



โครงการ
การเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์

ชื่อโครงการ

การจำแนกประเภทและการหาความเข้มข้นของคาร์บอนอินทรีย์ละลายใน
แม่น้ำปราณบุรีโดยใช้วิธีฟลูออเรสเซนส์และวิธีออกซิเดชันที่อุณหภูมิสูง
Characterization and quantification of dissolved organic carbon in
Pranburi River via fluorescence and high-temperature oxidation
techniques

ชื่อนิสิต

นายวราสีญจ บัญธนาพิบูลย์

เลขประจำตัวนิสิต 6032827723

ภาควิชา

วิทยาศาสตร์ทางทะเล

ปีการศึกษา

2563

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

การจำแนกประเภทและการหาความเข้มข้นของคาร์บอนอินทรีย์ละลายในแม่น้ำปราณบุรี
โดยใช้วิธีฟลูออเรสเซนส์และวิธีออกซิเดชันที่อุณหภูมิสูง

วราสัญญา บุญธนาพิบูลย์

โครงการการเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล
คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Characterization and quantification of dissolved organic carbon in Pranburi River
via fluorescence and high-temperature oxidation techniques

Warasyn Boontanapibul

A Senior Project in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Bachelor of Science in Marine Science
Department of Marine Science, Faculty of Science, Chulalongkorn University
Academic Year 2020

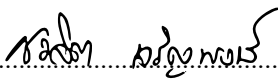
หัวข้อโครงการ การจำแนกประเภทและการหาความเข้มข้นของคาร์บอนอินทรีย์ละลายใน
แม่น้ำปราณบุรีโดยใช้วิธีฟลูออเรสเซนส์และวิธีออกซิเดชันที่อุณหภูมิสูง
โดย นายวราสีญจ์ บุญธนาพิบูลย์
ภาควิชา วิทยาศาสตร์ทางทะเล คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการหลัก อาจารย์ ดร.ชวลิต เจริญพงษ์
อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการร่วม ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.เพ็ญใจ สมพงษ์ชัยกุล

ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้สนับสนุนโครงการ
ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาบัณฑิต ในรายวิชา 2309499 โครงการวิทยาศาสตร์



..... หัวหน้าภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล
(ศาสตราจารย์ ดร. วรณพ วิทยาญจน์)

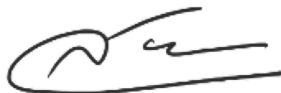
คณะกรรมการสอบโครงการ



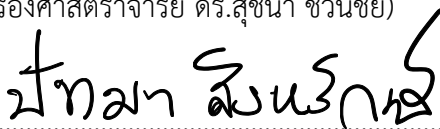
..... อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการหลัก
(อาจารย์ ดร.ชวลิต เจริญพงษ์)



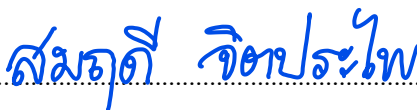
..... อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการร่วม
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.เพ็ญใจ สมพงษ์ชัยกุล)



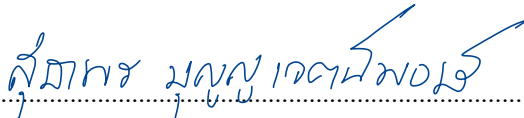
..... กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร.สุชานา ชวนิชย์)



..... กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปัทมา สิงห์รักษ์)



..... กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สมฤดี จิตประไพ)



..... กรรมการ
(อาจารย์ ดร.สุธาพร บุญญเจตน์พงษ์)

Project Title Characterization and quantification of dissolved organic carbon in Pranburi River via fluorescence and high-temperature oxidation techniques

By Warasyn Boontanapibul

Field of study Marine Science

Advisor Chawalit Charoenpong, Ph.D.

Co-advisor Assistant Professor Penjai Sompongchaiyakul, Ph.D.

Accepted by the Department of Marine Science, Faculty of Science, Chulalongkorn University in Partial Fulfillment of the Requirement for the Bachelor's Degree.




..... Head of Marine Science Department
(Prof. Voranop Viyakarn, Ph.D.)

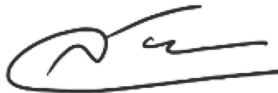
PROJECT COMMITTEE



..... Project Advisor
(Chawalit Charoenpong, Ph.D.)



..... Co-advisor
(Asst. Prof. Penjai Sompongchaiyakul, Ph.D.)



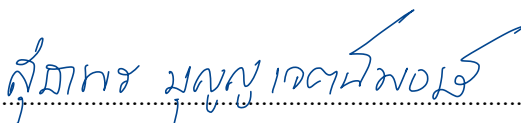
..... Member
(Assoc. Prof. Suchana Chavanich, Ph.D.)



..... Member
(Asst. Prof. Patama Singhruck, Ph.D.)



..... Member
(Asst. Prof. Somrudee Jitpraphai, Ph.D.)



..... Member
(Sutaporn Bunyajetpong, Ph.D.)

ชื่อโครงการ	การจำแนกประเภทและการหาความเข้มข้นของคาร์บอนอินทรีย์ละลายในแม่น้ำปราณบุรีโดยใช้วิธีฟลูออเรสเซนส์และวิธีออกซิเดชันที่อุณหภูมิสูง
ชื่อนิสิต	นายวราสัญญ์ บุญธนาพิบูลย์
อาจารย์ที่ปรึกษา	อาจารย์ ดร.ชวลิต เจริญพงษ์
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.เพ็ญใจ สมพงษ์ชัยกุล
ปีการศึกษา	2563
ภาควิชา	วิทยาศาสตร์ทางทะเล คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทคัดย่อ

ประเภทและความเข้มข้นของคาร์บอนอินทรีย์ละลายในแหล่งน้ำธรรมชาติสามารถบ่งบอกได้ถึงแหล่งที่มาและคุณภาพของน้ำ โดยในการศึกษานี้ทำการเก็บตัวอย่างน้ำจากต้นน้ำจนถึงปากแม่น้ำปราณบุรี จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ เป็นระยะเวลา 4 เดือน ตั้งแต่เดือนพฤศจิกายน-ธันวาคม 2563 และเดือนกุมภาพันธ์-มีนาคม 2564 โดยวิเคราะห์จำแนกประเภทของสารอินทรีย์ละลายด้วยวิธีการ fluorescence excitation-emission matrix (EEM) spectroscopy และ parallel factor (PARAFAC) analysis ในขณะที่วิเคราะห์ความเข้มข้นของคาร์บอนอินทรีย์ละลายด้วยวิธี high-temperature catalytic oxidation (HTCO) ผลการศึกษาพบสารอินทรีย์ละลายจำนวน 4 ประเภท คือ marine humic-like (C1), humic acid-like (C2), fulvic acid-like (C3), protein-like (tryptophan และ tyrosine) (C4) ซึ่งประเภทของของสารอินทรีย์ละลายที่พบนั้นเปลี่ยนแปลงไปตามพื้นที่ที่แม่น้ำไหลผ่าน โดยพบ humic acid-like และ fulvic acid-like มากบริเวณพื้นที่ป่าไม้และเกษตรกรรม พบ protein-like จากน้ำเสียที่ระบายจากชุมชน และพบ marine humic-like มากที่ปากแม่น้ำและชายฝั่งทะเล นอกจากนี้ยังพบว่าแนวโน้มความเข้มข้นของคาร์บอนอินทรีย์ละลายมีค่าอยู่ในระดับปานกลางที่ต้นน้ำ จากนั้นเพิ่มสูงขึ้นเมื่อไหลผ่านพื้นที่ป่าไม้และเกษตรกรรม และมีค่าเพิ่มสูงขึ้นมากจากการระบายน้ำเสียออกจากชุมชนลงสู่แม่น้ำ สุดท้ายมีค่าลดต่ำลงบริเวณปากแม่น้ำจากการถูกเจือจางด้วยน้ำทะเลที่มีความเข้มข้นคาร์บอนอินทรีย์ละลาย จากผลการศึกษาสามารถสรุปได้ว่าพื้นที่ที่มีการใช้งานแตกต่างกันส่งผลต่อประเภทและความเข้มข้นของคาร์บอนอินทรีย์ละลายที่พบในแม่น้ำปราณบุรี

คำสำคัญ: การออกซิเดชันด้วยอุณหภูมิสูง คาร์บอนอินทรีย์ละลาย แม่น้ำปราณบุรี fluorescence excitation-emission matrix (EEM) spectroscopy parallel factor analysis (PARAFAC)

Project Title	Characterization and quantification of dissolved organic carbon in Pranburi River via fluorescence and high-temperature oxidation techniques
Name	Warasyn Boontanapibul
Advisor	Chawalit Charoenpong, Ph.D.
Co-advisor	Assistant Professor Penjai Sompongchaiyakul, Ph.D.
Academic Year	2020
Department	Marine Science, Faculty of Science, Chulalongkorn University

Abstract

Dissolved organic carbon (DOC) concentration in aquatic environment is one of water quality parameter and DOC types can be used to determine DOC sources. In this study, water samples were collected from Pranburi River, Prachuap Khiri Khan Province, for the duration of 4 months (November - December 2020 and February – March 2021). Fluorescence excitation-emission matrix (EEM) spectroscopy and parallel factor (PARAFAC) analysis were used to distinguish different fractions of DOC while DOC concentrations were analyzed using high-temperature catalytic oxidation (HTCO) technique. Four different types of DOC were discerned from the samples: marine humic-like (C1), humic acid-like (C2), fulvic acid-like (C3), protein-like (tryptophan and tyrosine) (C4). Considering different land use along the river, we were able to associate certain DOC types to different stretches of the waterway. In the upstream and forest areas, DOC was predominantly humic acid-like and fulvic acid-like. In the estuary and the coastal area, marine humic-like DOC was found to be most abundant. However, household wastewater samples were almost entirely made up of protein-like DOC. The DOC concentrations were of moderate values at upstream end and increases in values as the river flows through forest areas and densely populated residential areas. Ultimately, as the river near its mouth and flows out into the sea, DOC decreases again because of the dilution with DOC-poor seawater. Overall, it can be concluded that the different land use affects the types and DOC found in the Pranburi River.

Keywords: dissolved organic carbon, DOC, fluorescence excitation-emission spectroscopy, EEM, parallel factor analysis, PARAFAC, Pranburi River

กิตติกรรมประกาศ

โครงการการเรียนการสอนเพื่อนเสริมประสบการณ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดีด้วยความช่วยเหลือจากคณาจารย์และบุคคลหลายฝ่าย ขอขอบพระคุณอาจารย์ที่ปรึกษา อาจารย์ ดร.ชวลิต เจริญพงษ์ และอาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.เพ็ญใจ สมพงษ์ชัยกุล เป็นอย่างสูงที่กรุณาให้คำปรึกษา คำแนะนำในการทำการทดลอง ตลอดจนช่วยตรวจสอบแก้ไขข้อบกพร่องต่าง ๆ ด้วยความเอาใจใส่ ทำให้โครงการการเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์ฉบับนี้เสร็จสมบูรณ์

ขอขอบคุณนางสาวกุลศรัณย์ ประจุมูล และนางสาวสุนิดา ปานเพชร ที่คอยให้ความช่วยเหลือ ให้คำปรึกษา คำแนะนำที่มีประโยชน์ ทั้งในด้านการวิเคราะห์ตัวอย่างภายในห้องปฏิบัติการ การออกภาคสนาม เพื่อเก็บตัวอย่าง และการให้ข้อมูลความรู้ต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้องกับการดำเนินโครงการในครั้งนี้

ขอขอบพระคุณพระคุณอาจารย์ เพื่อน ๆ พี่ ๆ น้อง ๆ ทุกคนที่คอยช่วยเหลือในการออกภาคสนามไปเก็บตัวอย่างด้วยกันทุกเดือน แม้จะต้องทนอดหลับอดนอน ทนแดดทนฝน ผักผ่อนไม่เป็นเวลา และถนนหนทางในพื้นที่ศึกษาจะยากลำบากเพียงใด ทุกคนก็พร้อมที่จะทุ่มเทแรงกายแรงใจเพื่อช่วยให้การเก็บตัวอย่างในทุกเดือนสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอขอบคุณพระผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุริย์พันธ์ สาระมูล ที่คอยช่วยเหลือ ให้คำแนะนำในการจัดการข้อมูล และเขียนช่วยโค้ดในโปรแกรม MATLAB ซึ่งเป็นส่วนที่มีความสำคัญอย่างมากต่อโครงการนี้

ขอขอบคุณทุนอุดหนุนโครงการการเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์จากคณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่สนับสนุนทุนทรัพย์ในการจัดทำโครงการ

ขอขอบคุณครอบครัว เพื่อน ๆ พี่ ๆ และน้อง ๆ ทั้งภายในและภายนอกภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล ที่คอยให้คำแนะนำ ให้ความช่วยเหลือ และคอยเป็นกำลังใจให้กับผู้จัดทำตั้งแต่เริ่มจนจบโครงการ สุดท้ายนี้ขอขอบคุณตัวเองในความอดทน ความพยายาม และความตั้งใจในการดำเนินโครงการ ครั้งนี้ให้ประสบความสำเร็จไปได้ด้วยดี

วราสีญช์ บุญธนาพิบูลย์

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ	ก
Abstract.....	ข
กิตติกรรมประกาศ	ค
สารบัญ.....	ง
สารบัญรูป	ฉ
สารบัญตาราง.....	ช
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความเป็นมาและมูลเหตุจูงใจในการศึกษา.....	1
1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการ.....	2
1.3 ขอบเขตการศึกษา	2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	2
บทที่ 2 ทฤษฎีและการศึกษาที่เกี่ยวข้อง	3
2.1 สารอินทรีย์ละลาย	3
2.2 คาร์บอนอินทรีย์ละลาย	3
2.3 การวิเคราะห์คาร์บอนอินทรีย์ละลายด้วยวิธีฟลูออเรสเซนส์	4
2.3.1 Fluorescence excitation-emission matrix (EEM) spectroscopy.....	4
2.3.2 PARAFAC	5
2.4 การวิเคราะห์คาร์บอนอินทรีย์ละลายด้วยวิธีออกซิเดชัน	6
2.5 แม่น้ำปราณบุรี.....	6
2.5 การศึกษาที่เกี่ยวข้อง.....	7
บทที่ 3 วิธีการศึกษา.....	8
3.1 พื้นที่ศึกษา	8
3.2 วิธีการเตรียมอุปกรณ์.....	8
3.3 วิธีการเก็บตัวอย่าง.....	8

3.4 วิธีการวิเคราะห์ตัวอย่าง.....	9
3.4.1 วิธีฟลูออเรสเซนส์.....	9
3.4.2 วิธีออกซิเดชันด้วยอุณหภูมิสูง	10
บทที่ 4 ผลการศึกษา และวิจารณ์ผล.....	11
4.1 ผลการวิเคราะห์ประเภทของคาร์บอนอินทรีย์ละลาย.....	11
4.2 ผลการวิเคราะห์ความเข้มข้นของคาร์บอนอินทรีย์ละลาย	14
บทที่ 5 สรุปผลศึกษาและข้อเสนอแนะ	15
5.1 สรุปผลการศึกษา	15
5.2 ข้อเสนอแนะ	15
เอกสารอ้างอิง	16
ภาคผนวก	18
ภาคผนวก ก. สถานีเก็บตัวอย่าง	19
ภาคผนวก ข. ตัวอย่าง EEM.....	20
ภาคผนวก ค. ความเข้มข้นของคาร์บอนอินทรีย์ละลาย	23

สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
2.1 วัฏจักรคาร์บอนในพื้นที่ชุ่มน้ำ.....	3
2.2 ตัวอย่าง EEM.....	4
2.3 ตัวอย่างชุดข้อมูล EEM ที่ถูกจัดเรียงโดยโครงสร้างสามทาง และย่อยออกมาได้ 5 องค์ประกอบ.....	5
3.1 พื้นที่ศึกษา.....	8
4.1 สารอินทรีย์ 4 ประเภท ที่พบจากการวิเคราะห์ PARAFAC.....	11
4.2 ความเข้มข้นของคาร์บอนอินทรีย์ละลายในแม่น้ำปราณบุรี.....	13
5.3 เปรียบเทียบความเข้มข้นของคาร์บอนอินทรีย์ละลายในแม่น้ำปราณบุรี.....	14
ข.1 ตัวอย่าง EEM ที่มีพีคตรงกับ C1 (marine humic-like).....	20
ข.2 ตัวอย่าง EEM ที่มีพีคตรงกับ C2 (humic acid-like) และ C3 (fulvic acid-like).....	21
ข.3 ตัวอย่าง EEM ที่มีพีคตรงกับ C4 (protein-like).....	22

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
4.1	คุณลักษณะของสารอินทรีย์ที่พบจากการวิเคราะห์ PARAFAC..... 12
ก.1	สถานีเก็บตัวอย่างและพิกัดที่ศึกษา..... 19
ค.1	ความเข้มข้นของคาร์บอนอินทรีย์ละลาย (DOC) ทุกเดือน..... 23

บทที่ 1 บทนำ

1.1 ความเป็นมาและมูลเหตุจูงใจในการศึกษา

สิ่งมีชีวิตทุกชนิดมีธาตุคาร์บอน (carbon) เป็นองค์ประกอบหลักในรูปของคาร์บอนอินทรีย์ โดยพืชสามารถสร้างอาหารเองได้จากการเปลี่ยนคาร์บอนอินทรีย์ในรูปคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) ให้เป็นคาร์บอนอินทรีย์ผ่านกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสง (photosynthesis) ซึ่งคาร์บอนอินทรีย์นั้นเป็นแหล่งอาหารให้สิ่งมีชีวิตลำดับถัดไปในสายใยอาหาร โดยคาร์บอนอินทรีย์ในมหาสมุทรนั้น ส่วนหนึ่งถูกสร้างขึ้นในมหาสมุทรเอง และอีกส่วนหนึ่งถูกพัดพามาจากแผ่นดินผ่านการไหลของแม่น้ำ

คาร์บอนอินทรีย์ละลาย (dissolved organic carbon, DOC) เป็นหนึ่งในแหล่งกักเก็บคาร์บอนที่มีปริมาณมากที่สุดในมหาสมุทร มีบทบาทสำคัญในวัฏจักรคาร์บอนของโลก เนื่องจากคาร์บอนที่อยู่ในรูปของ DOC ในมหาสมุทรมีปริมาณใกล้เคียงกับคาร์บอนในบรรยากาศ การกระจายตัวของ DOC มีอิทธิพลอย่างมากต่อสภาพภูมิอากาศโลก (Shah et al., 2018) ในแต่ละปีแม่น้ำจะพา DOC จากแผ่นดินลงสู่มหาสมุทรประมาณ 0.25×10^{15} กรัมคาร์บอน (Hedges et al., 1997)

การวิเคราะห์ความเข้มข้นของ DOC ที่นิยมใช้กันอย่างแพร่หลาย คือ วิธีออกซิเดชันที่อุณหภูมิสูง (high-temperature oxidation) ซึ่งวิเคราะห์ได้เพียงความเข้มข้นรวมของ DOC แต่ไม่สามารถบอกได้ว่าพบ DOC ประเภทใดบ้าง หากต้องการระบุประเภทและความเข้มข้นของ DOC จะต้องใช้แมสสเปกโทรเมตรี (mass spectrometry) ซึ่งสามารถวิเคราะห์ได้ละเอียดถึงระดับโมเลกุล แต่ต้องใช้ทักษะในการวิเคราะห์สูง รวมถึงอุปกรณ์ที่มีราคาแพงมาก โดยมีอีกหนึ่งวิธีที่สามารถแยกประเภทของ DOC ได้ ใช้ต้นทุนในการวิเคราะห์ที่ต่ำ และมีขั้นตอนการวิเคราะห์ที่ไม่ซับซ้อน คือ วิธีฟลูออเรสเซนส์

วิธีการ fluorescence excitation-emission matrix (EEM) spectroscopy เป็นหนึ่งในวิธีการทางด้านฟลูออเรสเซนส์ ในการวิเคราะห์สารประกอบคาร์บอนอินทรีย์ที่สามารถเรืองแสงได้ จะได้กราฟสามมิติเรียกว่า excitation-emission matrix (EEM) ของสารละลายออกมา และนำผลที่ได้ไปทำการวิเคราะห์ปัจจัยแบบขนาน หรือ Parallel factor analysis (PARAFAC) ช่วยให้เราสามารถจำแนกลักษณะของ DOC ได้อย่างรวดเร็ว และละเอียดอ่อน (Yu et al., 2015) ซึ่งการวิเคราะห์ DOC ในแหล่งน้ำธรรมชาติด้วยวิธีฟลูออเรสเซนส์ ยังมีการศึกษาวิจัยน้อยมากในประเทศไทย

จึงนำมาสู่งานวิจัยครั้งนี้ที่ต้องการศึกษาประเภทและความเข้มข้นของคาร์บอนอินทรีย์ละลายในช่วงเวลาและพื้นที่ที่มีการใช้งานแตกต่างกัน เพื่อใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการติดตามตรวจสอบคุณภาพน้ำในแม่น้ำปราณบุรีต่อไป

1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการ

1. เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของคาร์บอนอินทรีย์ละลายจากต้นน้ำจนถึงปากแม่น้ำปราณบุรี
2. เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงประเภทของคาร์บอนอินทรีย์ละลายจากต้นน้ำจนถึงปากแม่น้ำปราณบุรี
3. เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงทั้งเชิงปริมาณและเชิงคุณภาพของคาร์บอนอินทรีย์ละลายตามรายเดือน

1.3 ขอบเขตการศึกษา

เก็บตัวอย่างน้ำที่แม่น้ำปราณบุรี จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ จากต้นน้ำถึงปากแม่น้ำ จำนวนทั้งสิ้น 22 สถานี เดือนละ 1 ครั้ง เป็นเวลา 4 เดือน (พฤศจิกายน - ธันวาคม 2563 และ กุมภาพันธ์ - มีนาคม 2564)

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

- ก. ในด้านความรู้และประสบการณ์ต่อตัวนิสิตเอง
 1. เข้าใจวิธีการและหลักการวิเคราะห์ความเข้มข้นของคาร์บอนอินทรีย์ละลาย
 2. เข้าใจกระบวนการทางชีวธรณีเคมีในทะเล
- ข. ความรู้ ความเข้าใจที่นำไปสู่การแก้ไขปัญหาของสังคมหรือสภาพแวดล้อม,
 1. ได้ข้อมูลความเข้มข้นคาร์บอนอินทรีย์ละลาย เพื่อติดตามคุณภาพน้ำในแม่น้ำปราณบุรี จังหวัดประจวบคีรีขันธ์
 2. ทราบลักษณะของคาร์บอนอินทรีย์ละลายที่พบในแต่ละช่วงของแม่น้ำปราณบุรี อันจะเป็นข้อมูลในการติดตามมลพิษในน้ำได้

บทที่ 2 ทฤษฎีและการศึกษาที่เกี่ยวข้อง

2.1 สารอินทรีย์ละลาย

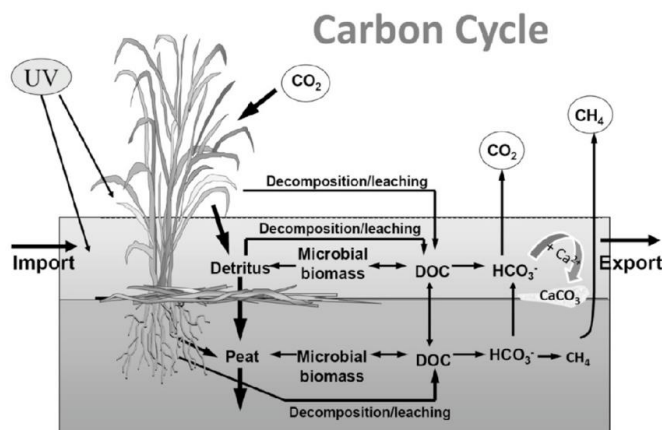
สารอินทรีย์ที่ละลายน้ำ (dissolved organic matter, DOM) เป็นโมเลกุลที่ประกอบด้วยอะตอมของธาตุหลายชนิด เช่น ไฮโดรเจน (H) ออกซิเจน (O) ไนโตรเจน (N) ฟอสฟอรัส (P) ซัลเฟอร์ (S) โดยมีคาร์บอน (C) เป็นแกนกลาง มีรูปแบบโครงสร้างโมเลกุลมากมายนับไม่ถ้วน ถูกสร้างจากสิ่งมีชีวิตผ่านกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสง ซึ่งเปลี่ยนคาร์บอนอนินทรีย์ละลาย (dissolved inorganic carbon, DIC) ให้เป็นสารอินทรีย์ (Hansell, 2014)

DOM ในแหล่งน้ำธรรมชาติมีบทบาทมากมายต่อระบบนิเวศ โดยเป็นทั้งสารตั้งต้นและแหล่งพลังงานให้สิ่งมีชีวิตในน้ำ นอกจากนี้ยังสามารถทำปฏิกิริยากับสารประกอบที่เกิดจากมนุษย์ที่ส่งผลต่อความเป็นไปของสารในระบบนิเวศ ซึ่ง DOM เป็นสารเนื้อผสม (heterogeneous) มีสารที่เป็นองค์ประกอบอยู่หลายประเภท สารแต่ละชนิดก็จะมีการทำปฏิกิริยากับสารอื่นที่ต่างกัน (Minor et al., 2014)

2.2 คาร์บอนอินทรีย์ละลาย

คาร์บอนอินทรีย์ที่ละลาย (dissolved organic carbon, DOC) เป็นส่วนหนึ่งของ DOM และจัดว่าเป็นโมเลกุลสารอินทรีย์ที่สามารถผ่านกระดาศกรองขนาด 0.45 ไมโครเมตร ได้ โดยปกติจะแล้ว DOC เป็นคาร์บอนรูปแบบหลักที่อยู่ในดินและในแม่น้ำ DOC มีบทบาทสำคัญในการขนส่งคาร์บอนผ่านระหว่างแหล่งน้ำต่าง ๆ ในระบบนิเวศ และสำคัญที่สุดคือการขนส่งจากพื้นป่าสู่แร่ธาตุในดิน ปริมาณการหมุนเวียนของ DOC ภายในระบบนิเวศโดยทั่วไปมีค่าสูงกว่าปริมาณของการสูญเสีย DOC สุทธิลงไปใต้น้ำบาดาลหรือบริเวณผิวน้ำ โดยทั่วไปความเข้มข้นของ DOC ในน้ำฝนมีปริมาณที่ต่ำมาก แต่จะเพิ่มขึ้นเมื่อน้ำไหลผ่านพื้นดิน

ปริมาณ DOC ที่ไหลลงแม่น้ำจะเพิ่มขึ้นตามสัดส่วนที่เพิ่มขึ้นของพื้นที่ชุ่มน้ำ โดยเฉพาะอย่างยิ่งกับพื้นที่ชุ่มน้ำที่มีสารอินทรีย์หรือพื้นที่ป่าพรุ DOC ที่พบในป่าพรุมีปริมาณมากถึง 4-8 % ของผลผลิตขั้นต้นสุทธิในป่าต่อปี ปริมาณของ DOC จากแหล่งชุ่มน้ำโดยทั่วไปอยู่ในช่วง 2^{-10} กรัมต่อตารางเมตรต่อปี ในพื้นที่ที่มีดินชุ่มน้ำน้อย DOC จะถูกพัดพาออกไปน้อยกว่าเมื่อเทียบกับแหล่งกักเก็บคาร์บอนอื่น ๆ ในพื้นที่ที่มีความชื้นน้อย ปริมาณของสารคาร์บอนที่มีขนาดใหญ่จะถูกชะออกมามากกว่าปริมาณของ DOC (Kolka et al. 2008)



รูปที่ 2.1 วัฏจักรคาร์บอนในพื้นที่ชุ่มน้ำ (Chamber et al, 2015)

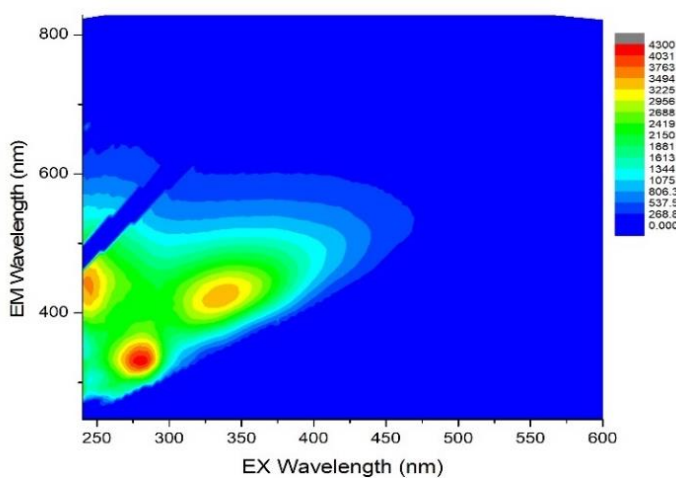
DOC เป็นหนึ่งในแหล่งกักเก็บคาร์บอนที่มีปริมาณมากที่สุดในโลก โดยมีบทบาทสำคัญในวัฏจักรชีวธรณีเคมีของโลก และช่วยขับเคลื่อนคาร์บอนจากบรรยากาศลงสู่แหล่งน้ำผ่าน biological pump เนื่องจากคาร์บอนที่อยู่ในรูปของ DOC ในมหาสมุทรปริมาณใกล้เคียงกับคาร์บอนในบรรยากาศ การกระจายตัวของ DOC มีอิทธิพลอย่างมากต่อสภาพภูมิอากาศโลก (Shah, 2018) ในแต่ละปีแม่น้ำจะพา DOC จากแผ่นดินลงสู่มหาสมุทรประมาณ 0.25×10^{15} กรัมคาร์บอน (Hedges et al., 1997) ทั้งนี้ DOC สามารถแบ่งตามอายุของคาร์บอนกัมมันตรังสี (radiocarbon ages) ได้เป็น 5 ประเภท คือ labile (~0.001 ปี) semi-labile (~1.5 ปี) semi-refractory (~20 ปี) refractory (~16,000 ปี) และ ultra-refractory (~40,000 ปี) (Hansell, 2013) โดยแบ่งเป็น 2 ประเภทหลัก คือ labile DOC มีอายุสั้น สิ่งมีชีวิตสามารถนำไปใช้งานได้ง่าย ถูกเปลี่ยนกลับไปเป็น CO₂ อย่างรวดเร็วจากการหายใจของจุลชีพ พบได้มากบริเวณผิวน้ำ ส่วน refractory DOC มีอายุยืนยาวสามารถพบได้ในทั้งมวลน้ำ เป็นแหล่งกักเก็บคาร์บอนระยะยาว (Libes, 2011)

2.3 การวิเคราะห์คาร์บอนอินทรีย์ละลายด้วยวิธีฟลูออเรสเซนส์

Fluorescence spectroscopy คือ วิธีการตรวจวัดความเข้มแสง (intensity) ของสารที่มีคุณสมบัติฟลูออเรสเซนส์ โดยเมื่อสารถูกลำแสงโฟตอนเข้าไปกระตุ้นโมเลกุลทำให้อิเล็กตรอนขึ้นไปสู่สถานะถูกกระตุ้น (excited state) และจะเปล่งแสงคลายพลังงานออกมาเมื่อกลับสู่สภาวะปกติ (steady state) ที่ความยาวคลื่นที่ต่างกัน

2.3.1 Fluorescence excitation-emission matrix (EEM) spectroscopy

Excitation-emission matrix (EEM) คือ ข้อมูลขนาดใหญ่ที่ประกอบด้วยความเข้มแสง (intensity) ความยาวคลื่นแสงที่กระตุ้น (excitation wavelength) และความยาวคลื่นแสงที่สารปล่อยออกมา (emission wavelength) ของสารที่มีคุณสมบัติฟลูออเรสเซนส์ แสดงผลในรูปแบบกราฟคอนทัวร์ (Horiba, 2021)



รูปที่ 2.2 ตัวอย่าง EEM

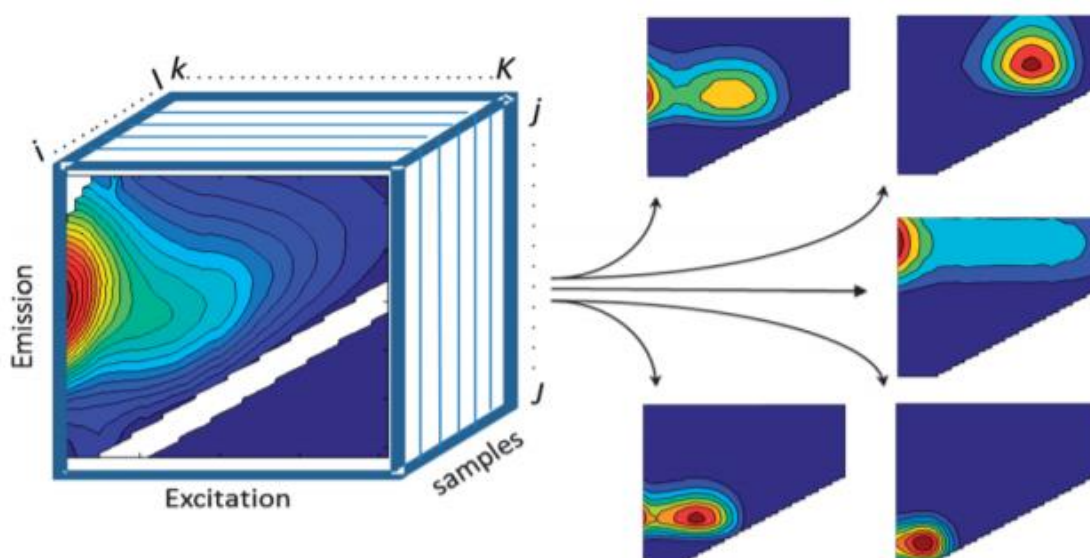
2.3.2 PARAFAC

Parallel factor analysis (PARAFAC) คือ การวิเคราะห์ปัจจัยแบบคู่ขนาน ใช้ในการย่อยข้อมูลจำนวนมากให้เห็นสัญญาณขององค์ประกอบสำคัญที่ซ่อนอยู่ภายใต้ข้อมูลทั้งหมด โดยสร้างแบบจำลองขององค์ประกอบแต่ละตัวขึ้นมา ซึ่งสามารถบอกชนิดและปริมาณได้

PARAFAC จัดเป็นหนึ่งในวิธีการวิเคราะห์ข้อมูลหลายทาง (multi-way method) สามารถใช้ในการวิเคราะห์ข้อมูลได้ตั้งแต่ 3 ทางขึ้นไป จะถูกจัดเรียงให้เป็น 3 ลำดับแถวหรือมากกว่า (three- or higher-order arrays) และเหลือความต่างระหว่างข้อมูลที่วัดได้จริงกับแบบจำลอง (residue) ไว้ ปัจจุบันส่วนมากนิยมใช้ในการวิเคราะห์ชุดข้อมูล fluorescence EEMs

$$x_{ijk} = \sum_{f=1}^F a_{if} b_{jf} c_{kf} + e_{ijk} \quad (1)$$

จากสมการที่ 1 x_{ijk} คือ ข้อมูลที่ i ที่มีตัวแปรที่ j และที่ k ในขณะที่ e_{ijk} คือ เศษเหลือของข้อมูลที่ไม่ถูกนำไปสร้างแบบจำลอง โดย i j และ k แสดงถึงตัวอย่าง excitation และ emission modes ดังรูปที่ 2.3 ซึ่งในแต่ละ แสดงถึงองค์ประกอบ PARAFAC และในแต่ละองค์ประกอบจะมี I a-values หนึ่งค่าต่อหนึ่งตัวอย่าง และในแต่ละองค์ประกอบจะมี J b-values หนึ่งค่าต่อหนึ่ง emission wavelength เช่นเดียวกับ K c-values ก็จะมีหนึ่งค่าต่อหนึ่ง excitation wavelength (Murphy et al., 2013)



รูปที่ 2.3 ตัวอย่างชุดข้อมูล EEM ที่ถูกจัดเรียงโดยโครงสร้างสามทาง และย่อยออกมาได้ 5 องค์ประกอบ

2.4 การวิเคราะห์คาร์บอนอินทรีย์ละลายด้วยวิธีออกซิเดชัน

High-temperature catalytic oxidation (HTCO) เป็นวิธีการที่ใช้ในการวิเคราะห์คาร์บอนอินทรีย์ละลายรวม (total organic carbon, TOC) ด้วยเครื่อง TOC analyzer โดยเครื่องจะดูดสารตัวอย่างเข้าไปแล้วผสมกับกรดฟอสฟอริก (H_3PO_4) เพื่อออกซิเดชันตัวอย่าง โดยมีแพลทินัม (Pt) เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา แล้วเผาที่อุณหภูมิสูงโดยเป็นการเผาไหม้แบบสมบูรณ์ เนื่องจากมีการผ่านแก๊สออกซิเจนเข้าไปในระบบ เพื่อเปลี่ยนคาร์บอนอินทรีย์ให้เป็นคาร์บอนอนินทรีย์ (inorganic carbon) ในรูปของแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) และตรวจวัด CO_2 ด้วย non-dispersive infrared (NDIR) sensor

2.5 แม่น้ำปราณบุรี

แม่น้ำปราณบุรีเป็นแม่น้ำสาขาที่ตั้งอยู่ในลุ่มน้ำชายฝั่งทะเลจังหวัดประจวบคีรีขันธ์ มีพื้นที่ลุ่มน้ำประมาณ 2,991.10 ตารางกิโลเมตร มีแหล่งกำเนิดจากเทือกเขาตะนาวศรี จังหวัดเพชรบุรี จากนั้นไหลลงทิศใต้เข้าสู่จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ผ่านอำเภอบ้านลาด และไหลออกสู่ทะเลอ่าวไทยที่ตำบลปากน้ำปราณ อำเภอบ้านลาด จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ มีความยาวตลอดสายทั้งสิ้นประมาณ 189 กิโลเมตร มี แม่น้ำปราณบุรีมีการบริหารจัดการผ่านเขื่อนปราณบุรี โดยแม่น้ำหลังเขื่อนมีความอุดมสมบูรณ์ของป่าไม้ เป็นพื้นที่อนุรักษ์ทางการทหาร และเป็นพื้นที่การเกษตร บริเวณตอนกลางของแม่น้ำเป็นโรงงานอุตสาหกรรมแปรรูปทางการเกษตรและประมง รวมถึงเป็นแหล่งชุมชนที่มีประชากรหนาแน่น ส่วนบริเวณปากแม่น้ำเป็นบริเวณที่มีความหลากหลายทางทรัพยากร เป็นแหล่งทำการประมง เพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ และการประกอบกิจการท่าเรือต่างๆ อีกทั้งยังมีความสำคัญในเรื่องของการท่องเที่ยวเป็นที่ตั้งของโรงแรมและรีสอร์ทจำนวนมาก (เบญจวรรณ คชเสนี และคณะ, 2564)

แม่น้ำปราณบุรีมีความสำคัญในการพัฒนาอาหารและมวนน้ำจืดจากแผ่นดินมาหล่อเลี้ยงป่าชายเลนและเพิ่มความอุดมสมบูรณ์ให้กับท้องทะเลและชายฝั่งในพื้นที่ ซึ่งหากแม่น้ำปราณบุรีประสบปัญหา ก็ย่อมส่งผลกระทบต่อพื้นที่ป่าชายเลนและทรัพยากรทางทะเลในภาพรวม จึงกล่าวได้ว่าป่าชายเลนมีความจำเป็นต้องพึ่งพิงมวนน้ำจืดและสารอาหารจากแม่น้ำปราณบุรีในการหล่อเลี้ยงให้ต้นไม้เจริญเติบโต ดังนั้นการดูแลรักษาแม่น้ำปราณบุรีตั้งแต่ต้นน้ำ กลางน้ำ และปลายน้ำจึงมีความจำเป็น ซึ่งจะส่งผลกระทบต่อเนื่องถึงระบบนิเวศป่าชายเลนและระบบนิเวศชายฝั่งทะเล (ศูนย์ศึกษาเรียนรู้ระบบนิเวศป่าชายเลนสิรินาถราชินี, 2018)

2.5 การศึกษาที่เกี่ยวข้อง

มารุต สุขสมจิตร และคณะ (2559) ศึกษาคุณลักษณะของสารอินทรีย์ละลายน้ำด้วยวิธี fluorescence excitation-emission matrix (EEM) spectroscopy ในแม่น้ำแม่กลอง ในเดือนตุลาคม 2561 โดยในแต่ละสถานที่เก็บตัวอย่างมีการใช้ประโยชน์พื้นที่ที่ต่างกันทั้งแหล่งชุมชน โรงงานอุตสาหกรรม และเกษตรกรรม โดยผลการศึกษาพบสารอินทรีย์กลุ่ม humic acid-like เป็นองค์ประกอบในทุกสถานี ยกเว้นสถานีที่ใกล้กับท่อระบายน้ำเสียจากชุมชนพบสารกลุ่ม soluble aromatic proteins และสารกลุ่ม soluble microbial byproduct-like เป็นองค์ประกอบ และสถานีที่มีปริมาณคลอโรฟิลล์-เอ สูง ยังพบว่ามีสารกลุ่ม soluble aromatic proteins และ soluble microbial byproduct-like เป็นองค์ประกอบอีกด้วย เนื่องจากได้รับอิทธิพลจากแพลงก์ตอนพืชที่มีอยู่มากในบริเวณนั้น

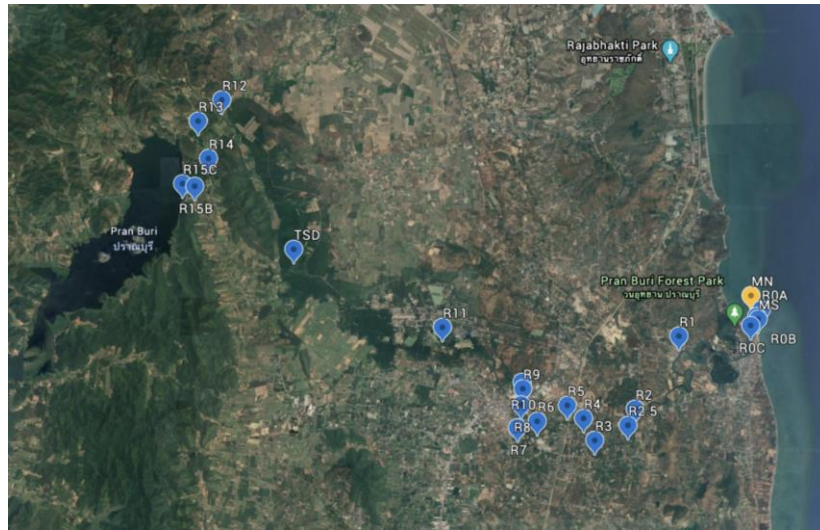
Zhou et al. (2019) ศึกษาประเภทของ DOM ในน้ำบริเวณชายฝั่งทะเล และลุ่มแม่น้ำ 6 สาย ได้แก่ แม่น้ำ Rajang, Semantan, Samunsam, Maludam, Sebuyau และ Simunjan ที่รัฐซาราวัก เกาะบอร์เนียว ประเทศมาเลเซีย ในเดือนมีนาคม มิถุนายน และพฤศจิกายน 2560 วิเคราะห์ด้วยวิธี fluorescence spectroscopy และ PARAFAC ผลการทดลองพบ DOC 5 องค์ประกอบ คือ terrestrial derived humic matter (C1), soil fulvic acid (C2), terrestrially derived humic matter (photo-product, C3), marine humic-like (C4) และ protein (tryptophan และ tyrosine, C5) โดยพบ C1-C4 มีความเข้มข้นลดลงตามความเค็มที่เพิ่มขึ้น โดยมีความเข้มข้นสูงกว่าปกติ 5-10 เท่า ที่บริเวณน้ำเสีย ส่วน C5 ไม่มีการเปลี่ยนแปลงตามความเค็ม และไม่พบความต่างที่บริเวณน้ำเสีย และยังพบว่า C1-C2 ถูกย่อยสลายจากแสงอาทิตย์ได้ง่ายกว่า C3-C4 แต่ C5 ไม่มีการเปลี่ยนแปลงเมื่อทิ้งให้ถูกแสง

Stedmon et al. (2003) ศึกษาประเภทของ DOM ด้วยวิธี fluorescence spectroscopy และศึกษาความเข้มข้นของ DOC ด้วยวิธี HCO โดยเก็บตัวอย่างจากลุ่มแม่น้ำ ทะเลสาบ รวมถึงปากแม่น้ำและชายฝั่งทะเลที่ Horsens Fjord ประเทศเดนมาร์ก ในเดือนสิงหาคม 2544 พบว่ามีสารอินทรีย์ 5 ประเภท เป็นองค์ประกอบอยู่ คือ UV humic-like (C1, C2) กับ terrestrial humic-like (C3) พบมากที่สุดบริเวณแม่น้ำที่ไหลผ่านป่าไม้และพื้นที่ชุ่มน้ำ รองลงมาคือบริเวณพื้นที่เกษตรกรรม ส่วน marine humic matter (C4) พบน้อยที่บริเวณทะเลแต่กลับพบมากที่สุดที่บริเวณต้นน้ำ และ C5 คือ องค์ประกอบผสมระหว่างพีค N กับ T จาก coble et al. (1998) ซึ่งเป็นตัวแทนของผลผลิตจากแพลงก์ตอนและโปรตีน (tryptophan) พบมากที่สุดที่บริเวณทะเลและชายฝั่งที่มีความเค็มสูง ส่วนความเข้มข้นของ DOC มีค่าสูงมากที่ต้นน้ำ จากนั้นลดต่ำลงอย่างรวดเร็วและเพิ่มขึ้นช้า ๆ ตามระยะทางที่น้ำไหลไป และสุดท้ายเมื่อถึงปากแม่น้ำมีความเข้มข้นลดต่ำลงอย่างมาก แปรผกผันกับค่าความเค็มที่เพิ่มขึ้นอย่างเห็นได้ชัด

บทที่ 3 วิธีการศึกษา

3.1 พื้นที่ศึกษา

เก็บตัวอย่างน้ำที่แม่น้ำปราณบุรี จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ จากต้นน้ำถึงปากแม่น้ำ จำนวนทั้งสิ้น 22 สถานี (รูปที่ 3.1) เดือนละ 1 ครั้ง เป็นเวลา 4 เดือน (พฤศจิกายน - ธันวาคม 2563 และ กุมภาพันธ์ - มีนาคม 2564)



รูปที่ 3.1 พื้นที่ศึกษา

เมื่อน้ำออกจากเขื่อนจะไหลผ่านพื้นที่ป่าไม้ธรรมชาติและพื้นที่เกษตรกรรม จากนั้นจะไหลผ่านบริเวณชุมชนซึ่งมีการใช้ประโยชน์พื้นที่ริมฝั่งแม่น้ำ มีการปล่อยน้ำเสียจากบ้านเรือน และจากโรงงานอุตสาหกรรมมากมาย เช่น โรงงานน้ำตาล โรงงานผลไม้กระป๋อง ฯลฯ ต่อมาบริเวณก่อนถึงปากแม่น้ำจะมีเรือและท่าเรือจำนวนมาก พื้นที่ปลายน้ำนี้มีการใช้งานทั้งเพื่อธุรกิจการท่องเที่ยวและเพื่อการทำประมง

3.2 วิธีการเตรียมอุปกรณ์

ทำความสะอาดขวดเก็บตัวอย่างและชุดกรองน้ำด้วยน้ำยาทำความสะอาดที่โพล จากนั้นนำไปแช่กรดไฮโดรคลอริก (HCl) เข้มข้น 10% เป็นเวลาอย่างน้อย 24 ชั่วโมง จากนั้นนำมาล้างด้วยน้ำกลั่น 3 รอบ แล้วตากให้แห้ง

นำขวดเก็บตัวอย่าง กระจกกรอง GF/F และอลูมิเนียมฟอยล์สำหรับปิดฝาขวดเก็บตัวอย่างห่อเก็บไว้ในซองอลูมิเนียมฟอยล์ ไปเผาที่อุณหภูมิ 450 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4-5 ชั่วโมง เพื่อกำจัดสารอินทรีย์

3.3 วิธีการเก็บตัวอย่าง

ใส่ถุงมือไนไตรล์ (Nitrile) ชนิดที่ไม่มีผงแป้งตลอดการทำงาน เก็บตัวอย่างน้ำที่ผิวหน้าโดยใช้กระบอกลอยน้ำ แล้วนำตัวอย่างน้ำที่ได้มากรองผ่านกระดาษกรอง GF/F ที่เผาแล้วใส่ขวดแก้วเก็บตัวอย่างขนาด 20 มิลลิลิตร 2 ขวด สำหรับแต่ละตัวอย่าง ปิดปากขวดด้วยอลูมิเนียมฟอยล์ที่เผาแล้วก่อนปิดฝาขวด จากนั้นห่อ

ขาดด้วยอุณหภูมิเนยมพอยล์เพื่อป้องกันไม่ให้ถูกแสง สำหรับวิธีฟลูออเรสเซนส์ เก็บตัวอย่างโดยการแช่เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ส่วนวิธีออกซิเดชันที่อุณหภูมิสูง เก็บตัวอย่างโดยการแช่แข็งที่อุณหภูมิต่ำกว่า -4 องศาเซลเซียส

3.4 วิธีการวิเคราะห์ตัวอย่าง

3.4.1 วิธีฟลูออเรสเซนส์

3.4.1.1 การวิเคราะห์ EEMs

วิเคราะห์ EEM โดยใช้เครื่อง spectrofluorometer ยี่ห้อ Horiba รุ่น Aqualog ในโหมด EEMs 3D + absorbance โดยตั้งค่า ดังนี้

- ความยาวคลื่น excitation ที่ 240-600 นาโนเมตร
- Integration time 3-4 วินาที (หรือเปลี่ยนตามความเข้มข้นของน้ำตัวอย่าง)
- Excitation increment 3 นาโนเมตร
- Emission increment 0.58 นาโนเมตร

ใส่ถุงมือไนไตรล์ (Nitrile) ชนิดที่ไม่มีผงแป้งตลอดการวิเคราะห์ ทำความสะอาด cuvette ด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรต์ (NaOCl) เข้มข้น 6% แล้วล้างด้วยน้ำ Milli-Q water (18.2 M Ω -cm) อย่างน้อย 30 ครั้ง เพื่อกำจัด NaOCl ให้หมดก่อนการใช้งาน หากยังมี NaOCl ตกค้างอยู่จะทำให้แปลตสัญญาณของสารอินทรีย์ในน้ำตัวอย่างลงได้ นำน้ำตัวอย่างมาแช่ในอ่างน้ำเพื่อให้มีอุณหภูมิใกล้เคียงอุณหภูมิห้อง จากนั้นเทใส่ cuvette โดยชะด้วยน้ำตัวอย่าง 2 รอบ แล้วจึงนำไปวิเคราะห์

เมื่อได้กราฟ EEM ของน้ำตัวอย่างออกมาแล้วจะต้องแก้ไขค่า intensity ของน้ำให้ถูกต้อง โดยการใช้ EEM processing tools ภายในซอฟต์แวร์ของ Aqualog ในการตัดสัญญาณรบกวนออก ดังนี้

- Inner filter effect (IFE) correction
- Rayleigh masking ทั้ง 1st order และ 2nd order กว้างอย่างน้อย 10 นาโนเมตร (โดยเพิ่มขึ้นตามความขุ่นของน้ำ)

3.4.1.2 การวิเคราะห์ PARAFAC

ใช้ DOMFLuor toolbox ver.1.7 ในโปรแกรม MATLAB R2020b (Stedmon and Bro, 2008) โดยใช้ฟังก์ชันตามลำดับ ดังนี้

- OutlierTest เพื่อหาข้อมูลที่ไม่เข้าพวก
- RemoveOutliers เพื่อตัดข้อมูลที่ไม่เข้าพวก
- CompareSpecSSE เพื่อเปรียบเทียบจำนวนกลุ่มของสารอินทรีย์ที่พบในตัวอย่างทั้งหมด
- SplitData และ SplitHalfAnalysis เพื่อแบ่งข้อมูลเป็น 2 และ 4 ชุด

- SplitHalfValidation สุ่มข้อมูลจากแต่ละชุดเพื่อดูว่าจำนวนประเภทที่เราเลือกนั้นมีความเหมาะสม
- RandInitAnal และ RandInitResult เพื่อสร้างและบันทึกข้อมูล excitation loading และ emission loading ของสารอินทรีย์ที่พบ
- ComponentEEM เพื่อสร้างกราฟ EEM ของสารอินทรีย์ที่พบ

นำผลการวิเคราะห์ไปเปรียบเทียบกับผลการศึกษาที่ผ่านมาจากฐานข้อมูลฟลูออเรสเซนส์ออนไลน์ (OpenFluor; Murphy et al., 2014) โดยการนำผลฟลูออเรสเซนส์สเปกตรัมกรอกตามแบบฟอร์มในเว็บไซต์ สามารถเลือกระดับคะแนนความเหมือน (similarity score) ได้ตามร้อยละที่ต้องการ จะมีผลการศึกษาที่ผ่านมาของงานวิจัยฉบับอื่นขึ้นมาให้ จากนั้นตรวจสอบว่าผลการศึกษาของเราตรงกับสารอินทรีย์ชนิดใดบ้าง

3.4.2 วิธีออกซิเดชันด้วยอุณหภูมิสูง

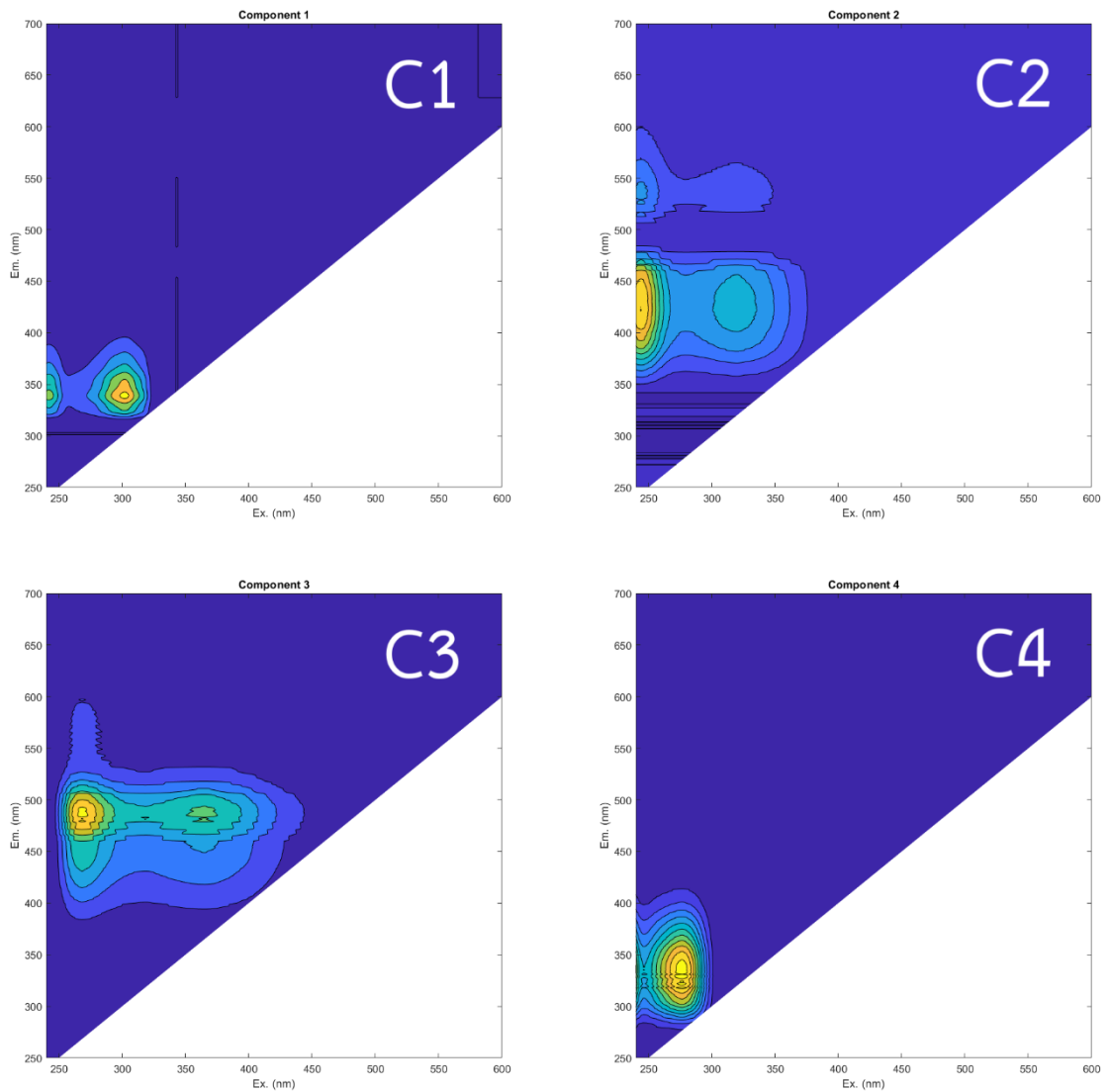
วิเคราะห์น้ำตัวอย่างโดยใช้เครื่อง TOC Analyzer ยี่ห้อ Analytik jena รุ่น multi C/N 3100 วัดค่า Inorganic carbon และ Total organic carbon เพื่อคำนวณหาความเข้มข้น DOC โดยการนำค่า TOC ไปหักลบด้วยค่า DIC โดยตั้งค่าเครื่องมือโดยใช้อุณหภูมิ 800 องศาเซลเซียส และใช้ปริมาตรน้ำตัวอย่างฉีดเข้าไปวิเคราะห์ครั้งละ 250 ไมโครลิตร

การสร้างกราฟมาตรฐานเพื่อหาความเข้มข้น ทำโดยใช้สารละลายผสมของโพแทสเซียมไฮโดรเจนธาเลท (potassium hydrogen phthalate, $C_8H_5KO_4$) โซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3) และโซเดียมไบคาร์บอเนต ($NaHCO_3$) เจือจางสารละลายให้มีความเข้มข้น 5 ระดับ ให้ครอบคลุมความเข้มข้นของน้ำตัวอย่าง

บทที่ 4 ผลการศึกษา และวิจารณ์ผล

4.1 ผลการวิเคราะห์ประเภทของคาร์บอนอินทรีย์ละลาย

จากการนำข้อมูล EEMs ทั้ง 242 ตัวอย่าง ไปวิเคราะห์ PARAFAC และนำผลฟลูออเรสเซนส์สเปกตรัมที่ได้ไปเปรียบเทียบกับผลการศึกษาที่ผ่านมาจากฐานข้อมูลฟลูออเรสเซนส์ออนไลน์ (OpenFluor; Murphy et al., 2014) โดยมีระดับคะแนนความเหมือน (similarity score) ที่มากกว่า 95% พบสารอินทรีย์จำนวน 4 ประเภท คือ marine humic-like (C1), humic acid-like (C2), fulvic acid-like (C3), protein-like (tryptophan และ tyrosine) (C4)



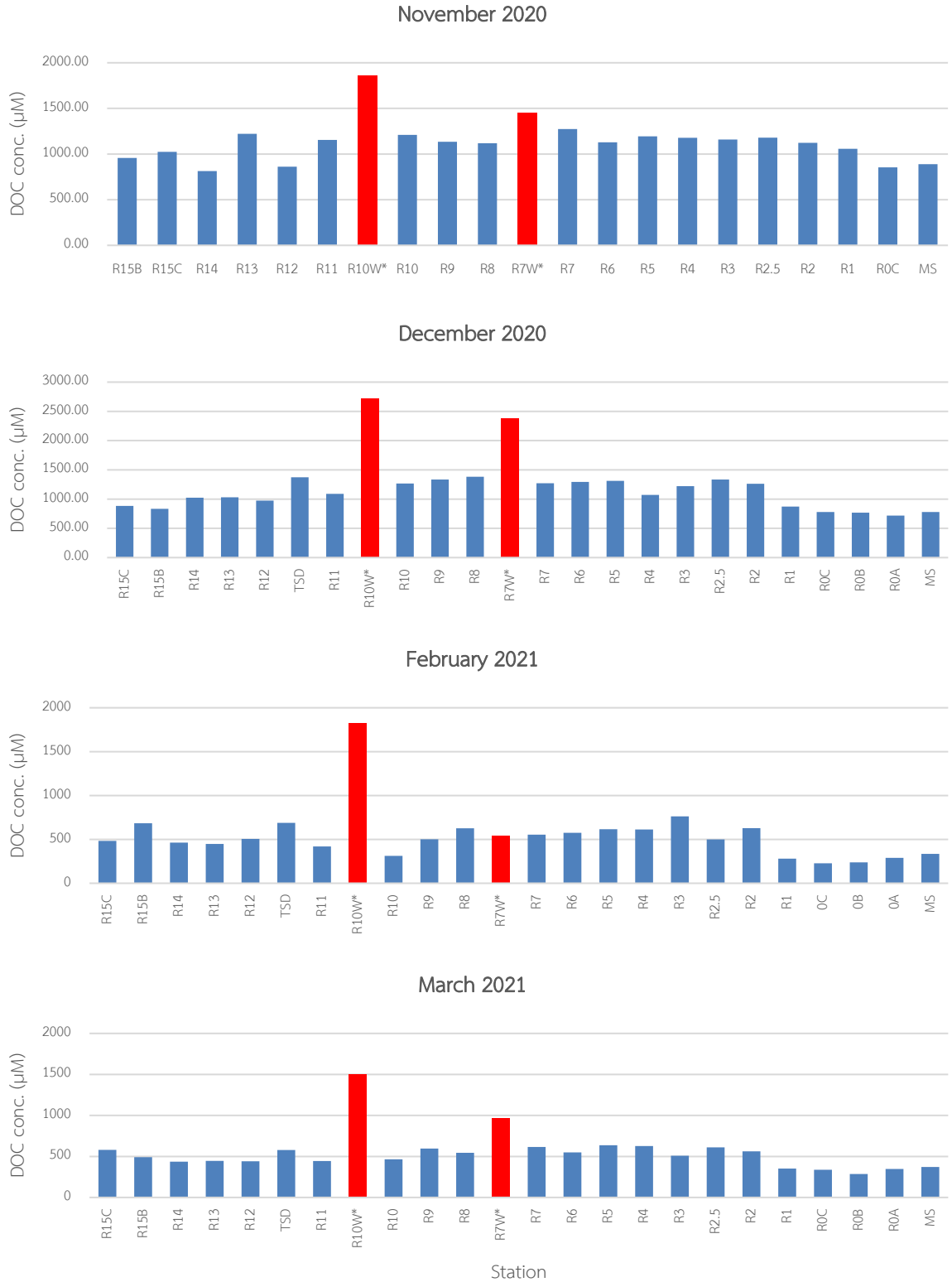
รูปที่ 4.1 สารอินทรีย์ 4 ประเภท ที่พบจากการวิเคราะห์ PARAFAC

C1 มีพีค Excitation/Emission สูงสุดที่ 300(240)/340 นาโนเมตร แสดงถึง marine humic-like (C7; DeFrancesco and Guéguen, 2020) C2 มีพีค Ex/Em สูงสุดที่ 240(320)/400-450 นาโนเมตร แสดงถึง fulvic acid-like C3 มีพีค Ex/Em สูงสุดที่ 265(365)/485 นาโนเมตร แสดงถึง humic acid-like (C1, C2; Yamashita et al., 2010) และ C4 มีพีค Ex/Em สูงสุดที่ 275/320-340 นาโนเมตร แสดงถึง protein-like เหมือนกับพีค B (tyrosine) และพีค T (tryptophan) จากรายงานของ Coble (1996)

ตารางที่ 4.1 คุณสมบัติของสารอินทรีย์ที่พบจากการวิเคราะห์ PARAFAC

สารอินทรีย์	Excitation สูงสุด (นาโนเมตร)	Emission สูงสุด (นาโนเมตร)	ประเภท	อ้างอิง
C1	300 (240)	340	marine humic-like	C7 ใน DeFrancesco and Guéguen (2020)
C2	240 (320)	400-450	fulvic acid-like	C1 ใน Yamashita et al., (2010)
C3	265 (365)	485	humic acid-like	C2 ใน Yamashita et al., (2010)
C4	275	320-340	protein-like	B และ T ใน Coble (1996)

จากการนำกราฟ EEMs ของน้ำตัวอย่างแต่ละสถานีมาเปรียบเทียบกับประเภทของสารอินทรีย์ที่พบจากการวิเคราะห์ PARAFAC (รูปที่ 4.2) ตัวอย่างน้ำในบริเวณต้นน้ำประกอบไปด้วยพื้นที่ป่าไม้และพื้นที่เกษตรกรรม มีพีคของ humic acid และ fulvic acid ปรากฏบน EEMs มากกว่าในบริเวณอื่นเนื่องจากสารทั้งสองชนิดเกิดจากกระบวนการย่อยสลายซากพืชซากสัตว์ทั้งจากพื้นดินและจากแหล่งน้ำซึ่งสอดคล้องกับการที่พบมากในน้ำที่ไหลผ่านพื้นที่ป่าไม้และเกษตรกรรม ส่วนตัวอย่างน้ำจากพื้นที่ชุมชนที่มีการระบายน้ำเสียลงแม่น้ำพบพีคของสารกลุ่มโปรตีน (protein-like) ที่ประกอบไปด้วย tryptophan และ tyrosine ซึ่งเป็นกรดอะมิโนในสารอินทรีย์ที่ส่วนมากเป็นอาหารของมนุษย์ สอดคล้องกับที่บริเวณนั้นมีการปล่อยน้ำเสียจากบ้านเรือนร้านอาหาร และจากโรงงานอุตสาหกรรมมากมาย อาทิ โรงงานน้ำตาลและโรงงานผลไม้กระป๋อง และสารกลุ่มสุดท้ายที่พบมากบริเวณปากแม่น้ำและในทะเล คือ marine humic-like หรือ microbial humic-like เกิดจากกิจกรรมของจุลชีพที่อยู่ในทะเลและน้ำเค็มที่รุกเข้ามาในแม่น้ำ ซึ่งเป็นสารที่สามารถถูกย่อยสลายได้เร็ว จึงมีความยาวคลื่นสูงสุดที่สั้นกว่าสารประเภทอื่น



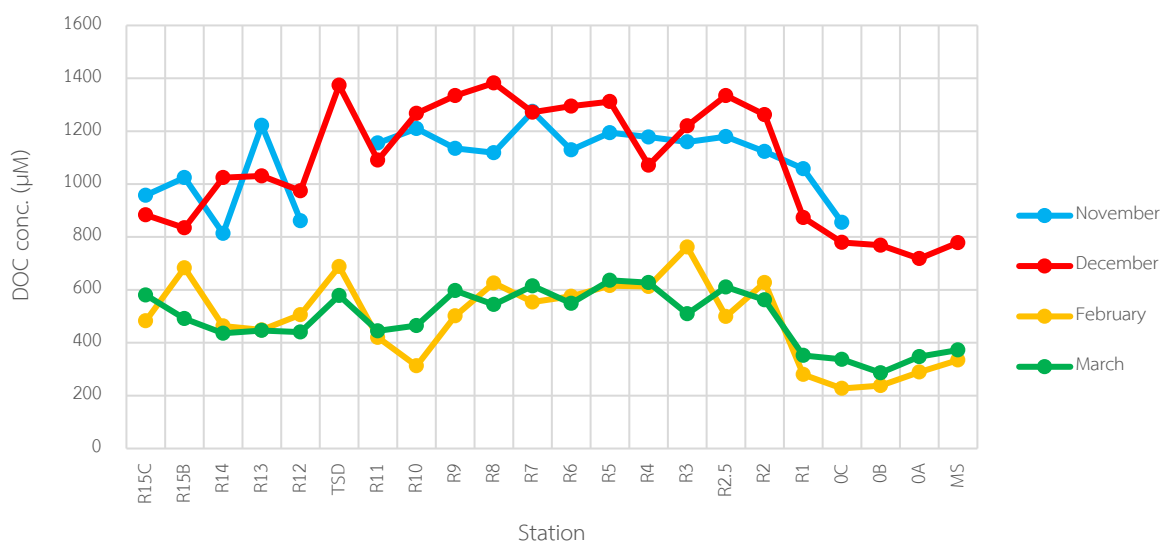
รูปที่ 4.2 ความเข้มข้นของคาร์บอนอินทรีย์ละลายในแม่น้ำปราณบุรี เดือนพฤศจิกายน ธันวาคม กุมภาพันธ์ และมีนาคม ตามลำดับ

*หมายเหตุ เดือนมีนาคม 2564 สถานี R7W และ R10W ในรูปที่ 4.2 ค่าถูกหารด้วย 4 เพื่อความชัดเจนของกราฟ

4.2 ผลการวิเคราะห์ความเข้มข้นของคาร์บอนอินทรีย์ละลาย

ผลการวิเคราะห์ความเข้มข้นของคาร์บอนอินทรีย์ละลายในแม่น้ำปรางบุรีจำนวน 22 สถานี (รูปที่ 4.2) ตั้งแต่ต้นน้ำจนถึงปากแม่น้ำ และน้ำเสียที่ปล่อยออกมาจากชุมชน 2 สถานี (แห่งสีแดงในรูปที่ 4.2) ในเดือนพฤศจิกายน - ธันวาคม 2563 และเดือนกุมภาพันธ์ - มีนาคม 2564 แสดงไว้ในภาคผนวก ค. ตารางที่ ค. 1 พบว่าความเข้มข้นของคาร์บอนอินทรีย์ละลายในเดือนพฤศจิกายน 2563 มีค่าอยู่ในช่วงระหว่าง 813.05-1274.38 μM มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 1080.84 μM เดือนธันวาคม 2563 มีค่าอยู่ในช่วงระหว่าง 718.32-1382.08 μM มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 1085.41 μM เดือนกุมภาพันธ์ 2564 มีค่าอยู่ในช่วงระหว่าง 227.10-762.13 μM มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 488.46 μM เดือนมีนาคม 2564 มีค่าอยู่ในช่วงระหว่าง 286.38-636.08 μM มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 492.18 μM

รูปที่ 4.3 แสดงการเปรียบเทียบความเข้มข้นของคาร์บอนอินทรีย์ละลายในแม่น้ำปรางบุรีในแต่ละเดือนที่ทำการศึกษา จะเห็นว่าทุกเดือนมีแนวโน้มไปในทิศทางเดียวกัน คือ คาร์บอนอินทรีย์ละลายมีความเข้มข้นปานกลางที่ต้นน้ำ จากนั้นเพิ่มสูงขึ้นเมื่อไหลผ่านพื้นที่ป่าไม้และเกษตรกรรม เมื่อถึงพื้นที่ชุมชนมีการระบายน้ำเสียลงแม่น้ำทำให้มีความเข้มข้นเพิ่มสูงขึ้นมาก แล้วลดต่ำลงเมื่อเข้าไปใกล้ปากแม่น้ำ เนื่องจากมีการเจือจางจากน้ำทะเลที่มีความเข้มข้นของคาร์บอนอินทรีย์ละลายต่ำ โดยในเดือนพฤศจิกายนและเดือนธันวาคม มีค่าความเข้มข้นสูงกว่าเดือนกุมภาพันธ์และเดือนมีนาคม เนื่องจากช่วงปลายปีมีฝนตกลงมาน้อย ทำให้มีความเข้มข้นของคาร์บอนอินทรีย์ละลายสูง



รูปที่ 3.3 เปรียบเทียบความเข้มข้นของคาร์บอนอินทรีย์ละลายในแม่น้ำปรางบุรี เดือนพฤศจิกายน (สีฟ้า) เดือนธันวาคม (สีแดง) เดือนกุมภาพันธ์ (สีเหลือง) และเดือนมีนาคม (สีเขียว)

บทที่ 5 สรุปผลศึกษาและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการศึกษา

จากการศึกษาประเภทและความเข้มข้นของคาร์บอนอินทรีย์ละลายในแม่น้ำปราณบุรี จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ พบสารอินทรีย์ละลายจำนวน 4 ประเภท คือ marine humic-like (C1), humic acid-like (C2), fulvic acid-like (C3), protein-like (tryptophan และ tyrosine) (C4) โดยพบ C2 และ C3 มากบริเวณพื้นที่ป่าไม้และเกษตรกรรม พบ C4 จากน้ำเสียที่ระบายจากชุมชน และ C1 พบมากที่ปากแม่น้ำ

ส่วนความเข้มข้นของคาร์บอนอินทรีย์ละลายมีค่าอยู่ในระดับปานกลางที่ต้นน้ำ จากนั้นเพิ่มสูงขึ้นเมื่อไหลผ่านพื้นที่ป่าไม้และเกษตรกรรม แล้วมีค่าเพิ่มสูงขึ้นมากจากการระบายน้ำเสียออกจากชุมชนลงสู่แม่น้ำ และมีค่าลดต่ำลงบริเวณปากแม่น้ำจากการถูกเจือจางด้วยน้ำทะเลที่มีความเข้มข้นคาร์บอนอินทรีย์ละลายต่ำ โดยในเดือนพฤศจิกายนและเดือนธันวาคม มีค่าความเข้มข้นสูงกว่าเดือนกุมภาพันธ์และเดือนมีนาคม ซึ่งน่าจะเกิดจากปริมาณน้ำฝนและปริมาณการปล่อยน้ำออกจากเขื่อน ทำให้มีความเข้มข้นของคาร์บอนอินทรีย์ละลายมีความแตกต่างกัน

ในภาพรวมนั้นสามารถสรุปได้ว่าพื้นที่ที่มีการใช้งานแตกต่างกันส่งผลต่อประเภทและความเข้มข้นของคาร์บอนอินทรีย์ละลายที่พบในแม่น้ำปราณบุรี

5.2 ข้อเสนอแนะ

การวิเคราะห์สารอินทรีย์สามารถปนเปื้อนได้ง่ายตั้งแต่ขั้นตอนการเตรียมอุปกรณ์เก็บตัวอย่าง การเก็บตัวอย่าง จนถึงระหว่างการวิเคราะห์ จึงต้องมีวิธีการป้องกันการปนเปื้อนที่เหมาะสม และต้องเก็บให้พ้นแสงเพื่อผลการทดลองที่แม่นยำ

หลังจากการวิเคราะห์ PARAFAC ควรศึกษาวิธีการหาร้อยละของสารอินทรีย์แต่ละประเภทที่พบในน้ำตัวอย่างจากแต่ละสถานี เพื่อจะได้ทราบว่าในน้ำตัวอย่างนั้นมีสารอินทรีย์แต่ละประเภทเป็นองค์ประกอบอยู่ร้อยละเท่าใด

หากต้องการศึกษาปริมาณของ DOC ที่ไหลออกสู่ทะเล ควรจะศึกษาข้อมูลปริมาณน้ำฝน ปริมาณน้ำที่ปล่อยจากเขื่อน ปริมาณน้ำทั้งหมดที่ไหลลงสู่ทะเล ความเร็วกระแสน้ำ หรืออาจจะวิเคราะห์ปริมาณ DOC ในน้ำฝนร่วมด้วย เป็นต้น

เอกสารอ้างอิง

ภาษาไทย

- เบญจวรรณ คชเสนี, ประเดิม อุทธยานมณี, ศุภชัย ยืนยง และ อนุกุล บุรณประทีปรัตน์. 2564. พลังค์ของสารอาหารอินทรีย์ละลายน้ำบริเวณปากแม่น้ำปราณบุรี จังหวัดประจวบคีรีขันธ์. วารสารวิทยาศาสตร์บูรพา 26, 2 (พฤษภาคม-สิงหาคม 2564): 907-927.
- มารุต สุขสมจิตร, ไตรเทพ วิชัยโกวิทเทน และ กฤติฎีสุดา ภาานาค. 2559. การศึกษาคุณลักษณะของสารอินทรีย์ละลายน้ำในแม่น้ำแม่กลองโดยใช้เทคนิค Fluorescence spectroscopy. การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 54: 1131-1138.
- ศูนย์ศึกษาเรียนรู้ระบบนิเวศป่าชายเลนสิรินาถราชินี. 2561. แม่น้ำปราณบุรี. [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: https://web.facebook.com/SirinartCenter/posts/1665736156841541/?_rdc=1&_rdr [เข้าถึงเมื่อ 24 พฤษภาคม 2564]

ภาษาอังกฤษ

- Chambers, L.G., Davis, S., and Troxler, T.G. 2015. Plant-Soil-Microbial Feedbacks in Response to Changing Physical Conditions. Sea Level Rise in the Everglades, 89-112.
- Coble, P. G. 1996. Characterization of marine and terrestrial DOM in seawater using excitation-emission matrix spectroscopy. Marine chemistry, 51(4), 325-346.
- Cuss, C. W., and Guéguen, C. 2015. Characterizing the labile fraction of dissolved organic matter in leaf leachates: Methods, indicators, structure, and complexity. Labile organic matter—chemical compositions, function, and significance in soil and the environment, 62, 237-274.
- DeFrancesco, C., and Guéguen, C. 2021. Long-term Trends in Dissolved Organic Matter Composition and Its Relation to Sea Ice in the Canada Basin, Arctic Ocean (2007–2017). Journal of Geophysical Research: Oceans, 126(2).
- Hansell, D. A. 2013. Recalcitrant dissolved organic carbon fractions. Annual Review of Marine Science, 5:1, 421-445
- Hansell, D. A., and Carlson, C. A. (Eds.). 2014. Biogeochemistry of marine dissolved organic matter. Academic Press.
- Hedges, J. I., Keil, R. G., and Benner, R. 1998. What happens to terrestrial organic matter in the ocean?. Oceanographic Literature Review, 7(45), 1135.

- HORIBA. 2021. What is an Excitation Emission Matrix (EEM)?. Retrieved 23 May 2021 from https://www.horiba.com/en_en/technology/spectroscopy/fluorescence-spectroscopy/what-is-an-excitation-emission-matrix-eem/
- Kolka, R., Weishampel, P., and Fröberg, M. 2008. Measurement and importance of dissolved organic carbon. In *Field measurements for forest carbon monitoring*. Springer. 171-176
- Libes, S. 2011. *The Production and Destruction of Organic Compounds in the Sea. Introduction to marine biogeochemistry*. Academic Press.
- Minor, E.C., Swenson, M.M., Mattson, B.M., and Oyler, A.R. 2014. Structural characterization of dissolved organic matter: a review of current techniques for isolation and analysis. *Environmental Science : Processes & Impacts*, 9: 2064-2065
- Murphy, K. R., Stedmon, C. A., Graeber, D., and Bro, R. 2013. Fluorescence spectroscopy and multi-way techniques. PARAFAC. *Analytical Methods*, 5(23), 6557-6566.
- Shah, C., Sudheer, A.K. and Bhushan, R. 2018. Distribution of Dissolved organic carbon in the Bay of Bengal: Influence of sediment discharge, fresh water flux, and productivity. *Marine Chemistry* 203. 91-101
- Stedmon, C. A., and Bro, R. 2008. Characterizing dissolved organic matter fluorescence with parallel factor analysis a tutorial. *Limnology and Oceanography Methods*, 6(11), 572-579
- Stedmon, C. A., Markager, S., and Bro, R. 2003. Tracing dissolved organic matter in aquatic environments using a new approach to fluorescence spectroscopy. *Marine chemistry*, 82(3-4), 239-254.
- Yamashita, Y., Maie, N., Briceño, H., & Jaffé, R. (2010). Optical characterization of dissolved organic matter in tropical rivers of the Guayana Shield, Venezuela. *Journal of Geophysical Research: Biogeosciences*, 115(G1).
- Yu, H., Liang, H., Qu, F., Han, Z. S., Shao, S., Chang, H., and Li, G. 2015. Impact of dataset diversity on accuracy and sensitivity of parallel factor analysis model of dissolved organic matter fluorescence excitation-emission matrix. *Scientific reports*, 5(1), 1-11.
- Zhou, Y., Martin, P., and Müller, M. 2019. Composition and cycling of dissolved organic matter from tropical peatlands of coastal Sarawak, Borneo, revealed by fluorescence spectroscopy and parallel factor analysis. *Biogeosciences*, 16(13), 2733-2749.

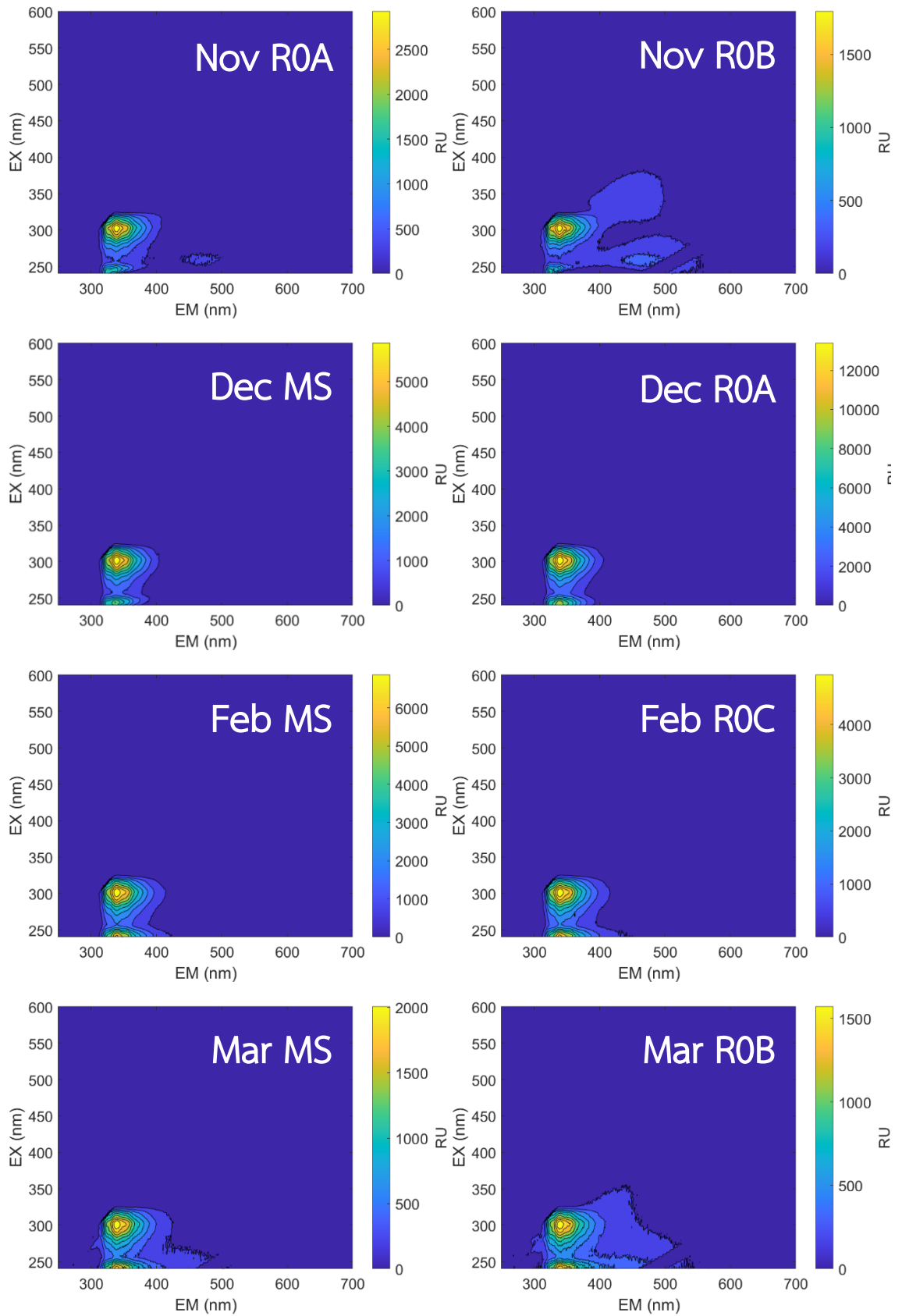
ภาคผนวก

ภาคผนวก ก. สถานีเก็บตัวอย่าง

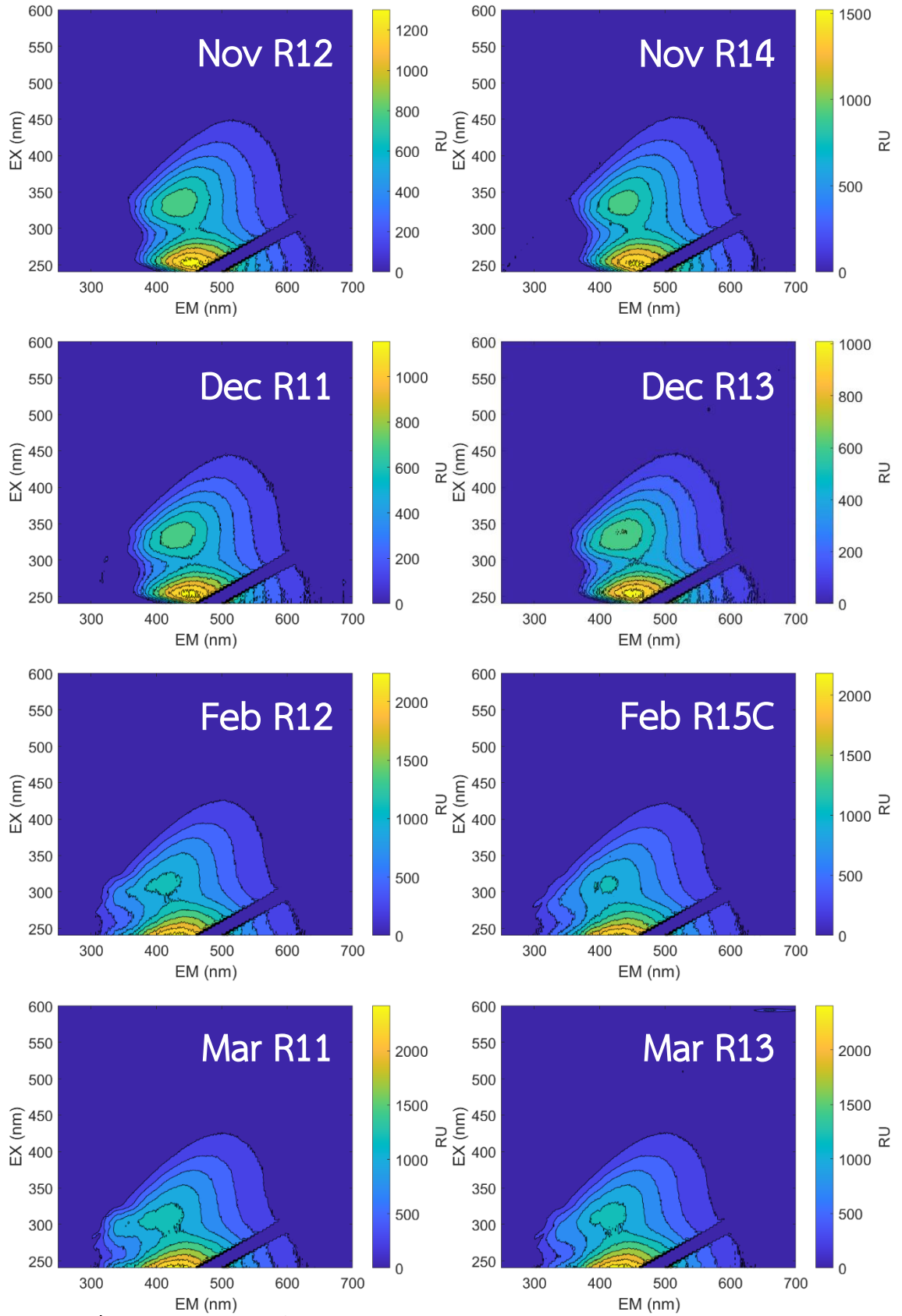
ตารางที่ ก.1 สถานีเก็บตัวอย่างและพิกัดที่ศึกษา

Station	Latitude	Longitude
MS	12°24'39"N	99°59'38"E
0A	12°24'51"N	99°59'41"E
0B	12°24'43"N	99°59'36"E
0C	12°24'32"N	99°59'28"E
R1	12°24'18"N	99°57'59"E
R2	12°22'50"N	99°57'02"E
R2.5	12°22'27"N	99°56'54"E
R3	12°22'11"N	99°56'12"E
R4	12°22'37"N	99°55'58"E
R5	12°22'53"N	99°55'37"E
R6	12°22'34"N	99°54'59"E
R7	12°22'26"N	99°54'35"E
R8	12°22'54"N	99°54'49"E
R9	12°23'14"N	99°54'41"E
R10	12°23'23"N	99°54'40"E
R11	12°24'29"N	99°53'00"E
TSD	12°26'04"N	99°49'54"E
R12	12°29'08"N	99°48'23"E
R13	12°28'42"N	99°47'53"E
R14	12°27'56"N	99°48'06"E
R15B	12°27'22"N	99°47'49"E
R15C	12°27'25"N	99°47'34"E

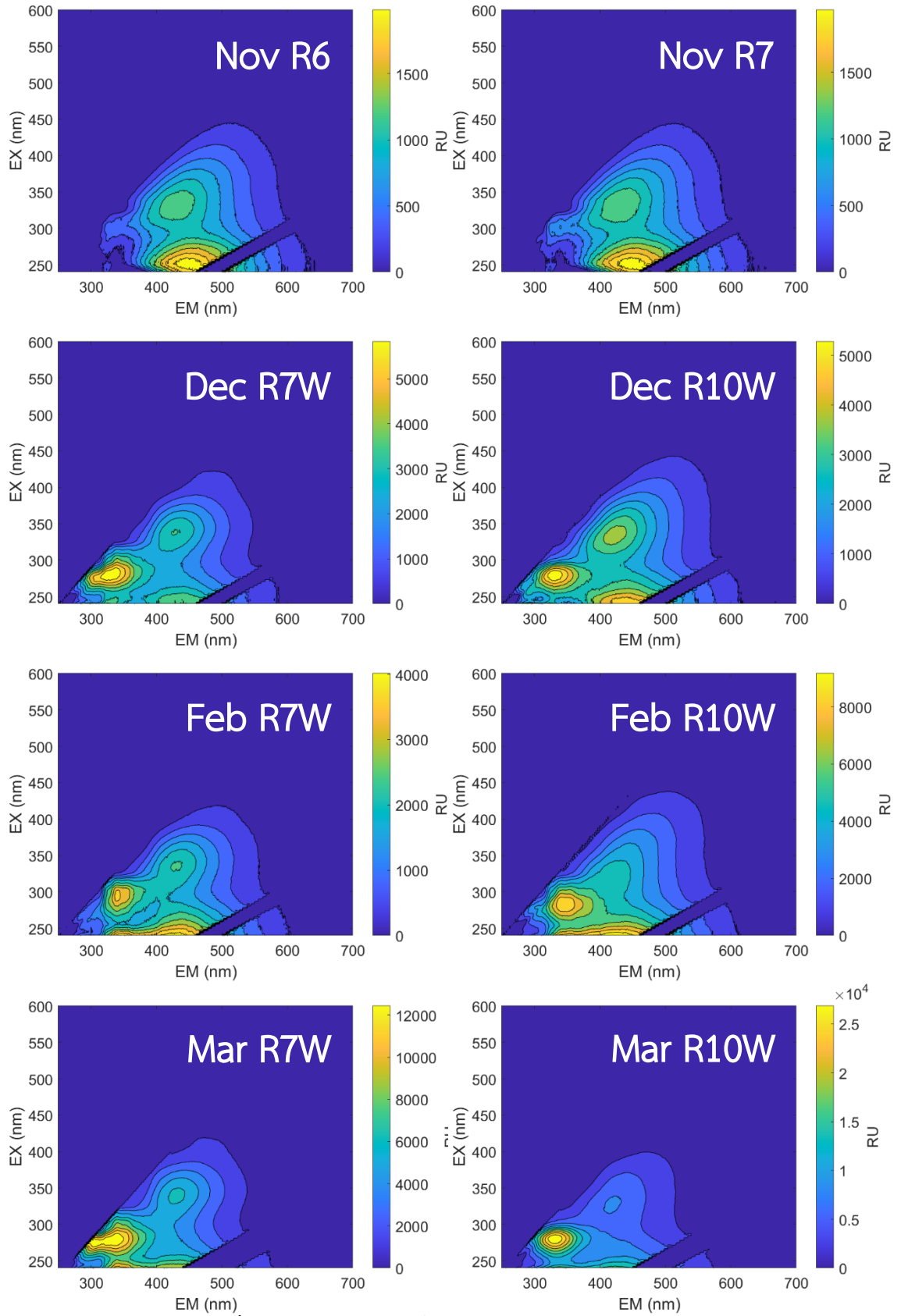
ภาคผนวก ข. ตัวอย่าง EEM



รูปที่ ข.1 ตัวอย่าง EEM ที่มีพีคตรงกับ C1 (marine humic-like)



รูปที่ ข.2 ตัวอย่าง EEM ที่มีพีคตรงกับ C2 (humic acid-like) และ C3 (fulvic acid-like)



รูปที่ ข.3 ตัวอย่าง EEM ที่มีพีคตรงกับ C4 (protein-like)

ภาคผนวก ค. ความเข้มข้นของคาร์บอนอินทรีย์ละลาย

ตารางที่ ค.1 ความเข้มข้นของคาร์บอนอินทรีย์ละลาย (DOC) ทุกเดือน

Station	DOC concentration (μM)			
	November 2020	December 2020	February 2021	March 2021
MS		778.31	334.38	372.36
0A		718.32	288.91	347.29
0B		768.58	237.75	286.38
0C	854.77	779.25	227.10	337.17
R1	1057.97	873.28	279.92	351.77
R2	1123.14	1262.21	627.70	562.09
R2.5	1179.32	1334.75	499.32	610.55
R3	1159.5	1220.19	762.13	509.24
R4	1177.73	1071.15	612.53	627.42
R5	1194.23	1312.02	615.70	636.08
R6	1129.23	1294.56	575.55	549.04
R7W*	1448.91	2376	540.21	3877.53
R7	1274.38	1271.69	553.65	615.06
R8	1118.52	1382.08	625.83	544.53
R9	1134.88	1334.20	501.53	597.06
R10W*	1858.3	2724	1822.66	6010.36
R10	1209.99	1267.52	312.65	464.66
R11	1155.28	1090.28	419.94	444.87
TSD		1373.59	688.05	578.59
R12	861.24	974.50	506.05	440.44
R13	1222.12	1030.60	448.35	446.20
R14	813.05	1024.28	463.32	435.73
R15B	1024.51	834.46	683.09	491.03
R15C	957.57	883.23	482.72	580.29
range	813.05 - 1274.38	718.32 - 1382.08	227.10 - 762.13	286.38 - 636.08
mean	1091.524	1085	488.46	492.18

*ไม่ได้นำมาคำนวณพิสัยและค่าเฉลี่ย