั้ง ตามแผนการสำรวจของกรมอุทยานฯ กองทัพเรือ ระหว่างเดือนกรกฎาคมถึงเดือนลิงหาคม พ.ศ. 2523 โดยเรือ อศ.2 สถานีที่เก็บตัวอย่างกินตะกอนในอ่าวไทยตอนล่างเป็นบริเวณชายฝั่งทะเลทั้งหมด

ตารางที่ 1 จำนวนตัวอย่างกินทั้งหมดที่เก็บมาวิเคราะห์หาปริมาณรวมของสารอินทรีย์และความชุรุวัมของชัลไฟค์

สถานี	จำนวนสถานี	
	คันดูผ่าน	ปลายดูผ่าน
อ่าวไทยตอนบน	19	19
อ่าวไทยตอนล่างชุกที่ 1	-	9
อ่าวไทยตอนล่างชุกที่ 2	12 สถานีตั้งแต่ เดือนกรกฎาคม – ลิงหาคม	

004240

3. การวิเคราะห์ปริมาณรวมของสารอินทรีย์และความชุรุวัมของชัลไฟค์

3.1 การวิเคราะห์ปริมาณรวมของสารอินทรีย์ในกินตะกอน

เนื่องจากในการศึกษาระยะนี้ใช้เครื่องตักกินแบบปีเตอร์สัน (Petersen grab) ตักน้ำสถานีที่มีลักษณะ เป็นคืนโคลนเหลว เมื่อใช้เครื่องมือตักกินตักส่วนมากจะได้เป็นน้ำโคลนขึ้นมา โดยเฉพาะกินตะกอนที่เป็นทรายอาจถูกน้ำซึ่งล้างเอาสารอินทรีย์ออกไปได้ง่าย ตักน้ำอาจแก้ปัญหาโดยใช้เครื่องมือเก็บกินชนิดทองเจาะ (core)

สำหรับการวิเคราะห์ปริมาณรวมของสารอินทรีย์ในครั้งนี้ใช้วิธีการเผาไหม้ (Ignition loss) ตามวิธีของ Cox (1976) ซึ่งอุณหภูมิที่ใช้สูงพอที่จะไถกรอบอเนกและนำทั่วไปอยู่กับแร่ที่รวมตัวกับอนุภาค粘土 (clay minerals) ออกໄก้ ดังนั้นคินตะกอนที่มีสารเหล่านี้รวมอยู่ควรจะจึงไม่เหมาะสมที่จะใช้วิธีนี้ แต่อย่างไรก็ตามวิธีนี้เป็นวิธีที่ง่ายและยอมรับกันในการศึกษาเกี่ยวกับนิเวศนวิทยา

- 3.1.1 เครื่องมือ เบ้าเผาทำด้วยกระเบื้องเคลือบ (glazed porcelain crucible)
คีมคีบ (tongs)
โอลดูคและความชื้น (desicator)

- 3.1.2 การเตรียมคิน นำคินมาผึ่งให้แห้งในที่ร่มประมาณ 2 – 3 วัน จึงนำมาใช้อกให้ละ เอี้ยด เก็บเบล็อกหอย ก้อนหินทาง ๆ ทึ่ง

3.1.3 วิธีวิเคราะห์ปริมาณรวมของสารอินทรีย์

อบเบาเผา (glazed porcelain crucible)

ให้แห้งที่ 105 °ช. ปล่อยให้เย็นในโอลดูคและความชื้น (desicator) จึงนำมาชั่งให้ได้ น้ำหนักคงที่ เดินคินที่เตรียมไว้ลงไปประมาณ 10 – 20 กรัม และนำไปอบให้แห้งที่ 105 °ช. เป็นเวลา 1 วัน ปล่อยให้เย็นแล้วนำมาชั่งให้ได้ น้ำหนักคงที่ (จากน้ำหนักคินที่อบให้แห้งที่ 105 °ช. = a กรัม) นำเบ้าเผาร้อนทั้งคินไปเผาในเตาอบ (muffle furnace) ที่ 700 °ช. เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ใช้คีมคีบอกรมาจากเตา ปล่อยให้เย็น จึงนำมาชั่ง (จากน้ำหนักคินที่ 700 °ช. = b กรัม) คำนวณปริมาณรวมของสารอินทรีย์ จากสูตร

$$\text{เปอร์เซนต์สารอินทรีย์รวม} = \frac{a - b}{a} \times 100$$

เมื่อ a คือ น้ำหนักกินที่อบให้แห้งแล้วที่ 105°ช.

b คือ น้ำหนักกินที่เผาที่ 700°ช.

3.2 การวิเคราะห์ปริมาณความชื้นของชัลไฟฟ์ในกินตะกอน

โดยวิธีของ Bella & Williamson (1975)

3.2.1 เครื่องมือ ประกอบด้วย

- เครื่องเขย่า (Mechanical shaker)

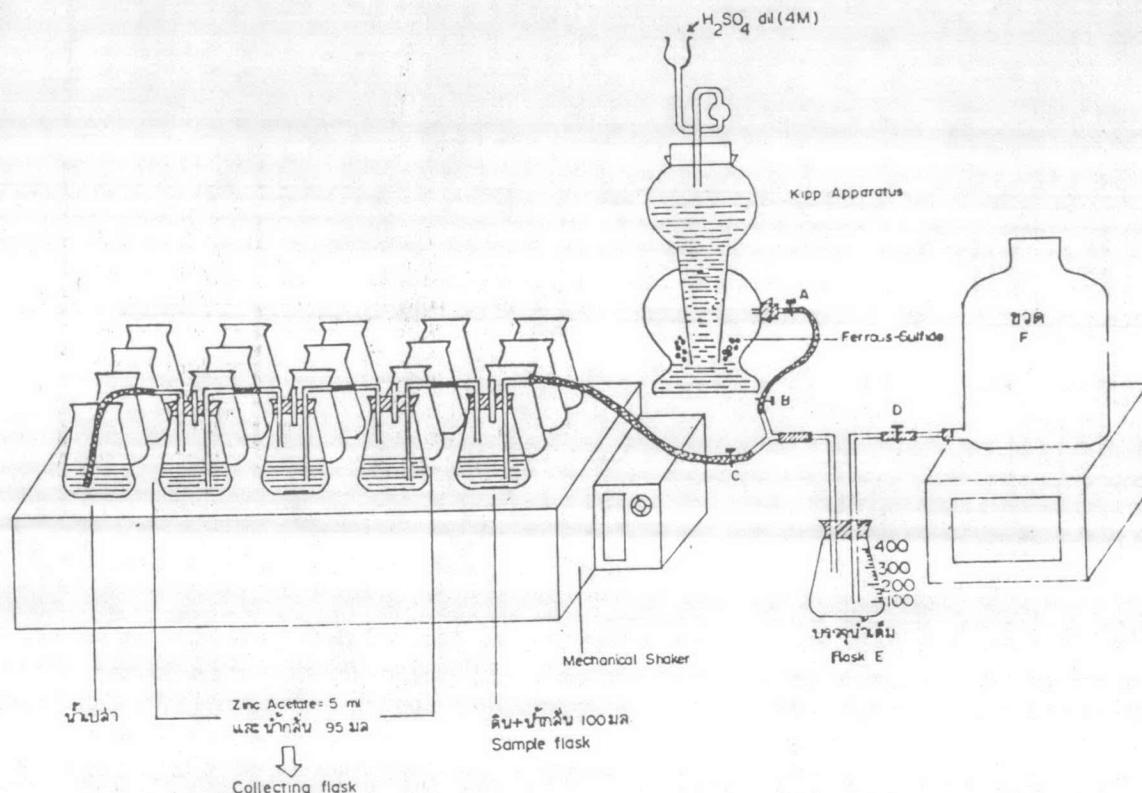
- ขวดทดลองแบบ (Sample flask) 1 ใบ,

ขวดก้นแบบที่ใช้เก็บกักปริมาณชัลไฟฟ์ (Collecting flask) 2 ใบ ชนิดปากกว้าง (wide-mouthed Erlenmeyer flask) ขนาด 250 มล. มีจุลยางซึ่งมีหลอดคน้ำ กาก 3 อันเล็บอยู่ คือหอน้ำกากเข้ารูมอยู่ใต้ผิวของช่องเหลว หอน้ำกากอันกลางสำหรับเติมสารเคมีและหอน้ำกากออกตามสภาพที่ 4

- เครื่องมือเตรียมกากแบบคิปป์ (Kipp Apparatus)

ซึ่งใช้เตรียมกากไฮโกร เจนชัลไฟฟ์

- เครื่องมือเก็บกากไฮโกร เจนชัลไฟฟ์ ผู้เชี่ยวชาญได้ออกแบบ เครื่องมืออย่างง่าย ๆ และประยุกต์ในการเก็บกาก โดยใช้หลักที่ว่าความกันของกากจะไปแนบทัน្ហ ซึ่งต้องคงเครื่องมือตามสภาพที่ 4 ที่แสดงไว้คือ บรรจุน้ำในขวดก้นแบบ E. (Flask E) ให้เต็ม ส่วนของ F บรรจุน้ำนิ่มน้อยพอให้รวมรูหัวที่หอน้ำกากแล็บอยู่ เมื่อจะเตรียมกากให้เป็นกุาวาที่ A, B, D. ปิกกุาวาที่ C กากที่เกิดขึ้นจะไปตกน้ำในขวดก้นแบบ E. ในไปอยู่ในขวด F จนหมด ขณะนี้จะได้กากไฮโกร เจนชัลไฟฟ์ที่ไม่มีสีเติมขวดก้นแบบ E. เมื่อต้องการนำกากไปใช้ให้เป็นกุาวาที่ C, D ปิกกุาวาที่ A, B ซึ่งนำจากขวด F จะหลุดเข้ามาแทนที่กากในขวดก้นแบบ E ด้วยปริมาตรเท่ากัน เมื่อไม่ต้องการใช้กากในปิกกุาวาทุกอัน เตรียมกากไฮโกร เจนชัลไฟฟ์ใน



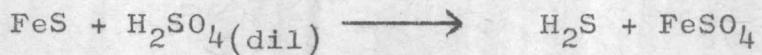
A,B,C,D คือ วาปิค เปิด

FLASK E บรรจุน้ำไดเมิม

ขวด F เป็นขวดเเปิด ซึ่งบรรจุน้ำหน่อยให้ท่วมรูที่มีห่อหน้า ก้ามเมียบอยู่

ภาพที่ 4 เครื่องมือวิเคราะห์ปริมาณความชุรวมของชัตไฟ์ในคินทะกอน
ซึ่งก็แปลงจากวิธีของ Bella and Williamson, 1975

เครื่องมือเตรียมการซับบีป์ จากปฏิริยาของเพอร์ซัลไฟค์และการคัดฟูริกเข้มข้น 4 ไมลาร์ ตามปฏิริยาดังนี้



เมื่อเตรียมการซับบีเปาน ฯ สารละลายกรคัดฟูริกจะอิมตัวควบเพอร์ซัลไฟค์ (FeSO_4) จึงไม่มีการออกมา ดังนั้นทองเปลี่ยนกรคัดฟูริกใหม่

3.2.2 สารเคมีที่ใช้ ประกอบด้วยสารเคมีชนิด Analytical grade ทั้งสี่

Iodine, Potassium iodide, Arsenious oxide, Potassium iodate, Sodium thiosulphate, Zinc acetate, Sodium carbonate, Sodium bicarbonate, Soluble starch, Zinc chloride, Sulphuric acid, Hydrochloric acid และ Sodium hydroxide. นอกจากนี้ Lead acetate paper. วิธีเตรียมสารเคมีตาม Vogel (1961)

3.2.3 วิธีวิเคราะห์ความชุ่มของชัลไฟค์

เติมน้ำกลัน 100 มล. ในขวดทดลองกันแบบ ส่วนในขวดกันแบบที่ใช้เก็บปริมาณชัลไฟค์แต่ละใบให้เติม 2N. ของ zinc acetate จำนวน 5 มล. และน้ำกลัน 95 มล. มีขวดกันแบบ (flask) อีกใบหนึ่งใส่น้ำไว้เพื่อเก็บกากที่เหลือ วางต่อจากขวดกันแบบที่ใช้เก็บปริมาณชัลไฟค์ใบลูกทราย ต่อขวดกันแบบทั้ง 4 เชือดกัน โดยใช้สายยาง (Tygon tubing) แทสำหรับขวดทดลองกันแบบนี้ใช้เข็มฉีด (Syringe needle) ต่อเข้ากับท่อน้ำกากที่เข้าและออกเพื่อจะไถถอกขวดทดลองกันแบบออกจากชุดหักห้อง (train) ໄก่ง่าย เมื่อต่อขวดทดลองกันแบบทั้ง 4 เชือด ควรกันแตรผ่านกากในโถเรนเช่าไปประมาณ 10 นาที จึงถอดขวดทดลองกันแบบออกมา

เติมคินที่แข็งไว้ลงไปประมาณ 10 – 20 กรัม ปิกัดยางไว้ให้สนิท ผ่านกระชไอ-ไก่ เจนซัลไฟค์บปริมาณ 150 มล. เข้าในขวดทดลองกันแบบทางตอนนำกากษาเข้า ส่วนตอนนำกากษาออกต่อเข้ากับส่ายยางและเข้มฉีดความลำดับ ขณะผ่านกากษาไก่ไก่ เจนซัลไฟค์ ให้เขย่าวนเครื่องเขยาประมาณ 1 ชั่วโมง จึงผ่านกากษาในไตรเจนเข้าไปได้กากษาไก่-ไก่ เจนซัลไฟค์ส่วนที่เหลือจนหมด ชิ้นทดสอบไก่ cavity กระดาษ酇อชีเตต (Lead acetate paper) จะไม่เกิดลักษณะอีกต่อไป จึงต้องขวดทดลองกันแบบเข้ากับขวดกันแบบที่ใช้เก็บกักปริมาณซัลไฟค์ให้ครบถ้วนที่ทดลองแล้วผ่านกากษาในไตรเจนเข้าไปอีกและเขย่า cavity ประมาณ 10 นาที จึงหยุดเขยาและหยุดผ่านกากษาในไตรเจน เติมกรดซัลฟูริกเข้มข้น 10 มล. ลงในขวดทดลองกันแบบ เขยาและผ่านในไตรเจนเข้าไปอีกประมาณชั่วโมงครึ่ง จะเกิดตะกอนลักษณะของซิงค์ซัลไฟค์ (Zinc sulfide) ในขวดกันแบบที่ใช้เก็บกักปริมาณซัลไฟค์ทั้งสอง จึงหยุดผ่านในไตรเจน เติมสารละลายน้ำทรูนของไอโอดีนเข้มข้น 0.100 N. ให้มากเกินพอ คือ เกิดสารละลายสีน้ำตาลแดง (yellow-brown) ในขวดกันแบบที่ใช้เก็บกักซัลไฟค์ทั้งสองขวด และเขย่า cavity เพื่อเร่งปฏิกิริยาจะเกิดตะกอนลักษณะของกำมะถัน จากนั้นเติมกรดเกลือเข้มข้นลงไปประมาณ 2 – 3 มล. รวมขวดกันแบบที่ใช้เก็บกักปริมาณซัลไฟค์ทั้งสองขวดเข้า cavity กันในขวดกันแบบขนาด 500 มล. นำไปใต้เครหกับสารละลายน้ำทรูนของโซเดียมไฮโซัลเฟต (Sodium thiosulphate) เข้มข้น 0.025 นอร์มอลโดยใช้น้ำมันเป็น indicator คำนวณปริมาณซัลไฟค์ตามสูตรดังนี้

$$\text{มิลลิกรัมซัลไฟค์ต่อคิน} = \left[v_1 - \frac{v_2 N_2}{N_1} \right] [N_1] [16] / \begin{cases} \text{น้ำหนักเป็นกรัม} \\ \text{ของคินเป็นกิโลกรัม} \end{cases}$$

เมื่อ v_1 และ N_1 คือจำนวนมิลลิลิตรและนอร์มอลของสารละลายน้ำทรูนไอโอดีน
ตามลำดับ

v_2 และ N_2 คือจำนวนมิลลิลิตรและนอร์มอลของสารละลายน้ำทรูนโซเดียมไฮโซัลเฟต ตามลำดับ

4. การวิเคราะห์ทางสถิติ

4.1 การวิเคราะห์ANOVA (Analysis of Variance)

เพื่อทดสอบความแตกต่างระหว่างถูกทดลองและระหว่างส่วนนีของปริมาณรวมของสารอินทรีย์และความชุรุวของชั้ลไฟค์ในคินจากอาวไทยคอนบันทั้ง 2 ดูโดยตั้งสมมุติฐานว่า

$$H_0 : \mu_1 = \mu_2$$

$$F = \frac{\text{Mean square of samples means}}{\text{Mean square of individual}}$$

นำค่า F ที่คำนวณได้ เปรียบเทียบกับค่า F จากตารางที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

4.2 การวิเคราะห์ Student's t-test

เพื่อทดสอบความแตกต่างของปริมาณรวมของสารอินทรีย์และความชุรุวของชั้ลไฟค์ใน

4.2.1 อารวัยไทยคอนบันบริเวณปากแม่น้ำและบริเวณโกลฟังออกไปในคันถูกฝน

4.2.2 อารวัยไทยคอนบันบริเวณปากแม่น้ำและบริเวณโกลฟังออกไปในปลายถูกฝน

4.2.3 อารวัยไทยคอนบันในช่วงปลายถูกฝนกับอารวัยไทยคอนกลางชุกที่ 1

$$\text{โดยสมมุติฐานว่า } H_0 : \sigma_1^2 = \sigma_2^2$$

เมื่อ σ_1^2, σ_2^2 คือ ค่าความแปรปรวนของกลุ่มตัวอย่างที่ 1, 2 ตามลำดับ

ถ้าสรุปว่ายอมรับ H_0 ให้คำนวณค่า t ตามสูตรดังใบนี้

$$t = \frac{(\bar{x}_1 - \bar{x}_2)}{\text{sp} \sqrt{\frac{1/n_1 + 1/n_2}{}}}$$

เมื่อ $\text{sp} = \sqrt{\frac{(n_1 - 1)s_1^2 + (n_2 - 1)s_2^2}{n_1 + n_2 - 2}}$

ถ้าสรุปว่าไม่ยอมรับ H_0 คำนวณค่า t ตามสูตรดังใบนี้

$$t = \frac{\bar{x}_1 - \bar{x}_2}{\sqrt{\frac{s_1^2/n_1 + s_2^2/n_2}{}}} \quad \text{ที่ } df = \frac{(s_1^2/n_1 + s_2^2/n_2)^2}{(s_1^2/n_1)^2 \cdot \frac{1}{n_1-1} + (s_2^2/n_2)^2 \cdot \frac{1}{n_2-1}}$$

เมื่อ \bar{x} = ปริมาณเฉลี่ยของสารในแต่ละกลุ่มตัวอย่าง

n = จำนวนตัวอย่างในแต่ละกลุ่ม