

บทที่ 3

วิธีการดำเนินการศึกษา

3.1 วิธีการดำเนินการศึกษา

3.1.1 วางแผนการทดลอง

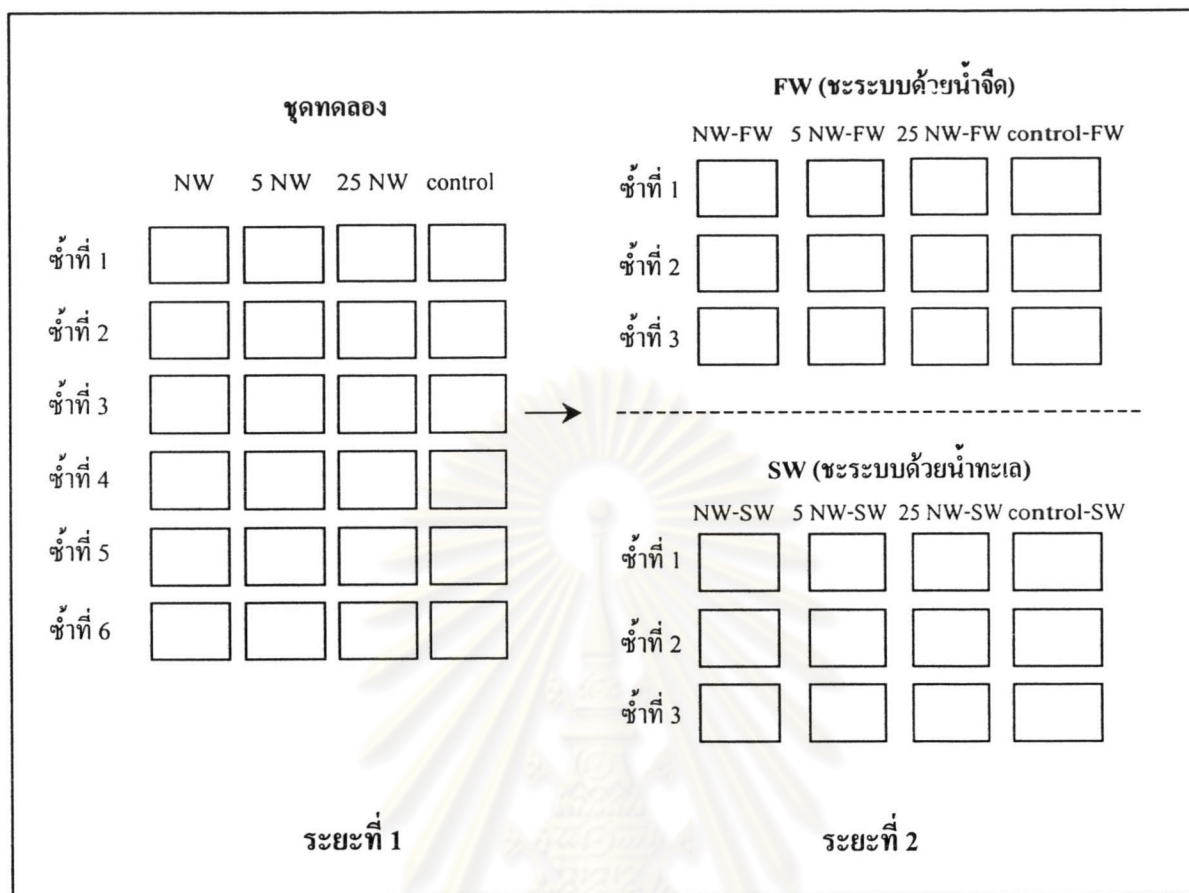
การทดลองแบ่งเป็น 2 ระยะ ดังนี้

ระยะที่ 1 การศึกษาความสามารถในการบำบัดน้ำเสียชุมชนของระบบพื้นที่ชุ่มน้ำเทียม และการสะสมธาตุอาหารไนโตรเจนและฟอสฟอรัสในระบบ โดยวางแผนการทดลองแบบ complete randomized design (CRD) ซึ่งมี 4 ชุดทดลอง คือ

- 1) ชุดทดลอง normal wastewater (NW) ใช้น้ำเสียสังเคราะห์ความเข้มข้นเท่ากับน้ำเสียชุมชนปกติ
- 2) ชุดทดลอง 5 NW ใช้น้ำเสียสังเคราะห์ความเข้มข้น 5 เท่าของน้ำเสียชุมชนปกติ
- 3) ชุดทดลอง 25 NW ใช้น้ำเสียสังเคราะห์ความเข้มข้น 25 เท่าของน้ำเสียชุมชนปกติ
- 4) ชุดควบคุม (control) ใช้น้ำจืด

โดยแต่ละชุดทดลองมี 6 ซ้ำ รวมเป็น 24 ชุดทดลอง (รูปที่ 3-1) ทำการทดลอง 9 ครั้ง โดยใช้ระยะเวลาพักเก็บน้ำเสีย 7 วัน และปล่อยให้แห้ง 3 วัน รวมระยะเวลาทั้งหมด 90 วัน

ระยะที่ 2 การศึกษาผลของการชะระบบที่ผ่านการใช้น้ำบำบัดน้ำเสียในระยะที่ 1 แล้วด้วยน้ำจืดเปรียบเทียบกับน้ำทะเล โดยวางแผนการทดลองแบบ randomized completely block design (RCBD) ซึ่งมีปัจจัยร่วม และมี block คือ การให้น้ำ 2 ประเภท คือ น้ำจืด และน้ำทะเล และความเข้มข้นของธาตุอาหารที่สะสมในชุดทดลอง คือ NW, 5 NW, 25 NW และ control โดยแบ่งชุดทดลองจากระยะที่ 1 เป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่ม freshwater (FW) (ชะระบบด้วยน้ำจืด) และกลุ่ม seawater (SW) (ชะระบบด้วยน้ำทะเล) แต่ละกลุ่ม ประกอบด้วยชุดทดลอง NW, 5 NW, 25 NW และ control ชุดละ 3 ซ้ำ รวม 12 ชุดทดลอง (รูปที่ 3-1) ทำการทดลอง 9 ครั้ง โดยมีระยะเวลาพักเก็บน้ำ 7 วัน และปล่อยให้แห้ง 3 วัน เหมือนกับระยะที่ 1 รวมระยะเวลาทั้งหมด 90 วัน

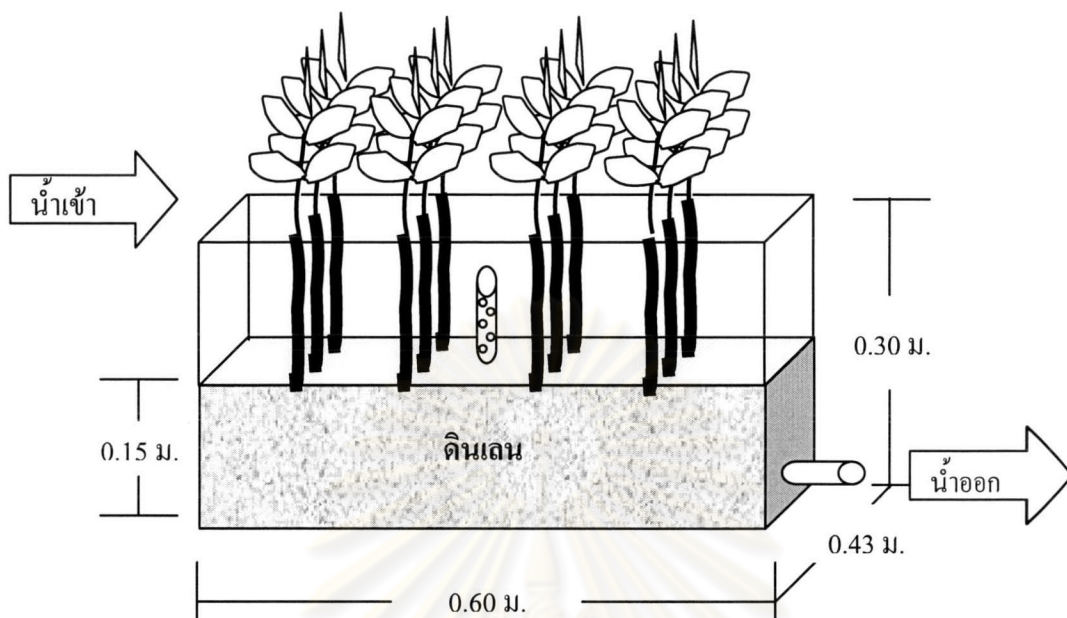


รูปที่ 3-1 แบบแสดงตำรับทดลองในการทดลองระยะที่ 1 และระยะที่ 2

3.1.2 การเตรียมระบบทดลอง

1) เตรียมกะบะพลาสติกขนาด 0.43 เมตร x 0.60 เมตร x 0.30 เมตร วางท่อ PVC ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 2 เซนติเมตร ซึ่งเจาะรูโดยรอบและหุ้มด้วยผ้ากรอง ที่กึ่งกลางกะบะ และเชื่อมต่อกับท่อน้ำออกด้านข้างกะบะ

2) ใส่ดินเลนสูงจากพื้นกะบะ 15 เซนติเมตร ปลุกกล้าไม้โกงกางใบใหญ่ 12 ต้น ด้วยระยะห่าง 15 เซนติเมตร x 15 เซนติเมตร ความหนาแน่นต่อพื้นที่เท่ากับ 12 ต้น ต่อ 0.528 ตารางเมตร (ประมาณ 47 ต้น ต่อ 1 ตารางเมตร) ดังรูปที่ 3-2



รูปที่ 3-2 ชุดทดลองที่ใช้ในการทดลอง

3.2 ขอบเขตการศึกษา

3.2.1 สถานที่วางชุดทดลอง

ชุดทดลองวางภายในเรือนต้นไม้ของหน่วยปฏิบัติการพฤกษนิเวศวิทยา ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

3.2.2 ห้องปฏิบัติการสำหรับวิเคราะห์ตัวอย่างน้ำ ดิน และพืช

ตัวอย่างทั้งหมดนำมาวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการสาขาวิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทั่วไป หน่วยปฏิบัติการเทคโนโลยีชีวภาพทางทะเล และหน่วยปฏิบัติการพฤกษนิเวศวิทยา

3.2.3 น้ำที่ให้แก่ระบบพื้นที่ชุ่มน้ำเทียม

3.2.3.1 น้ำเสีย

น้ำเสียชุมชนที่ใช้ในการทดลองเป็นน้ำเสียที่สังเคราะห์ขึ้นให้มีปริมาณที่เค็มน้ำและฟอสฟอรัสทั้งหมดใกล้เคียงกับในน้ำเสียชุมชนที่เข้าสู่ระบบบำบัดน้ำเสีย ในโครงการศึกษาวิจัยและพัฒนาสิ่งแวดล้อมแหลมผักเบี้ยอันเนื่องมาจากพระราชดำริ ตำบลแหลมผักเบี้ย อำเภอบ้านแหลม จังหวัดเพชรบุรี ซึ่งมีค่าที่เค็มน้ำประมาณ 15 mg l^{-1} และฟอสฟอรัสทั้งหมดประมาณ 5 mg l^{-1} (Boonsong et al., 2002; คูรายละเอียดยุทธศาสตร์ในภาคผนวก ข) โดยน้ำเสียทั้ง 3 ระดับจะมีความเข้มข้นของไนโตรเจนทั้งหมดและฟอสฟอรัสทั้งหมด ดังตารางที่ 3-1 ซึ่งการเตรียมใช้สารเคมีดังตารางที่ 3-2

ตารางที่ 3-1 ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดและฟอสฟอรัสทั้งหมดในน้ำเสียชุมชน 3 ระดับ

ระดับความเข้มข้น	NW	5 NW	25 NW
TKN (mg l^{-1})	15	75	375
TP (mg l^{-1})	5	25	125

ตารางที่ 3-2 สารเคมีสำหรับเตรียมน้ำเสียชุมชนสังเคราะห์ 3 ระดับ

สารเคมีที่ใช้ (mg l^{-1})	NW	5 NW	25 NW
กลูโคส ($\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$)	43	215	1,075
ยูเรีย (NH_2CONH_2)	32.145	160.725	803.625
โพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (KH_2PO_4)	21.95	109.75	548.75
แมกนีเซียมซัลเฟตเซปตะไฮเดรต ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)	31.25	31.25	31.25
เฟอริกไทรคลอไรด์ (FeCl_3)	1	1	1
แคลเซียมไดไฮดรอกไซด์ (Ca(OH)_2)	85	85	85

ที่มา : ดัดแปลงจาก ชฎารัตน์ อนันต์ (2540)

3.2.2.2 น้ำจืด

น้ำจืดใช้น้ำประปา

3.2.2.3 น้ำทะเล

น้ำทะเล ใช้น้ำทะเลความเข้มข้นสูงจากนาเกลือจังหวัดสมุทรสาคร ซึ่งมีความเค็มประมาณ 110-130 psu มาเจือจางด้วยน้ำประปาให้มีความเค็ม 15 psu

การให้น้ำแก่ระบบพื้นที่ชุ่มน้ำเทียมในการทดลองทั้ง 2 ระยะ ให้น้ำแก่ชุดทดลองครั้งละ 20 ลิตร

3.2.4 ดินที่ใช้ในการทดลอง

ดินที่ใช้ในการทดลองเป็นดินเลนจากพื้นที่โครงการศึกษาวิจัยและพัฒนาสิ่งแวดล้อมแหลมผักเบี้ยอันเนื่องมาจากพระราชดำริ

3.2.5 พืชที่ใช้ในการทดลอง

กล้าไม้ที่ใช้ในการทดลอง คือ โกงกางใบใหญ่ (*Rhizophora mucronata*) จากสถานีพัฒนาทรัพยากรป่าชายเลนที่ 6 ตำบลบางขุนไทร อำเภอบ้านแหลม จังหวัดเพชรบุรี อายุ 7 เดือน นำมาปลูกในชุดทดลอง เลี้ยงกล้าไม้ด้วยน้ำทะเลก่อนการทดลอง 5 เดือน และเริ่มทำการทดลองเมื่อกกล้าไม้อายุ 12 เดือน

3.3 การศึกษาคุณภาพน้ำ

ศึกษาคุณภาพน้ำทางกายภาพและเคมี โดยเก็บตัวอย่างน้ำเข้าและน้ำออกทุกครั้งของการทดลอง โดยน้ำเข้าเก็บตัวอย่างน้ำจากถังสำรองน้ำปริมาตร 150 ลิตร และน้ำออกเก็บตัวอย่างจากปลายท่อน้ำออกของทุกชุดทดลองใส่ขวดพลาสติก PET (polyethylene terephthalate) ขนาด 500 ลูกบาศก์เซนติเมตร เพื่อนำไปวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ โดยมีพารามิเตอร์และวิธีวิเคราะห์แสดงในตารางที่ 3-3 โดยนำข้อมูลน้ำเข้าและน้ำออกของบีโอดี ทีเคเอ็น และฟอสฟอรัสทั้งหมดของชุดทดลองที่ได้รับน้ำเสีย NW, 5 NW และ 25 NW มาคำนวณเปอร์เซ็นต์การบำบัดดังสมการที่ 3-1

$$\text{เปอร์เซ็นต์การบำบัด} = \frac{\text{น้ำออก} - \text{น้ำเข้า}}{\text{น้ำเข้า}} \times 100 \quad (3-1)$$

3.4 การศึกษาสมบัติดิน

ศึกษาสมบัติดินทั้งทางกายภาพและเคมีของดิน โดยเก็บตัวอย่างดินในการทดลองทั้ง 2 ระยะ ดังนี้ คือ ระยะที่ 1 เก็บตัวอย่างดินก่อนการทดลอง และหลังการทดลองครั้งที่ 9 ส่วนระยะที่ 2 เก็บตัวอย่างดินหลังการทดลองครั้งที่ 3, 6 และ 9 โดยเก็บตัวอย่างดินผิวน้ำ (ลึก 0-5 เซนติเมตร) ประมาณ 500 กรัม จากทุกชุดทดลอง เพื่อนำมาวิเคราะห์หาไนโตรเจนที่เป็นประโยชน์ต่อพืชทันที ส่วนดินที่เหลือนำมาผึ่งแห้งในที่ร่ม (air-dry) จากนั้นนำมาบดและร่อนด้วยตะแกรง (sieve) ขนาด 2.0 มิลลิเมตร เพื่อวิเคราะห์หาความเป็นกรด-ด่าง ความเค็ม และการนำไฟฟ้า และร่อนผ่านตะแกรงขนาด 0.5 มิลลิเมตร เพื่อนำไปวิเคราะห์องค์ประกอบธาตุอาหารต่อไป

สำหรับพารามิเตอร์และวิธีการวิเคราะห์แสดงในตารางที่ 3-4

ตารางที่ 3-3 พารามิเตอร์และวิธีวิเคราะห์คุณภาพน้ำ

พารามิเตอร์	วิธีวิเคราะห์
1. ความเป็นกรด-ด่าง (pH)	ตรวจวัดภาคสนาม โดย pH meter
2. ความเค็ม (salinity)	ตรวจวัดภาคสนาม โดย YSI instrument model 55
3. การนำไฟฟ้า (conductivity)	ตรวจวัดภาคสนาม โดย YSI instrument model 55
4. ออกซิเจนละลาย (DO)	azide modification method (AWWA, 1998)
5. บีโอดี (BOD)	5-day BOD test (AWWA, 1998)
6. ไนโตรเจนทั้งหมด (total nitrogen)	Kjeldahl method (AWWA, 1998)
7. แอมโมเนีย (ammonia)	titrimetric method (AWWA, 1998)
8. ไนไตรท์ (nitrite)	colorimetric method (Parson et al., 1989)
9. ไนเตรท (nitrate)	cadmium reduction (Parson et al., 1989)
10. ฟอสฟอรัสทั้งหมด (total phosphorus)	perchloric digestion, follow by ascorbic acid method (Strickland and Parson, 1972)
11. ออร์โธฟอสเฟต (orthophosphate)	ascorbic acid (Strickland and Parson, 1972)

ตารางที่ 3-4 พารามิเตอร์และวิธีวิเคราะห์สมบัติดิน

พารามิเตอร์	วิธีวิเคราะห์
1. ความเป็นกรด-ด่าง (pH)	1 : 5 soil : water extract (Jackson, 1958)
2. ความเค็ม (salinity)	1 : 5 soil : water extract (Jackson, 1958)
3. การนำไฟฟ้า (conductivity)	1 : 5 soil : water extract (Jackson, 1958)
4. ไนโตรเจนทั้งหมด (total nitrogen)	Kjeldahl method (Tan, 1996)
5. ไนโตรเจนที่เป็นประโยชน์ต่อพืช (available nitrogen)	extracted with KCl at 1:4 ratio, follow by steam distillation (Black, 1965)
6. ฟอสฟอรัสทั้งหมด (total phosphorus)	perchloric acid method (Jackson, 1975)
7. ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ต่อพืช (available phosphorus)	Bray II (Jackson, 1960)

3.5 การศึกษาการเจริญเติบโตและองค์ประกอบธาตุอาหารของพืช

การศึกษาการเจริญเติบโตและองค์ประกอบธาตุอาหารของพืช ทำการศึกษาในระยะเวลาเดียวกับการศึกษาสมบัติดิน โดยศึกษา

1) ศึกษาการเจริญเติบโตของพืช โดยทำการบันทึกการเจริญเติบโตทางด้านความสูง เส้นผ่าศูนย์กลาง และจำนวนใบของพืชทุกต้นในระบบ

2) ศึกษาองค์ประกอบธาตุอาหารของพืช โดยเก็บตัวอย่างใบที่ตัดจากปลายยอดลงมาและอยู่ในกิ่งที่ออกจากลำต้นโดยตรง ของกล้าไม้ทุกต้นประมาณ 100-200 กรัม จากนั้นนำมาผึ่งแห้งในที่ร่ม และนำมาบดให้ละเอียดด้วยเครื่องบดตัวอย่าง ร่อนผ่านตะแกรงขนาด 0.5 มิลลิเมตร และอบที่อุณหภูมิ 65-70 °C เป็นระยะเวลา 48 ชั่วโมง

สำหรับพารามิเตอร์และวิธีวิเคราะห์ แสดงในตารางที่ 3-5

ตารางที่ 3-5 พารามิเตอร์และวิธีวิเคราะห์พืช

พารามิเตอร์	วิธีวิเคราะห์
การเจริญเติบโตของพืช 1. ความสูง 2. เส้นผ่าศูนย์กลาง (ที่ระดับ 0 และ 15 เซนติเมตร จากผิวดิน) 3. การแตกยอด	วัดความสูงโดยไม้เมตร คาลิเปอร์ (caliper) นับจำนวนใบ
ธาตุอาหารในพืช 1. ไนโตรเจนทั้งหมด (total nitrogen) 2. ฟอสฟอรัสทั้งหมด (total phosphorus)	Kjeldahl method (Jackson, 1973) nitric and perchloric digestion, follow by ammonium metavanadate (ประสิด ธรรมเขต, 2540 อ้างตาม Reuter and Robinson, 1986)

3.6 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

- 1) หาค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของทุกชุดข้อมูล
- 2) วิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างคุณภาพน้ำที่เข้าและน้ำออกจากชุดทดลองด้วย pair t-test ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05
- 3) เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของการทดลองแต่ละครั้ง ด้วยการวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบจำแนกทางเดียว (one-way analysis of variance : one-way ANOVA) ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 และถ้าข้อมูลแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วย Duncan's new multiple range test (DMRT)
- 4) การทดลองระยะที่ 1 เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ย ด้วย one-way ANOVA ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 และถ้าข้อมูลแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วย DMRT
- 5) การทดลองระยะที่ 2 เปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างคุณภาพของน้ำจืดและน้ำทะเลที่ใช้ระบบ ด้วย one-way ANOVA ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 คุณภาพน้ำออก สมบัติดิน และการเจริญเติบโตและองค์ประกอบธาตุอาหารของพืชระหว่างชุดทดลอง เปรียบเทียบความแตกต่างด้วย one-way ANOVA ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 และถ้าข้อมูลแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วย DMRT