

บทที่ 3 ระเบียบวิธีวิจัย

3.1 พื้นที่เก็บตัวอย่างและจุดเก็บตัวอย่าง การแบ่งพื้นที่ในการเก็บตัวอย่าง

ภาพที่ 9 พื้นที่ในการเก็บตัวอย่าง

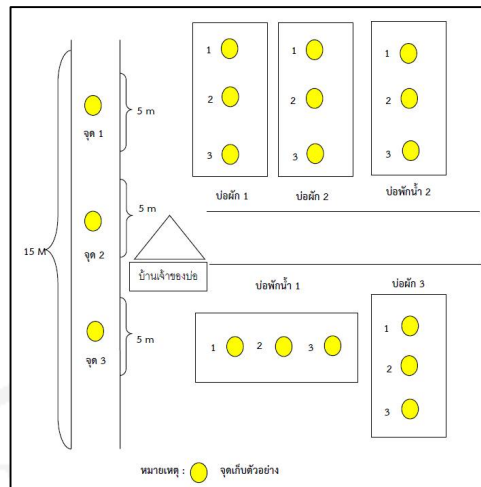


บริเวณคลองหนองปรือ อำเภอบางพลี จังหวัดสมุทรปราการ มีพื้นที่ทั้งหมด 469 ไร่ แต่ละเจ้า มีพื้นที่ในการปลูกผักกระเฉดประมาณ 10 ไร่ ซึ่งการสุ่มเก็บตัวอย่างจะประยุกต์จากคู่มือปฏิบัติการเก็บตัวอย่างน้ำ และตัวอย่างดิน ส่วนน้ำเสียเกษตรกรรมสำนักจัดการคุณภาพน้ำกรมควบคุมมลพิษ 2555 ซึ่งระบุว่าพื้นที่ไม่เกิน 10 ไร่ ให้กำหนดจุดเก็บตัวอย่างให้ครอบคลุมพื้นที่ โดยใช้วิธี Systematic Grid Sampling ซึ่งเป็นวิธีการที่มีประสิทธิภาพในการเก็บตัวอย่างสำหรับศึกษาการกระจายตัวตามขอบเขตทางภูมิศาสตร์ (Campbell. 1996)

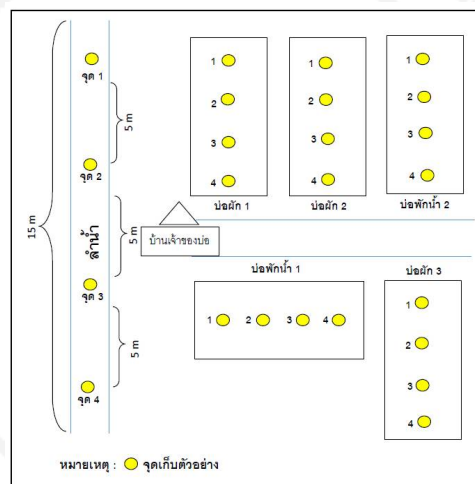
สภาพทั่วไปของพื้นที่เก็บตัวอย่าง มีขนาดประมาณ 10 ไร่ โดยมีคลองชลประทานอยู่ทางด้านหลังของบ่อ มีระยะทางประมาณ 15 เมตร ซึ่งคลองชลประทานเป็นคลองที่ใช้สำหรับการดึงน้ำเข้ามาบ่อพักน้ำ ซึ่งประกอบไปด้วยบ่อพักน้ำ จำนวน 2 บ่อ มีขนาดประมาณ บ่อละ 1 ไร่ โดยบ่อพักน้ำบ่อที่ 1 มีการดึงน้ำเข้าไปในบ่อผักบ่อที่ 3 และบ่อพักน้ำที่ 2 มีการดึงน้ำเข้าไปปลูกผักกระเฉดในบ่อผักที่ 1 และ 2

สำหรับการเก็บตัวอย่าง ผู้วิจัยได้นำมาประยุกต์ในการเก็บตัวอย่าง ซึ่งดำเนินการเก็บตัวอย่าง 2 ครั้ง ครั้งที่ 1 มีการเก็บตัวอย่างดังแสดงในภาพที่ 10 และครั้งที่ 2 ดังแสดงในภาพที่ 11

ภาพที่ 10 การเก็บตัวอย่างครั้งที่ 1



ภาพที่ 11 การเก็บตัวอย่างครั้งที่ 2



จากภาพที่ 10 มีการเก็บตัวอย่างทั้งหมด 42 จุด โดยแบ่งเก็บตัวอย่างน้ำ 18 จุด (ลำน้ำ บ่อพักน้ำ และบ่อฝักกระเจด) เก็บตัวอย่างตะกอนดิน 18 จุด (ลำน้ำ บ่อพักน้ำ และบ่อฝักกระเจด) และเก็บตัวอย่างฝักกระเจด 6 จุด (บ่อฝักกระเจดที่ 1 และ 2) ส่วนบ่อฝักกระเจดที่ 3 ไม่มีการเก็บตัวอย่าง เนื่องจากในรอบนั้นไม่มีการปลูกฝักกระเจด ตัวอย่างทั้งหมดจะเก็บตัวอย่างบ่อละ 3 จุด เท่า ๆ กัน

จากภาพที่ 11 มีการเก็บตัวอย่างทั้งหมด 72 จุด โดยแบ่งเก็บตัวอย่างน้ำ 24 จุด (ลำน้ำ บ่อพักน้ำ และบ่อฝักกระเจด) เก็บตัวอย่างตะกอนดิน 24 จุด (ลำน้ำ บ่อพักน้ำ และบ่อฝักกระเจด) และเก็บตัวอย่างฝักกระเจด 12 จุด (บ่อฝักกระเจดที่ 1, 2 และ 3) โดยเพิ่มจำนวนจุดเก็บเป็นบ่อละ 4 จุด เท่า ๆ กันดังแสดงในตารางที่ 12

ตารางที่ 12 การเก็บตัวอย่างน้ำ ตะกอนดินและผักเพื่อนำมาวิเคราะห์

จำนวนรอบในการเก็บ	จำนวนครั้งในการเก็บ (ครั้ง)	ตัวอย่างในการเก็บ	จำนวนที่เก็บตัวอย่าง (จุด)
1	1	น้ำ	18
		ตะกอนดิน	18
		ผักกระเฉด	6
2	1	น้ำ	24
		ตะกอนดิน	24
		ผักกระเฉด(ส่วนที่บริโภคได้)	12
		ผักกระเฉด (ส่วนที่บริโภคไม่ได้)	12

สำหรับตัวอย่างน้ำจะนำมาวิเคราะห์หาไนเตรตและพารามิเตอร์โดยดำเนินการเก็บตัวอย่างจำนวน 2 ครั้ง เพื่อส่งเข้าตรวจในห้องปฏิบัติการเคมี ซึ่งพารามิเตอร์ที่ทำการวิเคราะห์ ได้แก่ กรด-ด่าง ความขุ่น และสภาพการนำไฟฟ้า โดยพารามิเตอร์ทั้งหมดจะมีวิธีการวิเคราะห์ที่แตกต่างกันไป ดังแสดงในตารางที่ 13

ตารางที่ 13 การวิเคราะห์พารามิเตอร์ในน้ำ

พารามิเตอร์	จำนวนในการเก็บตัวอย่างน้ำ (ครั้ง)	วิธีการวิเคราะห์
สภาพการนำไฟฟ้า (Conductivity)	2	Electrical Conductivity Method
ความขุ่น (Turbidity)	2	Nephelometric Method
พีเอช (PH)	2	Electrometric Method

ที่มา: Metropolitan Waterworks. 2010

3.2 การเก็บตัวอย่าง

1) การเก็บตัวอย่างผักกระเฉด

ทำการเก็บผักกระเฉดตามบริเวณที่กำหนดดังภาพที่ 10 และ 11 จำนวน 12 จุด ประมาณ 1 กิโลกรัมต่อจุด นำมาล้างด้วยน้ำในบ่อและนำมาตัดเป็นท่อน ๆ ขนาดประมาณ 30 cm. แล้วบรรจุใส่ถุงพลาสติก

2) การเก็บตัวอย่างตะกอนดิน

ทำการเก็บตะกอนดินโดยใช้เครื่องเก็บตัวอย่างชนิด Grab Sampler แบบ Ekman Birge bottom samplers ตามบริเวณที่กำหนดดังภาพ 10 และ 11 จำนวน 24 จุด เก็บตัวอย่างจากลำน้ำ 4 จุด บ่อพักน้ำ 8 จุด และบ่อฝัก 12 จุด โดยใช้อุปกรณ์ในการเก็บตัวอย่างตะกอนดินดังภาพที่ 12 และบรรจุใส่ถุงพลาสติกแล้วนำไปบรรจุลงกล่องโฟมแช่เย็นด้วยน้ำแข็งเพื่อรักษาสภาพตัวอย่างให้คงสภาพเดิมก่อนที่จะนำวิเคราะห์ต่อไปอุปกรณ์ในการเก็บตัวอย่างดินมาจาก (<http://www.labvalley.com/p/228>)

ภาพที่ 12 อุปกรณ์ในการเก็บตัวอย่างดิน แบบ Ekman Birge bottom samplers



3) การเก็บตัวอย่างน้ำ

ทำการเก็บตัวอย่างน้ำในบ่อปลูกผักกระเฉดบริเวณที่กำหนดดังภาพที่ 10 และ 11 จุดละ 1 ลิตรจำนวน 24 จุด เก็บตัวอย่างจากลำน้ำ 4 จุด บ่อพักน้ำ 8 จุด และบ่อฝัก 12 จุด โดยใช้อุปกรณ์ในการเก็บตัวอย่างน้ำดังภาพที่ 13 และเติมกรดไนตริกเพื่อทำการเก็บรักษาตัวอย่าง (คู่มือการเก็บตัวอย่างมลพิษน้ำ)

ภาพที่ 13 อุปกรณ์ในการเก็บตัวอย่างน้ำ แบบ Water sample dipper



การเก็บตัวอย่างน้ำในการทดลองครั้งนี้จะทำการเก็บตัวอย่างน้ำแบบจ้วงเนื่องจากเป็นบ่อน้ำ ซึ่งมีการระบายน้ำทิ้งจากการเพาะปลูก และใช้เป็นตัวแทนของแหล่งน้ำเฉพาะเวลาและเฉพาะจุด ที่เก็บเท่านี้การเก็บตัวอย่างน้ำจะประยุกต์จากคู่มือปฏิบัติการเก็บตัวอย่างน้ำและตัวอย่างดินส่วนน้ำเสียเกษตรกรรมสำนักจัดการคุณภาพน้ำกรมควบคุมมลพิษ 2555

3.3 การเตรียมตัวอย่างเพื่อการย่อย

1) การเตรียมผักกระเฉด

นำผักกระเฉดมาล้างทำความสะอาด แยกผักกระเฉดออกเป็น ส่วน ๆ กล่าวคือส่วนที่สามารถบริโภคได้ ประกอบด้วย ลำต้นและใบ ส่วนที่บริโภคไม่ได้ ประกอบด้วย ส่วนหุ้มลำต้นและราก โดยหั่นทั้งหมดให้เป็นชิ้นเล็ก ๆ พร้อมกับชั่งน้ำหนักและบันทึกผลเป็นน้ำหนักเปียก นำไปเข้าตู้อบที่อุณหภูมิ 103 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 วัน แล้วนำมาชั่งน้ำหนักหลังอบ จากนั้นนำไปบดให้ละเอียด บรรจุใส่ถุงพลาสติกเพื่อเตรียมย่อยตัวอย่างต่อไป

2) การเตรียมตัวอย่างตะกอนดิน

นำตัวอย่างตะกอนดินไปตากแดด อีกครั้งจนแห้งสนิทก่อนนำไปอบที่อุณหภูมิ 103 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 วัน ทิ้งไว้ให้เย็น แล้วนำมาบดให้ละเอียด บรรจุใส่ถุงพลาสติกเพื่อเตรียมย่อยตัวอย่างต่อไป

3.4 วิธีการย่อยตัวอย่าง

สำหรับการย่อยตัวอย่างน้ำ ตะกอนดินและผักกระเฉด จะต้องเตรียมเครื่องแก้วก่อนการย่อย โดยเครื่องแก้วทุกชิ้นจะทำการแช่ด้วยกรดไนตริก 20 % ทิ้งไว้ประมาณ 1 วัน จากนั้นทิ้งไว้ให้แห้งหรือนำไปอบด้วยอุณหภูมิ 103 องศาเซลเซียส นอกจากนี้ยังมีการควบคุมการปนเปื้อนตัวอย่างด้วยการทำ Blank และตัวอย่างทั้งหมดจะทำการย่อย 2 ซ้ำ รายละเอียดการย่อยตัวอย่างดังนี้

1) การย่อยตัวอย่างผักกระเฉด

ชั่งตัวอย่างผักกระเฉดที่ผ่านการอบที่อุณหภูมิ 103 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 วัน แล้วนำมาบดให้เป็นผงละเอียดมาอย่างละ 1g ปิเปต สารละลายกรดไนตริกเข้มข้นปริมาตร 30 ml ต้มย่อยด้วยความร้อนบนเตาไฟฟ้า อุณหภูมิ 70-80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที หรือจนกว่าตัวอย่างจะมีลักษณะใส ไม่มีตะกอน ตั้งให้เย็นจากนั้นนำไปกรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 42 โดยเทลงในขวดปรับปริมาตรขนาด 50 ml พร้อมกับปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นปราศจากไอออน

2) การย่อยตัวอย่างตะกอนดิน

ชั่งตัวอย่างตะกอนดินที่ผ่านการตากแดดและการอบที่อุณหภูมิ 103 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 วัน มา 1 g ปิเปต สารละลายกรดไนตริกเข้มข้นปริมาตร 15 ml และสารละลายกรดไฮโดรคลอริก 5 ml และต้มย่อยด้วยความร้อนบนเตาไฟฟ้า อุณหภูมิ 70-80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที หรือจนกว่าตัวอย่างจะมีลักษณะใส ไม่มีตะกอน ตั้งให้เย็นจากนั้นนำไปกรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 42 โดยเทลงในขวดปรับปริมาตรขนาด 50 ml พร้อมกับปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นปราศจากไอออน

3) การย่อยตัวอย่างน้ำ

ตวงตัวอย่างน้ำมา 50 ml ปิเปตสารละลายกรดไนตริกเข้มข้นปริมาตร 20 ml ต้มย่อยด้วยความร้อนบนเตาไฟฟ้า อุณหภูมิ 70-80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที หรือจนกว่าตัวอย่างจะมี

ลักษณะใส ไม่มีตะกอน ตั้งให้เย็นจากนั้นนำไปกรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 42 โดยเทลงในขวดปรับปริมาตรขนาด 50 ml พร้อมกับปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นปราศจากไอออน และการย่อยตัวอย่างน้ำตะกอนดิน และผักกระเฉด จะทำการประยุกต์วิธีการย่อยจาก (Standard Method of the Examination of Water and Wastewater (APHA. 1975))

3.5 วิธีการวิเคราะห์โลหะหนัก

ตัวอย่างทั้งหมดจะทำการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง Atomic Absorption Spectrophotometer รุ่น 640Z ยี่ห้อ Varian โดยเทคนิคกราฟไฟต์ เพอร์เนสอะตอมมิกแอบซอร์พชัน (Graphite Furnace Atomic Absorption) โดยความสามารถของเครื่องวิเคราะห์ที่ต่ำที่สุดคือ ต่ำกว่า 0.025 µg/L

3.6 การวิเคราะห์ความเสี่ยง

การประเมินความเสี่ยงจากการบริโภคผักกระเฉดกรณีที่ได้รับโครเมียมในปริมาณที่มีอยู่นั้นอยู่ในเกณฑ์ที่มีความเสี่ยงต่อสุขภาพของผู้บริโภค หากได้รับเข้าสู่ร่างกายเป็นเวลานาน (พงษ์เทพ วิวรรณเดช. 2547) ดังสมการที่ 1

$$\text{Intake (mg/kg-day)} = \frac{\text{CF} \times \text{IR} \times \text{EF} \times \text{ED}}{\text{AT} \times \text{BW}}$$

CF คือ ปริมาณโครเมียมที่ปนเปื้อนในผักกระเฉด หน่วยเป็น มก. / กก. (mg. / kg)

IR คือ ปริมาณผักกระเฉดที่รับประทานในแต่ละมื้อ.หน่วยเป็นกก. / มื้อ (kg/meal)

EF คือความถี่ของการรับสัมผัส หน่วยเป็น มื้อ/ปี (meals/year)

ED คือ ระยะเวลาที่สัมผัส หน่วยเป็น ปี (year)

AT คือระยะเวลาที่ใช้ในการเฉลี่ย หน่วยเป็น วัน (day)

BW คือน้ำหนักตัว หน่วยเป็น กก. (Kg)

การอธิบายลักษณะของความเสี่ยงจากการบริโภคผักกระเฉดประเมินความเสี่ยงต่อสุขภาพของผลร้ายที่เกิดต่อสุขภาพ อธิบายได้โดยค่า Hazard Quotient (HQ) ซึ่งแสดงค่าสัดส่วนของตัวแปร (พงษ์เทพ วิวรรณเดช. 2547) ดังสมการที่ 2

$$\text{HQ} = \text{Daily Intake} / \text{RfD}$$

Daily Intake = ปริมาณสารเคมีที่เข้าสู่ร่างกาย (mg/kg-day)

RfD = Reference Dose (mg/kg-day)

ถ้าค่า HQ น้อยกว่าหรือเท่ากับ 1 แสดงว่าปริมาณสารเคมีที่ได้รับไม่มากพอที่จะก่อให้เกิดผลทางสุขภาพได้ หรือไม่มีความเสี่ยงอย่างมีนัยสำคัญ (No significant risk) แต่ถ้าค่า HQ มากกว่า 1 แสดงว่า ปริมาณสารเคมีที่ได้รับเกินค่ามาตรฐานหรือถือว่าอยู่ในระดับที่ไม่ปลอดภัยต่อสุขภาพมีความเสี่ยงต่อสุขภาพจากการสัมผัสสาร

การหาปริมาณที่สามารถบริโภคได้อย่างปลอดภัยต่อสัปดาห์ (Provisional Tolerable Weekly Intake) หรือค่า PTWI ดังสมการที่ 3

$$PTWI = \frac{TRV \times BW \times 7}{C_f}$$

PTWI คือ ปริมาณโครเมียมทั้งหมดที่ร่างกายได้รับอย่างปลอดภัย หน่วยเป็น กรัม/สัปดาห์

TRV คือ ปริมาณโครเมียมที่มนุษย์จะรับได้ (ค่า RfD) หน่วยเป็น มคก./กก./วัน

BW คือ น้ำหนักตัว หน่วยเป็น กก. (Kg)

C_f คือ ค่าเฉลี่ยของโครเมียมในผักกระเฉด

7 คือ จำนวนวัน / สัปดาห์

วิธีการคำนวณปริมาณโครเมียมในตะกอนดินและผักกระเฉด สามารถคำนวณได้ดังสมการ

สมการที่ 1 $\frac{\text{ความสัมพันธ์ที่วิเคราะห์ได้จากเครื่อง AAS} \times 50 \text{ ml (ปริมาตรน้ำตัวอย่างในการวิเคราะห์ AAS)}}{1,000}$

$$= \frac{\text{ปริมาณโครเมียม}}{50 \text{ ml}}$$

จากสมการที่ 1 ทำการวิเคราะห์ข้อมูลในรูปของปริมาณโครเมียมต่อน้ำหนักของตะกอนดินหรือผักกระเฉดดังสมการที่ 2

สมการที่ 2 $\frac{\text{ปริมาณโครเมียม} / 50 \text{ ml}}{\text{น้ำหนักของตะกอนดินหรือผักกระเฉดหลังจากอบแห้ง}}$

$$= \text{ปริมาณโครเมียม mg/kg (น้ำหนักตะกอนหรือผักกระเฉด)}$$

3.7 ระยะเวลาในการดำเนินการ

ขั้นตอนการดำเนินการ	ระยะเวลาดำเนินการ					
	มิ.ย.-ต.ค. 56	พ.ย. 56	ธ.ค. 56	ม.ค. 57	ก.พ. 57	พ.ค.-มิ.ย. 58
1. ศึกษาข้อมูล จัดทำโครงร่างพร้อมสอบ	↔					
2. แก้ไขโครงร่างหลังจากสอบเสร็จ		↔				
3. ลงมือเก็บตัวอย่าง			↔	↔		
4. วิเคราะห์ตัวอย่าง						↔
5. สรุปงานวิจัยเพื่อสอบจบ						↔

3.8 การวิเคราะห์ความสัมพันธ์ของโลหะหนักในน้ำ ตะกอนดิน และผักกระเฉด

ความสัมพันธ์ของโลหะหนักในน้ำ ตะกอนดิน และผักกระเฉด ใช้การวิเคราะห์ข้อมูลด้วยหลักการทางสถิติแบบสถิติการวิเคราะห์ความถดถอยเชิงเส้นอย่างง่าย (Simple linear regression) ด้วยโปรแกรม SPSS โดย Correlation กำหนดให้

P-Value คือ ค่าระดับนัยสำคัญทางสถิติ (กำหนดไว้ที่ระดับ 95 %)

R คือ ระดับความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปร