บทที่ 3
วิธีดำเนินการวิจัย

1. อุปกรณ์

1.1 อุปกรณ์สนาม

-ลูกตุ้มเหล็กถ่วงหาความลึก

-เชือกไนล่อนขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางไม่ต่ำกว่า 1/2 เซนติเมตร ยาว ประมาณ 45 เมตร

-ลูกบอลพลาสติกใหญ่ 1 ลูก

-สายวัด ยาว 1 เมตร

-Secchi disc

-water sampler ขนาด 2 ลิตร 1 ชุด พร้อม messenger

-electrode kit ของบริษัท WTW ประเทศเยอรมัน สายยาววัด pH, DO, conductivity และ อุณหภูมิน้ำ

-ตาข่ายแพลงตอน (plankton net) ขนาดความถี่ 10 ไมครอน

-ขวดเก็บน้ำขนาด 2 ลิตร และ 1 ลิตร อย่างละ 10 ใบ

-ขวดสีชา ขนาด 100 มิลลิลิตร 60 ขวด

-ถังบรรจุน้ำแข็งขนาดใหญ่

ภาพที่ 3 เครื่องมือตรวจคุณภาพน้ำ DO, pH, conductivity และอุณหภูมิน้ำ

ภาพที่ 4 เครื่องมือเก็บน้ำที่ระดับความลึกต่างๆ (water sampler)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Chiang Mai University

1.2 อุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการ

ก. ตรวจหาสารอาหาร

บิกเกอร์ ขนาด 25 มิลลิลิตร 20 ใบ

-สารเคมีตรวจสอบอาหารของบริษัท HACH ตรวจหาออร์โธฟอสเฟต ฟอสฟอรัสทั้งหมด ไนเตรทไนโตรเจน แอมโมเนียไนโตรเจน

ข. วิเคราะห์คลอโรฟิลล์ เอ

-อุปกรณ์ชุดกรองน้ำ

-กระดาษกรอง GF/C (glass fiber filter) และกระดาษกรอง Whatman No.1

-แอลกอฮอล์เอทธานอล (ethanol) 90%

-ครกบดยา 1 ชุด

-water bath

-กรดเกลือ 2 N และโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) .06 N

-หลอดตรวจคลอโรฟิลล์ 25 ml 7 ชุด พร้อมเครื่องวิเคราะห์ Spectrophotometer UV-160 A

-automatic micropipette

-Spectrophotometer รุ่น DR2000 ปี 1991 ของบริษัท HACH อเมริกา ตรวจหาอาหาร

ค. คุณสมบัติทางเคมีบางประการ

-ขวด BOD ขาวและดำ 7 ชุด

-กรดซัลฟูริก (H_2SO_4) .02 N

ง. อุปกรณ์ตรวจนับและวินิจฉัยแพลงตอนพืช

-Lugol's solution

-slide และ cover glass

-น้ำยาทาเล็บใสไม่มีสี

-กล้องจุลทรรศน์และกล้องถ่ายภาพสำหรับบันทึกภาพแพลงตอนพืช

-กล้องจุลทรรศน์ Inverted microscope พร้อมอุปกรณ์ตรวจนับ 1 ชุด

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ Chiang Mai University

ภาพที่ 5 สารเคมีสำเร็จรูปในการตรวจวัดค่าสารอาหาร

ภาพที่ 6 อุปกรณ์ในการตรวจสารอาหาร (spectrophotometer รุ่น DR2000) ของบริษัท Hack อเมริกา

ภาพที่ 7 ขวดหาค่า BOD

ภาพที่ 8 อุปกรณ์ในการวิเคราะห์คลอโรฟิลล์ เอ

ภาพที่ 9 อุปกรณ์ในการวิเคราะห์คลอโรฟิลล์ เอ (spectrophometer UV-160A)

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ Chiang Mai University

2. วิธีการวิจัย

1. การเลือกเก็บตัวอย่าง

ใช้ลูกตุ้มขนาดใหญ่และน้ำหนักมาก หย่อนไปจุดต่างๆ ตามแนวร่องน้ำเก่าเพื่อหาจุดที่ลึกที่สุด 1 จุด แล้วทำเครื่องหมายไว้โดยใช้ก้อนหินขนาดใหญ่ผูกเชือกไนลอนถ่วงไว้พื้นน้ำด้านล่าง ปลายอีกด้านหนึ่งผูกกับลูกบอลพลาสติกลอยไว้ เพื่อเป็นจุดสำหรับการมาเก็บตัวอย่างน้ำและตรวจวัดคุณสมบัติของน้ำในด้านต่างๆ ทุกครั้งที่จุดนี้ อีกทั้งเป็นจุดที่จะบันทึกระดับความลึกของน้ำในแต่ละครั้ง

2. การเก็บตัวอย่างน้ำและตรวจวัดคุณสมบัติทางด้านกายภาพและเคมีที่จุดเก็บตัวอย่าง

2.1 การเก็บตัวอย่างน้ำ เก็บน้ำโดยใช้ water sampler ขนาด 2 ลิตร ที่ระดับ 0, 5, 10, 15, 20, 25 และ 30 เมตร หรือตามระดับความลึกที่แท้จริงในขณะที่ทำการศึกษา โดยทำการเก็บตัวอย่างเดือนละครั้งจำนวน 6 เดือน เก็บน้ำระดับละ 6 ลิตร แบ่งใส่ขวดพลาสติก ขนาด 2 ลิตร ส่วนหนึ่งเพื่อใช้หาคลอโรฟิลล์ เอ ที่ห้องปฏิบัติการ อีกส่วนหนึ่งใส่ขวดพลาสติกขนาด 1 ลิตร และนำแช่น้ำแข็งในถังแช่เพื่อนำไปวิเคราะห์หาสารอาหาร ความเป็นด่าง และ BOD ที่ห้องปฏิบัติการในทันทีที่ถึงห้องปฏิบัติการ น้ำส่วนที่เหลือรินใส่ขวดสีชา ขนาด 100 มิลลิลิตร แล้วเก็บรักษาแพลงตอนพืชด้วย Lugol's solution จำนวน 2% ของน้ำตัวอย่าง เพื่อนำไปศึกษานับจำนวนแพลงตอนพืชต่อไป น้ำที่เหลือนำมากรองด้วย plankton net ขนาด 10 ไมครอน แบ่งน้ำที่กรองแล้วออกเป็น 2 ส่วน ส่วนหนึ่งเก็บรักษาแพลงตอนพืชด้วย Lugol's solution จำนวน 2% ของน้ำ อีกส่วนไม่ต้องใส่ Lugol's solution เพื่อนำไปถ่ายรูปแพลงตอนพืชใต้กล้องจุลทรรศน์ในห้องปฏิบัติการ ตัวอย่างน้ำที่กรองด้วยตาข่ายแพลงตอนนั้นจะนำไปทำการวินิจฉัย (identify) แพลงตอนพืชต่อไป

2.2 การตรวจวัดคุณสมบัติของน้ำทางด้านกายภาพและเคมีที่จุดเก็บตัวอย่าง

2.2.1 วัดอุณหภูมิอากาศ (air temperature) โดยใช้เทอร์โมมิเตอร์ชุดสนาม

2.2.2 วัดอุณหภูมิน้ำ (water temperature) โดยใช้เทอร์โมมิเตอร์ชุดสนาม

2.2.3 วัดความลึกของน้ำที่แสงส่องถึง (Secchi depth) โดยใช้ Secchi disc

2.2.4 วัดค่าการนำไฟฟ้า (conductivity) โดยใช้เครื่องมือตรวจคุณภาพน้ำ

2.2.5 วัดความเป็นกรด-ด่าง (pH) ของน้ำ โดยใช้เครื่องมือตรวจคุณภาพน้ำ

2.2.6 วัดปริมาณออกซิเจนละลายน้ำ (DO) โดยใช้เครื่องมือตรวจคุณภาพน้ำ

3. การศึกษาแพลงตอนพืช

3.1 การวินิจฉัยชนิดของแพลงตอนพืช

ศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์วาดภาพและบันทึกรายละเอียดของแพลงตอนพืชแต่ละชนิด พร้อมถ่ายภาพใต้กล้องไว้ โดยใช้ตัวอย่างน้ำที่กรองด้วยตาข่ายแพลงตอน ซึ่งจะมีแพลงตอนพืชจำนวนมาก วินิจฉัยแพลงตอนพืชแต่ละชนิด โดยการเปรียบเทียบภาพและข้อมูลอื่นๆ กับหนังสือที่เกี่ยวข้องหลายเล่ม อาทิเช่น

-ลัดดา (2538)

-ยุวดี (2538)

-Popovsky (1990)

-Prescott (1962)

-Prescott (1970)

-Smith (1950)

-Withford (1969)

3.2 การนับปริมาณของแพลงตอนพืช

การนับปริมาณของแพลงตอนพืช ทำภายใต้กล้องจุลทรรศน์ inverted microscope โดยใช้แพลงตอนพืชจากขวดสีชาที่ไม่ผ่านการกรองด้วยตาข่ายแพลงตอนจากตัวอย่างน้ำข้อ 2.1 เขย่าขวดก่อนเทใส่ champer ขนาด 10 มิลลิลิตร ทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง แพลงตอนพืชจะตกตะกอนลงสู่ก้นของ chamber แล้วนำไปนับปริมาณของแพลงตอนพืชแต่ละชนิดจากตัวอย่างน้ำทุกตัวอย่าง ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ inverted microscope ด้วยวิธีการของ Utermohl (1952) (ภาคผนวก)

ภาพที่ 10 chamber ที่ใช้ในการตรวจนับแพลงตอนพืช

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ Chiang Mai University

4. การวิเคราะห์คุณภาพน้ำและสารอาหารในห้องปฏิบัติการ

4.1 ความเป็นด่าง (alkalinity) โดยวิธี Phenolpthalein Methyl Orange Indicator (APHA, 1975) อ้างโดยศิริเพ็ญ 2530

4.2 การวิเคราะห์ปริมาณสารอาหาร

นำตัวอย่างน้ำในขวดเก็บตัวอย่างปริมาณ 1 ลิตร มาวิเคราะห์หาปริมาณธาตุอาหารทันทีที่ห้องปฏิบัติด้วยเครื่องมือ spectrophotometer DR/2000 ปี 1991 ของบริษัท HACH สหรัฐอเมริกา ซึ่งใช้แนวทางวิธีการของ APHA Standard Methods (APHA, 1975) โดยวิธีการนี้มีสารเคมีสำเร็จรูปช่วยในการทดสอบสารอาหารแต่ละตัวคือ powder pillow วิธีขั้นตอนดังภาคผนวก ซึ่งหาค่าออร์โธ-ฟอสเฟต ฟอสฟอรัสทั้งหมด ไนเตรทไนโตรเจน และแอมโมเนีย ไนโตรเจน

4.3 การวิเคราะห์ BOD โดยวิธี Azide Modification (APHA, 1975)

5. การวิเคราะห์หาคลอโรฟิลล์เอ โดยวิธีการของ Nusch (1980)

6. การวิเคราะห์ทางสถิติเพื่อหาความสัมพันธ์ของสารอาหารและการแพร่กระจายของแพลงตอนพืชในแต่ละ division โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS for window

5. สถานที่ทำการทดลอง

1. สถานที่เก็บตัวอย่างน้ำและแพลงตอนพืช

เก็บตัวอย่างน้ำและแพลงตอนพืชที่อ่างเก็บน้ำเขื่อนแม่กวง อำเภอดอยสะเก็ด จังหวัดเชียงใหม่ โดยเก็บจุดที่เลือกไว้ข้างต้น ที่ระดับ 0, 5, 10, 15, 20, 25 และ 30 เมตร

2. สถานที่ทำการศึกษาและวิเคราะห์ข้อมูล

2.1 ทำการวินิจฉัยชนิดและนับปริมาณแพลงตอนที่หน่วยวิจัยสาหร่ายประยุกต์ ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

2.2 วิเคราะห์ปริมาณสารอาหารและคลอโรฟิลล์ เอ ที่ห้องปฏิบัติการ ERA (Environmental Risk Assessment for Tropical Ecosystem) ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

2.3 ถ่ายภาพจากกล้องจุลทรรศน์ที่ห้องปฏิบัติการชีววิทยา ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ และหน่วยวิจัยโรคพืช คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

2.4 วิเคราะห์หาค่าสหสัมพันธ์ (correlation coefficient) โดยใช้เครื่องคอมพิวเตอร์ส่วนตัวของผู้วิจัย

2.6 วิเคราะห์หาความเป็นด่างของน้ำ ที่หน่วยวิจัยสาหร่ายวิทยาประยุกต์ ภาควิชาชีววิทยา มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

2.7 วิเคราะห์ BOD ที่หน่วยวิจัยสาหร่ายวิทยาประยุกต์ ภาควิชาชีววิทยา มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

6. ระยะเวลาทำการวิจัย

ตั้งแต่เดือนพฤศจิกายน 2537 ถึงเดือนเมษายน 2538 โดยเก็บตัวอย่างเดือนละครั้ง จำนวน 6 เดือนติดต่อกัน

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ Chiang Mai University