

บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการศึกษา

3.1 ขอบเขตการศึกษา

ระยะเวลาและสถานที่ทำการศึกษา

ศึกษาคุณสมบัติของน้ำทางด้านกายภาพ เคมี และชีวภาพ เริ่มเก็บตัวอย่างตั้งแต่เดือนกันยายน 2553 ถึงเมษายน 2554 โดยทำการเก็บตัวอย่างใน 3 ฤดูกาล (กรมอุตุนิยมวิทยา, 2007) ฤดูกาลละ 2 ครั้ง รวมทั้งหมด 6 ครั้ง ดังนี้ ฤดูฝนเก็บตัวอย่างในเดือนกันยายนและตุลาคม ฤดูหนาวเก็บตัวอย่างในเดือนธันวาคมและมกราคม และฤดูร้อนเก็บตัวอย่างในเดือนมีนาคมและเมษายน กำหนดจุดเก็บตัวอย่าง 6 จุด บริเวณสถานีวิจัยเกษตรหลวงอินทนนท์ (บ้านขุนกลาง) ลำธารสองพี่น้อง และแม่น้ำแม่กลาง ในพื้นที่อุทยานแห่งชาติดอยอินทนนท์ (ภาพ 3.1)



ภาพ 3.1 อุทยานแห่งชาติดอยอินทนนท์ จังหวัดเชียงใหม่
(ที่มา: <http://www.igetweb.com/www/spr-alumni/webboard/A963122.jpg>)

โดยทำการสำรวจลำธารสองพี่น้องซึ่งอยู่ในพื้นที่อุทยานแห่งชาติดอยอินทนนท์ เพื่อกำหนดจุดเก็บตัวอย่างโดยมุ่งเน้นศึกษาลำธารที่ไหลเข้าสู่บริเวณโครงการเพาะเลี้ยงปลาเรนโบว์-เทราต์ในพื้นที่โครงการเพาะเลี้ยงปลาเรนโบว์เทราต์ของสถานีวิจัยเกษตรหลวงอินทนนท์ รวมทั้งจุดที่ระบายน้ำจากบ่อเลี้ยงปลาออกสู่ลำธารธรรมชาติ (ภาพ 3.2) ซึ่งได้กำหนดจุดเก็บตัวอย่าง ดังนี้

จุดเก็บตัวอย่างที่ 1 (SPN1) อยู่บริเวณน้ำตกสิริภูมิ กำหนดให้เป็นจุดอ้างอิง (reference site)

จุดเก็บตัวอย่างที่ 2 (SPN2) อยู่บริเวณลำธารสองพี่น้องก่อนเข้าสู่ฟาร์มเพาะเลี้ยง

จุดเก็บตัวอย่างที่ 3 (SPN3) อยู่บริเวณลำธารสองพี่น้องหลังออกจากฟาร์มเพาะเลี้ยง

จุดเก็บตัวอย่างที่ 4 (SPN4) อยู่บริเวณลำธารสองพี่น้องก่อนบรรจบกับแม่น้ำแม่กลาง

จุดเก็บตัวอย่างที่ 5 (SPN5) อยู่บริเวณแม่น้ำแม่กลางก่อนบรรจบกับลำธารสองพี่น้อง

จุดเก็บตัวอย่างที่ 6 (SPN6) อยู่บริเวณแม่น้ำแม่กลางหลังบรรจบกับลำธารสองพี่น้อง



ภาพ 3.2 แผนที่แสดงจุดเก็บตัวอย่างทั้ง 6 บริเวณพื้นที่โครงการเพาะเลี้ยงปลาเรนโบว์เทราต์ของสถานีวิจัยเกษตรหลวงอินทนนท์ (บ้านขุนกลาง)

(ที่มา: <http://www.pointasia.com>)

จุดเก็บตัวอย่างที่ 1 (SPN1) ตั้งอยู่ที่พิกัด N $18^{\circ} 32.725'$ E $98^{\circ} 31.023'$ มีความสูงจากระดับน้ำทะเล 1339 เมตร อยู่บริเวณน้ำตกสิริภูมิ ซึ่งใช้เป็นจุดอ้างอิง (reference site) ภายในสวนหลวงสิริภูมิ (King Royal Garden) สภาพพื้นที่โดยรอบเป็นที่พักผ่อนหย่อนใจ มีการปลูกไม้ประดับ เช่น เฟิร์น กัลยาไม้ และไม้ใบอื่นๆ บริเวณริมฝั่งพบไม้ยืนต้น รวมทั้งมีพรรณไม้พื้นล่างขึ้นปกคลุม ลักษณะพื้นที่องน้ำประกอบด้วยหินก้อนใหญ่และกรวดเป็นหลัก (ภาพ 3.3)



ภาพ 3.3 จุดเก็บตัวอย่างที่ 1 (SPN1) จุดอ้างอิง (reference site)

จุดเก็บตัวอย่างที่ 2 (SPN2) ตั้งอยู่ที่พิกัด N $18^{\circ} 32.619'$ E $98^{\circ} 31.461'$ มีความสูงจากระดับน้ำทะเล 1266 เมตร อยู่บริเวณลำธารก่อนเข้าสู่ฟาร์มเพาะเลี้ยงปลาเรนโบว์เทราต์ สภาพพื้นที่โดยรอบเป็นแปลงเกษตร ปลูกพืชดอกเมืองหนาว บริเวณริมฝั่งพบไม้พุ่มและหญ้าขึ้นอยู่หนาแน่น ลักษณะพื้นที่องน้ำประกอบด้วยกรวดขนาดกลางและกรวดขนาดใหญ่เป็นหลัก (ภาพ 3.4)



ภาพ 3.4 จุดเก็บตัวอย่างที่ 2 (SPN2) ลำธารสองฟ้าน้องก่อนเข้าสู่ฟาร์มเพาะเลี้ยง

จุดเก็บตัวอย่างที่ 3 (SPN3) ตั้งอยู่ที่พิกัด N 18° 32.427' E 98°31.566' มีความสูงจากระดับน้ำทะเล 1254 เมตร อยู่บริเวณลำธารหลังออกจากฟาร์มเลี้ยงปลา สภาพพื้นที่โดยรอบเป็นบริเวณที่มีพืชขึ้นตามธรรมชาติ บริเวณริมฝั่งพบไม้ยืนต้น รวมทั้งมีพรรณไม้พื้นล่างขึ้นปกคลุม ลักษณะพื้นที่ท้องน้ำประกอบด้วยทรายละเอียด กรวดขนาดกลางและขนาดใหญ่เป็นหลัก (ภาพ 3.5)



ภาพ 3.5 จุดเก็บตัวอย่างที่ 3 (SPN3) ลำธารสองพี่น้องหลังจากออกจากฟาร์มเพาะเลี้ยง

จุดเก็บตัวอย่างที่ 4 (SPN4) ตั้งอยู่ที่พิกัด N 18° 32.220' E 98°31.735' มีความสูงจากระดับน้ำทะเล 1245 เมตร อยู่บริเวณช่วงท้ายของลำธารสองพี่น้องก่อนบรรจบกับลำธารแม่กลาง สภาพพื้นที่โดยรอบเป็นบริเวณที่อยู่ได้สะพาน มีคันสะพานที่เป็นคอนกรีตขนาดใหญ่ทั้งสองด้าน บริเวณริมฝั่งพบไม้ยืนต้น รวมทั้งมีพรรณไม้พื้นล่างขึ้นปกคลุม เป็นส่วนใหญ่ ลักษณะพื้นที่ท้องน้ำประกอบด้วยหินก้อนใหญ่และกรวดเป็นหลัก (ภาพ 3.6)



ภาพ 3.6 จุดเก็บตัวอย่างที่ 4 (SPN4) ลำธารสองพี่น้องก่อนบรรจบกับแม่น้ำแม่กลาง

จุดเก็บตัวอย่างที่ 5 (SPN5) ตั้งอยู่ที่พิกัด N 18° 32.193' E 98°31.701' มีความสูงจากระดับน้ำทะเล 1242 เมตร อยู่บริเวณแม่น้ำแม่กลางก่อนบรรจบกับลำธารสองพี่น้อง สภาพพื้นที่โดยรอบตั้งอยู่หลังร้านอาหารและบ้านเรือน บริเวณริมฝั่งพบไม้ยืนต้น รวมทั้งมีพรรณไม้พื้นล่างขึ้นปกคลุม ลักษณะพื้นที่ท้องน้ำประกอบด้วยกรวดขนาดเล็กและขนาดกลางเป็นหลัก (ภาพ 3.7)



ภาพ 3.7 จุดเก็บตัวอย่างที่ 5 (SPN5) แม่น้ำแม่กลางก่อนบรรจบกับลำธารสองพี่น้อง

จุดเก็บตัวอย่างที่ 6 (SPN6) ตั้งอยู่ที่พิกัด N 18° 32.238' E 98°31.702' มีความสูงจากระดับน้ำทะเล 1231 เมตร อยู่บริเวณหลังการบรรจบกันระหว่างลำธารสองพี่น้องกับแม่น้ำแม่กลาง สภาพพื้นที่โดยรอบเป็นบริเวณที่มีการทำแปลงเกษตร ปลูกพืชเมืองหนาว บริเวณริมฝั่งพบไม้ยืนต้น รวมทั้งมีพรรณไม้พื้นล่างขึ้นปกคลุม ลักษณะพื้นที่ท้องน้ำประกอบด้วยหินก้อนใหญ่และกรวดเป็นหลัก (ภาพ 3.8)



ภาพ 3.8 จุดเก็บตัวอย่างที่ 6 (SPN6) แม่น้ำแม่กลางหลังบรรจบกับลำธารสองพี่น้อง

3.2 อุปกรณ์ในการศึกษา

อุปกรณ์

1. ขวดเก็บตัวอย่าง (polyethylene)
2. ขวด DO และ ขวด BOD ขนาด 300 ลูกบาศก์เซนติเมตร
3. ถังเก็บตัวอย่างและยางรัด
4. สวิง (pond net) ขนาดความถี่ช่องตา 0.5 ตารางเซนติเมตร
5. กระบะพลาสติก
6. ลูกเทนนิสผูกเชือกยาว 2 เมตร
7. เทอร์โมมิเตอร์ (thermometer)
8. Pipette
9. หลอดหยด (dropper)
10. กระบอกตวง
11. Erlenmeyer flask ขนาด 250 ลูกบาศก์เซนติเมตร
12. บิวเรต (burette)
13. Petri dish
14. ปากคีบ (forceps)
15. ปีกเกอร์ (beaker)
16. กระดาษกรองเบอร์ 1 ยี่ห้อ Whatman
17. เครื่องกรองน้ำ ยี่ห้อ Rocker รุ่น 300
18. Incubator
19. Multi-parameter Analyzer ยี่ห้อ Consort รุ่น C933
20. Multi-parameter Analyzer ยี่ห้อ WTW รุ่น pH/cond 340i/SET
21. Lux/FC light meter ยี่ห้อ TENMARS รุ่น DL-204
22. Spectrophotometer ยี่ห้อ HACH รุ่น DR/2004
23. Turbidity meter ยี่ห้อ HANNA instruments รุ่น HI 93703
24. กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ (stereomicroscope)
25. หนังสือจัดจำแนกชนิดของแมลงน้ำ McCafferty (1981), Merritt and Cummins (1984), Dudgeon (1992) และ Sangpradup and Boonsoong (2006)

สารเคมี

1. Formalin 10%
2. Ethyl alcohol 70%
3. Manganous sulfate (MnSO_4)
4. Alkali-Iodide-Azide (AIA)
5. Conc. Sulfuric acid (H_2SO_4)
6. น้ำแป้ง
7. 0.025 M Sodiumthiosulfate ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$)
8. Nessler reagent
9. Mineral stabilizer
10. Polyvinylal Alcohol Dispersing agent
11. Nitra Ver 3 Nitrate reagent powder pillow
12. Phos Ver 5 Phosphate reagent powder pillow
13. Phenolptalein
14. Methyl orange
15. 0.02 N Sulfuric acid (H_2SO_4)

3.3 การศึกษาคุณภาพน้ำทางกายภาพและเคมี

กำหนดตัวแปรคุณภาพน้ำทางกายภาพและเคมีที่มีความสำคัญต่อการเจริญเติบโตของสิ่งมีชีวิต โดยทำการเก็บตัวอย่างน้ำเพื่อนำไปวิเคราะห์คุณสมบัติของน้ำทางด้านกายภาพ และเคมี ดังนี้

ทางด้านกายภาพ

1. อุณหภูมิอากาศ (air temperature) ใช้เทอร์โมมิเตอร์ (thermometer) มีหน่วยเป็น องศาเซลเซียส ($^{\circ}\text{C}$)
2. อุณหภูมิน้ำ (water temperature) ใช้ Multi-parameter Analyzer ยี่ห้อ WTW รุ่น pH/cond 340i/SET จุ่มวัดที่ระดับความลึก 10 เซนติเมตร มีหน่วยเป็น องศาเซลเซียส ($^{\circ}\text{C}$)
3. ความเร็วกระแสน้ำ (velocity) ใช้ลูกเทนนิสผูกเชือกยาว 2 เมตร ปล่อยให้ไหลตามกระแสน้ำโดยลุ่มปล่อยลูกเทนนิสตามจุดต่อจุดเก็บตัวอย่าง พร้อมทั้งจับเวลา มีหน่วยเป็น เมตรต่อวินาที (m/s)

4. ความขุ่น (turbidity) ใช้ Turbidity meter ยี่ห้อ HANNA รุ่น HI93703 มีหน่วยเป็น Formazin Turbidity Units (FTU)
5. ค่าของแข็งที่แขวนลอยในน้ำ (suspended solid) ใช้ Spectrophotometer ยี่ห้อ HACH รุ่น DR/2400 มีหน่วยเป็นมิลลิกรัมต่อลิตร (mg/L)
6. ค่าของแข็งรวมที่ละลายน้ำ (total dissolved solid) ใช้ Multi-parameter Analyzer ยี่ห้อ Consort รุ่น C933 มีหน่วยเป็นมิลลิกรัมต่อลิตร (mg/L)
7. ค่าความเข้มแสง (light intensity) ใช้ Lux/FC light meter ยี่ห้อ TENMARS รุ่น DL-204 มีหน่วยเป็นลักซ์ (Lux)

ทางด้านเคมี

1. ค่าความเป็นกรดด่าง (pH) ใช้ multi-parameter analyzer ยี่ห้อ WTW รุ่น pH/Cond 340i/SET
2. ค่าการนำไฟฟ้า (electric-conductivity) ใช้ multi-parameter analyzer ยี่ห้อ WTW รุ่น pH/Cond 340i/SET มีหน่วยเป็นไมโครซีเมนต่อเซนติเมตร ($\mu\text{S}/\text{cm}$)
3. ค่าความเป็นด่าง (alkalinity) ใช้วิธี Phenolphthalein Methyl orange indicator มีหน่วยเป็น มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/L) as CaCO_3 (Greenberg *et al.*, 2005) (ภาคผนวก ก)
4. ค่าปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำ (dissolved oxygen: DO) ใช้วิธี Azide modification มีหน่วยเป็น มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/L) (Greenberg *et al.*, 2005) (ภาคผนวก ก)
5. ค่าปริมาณออกซิเจนที่จุลินทรีย์ใช้ในการย่อยสลายสารอินทรีย์ (biochemical oxygen demand: BOD_5) ใช้วิธี Azide modification มีหน่วยเป็น มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/L) (Greenberg *et al.*, 2005) (ภาคผนวก ก)
6. ปริมาณสารอาหาร ใช้ Spectrophotometer ยี่ห้อ HACH รุ่น DR/2400 มีหน่วยเป็นมิลลิกรัมต่อลิตร (mg/L) (Greenberg *et al.*, 2005) (ภาคผนวก ก) ได้แก่
 1. ไนเตรท-ไนโตรเจน (nitrate-nitrogen: NO_3^--N) ใช้ Nitra Ver 3 Nitrate reagent powder pillow โดยวิธี Cadmium reduction
 2. แอมโมเนียม-ไนโตรเจน (ammonia-nitrogen: NH_3-N) ใช้ Nessler reagent , Mineral stabilizer และ Polyvinylal Alcohol Dispersing agent โดยวิธี Nesslerization
 3. ออร์โธฟอสเฟต (ortho-phosphate: O-PO_4^{3-}) หรือ soluble reactive phosphorus ใช้ Phos Ver 5 Phosphate reagent powder pillow โดยวิธี Ascorbic acid

3.4 การศึกษาคุณภาพน้ำทางชีวภาพ

เก็บข้อมูลสิ่งมีชีวิตในแหล่งน้ำ โดยทำการเก็บตัวอย่างแมลงน้ำ (aquatic insect) โดยใช้ Pond net ขนาดตาข่าย 0.5 ตารางมิลลิเมตร (Mustow, 2002) โดยวิธี Kick method เพื่อใช้เป็นดัชนีชี้วัดคุณภาพน้ำทางชีวภาพ ทำการเก็บตัวอย่างแมลงน้ำให้ครอบคลุมพื้นที่ที่อยู่อาศัยแบบต่างๆ เช่น พื้นกรวด หิน เศษซากใบไม้ ที่มีทั้งหมดในแต่ละจุดเก็บตัวอย่าง และใช้เวลาในการเก็บตัวอย่างในแต่ละจุด 5-10 นาที ซึ่งตัวอย่างของแมลงน้ำที่ได้จะถูกรักษาสภาพด้วย 4 % ฟอรัมาลิน ในถุงที่ระบุจุดเก็บตัวอย่าง วันและเวลาด้วยปากกาเคมีอย่างชัดเจน เพื่อนำไปจัดจำแนกประเภทในห้องปฏิบัติการ โดยนำตัวอย่างที่ได้มาแยกเศษซากใบไม้และกิ่งไม้ออกจากแมลงน้ำ จากนั้นทำการจัดจำแนกตัวอย่างแมลงน้ำ โดยใช้กล้อง stereomicroscope ร่วมกับหนังสือช่วยจัดจำแนกของ McCafferty (1981), Merritt and Cummins (1984), Dudgeon (1992), Sangpradub and Boonsoong (2006) และ Merritt *et al.* (2008)

3.5 การวิเคราะห์ข้อมูล

1. วิเคราะห์ข้อมูลเชิงคุณภาพโดยใช้ BMWP Score ให้คะแนนแมลงน้ำที่ได้แต่ละวงศ์ที่พบตามรายการดัชนีชีวภาพสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังในน้ำจืดของไทย (Mustow, 2002) โดยแมลงน้ำที่ทนทานต่อมลพิษน้อย มีค่าคะแนนสูง ส่วนที่ทนทานต่อสภาพแวดล้อมที่มีมลพิษมากจะมีค่าคะแนนต่ำ แล้วนำค่าคะแนน BMWP Score ที่ได้มาหารด้วยจำนวนวงศ์ที่มีคะแนนทั้งหมดจะได้ค่า ASPT Score ใช้ค่า ASPT Score ที่ได้จัดลำดับคุณภาพน้ำที่ได้จากจุดเก็บตัวอย่างบริเวณลำธารสองพี่น้องโดยเปรียบเทียบกับตารางคุณภาพน้ำ

$$ASPT = \frac{\text{ค่า BMWP score}}{\text{จำนวนวงศ์ทั้งหมดที่พบและมีคะแนน}}$$

2. วิเคราะห์ข้อมูลเชิงคุณภาพ โดยใช้ EPT ratio ซึ่งนำกลุ่มแมลงน้ำที่ไวต่อการเปลี่ยนแปลงสภาพแวดล้อม ได้แก่ แมลงน้ำในอันดับ แมลงชีปะขาว (Ephemeroptera) แมลงเกาะหิน (Plecoptera) และ แมลงหนอนปลอกน้ำ (Trichoptera): (EPT) หารด้วยจำนวนตัวของแมลงที่พบทั้งหมด (Department of Environmental Services, 2002) เพื่อนำค่าที่ได้ไปใช้ในการประเมินคุณภาพน้ำโดยเปรียบเทียบกับตาราง EPT to total ratio (ภาคผนวก ง)

3. วิเคราะห์ความหลากหลายของแมลงน้ำ โดยใช้วิธีวิเคราะห์ดัชนีความหลากหลายทางชีวภาพตามสูตรของ Shannon's Diversity Index (Shannon and Weaver, 1963) (ภาคผนวก ง)

4.วิเคราะห์สัดส่วนของแมลงน้ำตามบทบาทการกินอาหาร (Functional Feeding Groups:FFG) โดยทำการจัดกลุ่มแมลงตามรูปแบบการกินอาหารออกเป็น 5 กลุ่มดังนี้ Scrapers/Grazer, Shredders, Collector-Gatherers, Collectors-Filterers และ Predators เพื่อใช้ในการศึกษาลักษณะความต่อเนื่องของลำธาร (River continuum concept) (Cummins *et al.*, 2004)

5.วิเคราะห์ค่าดัชนีเคมี (Chemical Index: CI) โดยนำผลที่ได้จากการตรวจวัดคุณภาพน้ำทางเคมี 8 parameters ได้แก่ Saturated oxygen, BOD₅, Water temperature, Ammonium (NH₃ -N), Nitrate (NO₃⁻-N), Ortho-Phosphate (O-PO₄³⁻), pH และ Conductivity มาคำนวณตามสมการเพื่อประเมินคุณภาพน้ำโดยเทียบจากตารางคุณภาพน้ำ

$$\text{Chemical Index (CI)} = \prod q_i^{w_i} = q_1^{w_1} \cdot q_2^{w_2} \cdot \dots \cdot q_n^{w_n}$$

เมื่อ CI = Chemical Index อยู่ในช่วง 1-100

q = Subindex (potential value)

n = จำนวนพารามิเตอร์ที่นำมาใช้

w_i = ค่าน้ำหนักพารามิเตอร์สัมพัทธ์