

## บทนำ

พื้นที่ชายฝั่งทะเลภาคตะวันออกของไทยได้ถูกกำหนดให้เป็นเขตอุตสาหกรรมที่สำคัญของประเทศ มีเขตอุตสาหกรรมที่สำคัญสองแห่งด้วยกัน คือ นิคมอุตสาหกรรมแหลมฉบัง จังหวัดชลบุรี และนิคมอุตสาหกรรมมาบตาพุด จังหวัดระยอง โดยนิคมอุตสาหกรรมแหลมฉบัง กำหนดให้เป็นศูนย์รวมอุตสาหกรรมแห่งใหม่ของจังหวัดชลบุรีตั้งอยู่ที่ตำบลแหลมฉบัง อำเภอกะป้อ จังหวัดชลบุรี เป็นที่ตั้งท่าเรือพาณิชย์หลัก สำหรับการขนถ่ายสินค้าประเภทบรรจุภัณฑ์ (คอนเทนเนอร์) มีเขตนิคมอุตสาหกรรมเพื่อการส่งออก ประเภทไฟฟ้าและอิเล็กทรอนิกส์ อุตสาหกรรมยานยนต์ โทรทัศน์และวิดีโอ และอุตสาหกรรมที่ไม่มีปัญหาด้านสิ่งแวดล้อม ส่วนนิคมอุตสาหกรรมมาบตาพุด ตั้งอยู่ที่ตำบลมาบตาพุด อำเภอกาญจนบุรี จังหวัดระยอง เป็นที่ตั้งของอุตสาหกรรมหนักที่สำคัญบริเวณชายฝั่งทะเลภาคตะวันออก มุ่งเน้นพัฒนาอุตสาหกรรมที่ใช้แก๊สธรรมชาติเป็นพื้นฐานในการผลิต และอุตสาหกรรมที่ใช้แรงงานมาก ประกอบด้วยอุตสาหกรรมที่สำคัญ ได้แก่ โรงแยกก๊าซธรรมชาติ อุตสาหกรรมปิโตรเคมี อุตสาหกรรมปุ๋ยเคมี อุตสาหกรรมโรงกลั่นน้ำมัน อุตสาหกรรมประเภทเหล็ก และผลิตภัณฑ์จากเหล็ก เป็นต้น นอกจากนี้ในพื้นที่มาบตาพุดและอำเภอกาญจนบุรียังมีเขตอุตสาหกรรมอื่นรวมอยู่ด้วย ได้แก่ นิคมอุตสาหกรรมตะวันออก นิคมอุตสาหกรรมผาแดง สวนอุตสาหกรรมระยองอินดัสเตรียลพาร์ค สวนอุตสาหกรรมมาบตาพุด กลุ่มอุตสาหกรรมเครือเจริญโภคภัณฑ์ เขตประกอบอุตสาหกรรมมาบตาพุด TPI รวมทั้งโรงงานอื่นๆที่ตั้งอยู่นอกเขตอุตสาหกรรม และชายฝั่งยังมีท่าเรือน้ำลึกเพื่อใช้ในขนถ่ายสินค้าอีกด้วย ซึ่งนิคมอุตสาหกรรมต่างๆดังกล่าวนี้ล้วนเป็นแหล่งกำเนิดมลพิษสำคัญต่างๆที่ปล่อยลงสู่ทะเล

โลหะหนักเป็นสารมลพิษชนิดหนึ่งที่น่าสนใจใช้ประโยชน์ในกิจกรรมของโรงงานอุตสาหกรรมต่างๆเพื่อผลิตสิ่งอำนวยความสะดวกต่อการดำรงชีวิต ทำให้หน้าที่ของโรงงานอุตสาหกรรมมีโลหะหนักเจือปนอยู่ ถึงแม้ว่าโลหะหนักจะมีประโยชน์มากก็ตามแต่ก็มีโทษมหาศาลเพราะมีความเป็นพิษสูงต่อสิ่งมีชีวิต ทั้งนี้เนื่องจากโลหะหนักเป็นสารที่คงตัวไม่สามารถที่จะสลายตัวได้โดยกระบวนการธรรมชาติ แต่สะสมได้ในน้ำ ดินตะกอน ตลอดจนสิ่งมีชีวิต และถ้ามีปริมาณความเข้มข้นสูงมากๆ ก็จะทำให้เกิดอันตรายต่อสัตว์น้ำที่อาศัยอยู่บริเวณนั้น ตลอดจนผู้น้ำสัตว์น้ำนั้นๆ มาบริโภคอีกด้วย การตรวจติดตามสภาพแวดล้อมชายฝั่งทะเลจึงเป็นเรื่องสำคัญและจำเป็นที่ทุกหน่วยงานควรต้องให้ความสนใจเพื่อจะได้เข้าใจถึงสถานการณ์สภาพแวดล้อมในปัจจุบัน และปัญหาที่อาจเกิดขึ้นได้ในอนาคต อันจะเป็นประโยชน์ในการหาแนวทางป้องกันหรือจัดการปัญหาได้ทันเหตุการณ์และเป็นไปอย่างมีประสิทธิภาพเพื่อคุณภาพสิ่งแวดล้อมและคุณภาพชีวิตที่ดีขึ้น ซึ่งการตรวจติดตามสภาพแวดล้อมตลอดจนมลพิษทางทะเลต่างๆจำเป็นต้องมีการดำเนินการอย่างต่อเนื่องเป็นประจำทุกกระยะด้วย

สำหรับการตรวจติดตามมลพิษทางทะเลโดยเฉพาะโลหะหนักในชายฝั่งทะเลภาคตะวันออกที่ผ่านมานั้นมีการตรวจติดตามทั้งในน้ำทะเล ดินตะกอน และสิ่งมีชีวิต (แหวดตา ทองระอาและคณะ, 2549 และ 2552) แต่เนื่องจากการตรวจวิเคราะห์โลหะหนักในน้ำทะเลนั้น มีขั้นตอนค่อนข้างยุ่งยาก

และมีข้อจำกัดโดยเฉพาะที่ระดับความเข้มข้นต่ำๆซึ่งมักพบเสมอในน้ำทะเลทำให้วัดไม่ค่อยได้ อีกทั้งปริมาณโลหะหนักในน้ำทะเลยังมีการเปลี่ยนแปลงตามการขึ้นลงของน้ำ (tidal cycle) การไหลบ่าของน้ำจืดจากแผ่นดิน ฤดูกาล และปัจจัยอื่นๆอีกด้วย (Pujol, 2007) ส่วนโลหะหนักในดินตะกอนนั้นเนื่องจากดินตะกอนสามารถสะสมสารมลพิษหรือโลหะหนักได้ในปริมาณสูงจึงไม่ค่อยมีปัญหาในเรื่องการตรวจวิเคราะห์ แต่ก็ยังพบปัญหาเนื่องจากการสะสมโลหะหนักในดินตะกอนขึ้นอยู่กับคุณลักษณะของดินตะกอน ประกอบกับการตรวจวิเคราะห์โลหะหนักทั้งในน้ำและดินตะกอนนั้น ปริมาณโลหะหนักที่ตรวจวัดได้เป็นปริมาณโลหะรวม (total metal) ซึ่งไม่ใช่ปริมาณโลหะหนักในรูปที่สามารถเข้าสู่สิ่งมีชีวิตได้ หรือ bioavailable metal และหากต้องการหา chemical species ของโลหะในน้ำและดินตะกอนจะมีขั้นตอนที่ยุ่งยากและเสียเวลามาก ดังนั้นการตรวจติดตามปัญหาการปนเปื้อนโลหะหนักในน้ำและดินตะกอนเพื่อบ่งชี้ถึงผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมจึงอาจยังไม่เหมาะสมนัก ในปัจจุบันจึงมีการพิจารณาใช้ทางเลือกอื่นในการตรวจติดตามปัญหาการปนเปื้อนของสารมลพิษโดยใช้สิ่งมีชีวิตแทนเนื่องจากปริมาณโลหะหนักที่ตรวจวัดได้ในสิ่งมีชีวิตเป็นโลหะหนักในรูปของ bioavailable metal ซึ่งเป็นปริมาณที่บ่งบอกถึงผลกระทบต่อสิ่งมีชีวิตได้โดยตรง อย่างไรก็ตามการเลือกสิ่งมีชีวิตที่จะใช้เป็นตัวแทนในการติดตามตรวจสอบนั้นควรเป็นชนิดที่มีความเหมาะสมซึ่งเมื่อนำมาตรวจวิเคราะห์แล้วความเข้มข้นที่พบในตัวสิ่งมีชีวิตนั้นจะสอดคล้องหรือเป็นไปในทิศทางเดียวกับความเข้มข้นที่พบในสภาพแวดล้อมนั้นๆได้ดี

สัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังในทะเลบางชนิด เช่น ฟองน้ำและหอยสองฝา มีคุณสมบัติที่สำคัญหลายประการในการเป็นดัชนีชี้วัดการปนเปื้อนโลหะหนักในสิ่งแวดล้อมทางทะเล แต่จากรายงานการวิจัยหลายฉบับพบว่ามีการใช้ฟองน้ำทะเลมาเป็นดัชนีชี้วัดทางชีวภาพในการติดตามตรวจสอบสารมลพิษทางทะเล (Pan et. al, 2001; Venkateswara Rao et. al, 2006; Venkateswara Rao et. al, 2009) เนื่องจากฟองน้ำทะเลเป็นสิ่งมีชีวิตที่เกาะติดอยู่กับที่ และกินอาหารโดยการกรองผ่านลำตัวของมัน ส่งผลให้ฟองน้ำสามารถสะสมสารมลพิษต่าง ๆ รวมถึงโลหะหนักที่ปนเปื้อนอยู่ในน้ำทะเลไว้ในร่างกายได้ (Verdenal et al. 1990) อีกทั้งฟองน้ำทะเลพบได้ทั่วไปบริเวณชายฝั่งทะเล มีความทนทานต่อการเปลี่ยนแปลงของสิ่งแวดล้อม มีอายุยืนยาว ไม่ค่อยมีศัตรู ในขณะที่หอยสองฝาถึงแม้จะอยู่กับที่ แต่ก็มักจะมีศัตรูรบกวนเนื่องจากเป็นอาหารของมนุษย์ และมีช่วงชีวิตที่สั้นกว่า ดังนั้นการใช้ฟองน้ำทะเลเป็นตัวแทนสิ่งมีชีวิตที่ใช้ในการตรวจติดตามปัญหามลพิษทางทะเลจึงน่าจะมีความเหมาะสมมากกว่าสัตว์ทะเลชนิดอื่น ประกอบกับการศึกษาปัญหามลพิษทางทะเลโดยใช้ฟองน้ำทะเลยังไม่พบว่ามีการศึกษามาก่อนในประเทศไทย ด้วยเหตุนี้คณะผู้วิจัยจึงได้ให้ความสนใจในการศึกษาเรื่องดังกล่าว

### วัตถุประสงค์ของแผนงานวิจัย

เพื่อศึกษาการใช้ฟองน้ำทะเลเป็นดัชนีชี้วัดทางชีวภาพตัวใหม่ในการตรวจติดตามมลพิษจากโลหะหนักบริเวณชายฝั่งทะเลภาคตะวันออกของไทย

## ขอบเขตการวิจัย

แผนงานวิจัยนี้ ประกอบด้วยโครงการวิจัยย่อย 2 โครงการ คือ

1. โครงการวิจัย เรื่อง คุณภาพสิ่งแวดล้อมในถิ่นอาศัยของฟองน้ำทะเลบริเวณชายฝั่งทะเลภาคตะวันออกของไทย (นายอาวุธ หมั่นหาผล หัวหน้าโครงการ) ซึ่งในโครงการวิจัยเรื่องนี้มีการศึกษาสำรวจคุณภาพสิ่งแวดล้อมในบริเวณถิ่นที่อยู่อาศัยของฟองน้ำทะเลและข้อมูลความหลากหลายทางชีวภาพของฟองน้ำทะเล รวมทั้งศึกษาความอุดมสมบูรณ์ของอาหารของฟองน้ำทะเล อันได้แก่ ประชากรแพลงก์ตอนพืช โดยดำเนินการเก็บตัวอย่างไปพร้อมๆกันกับโครงการวิจัยแรก

2. โครงการวิจัย เรื่อง การติดตามการสะสมของโลหะหนักในฟองน้ำทะเลบริเวณชายฝั่งทะเลภาคตะวันออกของไทย (นางสาวฉลวย มุสิก๊ะ หัวหน้าโครงการ) ซึ่งในโครงการวิจัยเรื่องนี้มีการเก็บรวบรวมตัวอย่างฟองน้ำทะเลในธรรมชาติมาวิเคราะห์หาการปนเปื้อนโลหะหนัก ได้แก่ แคดเมียม ทองแดง เหล็ก โปรท นิเกิล ตะกั่ว และสังกะสี รวมทั้งทำการตรวจวิเคราะห์หาโลหะหนักในน้ำทะเลและดินตะกอนในบริเวณเดียวกันเพื่อการเปรียบเทียบกันด้วย เพื่อนำข้อมูลมาสรุปให้ได้ว่าการใช้ฟองน้ำทะเลมีความเหมาะสมเพียงใดในการเป็นตัวบ่งชี้ทางชีวภาพ

พื้นที่ศึกษาแบ่งออกเป็น 3 บริเวณ ได้แก่ เขตอนุรักษ์ทรัพยากรธรรมชาติ หมู่เกาะมัน เขตอุตสาหกรรมและท่าเรือ เกาะสะเก็ด จังหวัดระยอง และเขตอุตสาหกรรมและท่าเรือ หมู่เกาะสีชัง จังหวัดชลบุรี

ระยะเวลาทำการศึกษา 2 ปี คือ ตุลาคม พ.ศ. 2557 – กันยายน พ.ศ. 2559 (ปีนี้ในปีที่ 1) และเก็บตัวอย่างปีละ 3 ครั้ง

## แนวความคิดที่นำมาใช้ในการวิจัย

แนวความคิดของแผนงานวิจัยนี้ คือ มีความเป็นไปได้ที่จะใช้ฟองน้ำทะเลซึ่งมีความหลากหลายของชนิดมากในชายฝั่งทะเลภาคตะวันออกมาใช้ประโยชน์ในการตรวจติดตามมลพิษทางทะเลโดยเฉพาะโลหะหนักเพื่อเป็นดัชนีที่จะชี้ให้เห็นถึงผลกระทบจากการพัฒนาเศรษฐกิจและอุตสาหกรรมในพื้นที่ดังกล่าวตามทฤษฎีหรือองค์ความรู้ที่มีการศึกษากันมากในต่างประเทศที่มีการใช้ฟองน้ำทะเลมาเป็นดัชนีชี้วัดดังกล่าวข้างต้น แต่ประเทศไทยยังขาดข้อมูลและองค์ความรู้เกี่ยวกับเรื่องนี้อยู่มากทั้งๆที่ฟองน้ำทะเลในประเทศไทยมีความหลากหลายของชนิดค่อนข้างมาก และบางชนิดมีประโยชน์ในการเป็นยารักษาโรค ในขณะที่เดียวกันสถานการณ์ทางสิ่งแวดล้อมทางทะเลบริเวณชายฝั่งทะเลภาคตะวันออกมีการเปลี่ยนแปลงอยู่ตลอดเวลา การพัฒนาอุตสาหกรรมกำลังเติบโตอย่างมากในพื้นที่ชายฝั่งทะเลภาคตะวันออก ทำให้มีการตกค้างของโลหะหนักในสิ่งแวดล้อมทางทะเลเพิ่มขึ้นในบางบริเวณและบางฤดูกาล อันเป็นผลมาจากการพัฒนาพื้นที่ชายฝั่งทะเลอย่างต่อเนื่องจึงมีความจำเป็นต้องมีการศึกษาวิจัยเพื่อหาสิ่งมีชีวิตที่มีความเหมาะสมเพื่อใช้เป็นดัชนีทางชีวภาพในการติดตามตรวจสอบสารมลพิษต่างๆ โดยสามารถสะท้อนให้เห็นถึงปัญหาที่แท้จริงของ มลพิษทางทะเลในพื้นที่นั้น

## ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ได้องค์ความรู้ใหม่ของไทยเกี่ยวกับเรื่องของฟองน้ำทะเลกับความสามารถในการสะสมโลหะหนัก โดยคาดหวังว่าฟองน้ำทะเลจะเป็นทางเลือกใหม่ที่เหมาะสมในการใช้ติดตามตรวจสอบการปนเปื้อนโลหะหนักในสิ่งแวดล้อมทางทะเลแทนที่จะตรวจสอบในน้ำทะเล หรือดินตะกอน ซึ่งค่อนข้างแปรปรวนตลอดเวลาขึ้นกับปัจจัยสิ่งแวดล้อม ส่วนในสัตว์ทะเลชนิดอื่น เช่น หอย ปู ปลา เนื่องจากมีอายุสั้นและถูกจับไปเป็นอาหาร ในขณะที่ฟองน้ำทะเลเป็นสัตว์ที่เกาะติดกับที่ มีการกรองน้ำผ่านตัวตลอดเวลา ศัตรูน้อย โอกาสที่โลหะหนักถูกสะสมในตัวจึงมีความเป็นไปได้ค่อนข้างสูง
2. การวิจัยต่อยอดในการประยุกต์การใช้ประโยชน์จากฟองน้ำทะเลในการฟื้นฟูและบำบัดสิ่งแวดล้อม

## การทบทวนเอกสารที่เกี่ยวข้อง

ฟองน้ำเป็นสัตว์ทะเลไม่มีกระดูกสันหลัง จัดอยู่ในไฟลัม Porifera ซึ่งเป็นไฟลัมที่มีวิวัฒนาการต่ำที่สุดในกลุ่มของสัตว์หลายเซลล์ เป็นสัตว์เกาะติดอยู่กับที่ตามพื้นทะเล (sessile animals) พบได้ทั่วไปตามชายฝั่งทะเล ทั้งหาดหิน หาดทราย แหล่งหญ้าทะเลและแนวปะการัง โดยการเกาะติดอยู่กับที่ตามพื้นทะเล อยู่รวมกันเป็นโคโลนี ลักษณะลำตัวเป็นรูพรุนจากการเรียงตัวกันของเซลล์แบบหลวมๆ ไม่มีเนื้อเยื่อที่แท้จริง สืบพันธุ์ได้ทั้งแบบอาศัยเพศและไม่อาศัยเพศ กินอาหารด้วยการกรองน้ำทะเลผ่านทางท่อน้ำขนาดเล็ก (ostium) ที่กระจายอยู่ทั่วลำตัว โดยอาศัยการพัดโบกของเซลล์พิเศษ (choanocytes) ที่ทำหน้าที่จับอาหารและออกซิเจน น้ำที่ผ่านการกรองแล้วจะไหลออกทางท่อน้ำออก (osculum) ซึ่งมักมีท่อเดียวขนาดใหญ่ โดยสามารถกรองน้ำทะเลได้มากกว่าปริมาตรตัวเองถึงสิบเท่าภายในหนึ่งชั่วโมง และทำงานต่อเนื่องตลอดเวลา จึงมีบทบาทสำคัญในระบบนิเวศทางทะเลในแง่การปรับปรุงคุณภาพน้ำให้ใสสะอาด เปรียบเสมือนกับเครื่องกรองน้ำทางชีวภาพที่สำคัญ (สุเมตต์ ปุณณาการ และสุชา มั่นคงสมบูรณ์, 2550.)

เนื่องจากฟองน้ำกินอาหารโดยการกรอง และจะเกาะติดอยู่กับที่ตามพื้นทะเล ทำให้ฟองน้ำสัมผัสกับน้ำทะเลในธรรมชาติมากกว่าสัตว์หลายเซลล์ในไฟลัมอื่น ๆ (Vogel 1977) หากน้ำทะเลมีการปนเปื้อนจากสารมลพิษ เช่น โลหะหนัก ฟองน้ำจะสามารถสะสมโลหะหนักที่ละลายหรือแขวนลอยในน้ำทะเลโดยการกรองผ่านลำตัว (Verdenal et al. 1990) คุณสมบัติที่สำคัญของฟองน้ำในข้อนี้ และคุณสมบัติอื่น ๆ เช่น การเป็นสัตว์หลายเซลล์ที่มีวิวัฒนาการต่ำสุด มีโครงสร้างของร่างกายและกระบวนการต่าง ๆ โดยเฉพาะการป้องกันตัวจากมลพิษสิ่งแวดล้อมที่ไม่ซับซ้อน (Müller and Müller 1998) เป็นสัตว์หลายเซลล์ที่พบมากที่สุดบนพื้นทะเลในแง่ของชนิดและปริมาณ (Sarà and Vacelet 1973) และมีความสามารถในการสะสมโลหะหนักไว้ในตัวโดยการเพาะเลี้ยงและทดสอบในห้องปฏิบัติการ (Hansen et al. 1995) ทำให้มีการใช้ฟองน้ำทะเล เช่น *Suberites domuncula* (demosponge หรือฟองน้ำถูตัว) เป็นดัชนีทางชีวภาพในการตรวจสอบการปนเปื้อน

ของสารโลหะหนัก เช่น แคดเมียมและสังกะสี ในธรรมชาติ (Müller et al. 1998; Müller and Müller 1998)

ในประเทศไทยยังไม่เคยมีรายงานการใช้ฟองน้ำทะเลเป็นดัชนีทางชีวภาพในการบ่งชี้การปนเปื้อนของสารมลพิษทางทะเล งานวิจัยส่วนใหญ่จะนิยมใช้หอยสองฝาเป็นดัชนีทางชีวภาพในการบ่งชี้การปนเปื้อนของโลหะหนัก เช่น การใช้โปรตีนที่จับกับโลหะหนักเป็นตัวบ่งชี้การปนเปื้อนของปรอทในหอยแมลงภู่ (จินดา ป่าสนธ์ 2546) เป็นต้น ฟองน้ำทะเลเมื่อมีการสัมผัสกับโลหะหนักบางชนิด เช่น แคดเมียม สังกะสี และปรอท จะก่อให้เกิดพิษทางพันธุกรรม โดยสามารถตรวจวัดได้จากตัวบ่งชี้ที่สำคัญ ได้แก่ ความเสียหายของดีเอ็นเอ การแสดงออกของโปรตีนที่จับกับโลหะหนัก (metal-binding proteins) และการแสดงออกของโปรตีนที่ถูกกระตุ้นโดยความร้อน (heat-shock proteins) (Bauman et al. 1993; Ganguly et al. 1996) เป็นต้น

## วิธีดำเนินการวิจัย

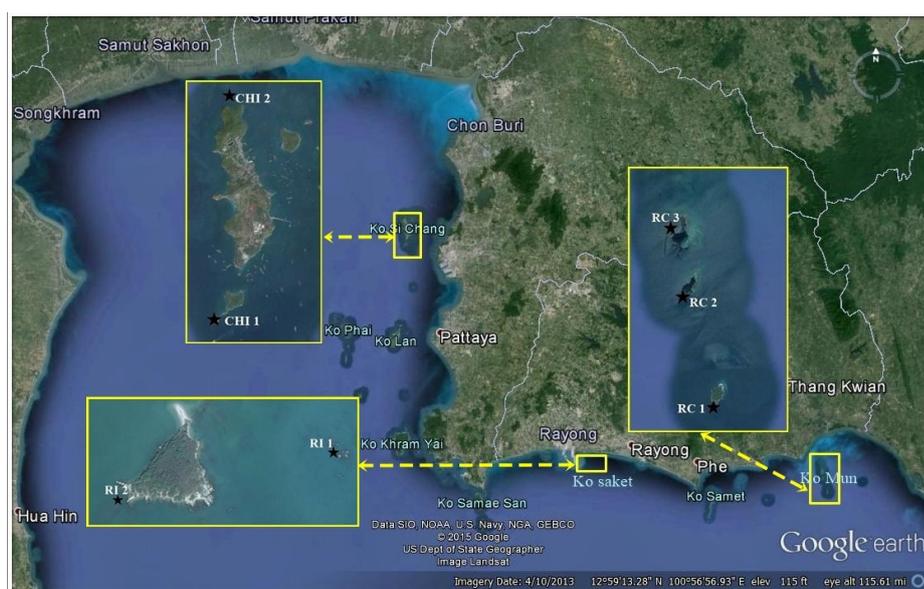
### 1. การกำหนดสถานีเก็บตัวอย่างและระยะเวลาเก็บตัวอย่าง

กำหนดสถานีเก็บตัวอย่างไว้ 3 พื้นที่ คือ หมู่เกาะสีชัง จังหวัดชลบุรี เกาะสะเก็ด และหมู่เกาะมัน จังหวัดระยอง โดยเก็บตัวอย่างพื้นที่ละ 2-3 สถานี ขึ้นอยู่กับแหล่งที่อยู่อาศัยของฟองน้ำทะเล รวมทั้งสิ้น 7 สถานี ดังแสดงในตารางที่ 1 และ ภาพที่ 1 และในแต่ละพื้นที่กำหนดเก็บตัวอย่างปีละ 3 ครั้ง สำหรับในปี พ.ศ. 2557 ได้เก็บตัวอย่างในเดือนมกราคม ตุลาคม และ ธันวาคม ดังนี้

- หมู่เกาะมัน วันที่ 20 มกราคม 6 ตุลาคม และ 15 ธันวาคม พ.ศ. 2557
- เกาะสะเก็ด วันที่ 21 มกราคม 7 ตุลาคม และ 16 ธันวาคม พ.ศ. 2557
- หมู่เกาะสีชัง วันที่ 22 มกราคม 9 ตุลาคม และ 24 ธันวาคม พ.ศ. 2557

**ตารางที่ 1** สถานีสำรวจและเก็บตัวอย่างฟองน้ำทะเล น้ำทะเลและดินตะกอนบริเวณชายฝั่งทะเลภาคตะวันออก

พื้นที่	สถานี	รหัสสถานี	รูปแบบการใช้ประโยชน์
หมู่เกาะมัน	- เกาะมันนอก ทิศใต้	RC 1	เพื่อการอนุรักษ์ทรัพยากรธรรมชาติ
จังหวัดระยอง	- เกาะมันกลาง ทิศใต้	RC 2	
	- เกาะมันใน ทิศเหนือ	RC 3	
เกาะสะเก็ด	- หินใหญ่ เกาะสะเก็ด ทิศเหนือ	RI 1	เพื่อการอุตสาหกรรมและท่าเรือ
จังหวัดระยอง	- กองหินไต้ น้ำ เกาะสะเก็ด ทิศใต้	RI 2	
หมู่เกาะสีชัง	- เกาะท้ายตาหมื่น ทิศตะวันออก	CHI 1	เพื่อการอุตสาหกรรมและท่าเรือ
จังหวัดชลบุรี	- หินสัมนันย้อย เกาะสีชัง ทิศเหนือ	CHI 2	



ภาพที่ 1 สถานีเก็บตัวอย่าง (★) บริเวณหมู่เกาะสีชัง เกาะสะเก็ด และหมู่เกาะมัน

## 2. การเก็บตัวอย่างและรักษาสภาพตัวอย่าง

### 2.1 การเก็บตัวอย่างฟองน้ำทะเล

เก็บตัวอย่างฟองน้ำทะเลที่ขึ้นอยู่ตามธรรมชาติเพื่อสำรวจความหลากหลายทางชนิดของฟองน้ำทะเลที่อาศัยอยู่ตามชายฝั่งทะเลภาคตะวันออก จังหวัดชลบุรีและจังหวัดระยอง โดยการดำน้ำแบบเครื่องช่วยหายใจใต้น้ำ (SCUBA diving) สุ่มสำรวจและเก็บตัวอย่างตลอดทั้งพื้นที่ศึกษาในเวลากลางวัน (day time) ตั้งแต่เขตปะการังพื้นราบ (reef flat) หรือเขตน้ำขึ้นน้ำลง จนถึงเขตปะการังลาดชัน (reef slope) หรือพื้นที่ทะเลนอกแนวปะการัง ตัวอย่างที่พบทำการบันทึกภาพใต้น้ำ ตำแหน่งและความลึกที่พบและสภาพถิ่นที่อยู่อาศัย จากนั้นนำตัวอย่างใส่ถุงซิปลงเพื่อนำมาทำการสลับและเก็บรักษาตัวอย่าง ด้วยเอทานอล 70 % เพื่อไปจำแนกชนิดในห้องปฏิบัติการต่อไป

สำหรับตัวอย่างฟองน้ำทะเลเฉพาะชนิดเด่นและมีปริมาณมากพอนำมาศึกษาการสะสมโลหะหนัก โดยเก็บไว้ในถุงซิปลงแยกตามชนิดก่อนนำไปแช่ไว้ในถังน้ำแข็ง และเมื่อถึงห้องปฏิบัติการสถาบันวิทยาศาสตร์ทางทะเล มหาวิทยาลัยบูรพา นำมาล้างทำความสะอาดด้วยน้ำทะเลและน้ำกลั่น แช่แข็งทันทีที่อุณหภูมิ  $-40^{\circ}\text{C}$  หลังจากนั้นนำไปทำให้แห้งด้วยเครื่องทำแห้งแบบความเย็น (freeze dryer) เมื่อแห้งแล้วนำมาแยกสิ่งเจือปนออก แล้วนำไปปั่นให้ละเอียดด้วยเครื่องปั่นอาหารแห้ง บรรจุในถุงซิปลพลาสติกเก็บไว้ในตู้ดูดความชื้น เพื่อรอนำไปวิเคราะห์โลหะหนักในขั้นตอนต่อไป

### 2.2 การเก็บตัวอย่างน้ำทะเล

เก็บตัวอย่างน้ำทะเลเพื่อนำมาศึกษาคุณภาพสิ่งแวดล้อมในบริเวณถิ่นที่อยู่อาศัยของฟองน้ำทะเล โดยเน้นในเรื่องของสารอาหารปริมาณน้อย ได้แก่ แอมโมเนีย ไนโตรเจน ไนเตรต ฟอสเฟต ซิลิเกต และตะกอนแขวนลอย รวมทั้งคุณภาพน้ำพื้นฐาน โดยเก็บตัวอย่างในแต่ละสถานีที่ระดับกึ่งกลางความลึกด้วยกระบอกเก็บน้ำชนิด Kemmerer ความจุ 2 ลิตร สถานีละ 3 ซ้ำ วัดความลึก อุณหภูมิ ความโปร่งแสง ความเค็ม ออกซิเจนละลาย และความเป็นกรด-ด่าง ทั้งนี้ที่เก็บตัวอย่าง ส่วนคุณภาพน้ำที่วิเคราะห์ไม่ได้ทันทีในขณะเก็บตัวอย่าง ให้เก็บตัวอย่างน้ำด้วยขวดพลาสติก PE ขนาด 1 ลิตร ปิดฝาให้แน่น เก็บรักษาตัวอย่างไว้ในถังแช่เย็นและนำกลับมาวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการสถาบันวิทยาศาสตร์ทางทะเล มหาวิทยาลัยบูรพาทันที

สำหรับตัวอย่างน้ำทะเลเพื่อนำมาวิเคราะห์โลหะหนัก เก็บในบริเวณเดียวกับที่เก็บตัวอย่างฟองน้ำทะเล โดยเก็บตัวอย่างน้ำทะเลก่อนเก็บตัวอย่างฟองน้ำ เพื่อป้องกันดินตะกอนฟุ้งกระจาย โดยเก็บตัวอย่างน้ำทะเลด้วยเครื่องมือเก็บตัวอย่างน้ำ (Non metallic water sample mod. 1080 Series GO-FLO) ที่ระดับกึ่งกลางความลึกของน้ำในสถานีศึกษา สถานีละ 3 ซ้ำ แยกอิสระต่อกัน ถายน้ำใส่ขวดพลาสติก (PP; Nalgene) ขนาด 1 ลิตร ปิดฝาให้แน่นก่อนบรรจุลงถุงพลาสติก รัดปากถุงให้แน่น (2 ชั้น) แล้วนำไปแช่ไว้ในถังน้ำแข็ง เมื่อนำส่งถึงห้องปฏิบัติการ (ภายใน 12 ชั่วโมง) ตัวอย่างจะถูกปรับสภาพให้เป็นกรด ( $\text{pH} < 3$ ) โดยการเติมกรดไนตริกเข้มข้น (Merck supra.  $\text{HNO}_3$ ) ก่อนเก็บไว้ในตู้เย็นจนกว่าจะนำมาวิเคราะห์โลหะหนัก (Cd, Cu, Fe, Ni,

Pb, Zn) การวิเคราะห์ปรอท ตัวอย่างน้ำที่เก็บได้จะแยกเก็บไว้ในขวดแก้วไพเร็กซ์ขนาดความจุ 0.5 ลิตร ใส่ลงถุงพลาสติก รัดปากถุงให้แน่นก่อนแช่เย็นในถังน้ำแข็ง และปรับสภาพให้เป็นกรด ( $\text{pH} \leq 2$ ) โดยการเติมกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น (Merck supra. HCl) ทันที เมื่อถึงห้องปฏิบัติการ และเก็บไว้ในตู้เย็นเพื่อรอการวิเคราะห์ปรอทต่อไป

### 2.3 การเก็บตัวอย่างดินตะกอน

เก็บตัวอย่างดินตะกอนเพื่อนำมาวิเคราะห์โลหะหนักและคุณลักษณะของดินตะกอน กระทำพร้อมกับการเก็บตัวอย่างฟองน้ำและในบริเวณเดียวกับที่เก็บตัวอย่างฟองน้ำ โดยขณะดำน้ำ (SCUBA diving) นักประดาน้ำ (นักวิจัย) จะใช้ซ็อนพลาสติกตักตัวอย่างดินตะกอนบริเวณผิวหน้า (ความลึกไม่เกิน 5 เซนติเมตร) ใส่ถุงซิปปลาสติก สถานีละ 3 ซ้ำ แยกอิสระต่อกัน เทน้ำออก รีดปิดปากถุงให้สนิท เก็บแช่ไว้ในถังน้ำแข็ง และเมื่อมาถึงห้องปฏิบัติการ สถาบันวิทยาศาสตร์ทางทะเล นำไปเก็บในตู้แช่แข็งที่อุณหภูมิ  $-40^{\circ}\text{C}$  และทำให้แห้งโดยใช้เครื่องทำแห้งด้วยความเย็น (freeze dryer) หลังจากนั้นจึงนำมาร้อนผ่านตะแกรงร่อนขนาดตา 1 มิลลิเมตร เพื่อคัดเศษหินและเปลือกหอยออก แล้วบดตัวอย่างดินตะกอนให้เป็นเนื้อเดียวกันด้วย agate mortar และเก็บไว้ในถุงซิปปลาสติกในตู้ดูดความชื้น เพื่อรอการวิเคราะห์ต่อไป

### 2.4 การเก็บตัวอย่างแพลงก์ตอนพืช

เก็บตัวอย่างแพลงก์ตอนพืช เพื่อวิเคราะห์หาความหนาแน่นของประชากรแพลงก์ตอนพืชในแหล่งอาศัยของฟองน้ำซึ่งจะบ่งบอกถึงความอุดมสมบูรณ์ของอาหารของฟองน้ำทะเล การเก็บตัวอย่างแพลงก์ตอนพืช โดยใช้ถุงลากแพลงก์ตอน (plankton net) ขนาดช่องตา 22 ไมโครเมตร ลากในแนวตั้งทุกระดับความลึก สถานีละ 3 ซ้ำ และเก็บรักษาตัวอย่างด้วยสารละลาย Lugol's solution บรรจุในภาชนะทึบแสง วิเคราะห์ชนิดและปริมาณความหนาแน่นของแพลงก์ตอนพืชโดยการสัมนับ จำแนกชนิดและปริมาณความหนาแน่นในระดับสกุลภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบเลนส์ประกอบ โดยใช้สไลด์นับแพลงก์ตอน (Sedgewick – Rafter slide) ขนาดความจุ 1 มิลลิลิตร (ลัดดา วงศ์รัตน์ และโสภณา บุญญาภิวัฒน์, 2546) การสัมนับและจำแนกชนิดแพลงก์ตอนพืชจะจำแนกในระดับสกุล และมีการใช้หน่วยนับดังนี้ 1 เซลล์ ใช้ 1 หน่วย และ 1 เส้นสาย ใช้ 1 หน่วยเช่นกัน ทั้งนี้การจำแนกสกุลใช้เอกสารอ้างอิงของ ลัดดา วงศ์รัตน์ (2542) อัจฉราภรณ์ เปี่ยมสมบูรณ์ และคณะ (2545) อรรถชนีย์ ชำนาญศิลป์ (2545) และ Tomas (1997)

## 3. การวิเคราะห์ตัวอย่าง

### 3.1 การวิเคราะห์คุณภาพน้ำ

ดัชนีคุณภาพน้ำในบริเวณถิ่นที่อยู่อาศัยของฟองน้ำทะเล อันได้แก่ คุณภาพน้ำพื้นฐาน และสารอาหารปริมาณน้อย รวมทั้งวิธีวิเคราะห์ แสดงในตารางที่ 2

## ตารางที่ 2 ดัชนีคุณภาพน้ำทะเลที่ทำการวิเคราะห์และวิธีวิเคราะห์

Parameter	Unit	Method of analysis	Reference
ความลึก (Depth)	m.	Echo sounder (Speedtech SM-SA)	
ความโปร่งแสง (Transparency)	m.	Secchi disc	
อุณหภูมิ (Temperature)	C	Electrical sensor method (YSI Model 550A)	
ความเป็นกรด – ด่าง (pH)	-	pH meter (WTW pH100)	
ความเค็ม (Salinity)	ppt	Hand refractometer (ATAGO 508 IIW)	
ออกซิเจนละลาย (Dissolved oxygen: DO)	mg/L	DO meter (YSI Model 550A)	
สารแขวนลอย (Suspended Solid: SS)	mg/L	GF/C	APHA (1992)
แอมโมเนีย (Total ammonia)	µg/L	Phenol-hypochlorite	Grasshoff et al.(1983)
แอมโมเนียรูปที่ไม่มีไอออน (Unionized ammonia)	µg/L	คำนวณจากสูตร $pK=0.09018+2729.92/T_{temp.}$ $PK=-\log_{10}(K)$ $PK=-\log_{10}(H^+)$ $F\mu=1/1+([H^+]/K)$ Unionized Ammonia= $F\mu$ (Total Ammonia)	กรมควบคุมมลพิษ (2549)
ไนไตรท์ (NO <sub>2</sub> -N)	µg/L	Diazotization	Strickland and Parsons (1972)
ไนไตรท์ (NO <sub>3</sub> -N)	µg/L	Cadmium reduction + Diazotization	Strickland and Parsons (1972)
ฟอสเฟต (PO <sub>4</sub> -P)	µg/L	Ascorbic acid	Strickland and Parsons (1972)
ซิลิเกต (SiO <sub>3</sub> -Si)	µg/L	Silicomolybdate	Strickland and Parsons (1972)

### 3.2 การวิเคราะห์โลหะหนัก

โลหะหนักที่ทำการศึกษารวมทั้งสิ้น 7 ชนิด ได้แก่ ปรอท (Hg) ตะกั่ว (Pb) แคดเมียม (Cd) สังกะสี (Zn) ทองแดง (Cu) เหล็ก (Fe) และ นิกเกิล (Ni) โดยวิเคราะห์ในรูปของปริมาณโลหะรวม ดังนี้

#### 3.2.1 การวิเคราะห์โลหะหนักในฟองน้ำทะเล

การเตรียมสารละลายฟองน้ำ ใช้วิธีการย่อยสลาย (digestion) ตัวอย่างฟองน้ำด้วยกรดไนตริกเข้มข้น โดยการดัดแปลงจากวิธีของ Wagner, et al. (1998) และ Pérez, et al. (2005) โดยชั่งตัวอย่างฟองน้ำทะเลแห้ง  $0.5 \pm 0.01$  กรัม ใส่ในหลอดทดลอง ความจุ 100 มิลลิลิตร (มีฝาปิด) เติมกรดไนตริกเข้มข้น 6 มิลลิลิตร (suprapur HNO<sub>3</sub>, Merck) ย่อยสลายตัวอย่างที่อุณหภูมิ 100 °C นาน 24 ชั่วโมง บนเครื่องย่อยตัวอย่างแบบหลุม (block digestion system; model AIM600)

หลังจากนั้นทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง ก่อนปรับปริมาตรเป็น 50 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น deionized และทิ้งไว้อย่างน้อย 24 ชั่วโมงก่อนนำไปวัดความเข้มข้นโลหะหนัก ได้แก่ แคดเมียม ทองแดง เหล็ก นิเกิล ตะกั่ว และสังกะสี ด้วยเทคนิค graphite furnace atomic absorption spectrometry (GFAAS) โดยเครื่อง atomic absorption spectrometer (Perkin-Elmer; model 4110ZL) ส่วนปรอท วัดความเข้มข้นด้วยเทคนิค cold vapor atomic absorption spectrometry ระบบ flow Injection mercury hydried system (FI-MHS; model FIAS 100) ด้วยเครื่อง atomic absorption spectrometer (Perkin-Elmer; model 4110ZL)

### 3.2.2 การวิเคราะห์โลหะหนักในน้ำทะเล

การเตรียมความเข้มข้นตัวอย่างน้ำทะเล สำหรับโลหะแคดเมียม ตะกั่ว ทองแดง นิเกิล สังกะสี และเหล็ก ใช้วิธี Cobalt – APDC co precipitation technique โดยใช้ตัวอย่างน้ำทะเล  $250 \pm 2$  มิลลิลิตร ปรับค่า pH ให้ได้  $4 \pm 0.2$  ด้วยน้ำแอมโมเนีย เติม cobalt reagent 2 มิลลิลิตร ตามด้วย 2% APDC 2 มิลลิลิตร กรองตัวอย่างผ่าน polycarbonate membrane (pore size  $0.4 \mu$ ) เก็บตะกอน และละลายตะกอนด้วยกรดไนตริกเข้มข้น 1 มิลลิลิตร ก่อนเติมน้ำ deionized 4 มิลลิลิตร ทิ้งไว้อย่างน้อย 24 ชั่วโมง วัดความเข้มข้นของโลหะทั้ง 6 ชนิด ด้วยเครื่อง atomic absorption spectrophotometer เทคนิค GFAAS (ฉลุย มุสิกะ, 2544)

สำหรับโลหะปรอท การเตรียมความเข้มข้นตัวอย่างใช้วิธี BrCl method ซึ่งดัดแปลงมาจาก Quemerai and Cossa (1997) วิเคราะห์โดยใช้เทคนิค cold vapour atomic absorption spectrometry ระบบ flow Injection mercury hydried system (FI-MHS; model FIAS 100) ด้วยเครื่อง atomic absorption spectrometer (Perkin-Elmer; model 4110 ZL)

### 3.2.3 การวิเคราะห์โลหะหนักในดินตะกอนทะเล

การเตรียมตัวอย่างวิเคราะห์โลหะแคดเมียม ตะกั่ว ทองแดง นิเกิล สังกะสี และเหล็ก การสกัดตัวอย่าง (sample digestion) ดัดแปลงจากวิธีของ Loring and Rantala (1992) โดยสกัดตัวอย่างดินตะกอนหนัก  $0.5 \pm 0.05$  กรัม ด้วยกรด aqua regia ( $\text{HNO}_3\text{:HCl}$ , 1:3 v/v) และกรดไฮโดรฟลูออริก (HF) อัตราส่วน 1:6 มิลลิลิตร ใน teflon tube บน block digestion system (model AIM600) ที่อุณหภูมิ  $95^\circ\text{C}$  นาน 3 ชั่วโมง ก่อนนำไปประเหยให้แห้งที่อุณหภูมิ  $70\text{--}80^\circ\text{C}$  บน hot plate แล้วละลายตะกอนด้วยกรดไนตริกเข้มข้น 5 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรเป็น 50 มิลลิลิตร ด้วยน้ำ deionized เก็บสารละลายในขวดพลาสติก (Nalgene) ทิ้งไว้อย่างน้อย 24 ชั่วโมง ก่อนนำไปวัดความเข้มข้นโลหะหนักแต่ละชนิดด้วยเทคนิค GFAAS (Perkin Elmer; Model 4110ZL) ยกเว้น เหล็ก และสังกะสี ใช้เทคนิค FAAS โดยใช้เครื่อง atomic absorption spectrophotometer (Perkin Elmer; Model AAnalyst 100)

สำหรับการวิเคราะห์ปรอท ทำการย่อยสลายตัวอย่างดินตะกอน  $0.5 \pm 0.01$  กรัม (น้ำหนักแห้ง) ด้วยส่วนผสมของ 4:1  $\text{HNO}_3$  :  $\text{HCl}$  โดยใช้เครื่องย่อยตัวอย่างด้วยกรดแบบหลุม (block digestion system, model AIM600) ที่อุณหภูมิ  $95^\circ\text{C}$  เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ทิ้งไว้ให้เย็นที่

อุณหภูมิห้องก่อนเจือจางด้วยน้ำ deionized และปรับปริมาตรเป็น 25 มิลลิลิตร วิเคราะห์โดยใช้เทคนิค cold vapour atomic absorption spectrometry (CVAAS) ระบบ flow injection mercury hydried system (F1-MHS) model FIAS 100 ใช้ 0.2 % NaBH<sub>4</sub> in 0.05 % NaOH เป็น reducing agent และ 3 % (v/v) HCl เป็น carrier solution และวัดความเข้มข้นด้วยเครื่อง atomic absorption spectrophotometer (Perkin Elmer, model 4110 ZL)

### 3.2.4 การควบคุมคุณภาพการวิเคราะห์โลหะหนัก (Quality control)

การควบคุมคุณภาพการวิเคราะห์โลหะหนักในน้ำทะเลและดินตะกอนควบคุมโดยตรวจสอบความถูกต้องกับตัวอย่างน้ำทะเลมาตรฐานที่ผ่านการรับรองความเข้มข้น (Seawater reference material for trace metals; NASS-6) ของ National Research Council Canada ผลการวิเคราะห์ดังแสดงในตารางที่ 3 สำหรับดินตะกอนได้ตรวจสอบความถูกต้องกับดินตะกอนทะเลมาตรฐานที่ผ่านการรับรองความเข้มข้น (Marine sediment certified reference material for trace metals and other constituents; PACS-3) ของ National Research Council Canada ผลการตรวจสอบดังแสดงในตารางที่ 4 สำหรับฟองน้ำทะเล ยังไม่มีตัวอย่างมาตรฐานฟองน้ำทะเลหรือตัวอย่างที่ใกล้เคียงให้ตรวจสอบได้

นอกจากนี้ได้ทำการศึกษาค่าต่ำสุดของการวิเคราะห์โลหะหนัก (method detection limit: MDL) ทั้งน้ำทะเล ฟองน้ำทะเล และดินตะกอน ตามวิธีที่ใช้ในการศึกษาค้างนี้ โดยคำนวณจาก 3 เท่าของค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (standard deviation, SD) ที่ได้จากการวิเคราะห์ค่าความเข้มข้นของ method blank จำนวน 7-10 ซ้ำ ผลการศึกษาแสดงในตารางที่ 5

**ตารางที่ 3** ผลการวิเคราะห์น้ำทะเลมาตรฐาน (Seawater reference material for trace metals; NASS-6) n = 3

Heavy Metal	Certified Value (µg/L)	Measured Value (µg/L)	% Recovery
Cd	0.0311 ± 0.0019	0.026 ± 0.0004	81.2-83.5
Cu	0.248 ± 0.025	0.259 ± 0.010	100.5-108.2
Fe	0.495 ± 0.046	0.499 ± 0.086	81.0-112.6
Ni	0.301 ± 0.025	0.306 ± 0.012	97.2-104.6
Pb	0.006 ± 0.002	< MDL	-
Zn	0.257 ± 0.020	0.243 ± 0.008	95.8-100.4

ตารางที่ 4 ผลการวิเคราะห์ดินตะกอนทะเลมาตรฐาน (Marine sediment certified reference material for trace metals and other constituents; PACS-3) n = 5

Heavy Metal	Certified Value ( $\mu\text{g/g dry wt}$ )	Measured Value ( $\mu\text{g/g dry wt}$ )	% Recovery
Cd	2.23 $\pm$ 0.13	1.82 $\pm$ 0.02	81.0-82.4
Cu	327 $\pm$ 14	335 $\pm$ 2.8	101.4-103.5
Fe	41,100 $\pm$ 1,100	43,440 $\pm$ 3,730	97.6-116.7
Hg	3.0 $\pm$ 0.5		
Ni	39.9 $\pm$ 3.0	34.7 $\pm$ 1.0	82.8-89.4
Pb	188 $\pm$ 7	153 $\pm$ 1.8	81.0-82.8
Zn	379 $\pm$ 15	367 $\pm$ 17	93.8-104.7

ตารางที่ 5 ค่าต่ำสุดของการวิเคราะห์โลหะหนักในน้ำทะเล ฟองน้ำทะเล และดินตะกอน

Heavy metal	Method Detection Limit		
	Seawater ( $\mu\text{g/L}$ )	Marine Sponge ( $\mu\text{g/g dry wt.}$ )	Sediment ( $\mu\text{g/g dry wt.}$ )
Cd	0.003	0.007	0.01
Cu	0.04	0.10	0.25
Fe	0.04	1.0	20.0
Hg	0.10	0.007	0.003
Ni	0.03	0.15	0.20
Pb	0.03	0.05	0.15
Zn	0.25	0.70	1.0

### 3.3 การวิเคราะห์คุณสมบัติของดินตะกอน

วิเคราะห์คุณสมบัติทางฟิสิกส์และเคมีของดินตะกอนเพื่อใช้ในการหาความสัมพันธ์กับปริมาณโลหะหนักที่สะสมอยู่ในดินตะกอน โดยคุณสมบัติดินตะกอนที่ทำการวิเคราะห์และวิธีวิเคราะห์แสดงในตารางที่ 6

ตารางที่ 6 คุณสมบัติดินตะกอนที่ทำการวิเคราะห์และวิธีวิเคราะห์

Parameter	Method of analysis	Reference
Sediment pH	pH meter (1:1.25; sediment: water)	Thongra-ar et al. (2008)
Organic matter (OM)	Acid-dichromate oxidation	กองปฐพี (2537)
Particle size distribution	Hydrometer method	Sheldrick and Wang (1993)
Sediment texture	Textural triangle	Hillel (1998)

#### 4. การจำแนกชนิดตัวอย่างฟองน้ำทะเล

การจำแนกชนิดตัวอย่างฟองน้ำทะเลในห้องปฏิบัติการ มีวิธีการศึกษาดังนี้

4.1 การตรวจสอบลักษณะทางโครงสร้างของร่างกาย (skeleton) ประยุกต์จากวิธีของ Putschakarn et .al. (2004) โดยการตัดเนื้อเยื่อตัวอย่างฟองน้ำ บริเวณผิวฟองน้ำ (tangential section) และตัดตามขวาง (perpendicular section) ศึกษาลักษณะและองค์ประกอบของสปิคูลเส้นใยฟองน้ำ (sponging fibers) และโครงสร้างการจัดเรียงตัวของสปิคูลและเส้นใยฟองน้ำ บันทึกข้อมูลและเปรียบเทียบกับเอกสารอ้างอิง

4.2 การตรวจสอบลักษณะและขนาดของสปิคูล (spicules) ของฟองน้ำโดยประยุกต์จากวิธีของ Putschakarn et .al. (2004) นำสปิคูลมาส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์ ศึกษาประเภทและวัดขนาดของสปิคูลโดยใช้ค่าเฉลี่ยเป็นไมครอนจากจำนวนสปิคูลแต่ละประเภทไม่น้อยกว่า 25 ซ้ำ บันทึกผลและนำข้อมูลไปเปรียบเทียบกับเอกสารอ้างอิงในการจำแนกชนิด

4.3 การจำแนกชนิดฟองน้ำทะเล ทำการศึกษารายละเอียดสัณฐานวิทยาของตัวอย่างฟองน้ำที่ได้จากการสำรวจภาคสนามและห้องปฏิบัติการ วิเคราะห์ข้อมูลและทำการวินิจฉัยชื่อวิทยาศาสตร์ ตัวอย่างฟองน้ำโดยการเปรียบเทียบกับเอกสารอ้างอิง ซึ่งในระดับ Orders, Families และ Genera จะทำการเปรียบเทียบจาก Hooper & Soest (2002) Systema Porifera และ Boury-Esnault & Rützler (1997) Thesaurus of sponge morphology เป็นหลัก ส่วนในระดับชนิด (species level) ทำการเปรียบเทียบจากเอกสารอ้างอิงต่างๆที่ได้เก็บรวบรวมไว้และยืนยันความถูกต้องของชนิดฟองน้ำจากฐานข้อมูลฟองน้ำโลก World Porifera Database (Van Soest, et.al., 2015)