บทที่ 3
วิธีดำเนินการศึกษา

3.1 เครื่องมือ อุปกรณ์และสารเคมี

3.1.1. เครื่องมือ อุปกรณ์และสารเคมีสำหรับการศึกษาไลเคน

3.1.1.1 เครื่องมือ

1. กล้องจุลทรรศน์แบบเลนส์ประกอบ (compound microscope) ยี่ห้อ Olympus CH-2, Japan
2. กล้องจุลทรรศน์แบบสามมิติ (stereo microscope) ยี่ห้อ Olympus SZ-ST, Japan
3. เครื่องชั่งอย่างละเอียด ยี่ห้อ ADAM รุ่น AFP-2100L
4. ตู้อบ ยี่ห้อ Scientific รุ่น model 900, USA
5. เครื่องวัด pH (Electrochemical analyser) ยี่ห้อ Consort รุ่น C933
6. เครื่องวัดพิกัดและตำแหน่ง (Global Positioning System; GPS) ยี่ห้อ eTrex, Garmin, Taiwan

3.1.1.2 อุปกรณ์

1. กรอบสำรวจความถี่ (grid frame) ขนาด 20 x 50 ตารางเซนติเมตร
2. แว่นขยาย (hand lens) กำลังขยาย 20x
3. สายวัด ความยาว 100 เซนติเมตร
4. เข็มทิศ
5. มีดเก็บตัวอย่าง
6. ซองเก็บตัวอย่างและเปลือกไม้
7. แบบฟอร์มการสำรวจไลเคน
8. แผ่นกระดานรองเขียน
9. สมุดบันทึก ปากกา ดินสอ
10. ตะกร้าใส่อุปกรณ์
11. บีกเกอร์ ยี่ห้อ Scott Duran, Germany ขนาด 50 มิลลิลิตร
12. กระบอกตวงยี่ห้อ Scott Duran, Germany ขนาด 10 มิลลิลิตร
13. หลอดทดลอง ยี่ห้อ Pyrex, USA ขนาด 30 มิลลิลิตร

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ห้องสมุดงานวิจัย

14. แผ่นสไลด์ และแผ่นปิดสไลด์
15. หลอดหยด (dropper)
16. ขวดแก้วขนาดเล็ก
17. ที่วางหลอดทดลอง
18. แผนที่หมู่บ้านในอำเภอแม่เมาะและอำเภอแม่ทะ
19. กล้องถ่ายรูปดิจิตอล ยี่ห้อ Olympus รุ่น 32

3.1.1.3 สารเคมี

1. น้ำปราศจากไอออน (Deionized water ; DI)
2. โพแทสเซียมไฮดอกไซด์ (Potassium hydroxide ; K) 10%
3. สารละลายลูกอลไอโอดีน (Lugol's iodine)
4. โซเดียมไฮโปคลอไรด์ (Sodium hypochlorite ; C)

3.1.2 เครื่องมือ อุปกรณ์และสารเคมีสำหรับเทคนิคการเก็บตัวอย่างแบบแพสซีฟ (passive sampling)

3.1.2.1 เครื่องมือ

1. เครื่องไอออนโครมาโตกราฟ (Ion Chromatograph) รุ่น Model 2.733.0020, Metrohm, Switzerland
2. เครื่องอัลตราโซนิเคเตอร์ (Ultrasonicator) ยี่ห้อ Transonic Digital S, Elma, Germany
3. ตู้อบ (Oven) Model 100-800, Memmert, Germany
4. เครื่องชั่งสาร 4 ตำแหน่ง ยี่ห้อ Mettler Toledo, Switzerland รุ่น AB304-S,
5. อุปกรณ์ควบคุมความชื้น (Desiccators)

3.1.2.2 อุปกรณ์

1. ขวดวัดปริมาตร (volumetric flask) ยี่ห้อ Duran, Germany ขนาด 1000 และ 100 มิลลิลิตร
2. ขวดวัดปริมาตร (PP volumetric flask) ยี่ห้อ Vit Lab, Germany ขนาด 25 มิลลิลิตร
3. บีกเกอร์ (beaker) ยี่ห้อ Scott Duran, Germany ขนาด 50 และ 100 มิลลิลิตร
4. ไมโครบิเบต (Micropipettes) ขนาด 10 – 100, 100 – 1000 ไมโครลิตร และ 1 - 10 มิลลิลิตร

5. กระบอกฉีดยา (Syring) ขนาด 3 มิลลิลิตร
6. ไซริงค์ฟิลเตอร์ (Glass syringe filter), 0.45 μm cellulose acetate, Chrom Tech, U.S.A
7. กรวยกรอง eluent (funnel) ยี่ห้อ Alltech, Blegium ขนาด 1000 มิลลิลิตร
8. แหวนกรอง (Stainless steel mesh filter support ring) ยี่ห้อ Alltech, Blegium
9. ขวดใส่กรด (GL-45 safety-coated glass bottle) ยี่ห้อ Alltech, Blegium ขนาด 1000 มิลลิลิตร
10. หลอดโพลีเอทธีลีน (Polyethylene tubes ; PE)
11. กระดาษกรอง Whatman (GF/A) ยี่ห้อ Whatman international Ltd., England
12. ไวออล (vial)
13. กล่องป้องกัน (Protective shelter)
14. พาราฟิล์ม (Paraflim)
15. ถุงซิบ (zip lock bag)
16. กล่องโฟม
17. กระดาษกรอง mobile phase

3.1.2.2 สารเคมี

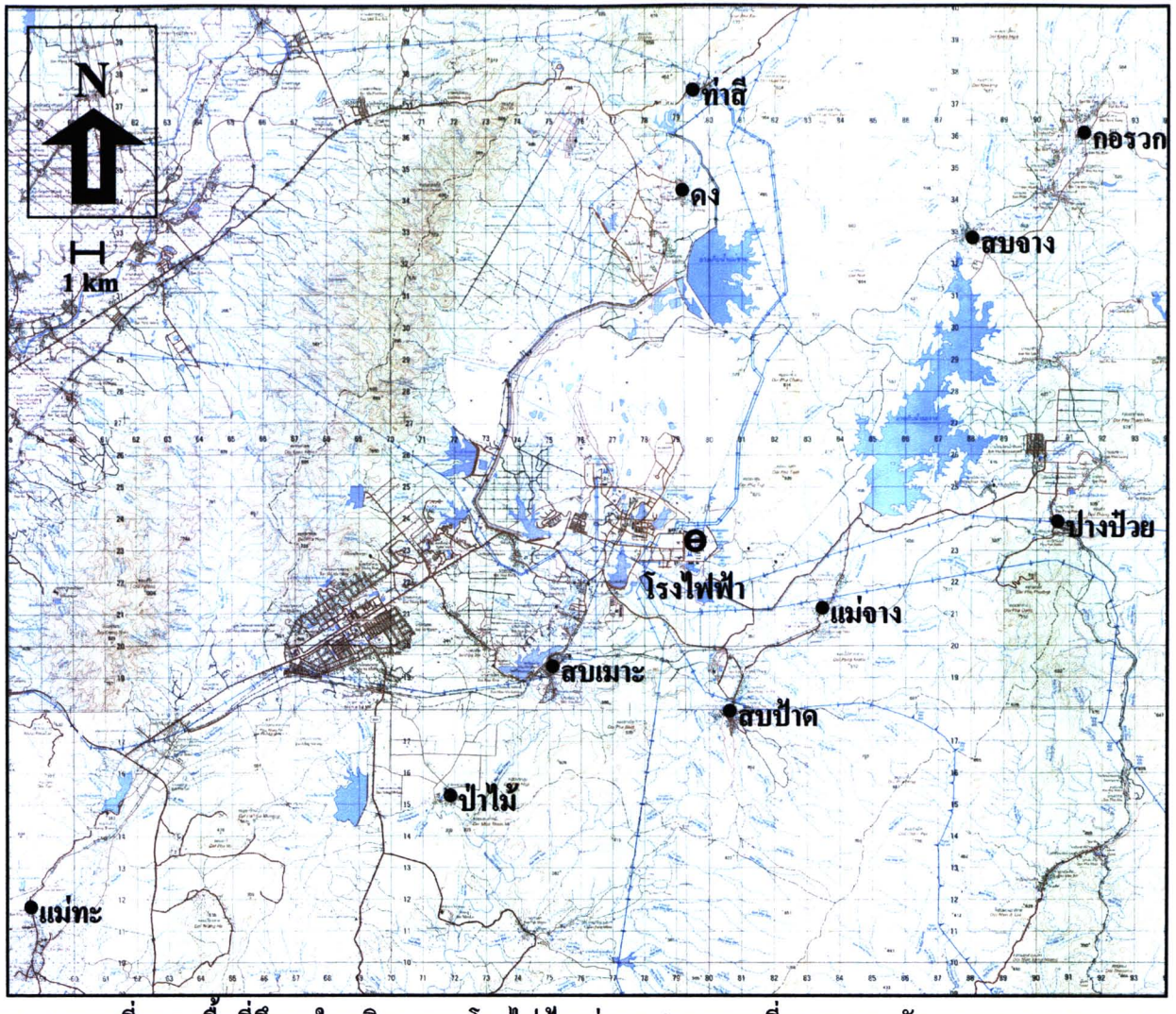
1. สารละลายซัลเฟตมาตรฐาน (Sulfate standard solution ; SO_4^{2-}) 1000 ppm, Merck, Germany
2. โซเดียมคาร์บอเนต (Sodium carbonate ; Na_2CO_3) , 99.9% Scharlau, Spain
3. โซเดียมไฮโดรเจนคาร์บอเนต (Sodium hydrogen carbonate ; $NaHCO_3$), 99.7% Scharlau, Spain
4. กรดซัลฟูริก (Sulfuric acid ; H_2SO_4), 95-97% Merck, Germany
5. ไตรเอทาโนลามีน (Triethanolamine ; TEA) ($C_6H_{15}NO_3$,149.19), 99%, BDH Chemicals Ltd., England
6. กลีเซอรีน (Glycerin) ($C_3H_8O_2$, 92.09), 99.5 %, Carlo Erba,Italy
7. น้ำปราศจากไอออน (Deionized water ; DI)

3.2 วิธีการศึกษา

3.2.1 การกำหนดพื้นที่ศึกษา

อำเภอแม่เมาะตั้งอยู่ที่ละติจูด 18°16′30″ เหนือ ลองจิจูด 99°39′0″ตะวันออก ซึ่งอยู่ทางทิศตะวันออกของจังหวัดลำปาง ห่างจากตัวเมืองลำปางประมาณ 20 กิโลเมตร มีพื้นที่ 860.44 ตารางกิโลเมตร มีประชากร 38,760 คน (ปี พ.ศ. 2551) (ศูนย์สารสนเทศเพื่อการบริหารและพัฒนางานปกครอง, 2552) สภาพพื้นที่เป็นแอ่งกระทะ ทางตอนเหนือของอำเภอเป็นภูเขาและป่าไม้ครอบคลุมพื้นที่ประมาณร้อยละ 80 ของพื้นที่อำเภอ มีพื้นที่ราบลุ่มที่ใช้เพาะปลูกได้ประมาณ 4,000 ไร่ สภาพพื้นที่เป็นที่ราบระหว่างหุบเขา สภาพดินทั่วไปเป็นดินปนทราย อากาศค่อนข้างอบอ้าวและหนาวจัดในฤดูหนาว มีโอกาสฝนตกน้อย ส่วนใหญ่จะอยู่ในเงาฝน ลักษณะภูมิอากาศเป็นแบบมรสุม มี 3 ฤดู คือ ฤดูร้อน ฤดูฝน ฤดูหนาว (กองทุนพัฒนาชุมชนในพื้นที่รอบโรงไฟฟ้าจังหวัดลำปาง, 2552)

เนื่องจากต้องการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างความหลากหลายของไลเคนกับปริมาณก๊าซซัลเฟอร์ไดออกไซด์ในบริเวณรอบโรงไฟฟ้าแม่เมาะ อ.แม่เมาะ จ.ลำปาง จึงทำการคัดเลือกพื้นที่ศึกษาที่อยู่บริเวณรอบโรงไฟฟ้า ได้แก่ หมู่บ้านที่อยู่รอบโรงไฟฟ้า โดยวางแนวเส้นเก็บตัวอย่าง (transect) ห้าแนวจากโรงไฟฟ้า ได้แก่ ทิศเหนือ ทิศตะวันออกเฉียงเหนือ ทิศตะวันออก ทิศใต้ และทิศตะวันตกเฉียงใต้ โดยปรับให้เหมาะสมตามลักษณะภูมิประเทศ ให้มีระยะห่างที่แตกต่างกันจากโรงไฟฟ้า โดยวัดระยะจากแผนที่ เลือกหมู่บ้านที่เป็นชุมชนขนาดเล็กถึงปานกลาง เนื่องจากหมู่บ้านขนาดใหญ่อาจมีปัจจัยอื่นที่มีผลรบกวนไลเคนและปริมาณก๊าซซัลเฟอร์-ไดออกไซด์ที่จะศึกษา เช่น ควันเสียจากการจราจร การเผาขยะและเชื้อเพลิงต่าง ๆ เป็นต้น คัดเลือกพื้นที่ศึกษาได้ 10 พื้นที่ ได้แก่ บ้านแม่ทะ บ้านป่าไม้ (เวียงสวรรค์) บ้านสบเมาะ บ้านสบป้าด บ้านแม่จาง บ้านปางป๋วย บ้านสบจาง บ้านกอรวก บ้านดง และบ้านท่าสี กำหนดพื้นที่ศึกษาขนาด 1 x 1 ตารางกิโลเมตร ดังภาพ 3.1 และตาราง 3.1



ภาพ 3.1 แผนที่แสดงพื้นที่ศึกษาในบริเวณรอบโรงไฟฟ้าแม่เมาะ (กรมแผนที่ทหาร กองบัญชาการทหารสูงสุด, 2542)

ตาราง 3.1 พื้นที่ศึกษาที่ทำการสำรวจไลเคนบริเวณรอบโรงไฟฟ้าแม่เมาะ

ลำดับ	พื้นที่ศึกษา	ตำแหน่งที่ตั้ง	ความสูงจากระดับน้ำทะเล (ม.)	ทิศทางจากโรงไฟฟ้า	ระยะห่างจากโรงไฟฟ้า (กม.)	ลักษณะของหมู่บ้าน
1	บ้านแม่ทะ ต. แม่ทะ อ. แม่ทะ	18° 11' 15" N, 99° 33' 46" E	320	SW	25	หมู่บ้านขนาดกลาง พื้นที่ส่วนใหญ่ใช้ในการสร้างที่อยู่อาศัย มีการปลูกผลไม้ในบริเวณบ้าน มีพื้นที่เกษตรรอบหมู่บ้าน
2	บ้านป่าไม้ (เวียงสวรรค์) ต. แม่เมาะ	18° 13' 33" N, 99° 40' 34" E	330	SW	11	หมู่บ้านขนาดเล็ก พื้นที่ส่วนใหญ่ใช้ในการสร้างที่อยู่อาศัย มีการปลูกผลไม้ในบริเวณบ้าน พื้นที่รอบหมู่บ้านทำการเกษตร
3	บ้านสบเมาะ ต. สบป้าด	18° 15' 41" N, 99° 42' 38" E	310	SW	5	หมู่บ้านขนาดกลาง พื้นที่ส่วนใหญ่ใช้ในการสร้างที่อยู่อาศัย มีการปลูกผลไม้ในบริเวณบ้าน
4	บ้านสบป้าด ต. สบป้าด	18° 15' 3" N, 99° 45' 50" E	320	S	5	หมู่บ้านขนาดกลาง พื้นที่ส่วนใหญ่ใช้ในการสร้างที่อยู่อาศัย มีการปลูกผลไม้ในบริเวณบ้าน
5	บ้านแม่จาง ต. นาสัก	18° 16' 44" N, 99° 47' 16" E	330	SE	4	หมู่บ้านขนาดเล็ก พื้นที่ส่วนใหญ่ใช้ในการสร้างที่อยู่อาศัย มีการปลูกผลไม้ในบริเวณบ้าน

ตาราง 3.1 (ต่อ) พื้นที่ศึกษาที่ทำการสำรวจไลเคนบริเวณรอบโรงไฟฟ้าแม่เมาะ

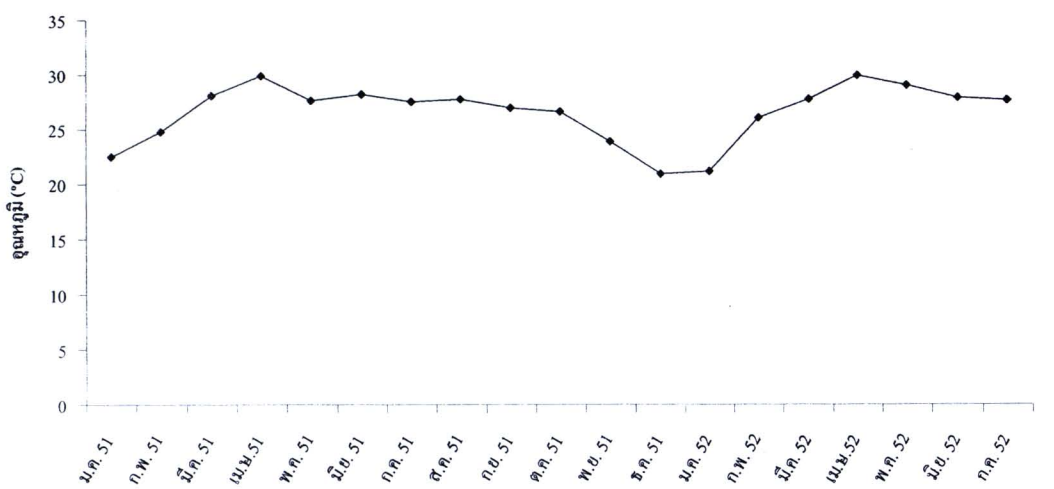
ลำดับ	พื้นที่ศึกษา	ตำแหน่งที่ตั้ง	ความสูงจากระดับน้ำทะเล (ม.)	ทิศทางจากโรงไฟฟ้า	ระยะห่างจากโรงไฟฟ้า (กม.)	ลักษณะของหมู่บ้าน
6	บ้านปางป๋วย ต. นาสัก	18° 13' 9" N, 99° 51' 20" E	380	E	11	หมู่บ้านขนาดเล็กพื้นที่ส่วนใหญ่ใช้ในการสร้างที่อยู่อาศัย มีการปลูกผลไม้ในบริเวณบ้าน มีพื้นที่เกษตรรอบหมู่บ้าน
7	บ้านสบจาง ต. นาสัก	18° 22' 56" N, 99° 50' 14" E	360	NE	12	หมู่บ้านขนาดกลาง พื้นที่ส่วนใหญ่ใช้ในการสร้างที่อยู่อาศัย มีการปลูกผลไม้ในบริเวณบ้าน มีพื้นที่เกษตรรอบหมู่บ้าน
8	บ้านกอรวก ต. จางเหนือ	18° 24' 30" N, 99° 51' 58" E	390	NE	17	หมู่บ้านขนาดเล็ก พื้นที่ส่วนใหญ่ใช้ในการสร้างที่อยู่อาศัย มีการปลูกผลไม้ในบริเวณบ้าน
9	บ้านดง ต.บ้านดง	18° 23' 53" N, 99° 45' 0" E	340	N	10	หมู่บ้านขนาดกลาง พื้นที่ส่วนใหญ่ใช้ในการสร้างที่อยู่อาศัย มีการปลูกผลไม้ในบริเวณบ้าน มีพื้นที่เกษตรรอบหมู่บ้าน
10	บ้านท่าสี ต.บ้านดง	18° 25' 37" N, 99° 45' 29" E	370	N	13	หมู่บ้านขนาดกลาง พื้นที่ส่วนใหญ่ใช้ในการสร้างที่อยู่อาศัย มีการปลูกผลไม้ในบริเวณบ้าน มีถนนสายลำปาง-งาว ตัดผ่านหมู่บ้าน

สภาพภูมิอากาศของพื้นที่ศึกษา

จังหวัดลำปางตั้งอยู่ในภาคเหนือตอนบนของประเทศไทย ซึ่งอยู่ภายใต้อิทธิพลของลมมรสุมสองชนิด คือลมมรสุมตะวันตกเฉียงใต้ และลมมรสุมตะวันออกเฉียงเหนือ โดยลมมรสุมตะวันตกเฉียงใต้พัดปกคลุมระหว่างกลางเดือนพฤษภาคมถึงกลางเดือนตุลาคม มีแหล่งกำเนิดจากบริเวณความกดอากาศสูงในซีกโลกใต้ บริเวณมหาสมุทรอินเดีย ซึ่งพัดออกจากศูนย์กลางเป็นลมตะวันออกเฉียงใต้ และเปลี่ยนเป็นลมตะวันตกเฉียงใต้เมื่อพัดข้ามเส้นศูนย์สูตร ลมมรสุมนี้จะนำมวลอากาศชื้นจากมหาสมุทรอินเดีย ทำให้มีเมฆมากและฝนตกชุกทั่วไป (ฤดูฝน) ส่วนลมมรสุมตะวันออกเฉียงเหนือจะพัดปกคลุมระหว่างกลางเดือนตุลาคมจนถึงกลางเดือนกุมภาพันธ์ มีแหล่งกำเนิดจากบริเวณความกดอากาศสูงในซีกโลกเหนือแถบประเทศมองโกเลียและจีนจึงพัดพาเอามวลอากาศเย็นและแห้งจากแหล่งกำเนิดเข้ามาปกคลุมทำให้ท้องฟ้าโปร่งอากาศหนาวเย็นและแห้งแล้งทั่วไป (ฤดูหนาว) (กรมอุตุนิยมวิทยา, 2552) จากอิทธิพลของลมมรสุมทั้งสองชนิด ส่งผลให้สภาพภูมิอากาศทั่วๆ ไปของจังหวัดลำปาง ในช่วงปี พ.ศ. 2534 – 2550 ที่ผ่านมา มีอุณหภูมิเฉลี่ยตลอดปี 25.8 – 27.5 องศาเซลเซียส อุณหภูมิสูงสุดเฉลี่ยตลอดปี 33.2 – 35.3 องศาเซลเซียส อุณหภูมิต่ำสุดเฉลี่ยตลอดปี 20.0 – 21.8 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์เฉลี่ยตลอดปี 70 – 75 % และมีปริมาณน้ำฝน 712.3 – 1,537.8 มิลลิเมตร (ศูนย์อุตุนิยมวิทยาภาคเหนือ, 2552)

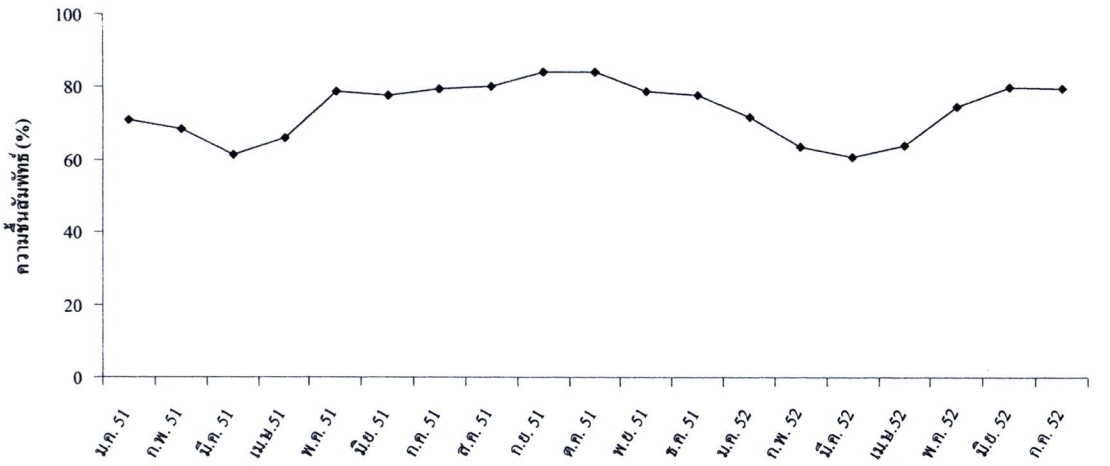
ทำการเก็บตัวอย่างไลเคนและอากาศในช่วงเดือนกุมภาพันธ์ - กรกฎาคม พ.ศ. 2552 ซึ่งช่วงเวลาดังกล่าว มีสภาพภูมิอากาศ ได้แก่ อุณหภูมิเฉลี่ยรายเดือน ความชื้นสัมพัทธ์ในอากาศ ปริมาณน้ำฝน และทิศทางลม ที่ทำการตรวจวัด ณ สถานีอุตุนิยมวิทยาลำปาง ดังนี้

อุณหภูมิเฉลี่ยรายเดือน ช่วงเดือนมกราคม ปี พ.ศ. 2551 ถึง เดือนกรกฎาคม ปี พ.ศ. 2552 มีค่าเท่ากับ 20.9 – 29.9 องศาเซลเซียส ดังภาพ 3.2



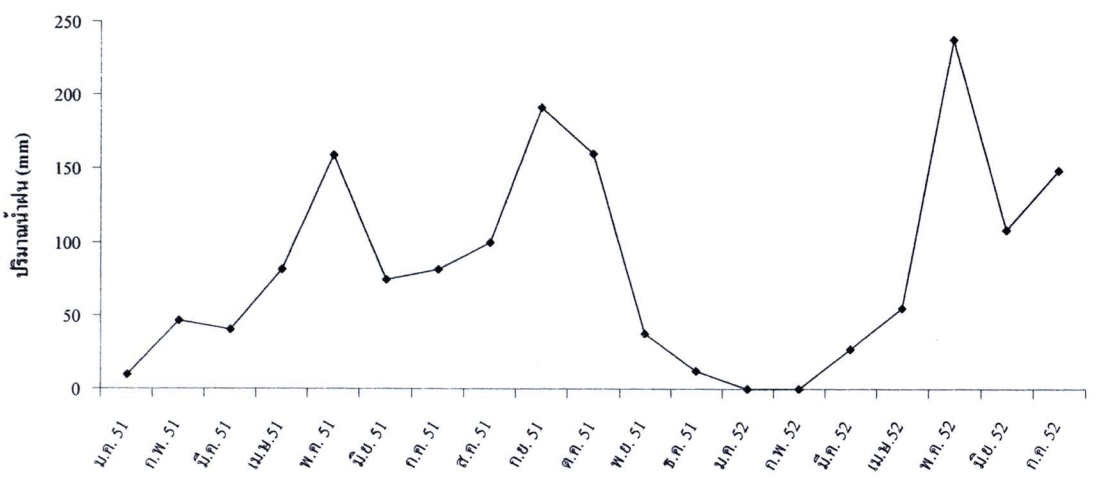
ภาพ 3.2 อุณหภูมิเฉลี่ยในแต่ละเดือนของจังหวัดลำปาง
ในช่วงเดือนมกราคม 2551 – กรกฎาคม 2552 (ศูนย์อุตุนิยมวิทยาภาคเหนือ, 2552)

ความชื้นสัมพัทธ์ในอากาศเฉลี่ยรายเดือน ช่วงเดือนมกราคม ปี พ.ศ. 2551 ถึง เดือนกรกฎาคม ปี พ.ศ. 2552 มีค่าเท่ากับ 60.7 – 84.2 % ดังภาพ 3.3



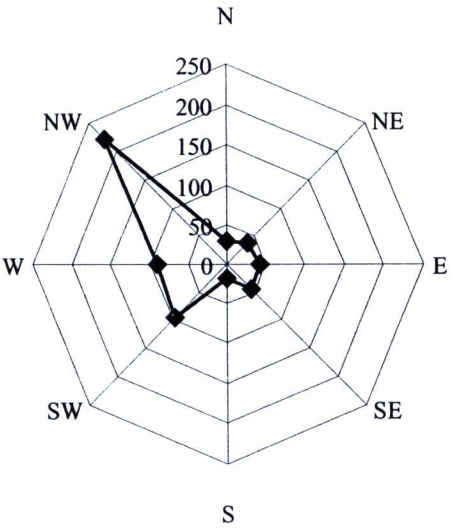
ภาพ 3.3 ความชื้นสัมพัทธ์ในอากาศเฉลี่ย ช่วงเดือนมกราคม 2551 – กรกฎาคม 2552 (ศูนย์อุตุนิยมวิทยาภาคเหนือ, 2552)

ปริมาณน้ำฝนรายเดือน ช่วงเดือนมกราคม ปี พ.ศ. 2551 ถึง เดือนกรกฎาคม ปี พ.ศ. 2552 มีค่าเท่ากับ 0.0 – 237.7 มิลลิเมตร ดังภาพ 3.4



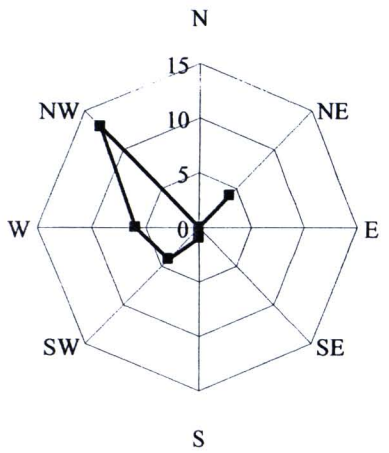
ภาพ 3.4 ปริมาณน้ำฝนรายเดือน ช่วงเดือนมกราคม 2551 – กรกฎาคม 2552 (ศูนย์อุตุนิยมวิทยาภาคเหนือ, 2552)

ทิศทางลมที่พัดผ่านพื้นที่จังหวัดลำปาง ช่วงเดือนมกราคม ปี พ.ศ. 2551 ถึง เดือนกรกฎาคม ปี พ.ศ. 2552 ส่วนมากจะเป็นลมที่พัดมาทางทิศตะวันตกเฉียงเหนือ รองลงมาเป็นทิศตะวันตกเฉียงใต้ ทิศตะวันตก ทิศตะวันออกเฉียงใต้ ทิศตะวันออก ทิศตะวันออกเฉียงเหนือ ทิศเหนือ และทิศใต้ ตามลำดับ ดังภาพ 3.5 เมื่อแยกข้อมูลทิศทางลมที่พัดผ่านพื้นที่จังหวัดลำปาง ในเดือนกุมภาพันธ์ถึงเดือนกรกฎาคม ปี พ.ศ. 2552 แสดงดังภาพ 3.6

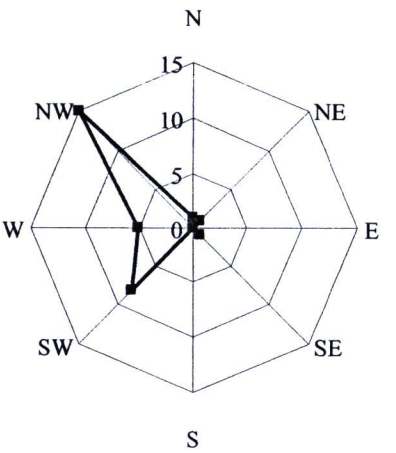


สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ห้องสมุดงานวิจัย

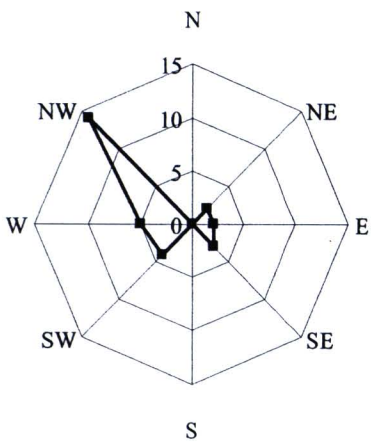
ภาพ 3.5 ทิศทางลมที่พัดผ่านพื้นที่จังหวัดลำปาง ช่วงมกราคม 2551 – กรกฎาคม 2552
(ศูนย์อุตุนิยมวิทยาภาคเหนือ, 2552)



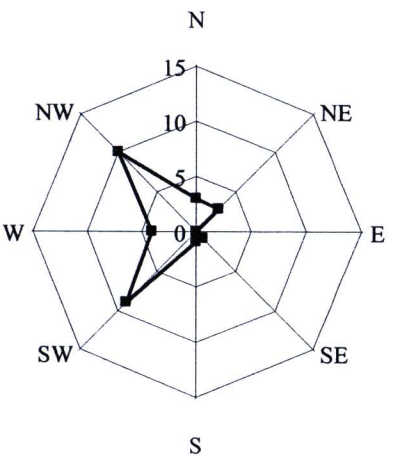
ภาพ 3.6 – ก เดือนกุมภาพันธ์



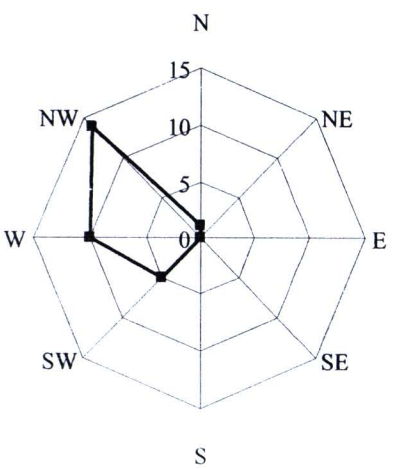
ภาพ 3.6 – ข เดือนมีนาคม



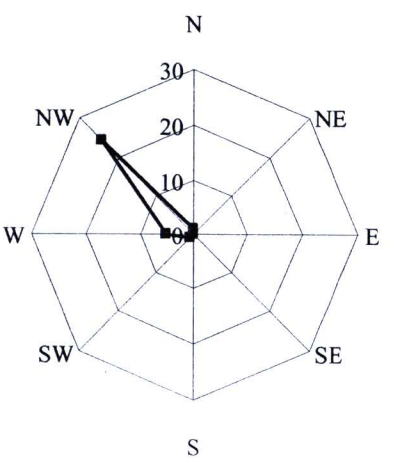
ภาพ 3.6 – ค เดือนเมษายน



ภาพ 3.6 – ง เดือนพฤษภาคม



ภาพ 3.6 – จ เดือนมิถุนายน



ภาพ 3.6 – ฉ เดือนกรกฎาคม

ภาพ 3.6 ก- ฉ ทิศทางลมที่พัดผ่านพื้นที่จังหวัดลำปาง ในเดือนกุมภาพันธ์ถึงกรกฎาคม 2552 (ศูนย์อุตุนิยมวิทยาภาคเหนือ, 2552)

3.2.2 การศึกษาความหลากหลายของไลเคน

3.2.2.1 การคัดเลือกต้นไม้

ทำการศึกษาไลเคนบนต้นมะม่วง (*Mangifera indica* L.) เนื่องจาก ต้นมะม่วงเป็นพืชที่พบทั่วไปในพื้นที่ศึกษา เปลือกของต้นมะม่วงมีค่าความความเป็นกรด – ด่าง ที่ไม่ต่ำหรือสูงเกินไป เหมาะสมต่อศึกษาเติบโตมากกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับพืชที่พบได้ทั่วไปอื่น ๆ เช่น ลำไย (*Dimocarpus longan* Lour.) ลิ้นจี่ (*Litchi chinesis* Sonn.) และ หูกวาง (*Terminalia catappa* L.) (Saipunkaew, 1994) ควรเลือกต้นมะม่วงที่มีเส้นรอบวงประมาณ 60 - 280 เซนติเมตร มีลำต้นตรง หากเอียงไม่ควรเกิน 5 องศา ไม่ถูกปกคลุมด้วยพืชชนิดอื่น อยู่ในที่โล่งไม่มีสิ่งก่อสร้างบดบังแสง ซึ่งอาจมีอิทธิพลต่อการเจริญเติบโตของไลเคนในพื้นที่ทำการศึกษา (ปาลี, 2545) และเลือกต้นมะม่วงที่ไม่ถูกรบกวนจากมนุษย์ หรือถูกทำลายจากสัตว์กินหญ้า (VDI, 1995) สุ่มเลือกต้นมะม่วงเพื่อทำการสำรวจไลเคนในพื้นที่ละ 10 ต้น รวมทั้งหมด 100 ต้น

3.2.2.2 การสำรวจชนิดและความถี่ของไลเคน

ทำการสำรวจชนิดและความถี่ของจำนวนไลเคนบนลำต้นของต้นมะม่วง โดยวิธีที่ประยุกต์จากวิธีการของ VDI (1995) ซึ่งปรับใช้ให้เหมาะสมกับพื้นที่ศึกษาในประเทศไทย โดยใช้กรอบสำรวจ (grid frame) ขนาด 20 x 50 ตารางเซนติเมตร ซึ่งแบ่งเป็น 10 ตารางย่อย ขนาด 10 x 10 ตารางเซนติเมตร วางทาบบนลำต้นมะม่วง โดยให้ขอบล่างของกรอบสำรวจสูงจากพื้นดิน 100 เซนติเมตร (ภาพ 3.7) เลือกวางกรอบสำรวจบนต้นมะม่วงด้านที่พบไลเคนมากหรือหลากหลายที่สุด ควรหลีกเลี่ยงลำต้นด้านที่ไม่เหมาะสม เช่น มีรอยบาดแผล ปุ่ม บ่ม ตะปู เป็นต้น บันทึกชนิดและนับความถี่ของจำนวนไลเคนแต่ละชนิดที่พบในกรอบสำรวจ ในการนับความถี่หากพบไลเคนชนิดเดียวกันอยู่ในตารางย่อยเดียวกันมากกว่า 1 ทัลลัส นับความถี่เท่ากับ 1 และถ้าไลเคนทัลลัสเดียวกันอยู่คาบเกี่ยวมากกว่า 1 ตารางย่อย จะนับความถี่ตามจำนวนตารางย่อยที่คาบเกี่ยว ทำการเก็บตัวอย่างไลเคนที่ไม่สามารถจัดจำแนกชนิดในภาคสนามได้ในซองเก็บตัวอย่าง เพื่อนำมาตรวจสอบในห้องปฏิบัติการภายหลัง พร้อมทั้งเก็บตัวอย่างเปลือกไม้เพื่อนำมาวัดค่า pH เปลือกไม้ บันทึกลักษณะทางกายภาพของต้นไม้ที่สำรวจไลเคน เช่น เส้นรอบวงลำต้น ลักษณะของเปลือกไม้ ทิศการวางกรอบสำรวจ ลงในแบบฟอร์มการสำรวจไลเคน (ภาคผนวก ก)

ภาพ 3.7 การวางกรอบสำรวจ (grid frame) บนลำต้นของต้นมะม่วง

จำแนกชนิดไลเคนที่เก็บตัวอย่างมา โดยใช้โครงสร้างภายนอก เช่น ประเภททัลลัส สีทัลลัส ไรซีน ซิเลีย โครงสร้างการสืบพันธุ์ เป็นต้น และโครงสร้างภายใน เช่น สปอร์ ถุงหุ้มสปอร์ ลักษณะ paraphyses เป็นต้น รวมทั้งการใช้สารเคมีในการหยดทดสอบ เช่น สาร K สาร C สาร Lugol's iodine เป็นต้น เพื่อจัดจำแนกชนิดของไลเคน โดยใช้คู่มือการจำแนกชนิดของไลเคน เช่น Key to the lichen genera of Bogor, Cibodas and Singapore (Sipman, 2003), Lichen of tropical forest in Thailand: A field key to characteristic epiphytic species in northern Thailand (Wolseley and Aquirre-Hudson, 1997) และ A Key to Microlichens of India, Napal and Sri Lanka (Awasthi, 1991) เป็นต้น บางตัวอย่างได้จัดส่งให้แก่ผู้เชี่ยวชาญเพื่อตรวจสอบชนิดต่อไป

3.2.2.3 การวิเคราะห์ pH เปลือกไม้

เก็บตัวอย่างเปลือกไม้จากลำต้นของต้นมะม่วงที่ทำการสำรวจ เก็บรอบลำต้น ที่ระดับความสูง 1 – 1.5 เมตร โดยหลีกเลี่ยงบริเวณที่มีไลเคนขึ้นคลุม เก็บเปลือกไม้หนา 2 - 3 มิลลิเมตร เก็บไว้ในซองเก็บเปลือกไม้และนำไปไว้ในตู้เย็นจนกว่าจะนำมาวิเคราะห์ จากนั้นนำเปลือกไม้ไปอบที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และบดให้ละเอียด ชั่งน้ำหนักให้ได้ 2 กรัม ใส่ในหลอดทดลอง เติมน้ำกลั่น 10 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง จากนั้นนำสารละลายที่ได้มาวัด pH ด้วยเครื่องวัด pH (Staxäng, 1969)

3.2.2.4 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

นำข้อมูลจำนวนชนิดและความถี่ของไลเคนในแต่ละพื้นที่ศึกษา ไปคำนวณหาดัชนีความหลากหลายของแชนนอนวีเนอร์ (Shannon – Wiener's Diversity Index: H') ค่าความสม่ำเสมอ (Evenness: E) และค่าความหลากชนิด (species richness) และจัดกลุ่มพื้นที่ศึกษา ด้วยโปรแกรม MVSP version 3.1 ทำการเปรียบเทียบความหลากหลายของไลเคนในพื้นที่ศึกษาทุกพื้นที่ รวมทั้งวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ระหว่างดัชนีความหลากหลายของไลเคนกับระยะห่างจากโรงไฟฟ้าและค่า pH เปลือกไม้ ในแต่ละพื้นที่ศึกษา โดยใช้ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ของเพียร์สัน (Pearson Correlation coefficient / Pearson Correlation: r) ด้วยโปรแกรม SPSS (Statistical Package for social Science) for window Version 14.0

3.2.3 Passive sampling technique

ทำการเก็บตัวอย่างก๊าซซัลเฟอร์ไดออกไซด์ในอากาศในแต่ละพื้นที่ศึกษา โดยเก็บตัวอย่างอากาศในช่วงฤดูแล้งและฤดูฝน ในฤดูแล้งทำการเก็บตัวอย่างอากาศเป็นเวลา 1 สัปดาห์ ในช่วงวันที่ 21- 28 กุมภาพันธ์ พ.ศ. 2552 ส่วนฤดูฝนทำการเก็บตัวอย่างอากาศเป็นเวลา 1 สัปดาห์ เช่นกัน ในช่วงวันที่ 5 - 12 กรกฎาคม พ.ศ. 2552

3.2.3.1 การเตรียมอุปกรณ์และสารเคมีในการเก็บตัวอย่างอากาศ

1. หลอดเก็บตัวอย่างอากาศ

ใช้หลอดเก็บตัวอย่างอากาศชนิดโพลีเอทธีลีน (Polyethylene; PE) ที่มีความยาว 5.4 เซนติเมตร เส้นผ่านศูนย์กลาง 1.4 เซนติเมตร โดยล้างทำความสะอาดหลอดด้วยน้ำปราศจากไอออน (DI) ด้วยเครื่อง ultrasonicator เป็นเวลา 30 นาที 2 - 3 ครั้ง นำไปอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 คืน (Khaodee, 2006)

2. กระดาษกรอง

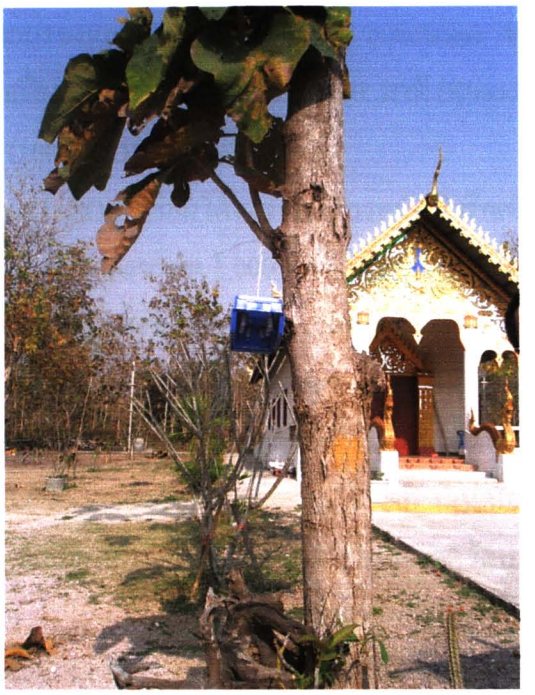
ใช้กระดาษกรอง Whatman (GF/A) โดยตัดกระดาษกรองให้มีขนาดพอดีกับเส้นผ่านศูนย์กลางภายในของหลอดเก็บตัวอย่าง นำกระดาษกรองที่ตัดแล้ว นำไปทำความสะอาดด้วยน้ำ DI โดยเขย่าด้วยเครื่อง ultrasonicator เป็นเวลา 15 นาที แล้วล้างด้วยน้ำ DI อีก 2 - 3 ครั้ง อบให้แห้งที่อุณหภูมิ 60 °C เป็นเวลา 1 คืน เก็บกระดาษกรองที่เตรียมแล้วในอุปกรณ์ควบคุมความชื้น (desiccators) จนกว่าจะนำไปใช้ ใส่กระดาษกรองลงในหลอดเก็บตัวอย่าง โดยให้กระดาษกรองอยู่ล่างสุดของหลอดเก็บตัวอย่าง (Khaodee, 2006)

3. สารดูดซับ

สารดูดซับที่เหมาะสมในการเก็บตัวอย่างก๊าซซัลเฟอร์ไดออกไซด์ตามวิธีของ Khaodee (2006) คือไตรเอทาโนลามีน (Triethanolamine ; TEA) 12 % ที่มีส่วนผสมกลีเซอรีน (Glycerin) 4 % ซึ่งเตรียมได้จาก ปิเปตสาร TEA มาปริมาตร 12 มิลลิลิตร และกลีเซอรีน 4 มิลลิลิตร เติมลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำ DI จนครบ 100 มิลลิลิตร

3.2.3.2 การวางหลอดเก็บตัวอย่างอากาศ

ในการวางเก็บตัวอย่างอากาศของแต่ละพื้นที่ศึกษา จะใช้หลอดเก็บตัวอย่างอากาศจำนวน 8 หลอดต่อพื้นที่ศึกษา สำหรับเป็นหลอดเก็บตัวอย่างอากาศจำนวน 5 หลอด และเป็น blank จำนวน 3 หลอด ซึ่งหลอดเก็บตัวอย่างอากาศเตรียมได้จาก นำสารดูดซับ (12 % TEA + 4 % Glycerin) ปริมาตร 50 ไมโครลิตร ฉีดลงในกระดาษกรอง Whatman (GF/A) ที่บรรจุอยู่ในหลอดเก็บตัวอย่างอากาศ ปิดฝาหลอดและพันด้วยพาราฟิล์ม แล้วนำหลอดเก็บตัวอย่างที่เตรียมเสร็จแล้ว บรรจุลงในกล่องป้องกัน (shelter) เพื่อช่วยป้องกันหรือลดผลกระทบจากสภาพสิ่งแวดล้อมอื่นๆ เช่น แสง ลม ฝน และฝุ่นละอองต่างๆ ไม่ให้เข้าไปรบกวนภายในหลอดเก็บตัวอย่างอากาศ นำกล่องป้องกันไปแขวนที่โล่งแจ้ง ไม่มีสิ่งกำบังลม ที่ระดับความสูงเหนือพื้นดิน 1.5 – 2 เมตร โดยผูกติดกับสิ่งยึดเกาะให้แน่นเพื่อป้องกันไม่ให้กล่องป้องกันเคลื่อนที่ได้ (ภาพ 3.8) เปิดฝาหลอดเก็บตัวอย่างอากาศ ส่วนหลอดเก็บตัวอย่างที่เป็น blank จะปิดฝาหลอดไว้ บันทึกเวลาที่เริ่มแขวนทดสอบ ทิ้งไว้เป็นเวลา 7 วัน (168 ชั่วโมง) เมื่อครบกำหนดเวลา บันทึกเวลาเก็บหลอดเก็บตัวอย่างอากาศ และเก็บหลอดเก็บตัวอย่างอากาศโดยปิดฝาหลอดให้สนิทและพันด้วยพาราฟิล์ม เก็บไว้ในถุงซิบในกล่องโฟมที่รักษาอุณหภูมิต่ำ เพื่อนำกลับมาวิเคราะห์ที่ห้องปฏิบัติการ เก็บหลอดเก็บตัวอย่างอากาศไว้ในตู้เย็นจนกว่าจะนำมาวิเคราะห์ (Khaodee, 2006)



ภาพ 3.8 การวางหลอดเก็บตัวอย่างอากาศ

3.2.3.3 การสกัดตัวอย่าง

ก่อนสกัดตัวอย่าง ควรล้างด้านนอกของหลอดเก็บตัวอย่างอากาศด้วยน้ำให้สะอาด ทำการสกัดตัวอย่างด้วยการเติมน้ำ DI ปริมาตร 4 มิลลิลิตร ลงในหลอดเก็บตัวอย่างอากาศ ปิดฝานำไปเขย่าด้วยเครื่อง ultrasonicator เป็นเวลา 15 นาที เพื่อสกัดสารละลายซัลเฟตไอออน (SO_4^{2-}) ดูดสารละลายที่ได้ด้วยกระบอกฉีดยา (syring) ขนาด 3 มิลลิลิตร แล้วกรองด้วย glass syringe filter (cellulose acetate ขนาดรูพรุน 0.45 ไมโครเมตร) จะได้สารตัวอย่างที่ต้องการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคไอออนโครมาโตกราฟีต่อไป (Khaodee, 2006)

3.2.3.4 การวิเคราะห์ซัลเฟตไอออน (SO_4^{2-}) ด้วยเครื่องไอออนโครมาโตรกราฟ

1. การเตรียม eluent หรือ mobile phase

สาร eluent 3.2 mM Na_2CO_3/ 1.0 mM $NaHCO_3$ เตรียมได้จาก ชั่งสาร Na_2CO_3 3.4046 กรัม และ $NaHCO_3$ 0.8426 กรัม ละลายด้วยน้ำ DI ในบีกเกอร์ เทสารละลายทั้งสองลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำ DI จนครบ 100 มิลลิลิตร จากนั้นปิเปตสารละลายที่เตรียมได้ มาปริมาตร 10 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 1,000 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำ DI จนครบ 1,000 มิลลิลิตร ทำซ้ำ 2 ครั้ง จะได้สาร eluent 2 ลิตร นำสาร

eluent ที่ได้กรองด้วยกรวยกรองและ cellulose acetate membrane ขนาด 0.45 ไมโครเมตร แล้วทำการ degassed ด้วยเครื่อง ultrasonicator เป็นเวลา 30 นาที (Khaodee, 2006)

2. การเตรียม suppresser (100 mM H_2SO_4)

suppresser (100 mM H_2SO_4) เตรียมได้จาก ปิเปตกรดซัลฟิวริกเข้มข้น (H_2SO_4) มาปริมาตร 5.5 มิลลิลิตร ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 1,000 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำ DI จนครบ 1,000 มิลลิลิตร นำสารละลายที่ได้กรองด้วย 0.45 μm cellulose acetate membrane (Khaodee, 2006)

3. การเตรียมสารละลายมาตรฐาน (standards solution)

สารละลายมาตรฐานในการวิเคราะห์หาความเข้มข้นของซัลเฟตไอออน (SO_4^{2-}) ใช้ความเข้มข้น 0.1, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 และ 1.0 ppm โดยเตรียมได้จาก ปิเปตสารละลายซัลเฟตมาตรฐานความเข้มข้น 1,000 ppm มาปริมาตร 250 ไมโครลิตร ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 25 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำ DI จะได้สารละลายซัลเฟตมาตรฐานความเข้มข้น 10 ppm จากนั้นปิเปตสารละลายซัลเฟตมาตรฐานความเข้มข้น 10 ppm มาปริมาตร 250, 500, 1,000, 1,500, 2,000 และ 2,500 ไมโครลิตร ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 25 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำ DI จนครบ จะได้สารละลายมาตรฐานที่ความเข้มข้น 0.1, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 และ 1.0 ppm ตามลำดับ (Khaodee, 2006)

4. การวิเคราะห์หาปริมาณซัลเฟตไอออน (SO_4^{2-})

การวิเคราะห์หาความเข้มข้นของก๊าซซัลเฟอร์ไดออกไซด์ในอากาศ หาได้จากการวิเคราะห์หาปริมาณซัลเฟตไอออน (SO_4^{2-}) ด้วยเครื่องไอออนโครมาโตรกราฟ โดยใช้สภาวะที่เหมาะสมของเครื่อง ดังตาราง 3.2 (Wiriya, 2008)

ตาราง 3.2 สภาวะที่เหมาะสมของเครื่องไอออนโครมาโตรกราฟ สำหรับการวิเคราะห์ไอออนลบ

Analysis item	Anion
Eluent	3.2 mM Na_2CO_3 /1.0 mM $NaHCO_3$
Flow late	0.70 ml/min
Volume	20 μl
Analysis column	Metrosep A supp 5 – 250 (4.0 x 250 mm)
Particle size	5.0 μm
Suppressor	Anion self-generating suppressor with DI water / 100 mM H_2SO_4
Temperature	20.0 °C
Pressure	12.0 MPa

เริ่มด้วยการจัดสภาวะที่เหมาะสมให้กับเครื่องไอออนโครมาโตรกราฟ ตามด้วยการ run base line จนนิ่ง (ประมาณ 1 ชั่วโมง) ตามด้วยการฉีดสารละลายมาตรฐานทั้ง 6 ความเข้มข้น เพื่อใช้ทำกราฟมาตรฐาน แล้วจึงตามด้วยการฉีดสารตัวอย่าง ซึ่งจะได้ความเข้มข้นของซัลเฟตไอออน (SO_4^{2-}) ในหน่วย ppm หลังจากนั้นทำการคำนวณโดยใช้สูตร 2.4, 2.5 และ 2.6 (หน้า 20) ได้ความเข้มข้นของก๊าซซัลเฟอร์ไดออกไซด์ในหน่วย ppbv

3.2.4 การหาความสัมพันธ์ของปริมาณก๊าซซัลเฟอร์ไดออกไซด์กับความหลากหลายของไลเคน

วิเคราะห์หาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณก๊าซซัลเฟอร์ไดออกไซด์กับดัชนีความหลากหลายของไลเคนในแต่ละพื้นที่ โดยใช้ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ของเพียร์สัน (Pearson Correlation coefficient / Pearson Correlation: r) ด้วยโปรแกรม SPSS (Statistical Package for social Science) for window Version 14.0