

บทที่ 3

วิธีดำเนินงานวิจัย

เครื่องมือและอุปกรณ์

เครื่องมือ

1. เครื่องเก็บตัวอย่างดินตะกอน Sediment core sampling
2. กล้องจุลทรรศน์ดิจิทัลไมโครสโคปรุ่น YPC-X02
3. ชุดเครื่องกรองด้วยระบบสุญญากาศ
4. เครื่องกวนสาร (Magnetic stirrers)

อุปกรณ์

1. กรอบสุ่มตัวอย่างขนาด 100×100 เซนติเมตร
2. ขวดใส่ตัวอย่างดินตะกอน
3. สายวัดระยะ 500 เมตร

สารเคมี

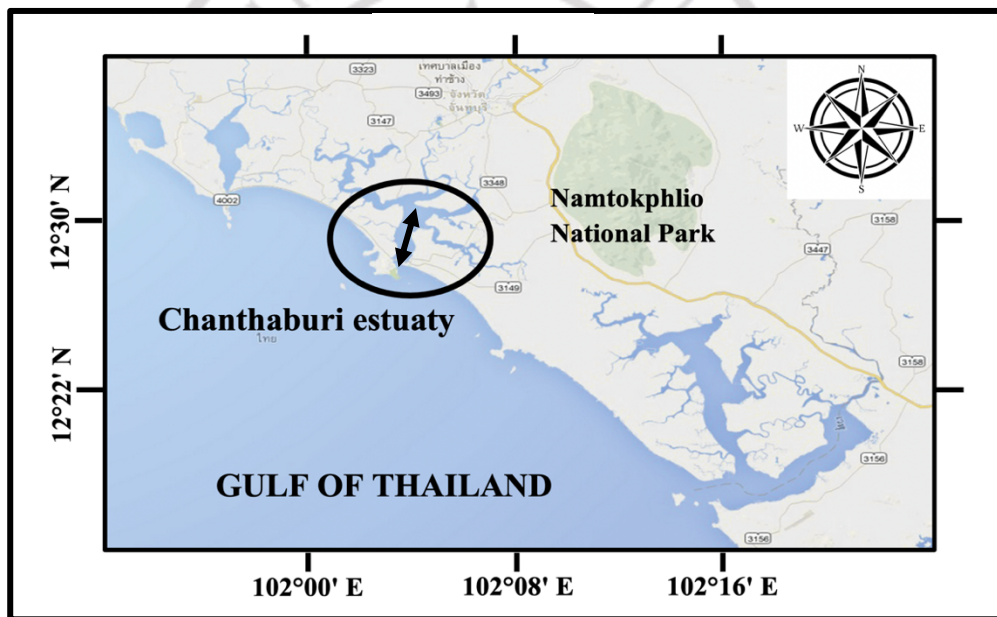
1. ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) Analytical grade
2. โซเดียมคลอไรด์ (NaCl) Analytical grade

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี

วิธีดำเนินงานวิจัย

การกำหนดสถานี/พื้นที่เก็บตัวอย่างสิ่งแวดล้อม

สถานีเก็บตัวอย่างสิ่งแวดล้อมตั้งอยู่ในบริเวณพื้นที่ของปากแม่น้ำจันทบุรีตั้งแต่พระบรมราชานุสรณ์สมเด็จพระเจ้าตากสินมหาราชหรืออยู่ต่อเรือพระเจ้าตากสิน อำเภอเมือง จังหวัดจันทบุรี ถึงบริเวณสะพานตากสินมหาราช อำเภอแหลมสิงห์ จังหวัดจันทบุรี มีระยะทางประมาณ 6 กิโลเมตร ดังภาพที่ 3.1



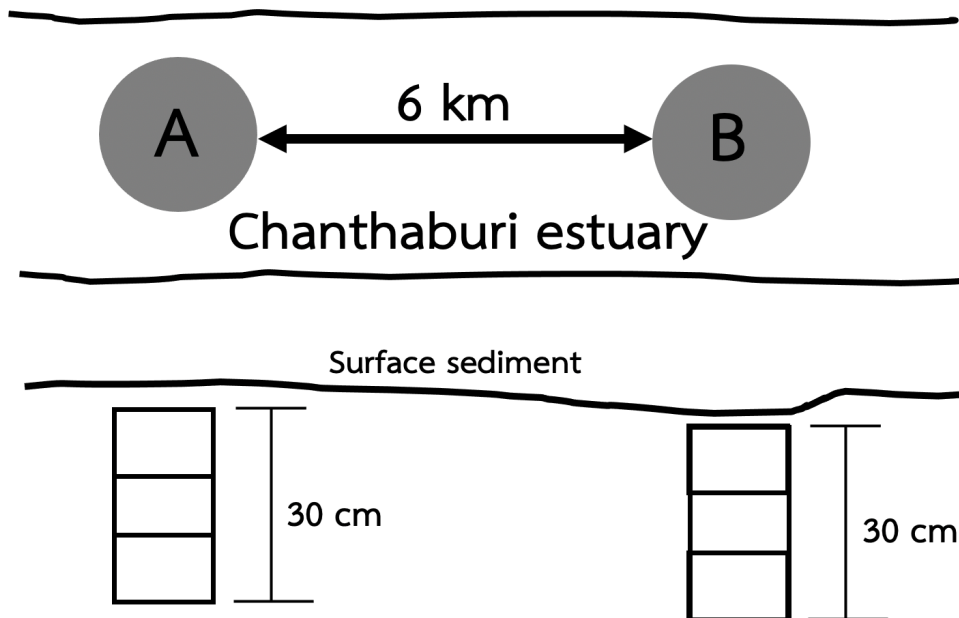
ภาพที่ 3.1 แผนที่ปากแม่น้ำจันทบุรี

การวางแผนการเก็บตัวอย่างสิ่งแวดล้อม

การเก็บตัวอย่างสิ่งแวดล้อมจากระบบนิเวศของปากแม่น้ำจันทบุรี ผู้วิจัยดำเนินการเก็บตัวอย่างสิ่งไม่มีชีวิตและสิ่งมีชีวิตประกอบด้วยการเก็บตัวอย่างดินตะกอนและสัตว์ทะเลตามลำดับ โดยมีรายละเอียดของการเก็บตัวอย่างดังนี้

1) การเก็บตัวอย่างดินตะกอน

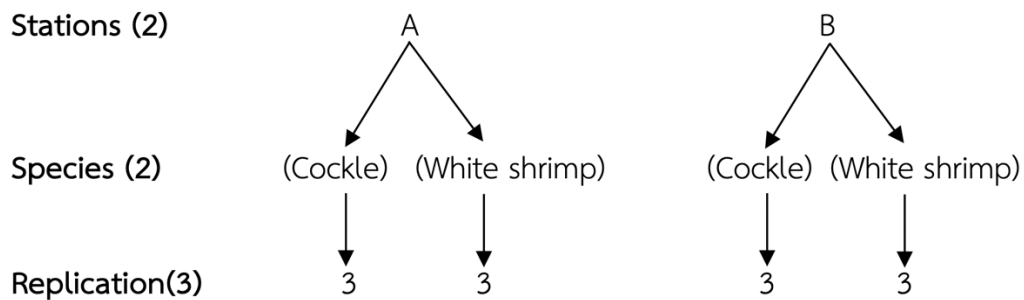
ผู้วิจัยกำหนดจุดเก็บตัวอย่างดินตะกอนตามแนวร่องน้ำของปากแม่น้ำจันทบุรี จำนวน 2 จุด คือ บริเวณอยู่ต่อเรือพระเจ้าตากสิน อำเภอเมือง จังหวัดจันทบุรี (A station) และบริเวณสะพานตากสินมหาราช (B station) ซึ่งเป็นตัวแทนของระบบนิเวศต้นน้ำและปลายน้ำ (Up and Down stream) ซึ่งได้รับอิทธิพลจากการใช้ประโยชน์ของมนุษย์และความแปรปรวนของกระแสน้ำตามลำดับ (Tongnunui et al., 2022 : 27-28) นำเครื่องมือเก็บตัวอย่างดินตะกอนขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 2.5 นิ้ว (Sediment core sampling) เก็บตัวอย่างดินตะกอนที่ความลึก 30 เซนติเมตร ตามแนวทางการปฏิบัติงานของ Prata et al. (2017 : 152) แยกตัวอย่างดินตะกอนใส่ถุงเก็บตัวอย่างตามชั้นความลึก จำนวน 3 ระดับ คือ 1-10, 11-20 และ 21-30 เซนติเมตร แต่ละระดับมีจำนวนซ้ำของการเก็บตัวอย่างทั้งหมด 3 ซ้ำ ดังภาพที่ 3.2



ภาพที่ 3.2 การวางแผนเก็บตัวอย่างดินตะกอน

2) การเก็บตัวอย่างสัตว์ทะเล

ผู้วิจัยวางแผนการเก็บตัวอย่างสัตว์ทะเลจากระบบนิเวศของปากแม่น้ำจันทบุรีด้วยการกำหนดปัจจัยของการเก็บตัวอย่าง 2 ปัจจัย คือ สถานีเก็บตัวอย่างและชนิดของสัตว์ทะเล โดยกำหนดสถานีเก็บตัวอย่างตามแนวทางการเก็บตัวอย่างดินตะกอน ส่วนการเก็บตัวอย่างสัตว์ทะเลดำเนินการเก็บตัวอย่างเฉพาะกลุ่มของสัตว์หน้าดิน (Marine benthos) ที่มีความชุกชุมในระบบนิเวศปากแม่น้ำและสามารถใช้เป็นดัชนีบ่งชี้ทางชีวภาพ (Bioindicator) จำนวน 2 ชนิด คือ หอยแครง (*Anadara granosa*) และกุ้งขาว (*Litopenaeus vannamei*) ซึ่งเป็นตัวแทนของสัตว์ทะเลที่ฝังตัวอยู่ในดินตะกอนหรือพื้นทราย (Burrowing from) และสิ่งมีชีวิตอาศัยในบริเวณพื้นที่ตื้นน้ำและสามารถเคลื่อนไหวได้อย่างอิสระในน้ำ (Errant from) ตามลำดับ ดำเนินการเก็บตัวอย่างสัตว์หน้าดินทั้ง 2 ชนิด จำนวน 1 ครั้ง ทั้งหมด 3 ซ้ำ ดังภาพที่ 3.3 แต่ละซ้ำมีจำนวนตัวอย่างประมาณ 30 ตัว ตามแนวทางการเก็บตัวอย่างหอยสองฝาของ Ruairuen et al. (2022 : 22)



ภาพที่ 3.3 การวางแผนเก็บตัวอย่างสัตว์ทะเลจากระบบนิเวศของปากแม่น้ำจันทบุรี

การวิเคราะห์ไมโครพลาสติก

การวิเคราะห์ไมโครพลาสติกที่ปนเปื้อนในตัวอย่างสิ่งแวดล้อมจากระบบนิเวศของปากแม่น้ำจันทบุรี จำแนกวิธีการวิเคราะห์ตามลักษณะของตัวอย่างเป็น 2 วิธีการ คือ

1) วิธีการวิเคราะห์ไมโครพลาสติกในตัวอย่างดินตะกอน

นำตัวอย่างดินตะกอนประมาณ 500 กรัม ใส่ลงในสารละลายโซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 250 กรัม/ลิตร เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ปล่อยให้ตัวอย่างตกตะกอนประมาณ 6 – 8 ชั่วโมง นำน้ำตัวอย่างที่ผ่านการตกตะกอนมากรองผ่านกระดาษกรองขนาด 1.2 ไมโครเมตร (GF/C) โดยใช้เครื่องดูดสุญญากาศ นำกระดาษกรองไปอบที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำแผ่นกระดาษกรองที่ได้มาทำการตรวจวิเคราะห์เพื่อจำแนกไมโครพลาสติกขนาดเล็กโดยใช้กล้องจุลทรรศน์แบบดิจิทัลและทำการถ่ายภาพเพื่อเก็บข้อมูลและวัดขนาดของไมโครพลาสติกที่พบในตัวอย่างดินตะกอน (สถาบันวิจัยและพัฒนาทรัพยากรทางทะเลและป่าชายเลน, 2557 : 12-13)

2) วิธีการวิเคราะห์ไมโครพลาสติกในตัวอย่างสัตว์ทะเล

นำตัวอย่างเนื้อเยื่อสัตว์ทะเลที่ต้องการวิเคราะห์มาทำความสะอาดด้วยน้ำกลั่นหลังจากนั้นนำตัวอย่างประมาณ 1.50 ± 0.05 กรัม ใส่บีกเกอร์ที่มีไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) 30% และให้ความร้อนประมาณ 55 - 65 องศาเซลเซียส อุ่นตัวอย่างจนกระทั่งไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ระเหยออกหมด จากนั้นเติมโซเดียมคลอไรด์ที่ละลายอิ่มตัว (250 g/L) ลงในตัวอย่างและกวนตัวอย่างโดยใช้ Magnetic stirrer เป็นเวลา 1 - 2 นาที จากนั้นทิ้งตัวอย่างให้ตกตะกอน และนำส่วนที่เป็นสารละลายใส่ไปกรองผ่านกระดาษกรอง GF/C นำกระดาษกรองไปอบที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 ชั่วโมง และนำตัวอย่างที่ได้ไปวิเคราะห์หาไมโครพลาสติกเช่นเดียวกับวิธีการวิเคราะห์ไมโครพลาสติกในดินตะกอน ทั้งนี้ ผู้วิจัยตัดแปลงวิธีการเตรียมตัวอย่างและการวิเคราะห์ไมโครพลาสติกในสัตว์ทะเลจาก ผลการศึกษาของ กองวิจัยและพัฒนาประมงทะเล (ม.ป.ป. : 6) และสถาบันวิจัยและพัฒนาทรัพยากรทางทะเลและป่าชายเลน (2557 : 13)

การวิเคราะห์ข้อมูล

การวิเคราะห์ข้อมูลการปนเปื้อนของไมโครพลาสติกในตัวอย่างสิ่งแวดล้อมใช้สถิติพรรณนา (Descriptive statistics) ประกอบด้วย ค่าร้อยละ (Percent) ค่าเฉลี่ย (Mean) และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Standard deviation) เพื่ออธิบายและแจกแจงข้อมูลของระดับการปนเปื้อนไมโครพลาสติก นอกจากนี้ ผู้วิจัยดำเนินการวิเคราะห์ข้อมูลด้วยสถิติอ้างอิง (Inference statistics) เพื่อเปรียบเทียบความแตกต่างของปริมาณไมโครพลาสติกในตัวอย่างสิ่งแวดล้อมด้วยการนำเสนอค่า Independent-samples *t-Test* ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

การวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance: ANOVA) ชนิด All fixed factors ANOVA ของระดับการปนเปื้อนไมโครพลาสติกในสิ่งแวดล้อม ซึ่งมีปัจจัยในการวิเคราะห์ทั้งหมด 2 ปัจจัยและเป็นปัจจัยคงที่ คือ สถานีเก็บตัวอย่างสิ่งแวดล้อม (Upstream และ Downstream) และชนิดของสิ่งมีชีวิต (*A. Granosa* และ *L. vannamei*) และทำการทดสอบเพื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยหลังการวิเคราะห์ความแปรปรวน (Post hoc comparison) ด้วยการเลือกใช้เทคนิคของ Turkey test