บทที่ 3
อุปกรณ์และวิธีการวิจัย

อุปกรณ์ในการวิจัยมีรายละเอียด ดังนี้

1. อุปกรณ์เก็บตัวอย่างภาคสนาม

1.1 อุปกรณ์เก็บน้ำเพื่อวิเคราะห์คุณภาพน้ำ

- Ruttner water sampler ขนาด 2 ลิตร 1 ชุด พร้อม messenger
- ถังน้ำขนาด 10 ลิตร
- ขวดโพลีเอธิลีน ขนาด 1 และ 2 ลิตร
- ขวด BOD

1.2 อุปกรณ์เก็บตัวอย่างน้ำเพื่อสำรวจปริมาณโคลิฟอร์มแบคทีเรีย

- ขวด medical flat ปลอดเชื้อ

1.3 อุปกรณ์เก็บตัวอย่างน้ำเพื่อสำรวจชนิดและปริมาณแพลงก์ตอนพืช

- ตาข่ายแพลงก์ตอน ขนาดความถี่ 10 ไมโครเมตร
- ขวดสีชาขนาด 150 มิลลิลิตร
- สารเคมีที่ใช้เก็บรักษาแพลงก์ตอนพืช ได้แก่ Lugol' s solution

2. อุปกรณ์วิเคราะห์คุณภาพน้ำทางกายภาพและเคมีภาคสนาม

2.1 เครื่องมือตรวจคุณภาพน้ำชุดสนาม (electrode kit) ของบริษัท WTW ประเทศเยอรมณี ประกอบด้วย

- pH meter สำหรับวัดค่าความเป็นกรดด่าง
- conductivity meter สำหรับวัดค่าการนำไฟฟ้า

2.2 Secchi disc และตลับเมตร สำรวจวัดความลึกที่แสงส่องถึง

2.3 เทอร์โมมิเตอร์สำหรับวัดอุณหภูมิน้ำ และอากาศ

2.4 สารเคมีและอุปกรณ์ที่ใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำได้แก่

- แมงกานีสซัลเฟต
- อัลคาไลน์ไอโอไดล์เอไซด์
- น้ำแป้ง
- โซเดียมไธโอซัลเฟต 0.021 โมลาห์ พร้อมชุดไตเตรต

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

3. อุปกรณ์ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ

3.1 อุปกรณ์วิเคราะห์สารอาหาร

- spectrophotometer DR/2010
- สารเคมีสำหรับตรวจสอบไนเตรต ไนโตรเจน แอมโมเนีย ไนโตรเจน และ Soluble Reactive Phosphorus (SRP)

3.2 อุปกรณ์ในการวิเคราะห์ความเป็นด่าง

- สารเคมีที่ใช้ได้แก่ ฟีนอล์ฟทาลีน เมธิลออเรนจ์ กรดซัลฟูริก 0.025 นอร์มัล
- ชุดไตเตรตได้แก่ บิวเรต Erlenmeyer flask บีกเกอร์และกระบอกตวง

3.3 เครื่องมือวิเคราะห์ค่าความขุ่น

3.4 อุปกรณ์ในการวิเคราะห์ปริมาณโคลิฟอร์มแบคทีเรีย

- หลอดทดลอง และจุกสำลีที่ปราศจากเชื้อ
- หลอดดักก๊าซ
- ปิเปตขนาด 1 และ 10 มิลลิลิตร
- Incubator ที่อุณหภูมิ 37 ˚C

3.5 อุปกรณ์สำหรับวิเคราะห์คลอโรฟิลล์ *เอ* ได้แก่

- เอธิลแอลกอฮอล์ 90%
- กรดไฮโดรคลอริก 2 นอร์มอล
- อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ
- automatic micropipette
- กระดาษกรองGF/C (glass fiber filter) และกระดาษกรอง Whatman No.1
- กระดาษอลูมิเนียม
- โกร่งบดยา
- Spectrophotometer

3.6 อุปกรณ์ศึกษาชนิดและปริมาณแพลงก์ตอนพืช

- กล้องจุลทรรศน์ชนิดถ่ายภาพได้
- กล้องจุลทรรศน์ชนิดเลนส์ประกอบ
- กล้องจุลทรรศน์แบบ inverted
- สไลด์ กระจกปิดสไลด์

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

วิธีการวิจัย

1. เลือกแหล่งสำรวจ และเก็บตัวอย่าง

สำรวจสภาพทั่วไปของแหล่งน้ำเช่น ทางน้ำเข้า ทางน้ำออก บริเวณที่ กำหนดเป็นจุดเก็บตัวอย่างของแหล่งน้ำ แล้วทำการบันทึกจุดพิกัด

หมายเหตุ : การศึกษาในครั้งนี้ไม่สามารถศึกษาจุดที่ลึกที่สุดของอ่างเก็บน้ำเขื่อนภูมิพล ซึ่งมีความลึกมากกว่า 100 เมตร เนื่องจากอุปกรณ์ในการเก็บตัวอย่างน้ำมีข้อจำกัด สามารถเก็บได้เพียง 40 เมตร

1.1 การเลือกจุดเก็บตัวอย่าง

1.1.1 จุดเก็บตัวอย่างอ่างเก็บน้ำเขื่อนภูมิ พล จุดที่ศึกษามีความลึกจากระดับผิวน้ำลงไปถึงก้นแหล่งน้ำ มีความลึกประมาณ 40 เมตร โดยให้ชื่อจุดนี้ว่าจุดเก็บตัวอย่างในแหล่งน้ำ ตั้งอยู่บนพิกัดที่ 17° 14.344′ N 98° 56.813′ E ซึ่งกำหนดให้เป็นตัวแทนของแหล่งน้ำ [ภาพ 1(A) และ 2]

1.1.2 จุดเก็บตัวอย่างอ่างเก็บน้ำเขื่อนน้ำงึม จุดเก็บตัวอย่างในแหล่งน้ำ พิกัดที่ 18° 32.265′ N 102° 34.868′ E เป็นจุดที่เป็นตัวแทนของแหล่งน้ำ ซึ่งเป็นจุดที่ลึกที่สุดของแหล่งน้ำด้วย [ภาพ 1(B) และ 3]

1.2 การเก็บตัวอย่าง

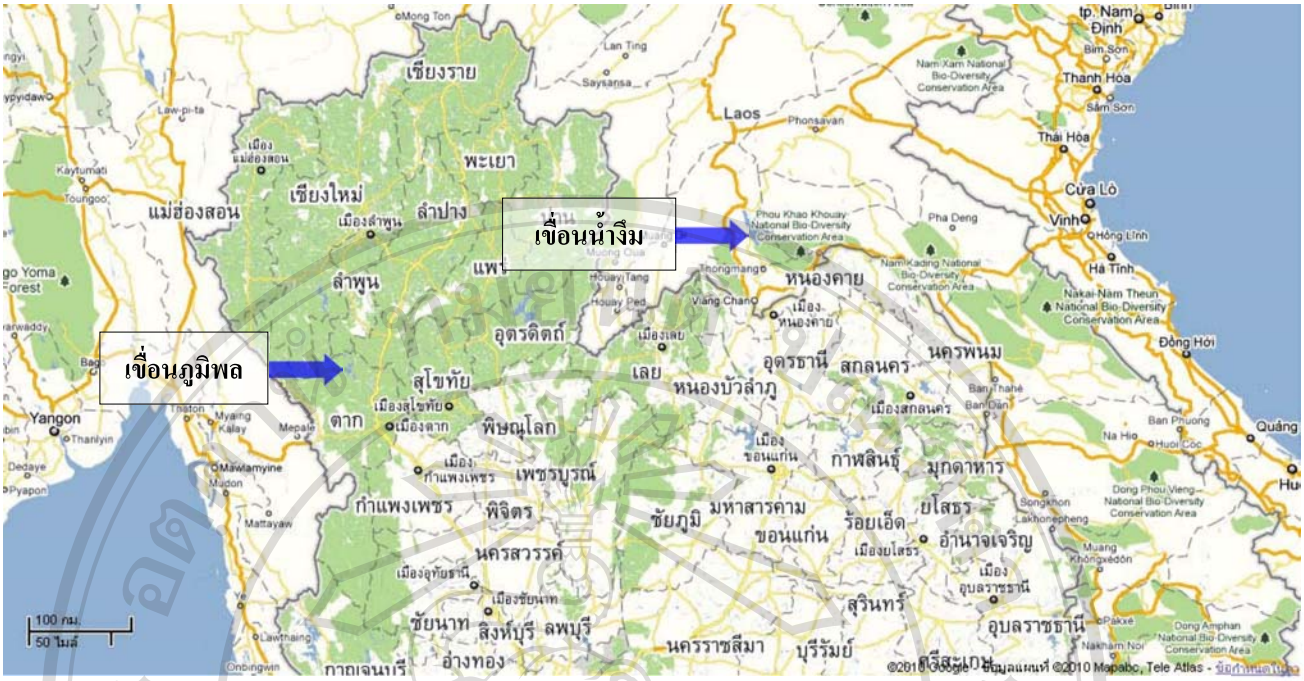
1.2.1 การเก็บตัวอย่างน้ำ

จากจุดเก็บตัวอย่างในแหล่งน้ำ ทำการ เก็บตัวอย่างบริเวณผิวน้ำ และที่ระดับความลึกทุกๆ 5 เมตรจากผิวน้ำ จนถึงพื้นท้องน้ำ เก็บตัวอย่างในแต่ละจุดเก็บตัวอย่างโดยใช้ Ruttner water sampler นำตัวอย่างมาใส่ในขวดโพลีเอธิลีนปริมาตร 2 ลิตร แล้วเก็บในถังน้ำแข็งเพื่อเป็นการลดอัตราเร็วของการเกิดกระบวนการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพและเคมีของน้ำตัวอย่าง

1.2.2 การเก็บตัวอย่างแพลงก์ตอนพืช

เก็บแพลงก์ตอนพืชโดยใช้ขวดสีชาเก็บน้ำที่ กรองผ่านและไม่กรองผ่านการกรองจากตาข่ายแพลงก์ตอนที่มีความถี่ 10 ไมโครเมตร ที่บริเวณผิวน้ำ และระดับความลึกทุกๆ 5 เมตรจากผิวน้ำจนถึงพื้นท้องน้ำ โดยใช้น้ำตัวอย่าง ตัวอย่างละ 10 ลิตร แล้วเก็บรักษาตัวอย่างแพลงก์ตอนพืชด้วยน้ำยาลูกอล 0.7 มิลลิลิตรต่อตัวอย่างน้ำ 100 มิลลิลิตร (Eaton *et al*., 2005) ตัวอย่างแพลงก์ตอนพืชที่เก็บโดยการกรองด้วยตาข่ายแพลงก์ตอนนั้นเพื่อใช้ในการวินิจฉัยชนิด ส่วนน้ำที่เก็บโดยไม่ผ่านการกรองนั้น เพื่อใช้ในการนับแพลงก์ตอนพืชโดยการตกตะกอน (Utermöhl, 1958)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาพ 1 แผนที่บางส่วนของประเทศไทยและสาธารณรัฐประชาธิปไตยประชาชนลาว แสดงบริเวณอ่างเก็บน้ำเขื่อนภูมิพล จังหวัดตาก และอ่างเก็บน้ำเขื่อนน้ำงึม ประเทศสาธารณรัฐประชาธิปไตยประชาชนลาว

(A) อ่างเก็บน้ำเขื่อนภูมิพล จังหวัดตาก แสดงจุดเก็บตัวอย่างในแหล่งน้ำ

(B) อ่างเก็บน้ำเขื่อนน้ำงึม ประเทศสาธารณรัฐประชาธิปไตยประชาชนลาว แสดงจุดเก็บตัวอย่างในแหล่งน้ำ

ภาพ 2 อ่างเก็บน้ำเขื่อนภูมิพล จังหวัดตาก

ภาพ 3 อ่างเก็บน้ำเขื่อนน้ำงึม ประเทศสาธารณรัฐประชาธิปไตยประชาชนลาว

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

2. การวัดคุณภาพน้ำทางกายภาพและเคมีบางประการ ณ จุดเก็บตัวอย่าง

2.1 วัดความลึกของจุดเก็บตัวอย่างโดยใช้ลูกตุ้ม และสายวัด ทำการวัดบริเวณจุดเก็บตัวอย่างในแหล่งน้ำ

2.2 สังเกตสีและกลิ่นของน้ำ

2.3 วัดความลึกของน้ำที่แสงส่องถึง โดยใช้ Secchi disc หย่อนลงไปในน้ำจนมองไม่เห็นความแตกต่างของแถบขาวดำบนจาน

2.4 วัดอุณหภูมิของน้ำและอากาศโดยใช้เทอร์โมมิเตอร์

2.5 วัดค่าการนำไฟฟ้า โดยใช้ conductivity meter

2.6 วัด pH ของน้ำ โดยใช้ pH meter

2.7 วัดปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำ (Dissolved oxygen: DO) ด้วยการไตเตรตโดยวิธี Iodometric แบบ Azide modification (Eaton *et al*., 2005)

3. การวัดคุณภาพน้ำทางกายภาพ เคมี และชีวภาพบางประการในห้องปฏิบัติการตามวิธีของ (Greenberg *et al*., 1998) (ภาคผนวก ก)

3.1 ความเป็นด่าง (alkalinity) โดยวิธี Phenolpthalein methyl orange indicator

3.2 ปริมาณออกซิเจนที่ จุลินทรีย์ใช้ในการย่อยสลายสารอินทรีย์ (Biochemical oxygen damand: BOD) โดยวิธี iodometric แบบ azide modification

3.3 วัดปริมาณสารอาหาร ได้แก่ ไนเตรท ไนโตรเจน แอมโมเนีย ไนโตรเจน และ soluble reactive phosphorus (SRP) หรือออร์โธฟอสเฟต

3.4 ปริมาณคลอโรฟิลล์ *เอ* โดยวิธี ISO 10260

3.5 ปริมาณคลอลิฟอร์มแบคทีเรียโดยวิธี multiple tube method (Harrigan and Cance,1976) (ภาคผนวก ค)

3.6 การศึกษาแพลงก์ตอนพืช

3.6.1 การวินิจฉัย แพลงก์ตอนพืช ศึกษาตัวอย่างด้วยกล้องจุลทรรศน์ชนิดเลนส์ประกอบ วินิจฉัยชนิดของแพลงก์ตอนพืชจากหนังสือ และเอกสารที่เกี่ยวข้องได้แก่ Presscott (1970), Huber Pesalozzi (1983), Croasdale *et al*. (1994), Komarek and Anagnostidis (1999), John *et al*. (2002) และ Rott(1981) เป็นต้น

3.6.2 การหาปริมาตรชีวภาพของแพลงก์ตอนพืช โดยการเก็บตัวอย่างน้ำจากแหล่งน้ำโดยไม่ผ่านการกรองด้วยตาข่ายแพลงก์ตอน แล้วเก็บรักษาตัวอย่างแพลงก์ตอนพืชด้วยน้ำยาลูกอล จากนั้นนำมาตกตะกอนและศึกษาปริมาณของแพลงก์ตอนพืชโดยวิธีของ Utermöhl (1958) วัดปริมาตรแพลงก์ตอนพืชแต่ละชนิดด้วยวิธีการของ Rott (1981) (ภาคผนวก ฉ) และศึกษา

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ความมากน้อยของแพลงก์ตอนพืชจากปริมาตรชีวภาพ (biovolume) โดยใช้โปรแกรมเฉพาะสำหรับการศึกษาปริมาตรชีวภาพของแหล่งน้ำที่ศึกษา (Peerapornpisal, 1996)

4. การวิเคราะห์ข้อมูล

4.1 ใช้ AARL-PC Score (ภาคผนวก ง) มาประเมินคุณภาพน้ำจากพารามิเตอร์ที่สำคัญคือ ค่า DO ค่า BOD ค่าการนำไฟฟ้า ปริมาณสารอาหาร 3 ชนิด คือ ไนเตรท ไนโตรเจน แอมโมเนียไนโตรเจน soluble reactive phosphorus และคลอโรฟิลล์ *เอ* ดัดแปลงจากใช้วิธีการของ Wetzel (1983), Lorranine and Vollenweider (1981) และมาตรฐานคุณภาพน้ำผิวดิน (คณะกรรมการสิ่งแวดล้อมแห่งชาติ, 2537) ซึ่งประยุกต์โดยห้องปฏิบัติการวิจัยสาหร่ายประยุกต์ (Peerapornpisal *et al*., 2004)

4.2 ใช้ AARL-PP Score (ภาคผนวก ง) มาประเมินคุณภาพน้ำโดยใช้แพลงก์ตอนพืชชนิดเด่นเป็นดัชนีทางชีวภาพเพื่อชี้วัดคุณภาพน้ำ (Peerapornpisal *et al*., 2004)

4.3 นำข้อมูลทางด้านปริมาณแพลงก์ตอนพืชชนิดเด่น และคุณภาพน้ำทางด้านกายภาพ เคมี และชีวภาพบางประการ มาหาความสัมพันธ์แบบสหสัมพันธ์ (correlation) โดยใช้โปรแกรม SPSS v.14

5. สถานที่ที่ใช้ในการดำเนินงานวิจัย

5.1 อ่างเก็บน้ำเขื่อนภูมิพล อำเภอสามเงา จังหวัดตาก

5.2 อ่างเก็บน้ำเขื่อนน้ำงึม จังหวัดเวียงจันทน์ ประเทศสาธารณรัฐประชาธิปไตยประชาชนลาว

5.3 ห้องปฏิบัติการวิจัยสาหร่ายประยุกต์ ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ คณ ะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

6. ระยะเวลาการทำวิจัย

ระหว่างเดือนมิถุนายน 2550 - เดือน พฤษภาคม 2551 โดยทำการเก็บตัวอย่างฤดูฝนและฤดูหนาวฤดูละ 1 ครั้ง และในฤดูร้อนเก็บตัวอย่าง 2 ครั้ง รวมทั้งหมด 4 ครั้ง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved