บทที่ 2

อุปกรณ์และวิธีดำเนินการศึกษา

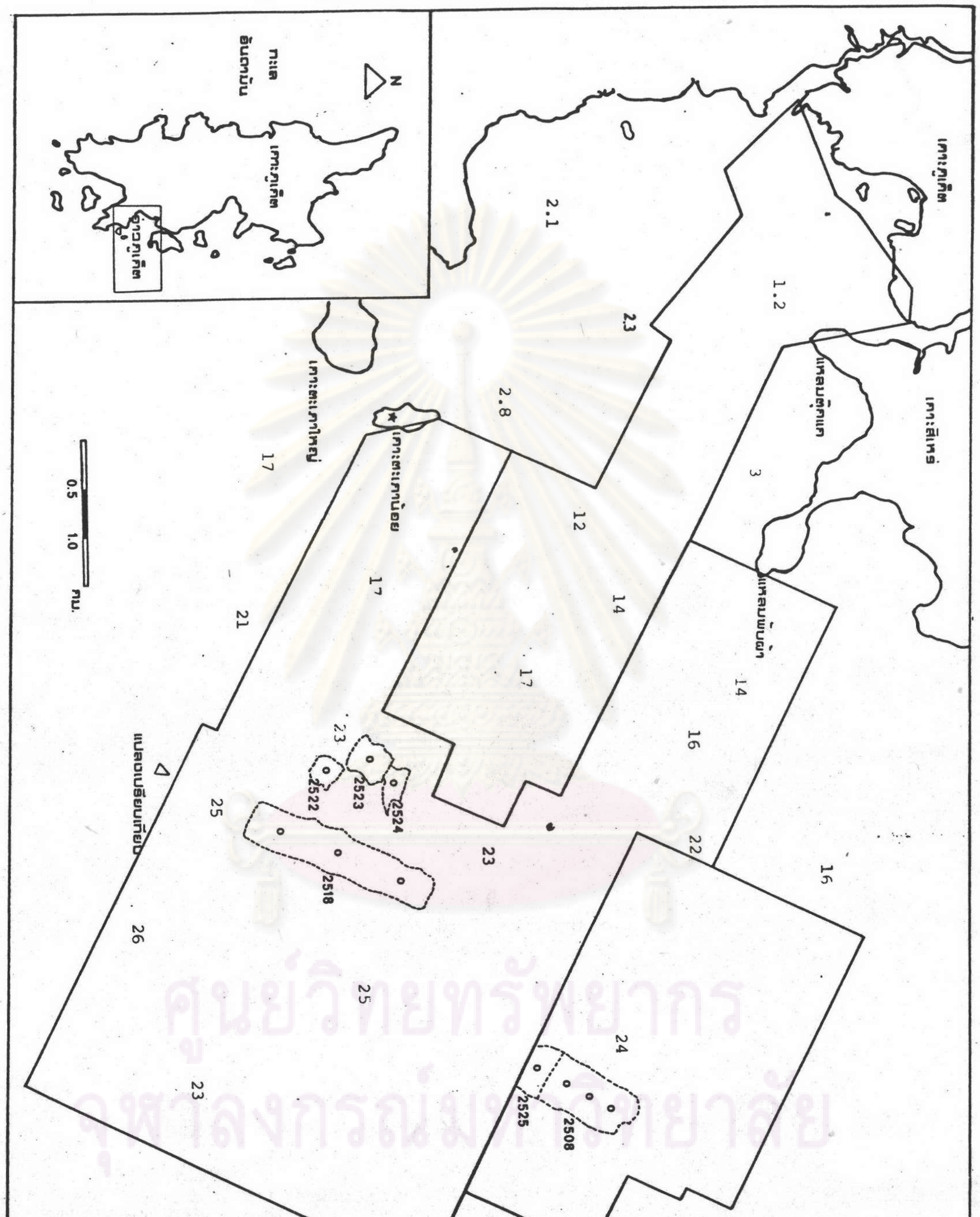
สถานที่และเวลาในการศึกษา

ทำการเก็บตัวอย่างตะกอนดินและสัตว์ทะเลหน้าดินในเดือนเมษายน พ.ศ. 2525 ในบริเวณอ่าวภูเก็ต ทางฝั่งตะวันออกของเกาะภูเก็ต (ภาพที่ 1) ซึ่งบริเวณดังกล่าวเป็นเขตสัมปทานการขุดแร่ของบริษัท Tongkah Harbour Tin Dredging Berhard Mining Aokam Tin Berhard Mining โดยทำการเก็บตัวอย่างจากแปลงต่าง ๆ ดังนี้คือ

1. แปลงเปรียบเทียบเป็นพื้นที่ในอ่าวภูเก็ตซึ่งอยู่นอกเขตสัมปทานการขุดแร่และเป็นพื้นที่ที่ไม่เคยผ่านการขุดแร่มาก่อน แปลงเปรียบเทียบนี้อยู่ห่างจากแปลงขุดแร่ปี 2518 ประมาณ 1 กิโลเมตร และห่างจากแปลงขุดแร่ปี 2522 ประมาณ 1.5 กิโลเมตร กำหนดสถานีเก็บตัวอย่างจำนวน 1 สถานี
2. แปลงขุดแร่ปี 2508 จำนวน 3 สถานี
3. แปลงขุดแร่ปี 2518 จำนวน 12 สถานี โดยกำหนดให้แต่ละแปลงย่อยที่ทำการขุดแร่ในแต่ละเดือนเป็นสถานีเก็บตัวอย่าง
4. แปลงขุดแร่ปี 2522 จำนวน 1 สถานี
5. แปลงขุดแร่ปี 2523 จำนวน 1 สถานี
6. แปลงขุดแร่ปี 2524 จำนวน 1 สถานี
7. แปลงขุดแร่ปี 2525 จำนวน 1 สถานี

แปลงศึกษาทุกแปลงมีระดับความลึกของน้ำใกล้เคียงกันระหว่าง 22 - 25 เมตร เพื่อให้มีสภาพแวดล้อมใกล้เคียงกันมากที่สุด เพราะระดับความลึกของน้ำเป็นปัจจัยอันหนึ่งที่ทำให้ชุมนุมสิ่งมีชีวิตสัตว์ทะเลหน้าดินมีความแตกต่างกัน สำหรับแปลงขุดแร่ปี 2523, 2524 และ 2525 เป็นแปลงขนาดเล็กจึงสามารถกำหนดสถานีเก็บตัวอย่างได้เพียงแปลงละ 1 สถานี

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาพที่ 1 เขตสัมปทานการขุดแร่ในอ่าวภูเก็ตของบริษัท Tongkah Harbour Tin Dredging Berhard Mining และบริษัท Aokam Tin Berhard Mining และขอบเขตของแปลงขุดแร่ปีต่าง ๆ ที่ทำการศึกษา

<u>วิธีกำหนดตำแหน่งเรือเพื่อทำการเก็บตัวอย่างในแต่ละสถานี</u>

การกำนหดตำแหน่งเรือเพื่อทำการเก็บตัวอย่างในแต่ละสถานีใช้แผนที่เดินเรือประกอบกับแผนที่สัมปทานการขุดแร่และเครื่องวัดมุมหาที่หมายบริเวณชายฝั่ง (bearing) รวมทั้งเครื่องหยั่งน้ำ (echo sounder) โดยทำการวัดมุมจากสถานีเก็บตัวอย่างกับที่หมายชายฝั่ง เช่น ประภาคารยอดเขาและหัวแหลมในแผนที่อย่างน้อย 3 จุด เพื่อให้มีความผิดพลาดน้อยที่สุด

<u>วิธีการเก็บตัวอย่างตะกอนดินและสัตว์ทะเลหน้าดิน</u>

เก็บตัวอย่างตะกอนดินและสัตว์ทะเลหน้าดินโดยใช้เครื่องมือตักดินชนิดสมิธแมคตินไทร์ (Smith-McIntyre grab) ซึ่งตักดินแต่ละครั้งจะได้พื้นที่ 0.1 ตารางเมตร ลึกประมาณ 8 - 10 เซนติเมตร ได้ปริมาตรดินประมาณ 8 ลิตร ทำการเก็บตัวอย่างสถานีละ 3 ครั้ง ยกเว้นแปลงเปรียบเทียบเก็บตัวอย่างทั้งสิ้น 20 ครั้ง แต่ละครั้งแบ่งตัวอย่างตะกอนดินประมาณ 150 กรัม ใส่ถุงพลาสติกเติมน้ำยาฟอร์มาลิน 10% แช่เย็นไว้เพื่อนำไปวิเคราะห์หาขนาดตะกอนและปริมาณสารอินทรีย์ในดิน ส่วนตัวอย่างดินที่เหลือทั้งหมดนำมาล้างผ่านตะแกรงร่อนที่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางรู 2.0 และ 1.0 มิลลิเมตร ตามลำดับ เก็บรวบรวมตัวอย่างสัตว์ทั้งหมดที่ค้างอยู่บนตะแกรงดองไว้ในฟอร์มาลิน 10%

สำหรับสัตว์ในกลุ่มครัสตาเชี่ยน (Crustacean) บางพวกโดยเฉพาะอย่างยิ่งพวกแอมฟิปอด (Amphipod) และกลุ่มไส้เดือนทะเล (Polychaete) บางชนิดที่มีขนาดเล็กและลำตัวใส มักแทรกตัวอยู่ระหว่างเม็ดทราย เป็นพวกที่แยกได้ยากจากตะกอนดินบนตะแกรงร่อนโดยใช้สายตาคัดแยก จึงต้องใช้วิธีการคัดแยกแบบการลอย (floating) เข้าช่วย โดยเทตะกอนดินที่เหลือบนตะแกรงตาถี่ลงในถาดก้นลึกใส่น้ำทะเลลงไปให้ท่วมใช้มือกวนเพื่อให้สัตว์แยกตัวออกจากตะกอนและลอยอยู่ในน้ำ จากนั้นจึงทำการกรองโดยใช้ผ้ากรองที่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางรู 0.5 มิลลิเมตร ทำเช่นนี้ 3 ครั้ง เพื่อให้มีตัวอย่างสัตว์หลงเหลืออยู่น้อยที่สุด

<u>การวิเคราะห์ตะกอนดิน</u>

ก. <u>การวิเคราะห์ขนาดตะกอนดิน</u> (grain size analysis) ใช้วิธีการร่อนผ่านตะแกรงร่อนขนาดต่าง ๆ กัน (Mechanical dry seiving method) ซึ่งมีวิธีการดังนี้คือ

1. นำตัวอย่างตะกอนดินประมาณ 150 กรัม มาอบแห้งที่อุณหภูมิ 105 °ซ. เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ทิ้งไว้ให้เย็นในภาชนะดูดความชื้น (desiccator)

2. ชั่งตะกอนดินที่อบแห้งแล้วจำนวน 50 กรัม ร่อนผ่านตะแกรงร่อนอัตโนมัติที่มีตะแกรงขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางรู 2.0, 1.0, 0.5, 0.25, 0.125 และ 0.063 มิลลิเมตร เรียงเป็นชั้นตามลำดับ เป็นเวลา 10 นาที

3. นำตะกอนดินที่ตกค้างอยู่บนตะแกรงแต่ละชั้นมาชั่งน้ำหนัก

4. คำนวณค่าเฉลี่ยของตะกอนดินขนาดต่าง ๆ เป็นเปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้งทั้งหมด

5. คำนวณหาขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางมัธยฐานของตะกอนดิน (median particle diameter) จากกราฟเปอร์เซ็นต์สะสม (cumulative percentage curve) ของแต่ละตัวอย่างที่ 50 เปอร์เซ็นต์ (ภาพที่ 2)

ข. <u>การวิเคราะห์หาปริมาณสารอินทรีย์ในดิน</u> (organic content analysis) วิเคราะห์หาโดยวิธีการเผา (ignition loss) ตามขั้นตอนดังนี้

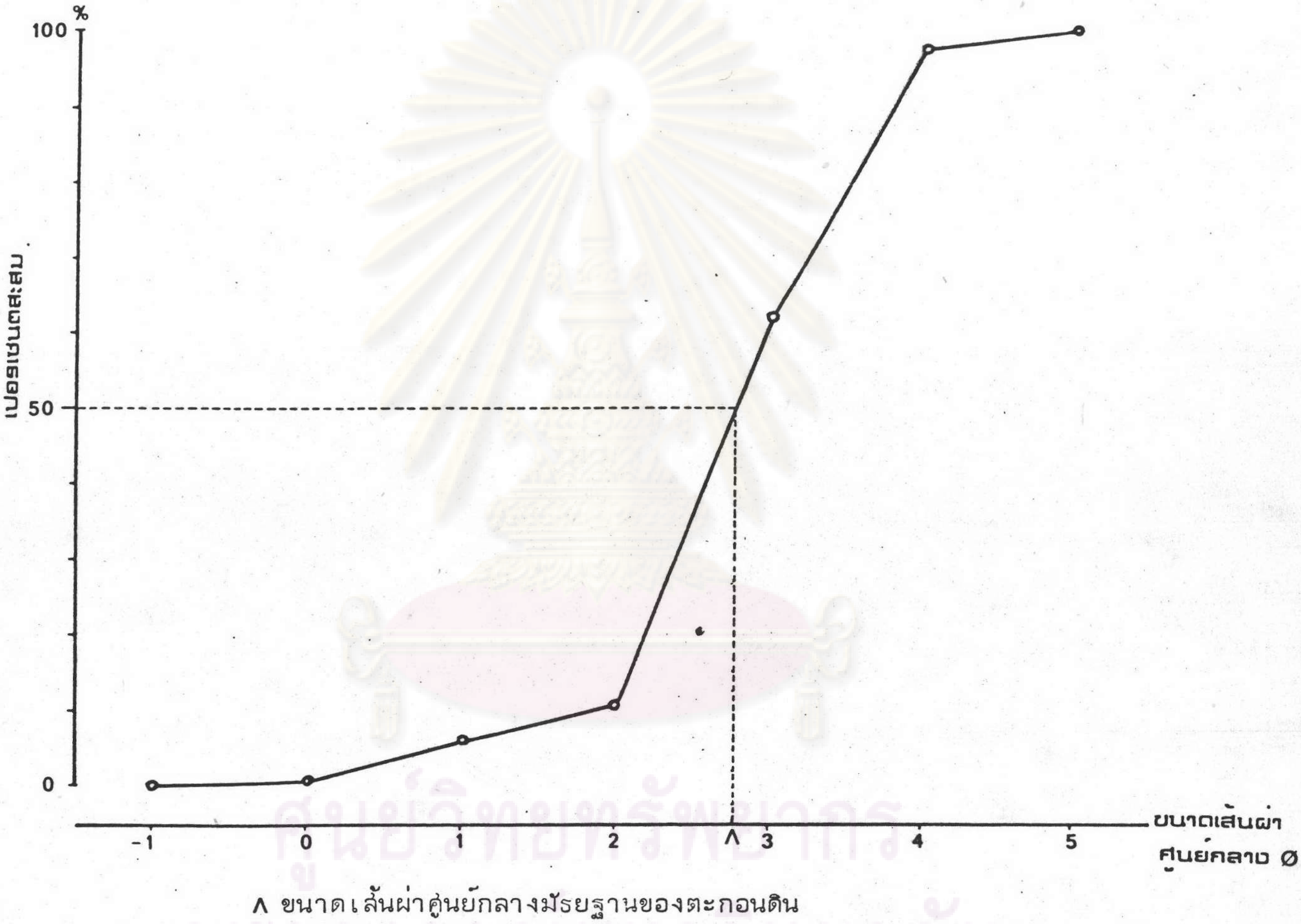
1. ชั่งตัวอย่างตะกอนดินที่อบแห้งแล้ว 15 กรัม ในถ้วยกระเบื้อง (crucible) ด้วยเครื่องชั่งละเอียด

2. นำตัวอย่างที่ชั่งไว้นี้ไปเผาในเตาอบที่อุณหภูมิ 550 °ซ. เป็นเวลา 3 ชั่วโมง เอาออกจากเตาอบทิ้งไว้ให้เย็นในภาชนะดูดความชื้น

3. ชั่งน้ำหนักอีกครั้งหนึ่งเพื่อหาน้ำหนักที่หายไป น้ำหนักที่หายไปนี้คือปริมาณของสารอินทรีย์ในดิน

4. คำนวณปริมาณสารอินทรีย์เป็นเปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้ง โดยใช้สูตร

$$\text{ปริมาณสารอินทรีย์คิดเป็นเปอร์เซ็นต์} = \frac{\text{น้ำหนักดินที่หายไป}}{\text{น้ำหนักของดินก่อนเผา}} \times 100$$



∧ ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางมัธยฐานของตะกอนดิน

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

<u>ภาพที่</u> 2 การหาขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางมัธยฐานของตะกอนดินจากกราฟเปอร์เซ็นต์ความถี่สะสมที่ 50 เปอร์เซ็นต์

การวิเคราะห์ตัวอย่างสัตว์ทะเลหน้าดิน

ก. การวิเคราะห์ความหนาแน่นของตัวอย่างสัตว์ทะเลหน้าดิน

นำตัวอย่างสัตว์ทะเลหน้าดินที่รวบรวมไว้มาเปลี่ยนน้ำยาจากฟอร์มาลิน 10% เป็นเอทิลแอลกอฮอล์ 70% แล้วนำมาแยกออกเป็น 6 กลุ่มใหญ่ คือ

1. กลุ่มไส้เดือนทะเล (Polychaete)
2. กลุ่มครัสตาเซียน (Crustacean)
3. กลุ่มหอย (Mollusc)
4. กลุ่มเอคไคโนเดิร์ม (Echinoderm)
5. กลุ่มปลาและสัตว์มีกระดูกสันหลังอื่น ๆ (Fish and other Chordate)
6. กลุ่มสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังอื่น ๆ (Other invertebreate)

นับจำนวนตัวอย่างสัตว์แต่ละกลุ่มและจำนวนตัวรวม นำมาหาค่าเฉลี่ย จากนั้นคูณค่าเฉลี่ยนี้ด้วย 10 ก็จะได้เป็นจำนวนตัวต่อพื้นที่ 1 ตารางเมตร ซึ่งเป็นความหนาแน่น (10 เป็นค่าที่ใช้เปลี่ยนพื้นที่ 0.1 ตารางเมตร เป็นพื้นที่ 1 ตารางเมตร)

ข. การวิเคราะห์มวลชีวภาพของสัตว์ทะเลหน้าดิน

นำตัวอย่างสัตว์มาซับให้แห้งแล้วชั่งด้วยเครื่องชั่งละเอียด สำหรับกลุ่มหอยใช้เนื้อในเปลือก คำนวณหาค่าเฉลี่ยแล้วคูณด้วย 10 จะได้ค่าน้ำหนักเปียกเป็นกรัมต่อพื้นที่ 1 ตารางเมตร

ค. การจำแนกชนิดสัตว์ทะเลหน้าดิน

ทำการจำแนกสัตว์ทะเลหน้าดินถึงระดับครอบครัว (family) โดยใช้เอกสารของ ไพบูลย์, 2523; Abbott, 1965; Chuang, 1961; Day, 1967; Fauchald, 1977; Gosner, 1971; Habe, 1964; Kira, 1965; Sakai, 1965 และการเปรียบเทียบตัวอย่างกับตัวอย่างสัตว์ในห้อง Reference collection ของศูนย์ชีววิทยาทางทะเลภูเก็ต

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ง. การคำนวณค่าดัชนีความแตกต่าง (diversity index) และค่า evenness ของตัวอย่างสัตว์ทะเลหน้าดินในแต่ละแปลงศึกษาใช้สูตร Shannon index of general diversity (Odum, 1971)

$$\bar{H} = -\Sigma \frac{n_i}{N} \log \frac{n_i}{N}$$

หรือ $$\bar{H} = -\Sigma p_i \log p_i$$

และ $$e = \frac{\bar{H}}{\log N}$$

เมื่อ $\bar{H}$ = ค่าดัชนีความแตกต่าง

e = ค่า evenness

n_i = จำนวนตัวของสัตว์ทะเลหน้าดินต่อครอบครัว

N = จำนวนตัวของสัตว์ทะเลหน้าดินทั้งหมด

p_i = $\frac{n_i}{N}$

จ. <u>การคำนวณหาค่าดัชนีความคล้ายคลึง</u> (similarity index)

ของตัวอย่างสัตว์ทะเลหน้าดินแต่ละแปลงขุดแร่เปรียบเทียบกับแปลงเปรียบเทียบใช้สูตร Similarity of Jaccard (Odum, 1971)

$$S_j = \frac{2C}{A + B}$$

เมื่อ S_j = ค่าดัชนีความคล้ายคลึง

A = จำนวนครอบครัวที่พบในแปลงเปรียบเทียบ

B = จำนวนครอบครัวที่พบในแปลงขุดแร่ปีต่าง ๆ

C = จำนวนครอบครัวที่พบทั้งในแปลงเปรียบเทียบและแปลงขุดแร่

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ฉ. <u>การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ</u>

1. หาค่าเฉลี่ยความหนาแน่น, มวลชีวภาพ, ปริมาณซิลท์ - เคลย์ และปริมาณสารอินทรีย์ด้วยการหาค่าตัวกลางเลขคณิต (mean value, $\bar{x}$)

$$\bar{x} = \frac{\Sigma x}{N}$$

Σx = ผลรวมของข้อมูลทั้งหมด

N = จำนวนข้อมูล

2. การวิเคราะห์หาความแตกต่างและนัยสำคัญของความหนาแน่นของสัตว์ทะเลหน้าดินระหว่างแปลงเปรียบเทียบกับแปลงขุดแร่ปีต่าง ๆ โดยการวิเคราะห์วาเรียนซ์แบบมี 1 ตัวประกอบ (one way analysis of variance) แบบมีค่าสังเกตไม่เท่ากับ (จรัญ จันทลักขณา, 2523) ตามตารางที่ 1

<u>ตารางที่</u> 1 สูตรการวิเคราะห์วาเรียนซ์แบบมี 1 ตัวประกอบที่มีจำนวนค่าสังเกตไม่เท่ากัน

Source of Variance	df	Sum of Square (SS)	Mean Square (MS)	F	F_{table}
Between	k - 1	$SS_B = \Sigma_i X_i^2/r_i - (\Sigma_{ij} X_{ij})^2/\Sigma_i r_i$	$MS_B = \frac{SS_B}{k-1}$	$\frac{MS_B}{MS_W}$	F; df=k-1
Within	N - k	$SS_W = \Sigma_{ij} X_{ij}^2 - \lvert(\Sigma_{ij} X_{ij}^2)/\Sigma_i r_i + SS_B\rvert$	$MS_N = \frac{SS_W}{N-k}$		df=N-k α =0.05
Total	N - 1	$= SS_T = SS_B + SS_W$			

เมื่อ i = หมายเลขที่ของข้อมูล

j = หมายเลขของแต่ละกลุ่มตัวอย่าง

T = จำนวนซ้ำ (replication) ของข้อมูล

k = จำนวนแปลงศึกษา

N = จำนวนข้อมูลทั้งหมด

3. การเปรียบเทียบข้อมูลสัตว์ทะเลหน้าดินระหว่างแปลงเปรียบเทียบกับแปลงขุดแร่ปีต่าง ๆ ทำการเปรียบเทียบด้วยวิธี log-normal distribution (Grey and Mirza, 1979) ซึ่งใช้กับตัวอย่างขนาดใหญ่ที่เก็บจากประชากรที่แตกต่างกัน (heterogeneous population) โดยในแต่ละแปลงศึกษาจะคำนวณค่าเปอร์เซนต์ของจำนวนครอบครัวสัตว์ทะเลหน้าดินในแต่ละ geometric class ซึ่ง geometric class นี้แบ่งออกตามค่าความหนาแน่นแล้วทำการคำนวณค่าเปอร์เซนต์สะสม (ตารางที่ 2) นำค่าที่ได้ไปเขียนกราฟโดยให้ค่าเปอร์-เซนต์สะสมเป็นแกนตั้งและ geometric class เป็นแกนนอน กราฟที่เป็นเส้นตรงปกติ มีความชันมาก ไม่มีการเบี่ยงเบน และมี geometric class น้อย จะแสดงถึงการมีความสมดุลย์ตามธรรมชาติของชุมนุมสิ่งมีชีวิตนั้นคือมีการอพยพเข้าออกคงที่และมีสัดส่วนของจำนวนตัวในแต่ละชนิดค่อนข้างคงที่ แต่ถ้าเส้นกราฟมีความเบี่ยงเบนลดความชันลงและมี geometric class เพิ่มขึ้น แสดงว่ามีผลกระทบไปรบกวนความสมดุลย์ของชุมนุมสิ่งมีชีวิตนั้น มีการเพิ่มขึ้นอย่างมากของสัตว์บางชนิด เนื่องจากความเครียดหรือปัญหามลภาวะในสภาพแวดล้อมนั้นดังตัวอย่างในภาพที่ 3

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

<u>ตารางที่</u> 2 การคำนวณข้อมูลสัตว์ทะเลหน้าดินในแต่ละแปลงศึกษา เพื่อเขียนกราฟเปรียบเทียบตามวิธี log-normal distribution

geometric class	ความหนาแน่น	จำนวนครอบครัว	เปอร์เซ็นต์	เปอร์เซ็นต์สะสม
I	1	n_I	$X_I = \frac{n_I}{N} \times 100$	
II	2 - 3	n_{II}	$X_{II} = \frac{n_{II}}{N} \times 100$	
III	4 - 7	n_{III}	$X_{III} = \frac{n_{III}}{N} \times 100$	$X_I + X_{II} + X_{III}$
IV	8 - 15	⋮	⋮	⋮
V	16 - 31			
VI	32 - 63			
VII	64 - 127			
VIII	128 - 255	n_{VIII}	$X_{VII} = \frac{n_{VIII}}{N} \times 100$	100
		$N = \Sigma n$		

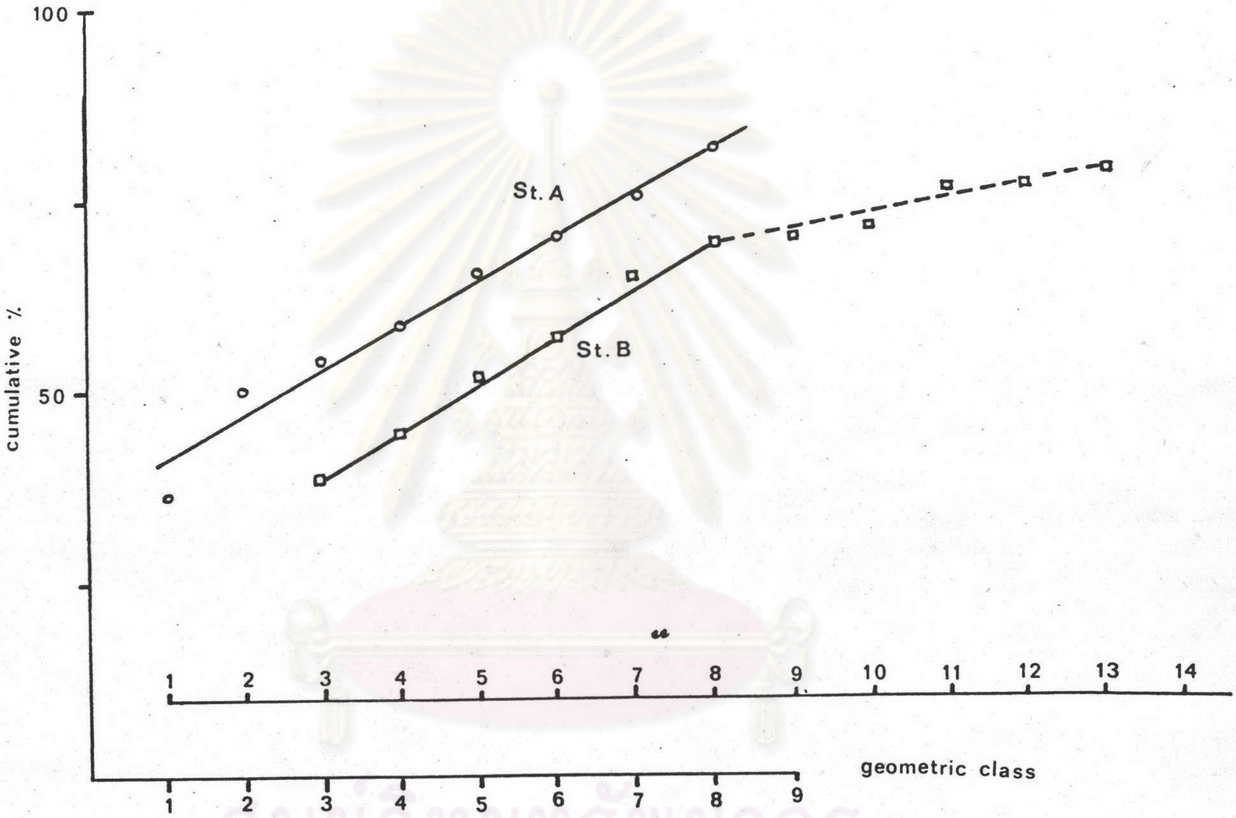
เมื่อ n = จำนวนครอบครัวสัตว์ทะเลหน้าดินในแต่ละ geometric class

N = จำนวนครอบครัวสัตว์ทะเลหน้าดินทั้งหมดในแต่ละแปลงศึกษา

X = จำนวนครอบครัวสัตว์ทะเลหน้าดินคิดเป็นเปอร์เซ็นต์ในแต่ละ geometric class

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

009521



St. A บริเวณที่ไม่ได้รับสารมลพิษ

St. B บริเวณที่ได้รับสารมลพิษ

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาพที่ 3 ตัวอย่างการเปรียบเทียบข้อมูลสัตว์ทะเลหน้าดินด้วยวิธี log-normal distribution (ดัดแปลงจาก Grey and Mirza, 1979)