บทที่ 3

วิธีการดำเนินการวิจัย

การดำเนินการวิจัยเรื่องผลกระทบของฝายชะลอน้ำต่อคุณภาพน้ำและความหลากหลายของสาหร่ายขนาดใหญ่ แพลงก์ตอนพืช แพลงก์ตอนสัตว์ และไดอะตอมพื้นท้องน้ำ สามารถลำดับขั้นตอนในการดำเนินงานได้ ดังนี้

1. การเลือกพื้นที่ศึกษา

จากการสำรวจเพื่อที่จะเลือกจุดศึกษาและเก็บตัวอย่างสำหรับงานวิจัยครั้งนี้ ได้กำหนดว่าจำนวนจุดศึกษาและเก็บตัวอย่างของแต่ละพื้นที่จะอยู่ในช่วง 5 – 7 % ของจำนวนฝายชะลอน้ำทั้งหมดที่มีอยู่ในพื้นที่ศึกษานั้นๆ และในแต่ละจุดศึกษาและเก็บตัวอย่างที่เลือกมานั้น จะมีการบันทึกข้อมูลที่จำเป็นต่อการศึกษาครั้งนี้ไว้ด้วย เช่น พิกัด ความสูงจากระดับน้ำทะเล ประเภทฝาย ลักษณะการมีน้ำในฤดูแล้งและฤดูฝน เป็นต้น

สำหรับพื้นที่ศึกษาในเขตอุทยานแห่งชาติดอยสุเทพ – ปุย จังหวัดเชียงใหม่ นั้นมีจำนวนฝายทั้งหมดประมาณ 300 ฝาย และได้มีการเลือกจุดศึกษาและเก็บตัวอย่างในเขตพื้นที่นี้จำนวน 23 จุดด้วยกัน โดยคิดเป็น 7.7 % ของจำนวนฝายทั้งหมดในเขตพื้นที่ศึกษา 850 เมตร

สำหรับพื้นที่ศึกษาในเขต อำเภอแม่ทา จังหวัดลำพูนนั้นมีจำนวนฝายทั้งหมดประมาณ 200 ฝาย และได้มีการเลือกจุดศึกษาและเก็บตัวอย่างในเขตพื้นที่นี้จำนวน 11 จุดด้วยกัน โดยคิดเป็น 5.5 % ของจำนวนฝายทั้งหมดในเขตพื้นที่ศึกษา สำหรับจุดศึกษาและเก็บตัวอย่างในพื้นที่นี้ได้เลือกพื้นที่ศึกษาในหมู่บ้านทาป่าเปา ตำบลทาปลาดุก อำเภอแม่ทา จังหวัดลำพูน

2. การเก็บรวบรวมข้อมูล

2.1 การศึกษาคุณภาพน้ำทางกายภาพและทางเคมี

2.1.1 อุปกรณ์และสารเคมี

2.1.1.1 Alcohol 70%

2.1.1.2 Nessler reagent

2.1.1.3 น้ำแป้ง

2.1.1.4 Sulfuric acid (H_2SO_4)

2.1.1.5 Alkali-Iodide-Azide reagent

2.1.1.6 Manganous sulfate

2.1.1.7 Sodiumthiosulfate ($Na_2S_2O_3$)

2.1.1.8 Polyvinyl Alcohol Dispersing agent

2.1.1.9 Phos Ver 5 Phosphate Regent Powder pillow

2.1.1.10 Nitra Ver 3 Nitrate Reagent Powder pillow

2.1.1.11 Mineral stabilizer

2.1.1.12 ขวด BOD ขนาด 300 ลบ.ซม.

2.1.1.13 TDS meter

2.1.1.14 Erlenmeyer flask ขนาด 250 ลบ.ซม

2.1.1.15 บิวเรต(Burette)

2.1.1.16 บีกเกอร์ (beaker)

2.1.1.17 กระบอกตวง

2.1.1.18 หลอดหยด (dropper)

2.1.1.19 เทอร์โมมิเตอร์

2.1.1.20 กระดาษกรอง

2.1.1.21 กรวยกรอง

2.1.1.22 Spectrophotometer

2.1.1.23 PH meter

2.1.1.24 Incubator

2.1.1.25 Conductivity meter

3. วิธีการวิจัย

3.1 การศึกษาปัจจัยทางกายภาพ

3.1.1 อุณหภูมิน้ำ ใช้เทอร์โมมิเตอร์จุ่มวัดที่ระดับความลึก 10 เซนติเมตร โดยมีหน่วยเป็นองศาเซลเซียส

3.1.2 ค่าของแข็งทั้งหมดที่ละลายในน้ำ (Total dissolved solid: TDS) โดยใช้เครื่อง TDS meter ยี่ห้อ WTW รุ่น LF330 วัดที่ระดับความลึก 10 เซนติเมตร จากผิวน้ำ มีหน่วยเป็น mg/l

3.1.3 ค่าการนำไฟฟ้า (conductivity) ใช้เครื่อง Conductivity meter ยี่ห้อ WTW รุ่น LF330 วัดที่ระดับความลึก 10 เซนติเมตร จากผิวน้ำ มีหน่วยเป็น µS/cm

3.14 ปริมาณความขุ่นในน้ำ (Turbidity) วัดโดย ใช้เครื่อง Spectrophotometer ยี่ห้อ HACH รุ่น DR/2004 มีหน่วยเป็น NTU

3.2 การวิเคราะห์ทางเคมี

3.2.1 วัดความเป็นกรด-ด่าง โดยใช้ pH meter ยี่ห้อ WTW รุ่น LF 330

3.2.2 Dissolve Oxygen (DO) โดยใช้วิธี Azide Modification of Iodometric Method (Greenberg, 2005) โดยเก็บตัวอย่างน้ำใส่ลงในขวด BOD เติมสารละลาย Alkaline Iodide Azide reagent (AIA) 1 มิลลิลิตร และ manganous sulfate 1 มิลลิลิตร ปิดจุกโดยไม่ให้มีฟองอากาศ แล้วเขย่าตั้งทิ้งไว้ให้มีตะกอน 2 ใน 3 ของขวด แล้วเติมกรดซัลฟูริกเข้มข้น 1 มิลลิลิตร ปิดจุกเขย่าให้ตะกอนละลายหมด

นำน้ำตัวอย่างจากขวด DO มา100 ml ไตเตรทด้วย sodiumthiosulfate 0.0021M โดยใช้น้ำแป้งเป็น indicator บันทึกปริมาตรของ sodiumthiosulfate ที่ใช้ไปคำนวณหาค่า DO จากสมการ

ค่า DO (mg/l) = ปริมาณ $Na_2S_2O_3$ ที่ใช้ X 2

3.2.3 Biochemical Oxygen Demand (BOD_5) นำน้ำตัวอย่างใส่ขวด BOD 2 ขวด แรกมาตรวจหา DO ก่อน โดยมีวิธีการหาเหมือนกับข้อ 2 ส่วนอีกขวดนั้นนำไปบ่มในที่มืด อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 5 วัน หลังจากนั้นนำมาหาปริมาณออกซิเจนที่เหลือ โดยใช้วิธีเดียวกับการหาค่า DO คำนวณหาค่า BOD_5 โดยใช้สมการ

$$BOD_5 = DO_0 - DO_5$$

โดยที่

DO_0 = ปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำที่ไตเตรทได้ในวันแรก

DO_5 =ปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำที่ไตเตรทได้ในวันที่ 5

3.2.4 ปริมาณสารอาหาร เก็บตัวอย่างน้ำ 1 ลิตร วิเคราะห์ปริมาณสารอาหารด้วยเครื่อง spectrophotometer ยี่ห้อ HACH รุ่น DR/2400

3.2.4.1 แอมโมเนียม-ไนโตรเจน (Amonia nitrogen) ใช้วิธี Nessler method

3.2.4.2 ไนเตรด-ไนโตรเจน (Nitrate nitrogen) ใช้วิธี Cadmium reduction method

3.2.4.3 ฟอสเฟต-ฟอสฟอรัส ใช้วิธี Acorbic acid methodโดยวิธีการวิเคราะห์สารอาหารทั้ง 3 ชนิด โดยละเอียดดูได้ในภาคผนวก ง

3.3 การศึกษากลุ่มสิ่งมีชีวิต

3.3.1 วิธีการศึกษา

3.3.1.1 แพลงก์ตอนพืช

ใช้วิธีทำให้เกิดความเข้มข้นหรือหนาแน่นโดยการกรองน้ำจากจุดเก็บตัวอย่างแต่ละจุด ด้วยปริมาตร 10 ลิตร ผ่านตาข่ายแพลงก์ตอนขนาดช่อง 10 ไมโครเมตร โดยกรองให้เหลือราว 100 มิลลิลิตร ถ่ายใส่ขวดสีชา แล้วเก็บรักษาด้วยน้ำยาลูกอลราว 7-8 หยด หลังจากนั้น นำน้ำไปวินิจฉัยให้ถึงระดับสปีชีส์หรืออย่างต่ำต้องถึงระดับสกุล ด้วยหนังสือหรือเอกสารที่เกี่ยวข้องเช่น ลัดดา วงศ์รัตน์ (2542), Huber-Pestalozzi (1938, 1983), Desikachary (1959), Whitford and Schumacher (1969) และเอกสารวินิจฉัยเกี่ยวกับแพลงก์ตอนพืชที่พบในเขตร้อน เช่น ในการนับจำนวนของแพลงก์ตอนพืชจะใช้วิธีตกตะกอนและศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์ inverted microscope ด้วยวิธีของ Utermohl (1958) โดยทำการวาดรูปและถ่ายรูปแพลงก์ตอนพืชที่พบทุกสปีชีส์และจัดทำขนาด (scale) ของแพลงก์ตอนพืชแต่ละชนิดไว้ด้วย

3.3.1.2 แพลงก์ตอนสัตว์

ใช้วิธีทำให้เกิดความเข้มข้นหรือหนาแน่นโดยวิธีเดียวกับการเก็บตัวอย่างแพลงก์ตอนพืชทุกประการ แต่เก็บรักษาด้วยน้ำยาฟอร์มาลิน 2% หลังจากนั้นนำไปวินิจฉัย

ให้ถึงระดับสปีชีส์หรืออย่างต่ำต้องถึงระดับสกุล ด้วยหนังสือหรือเอกสารที่เกี่ยวข้อง ได้แก่ ลัดดา วงศ์รัตน์ (2542) เป็นต้น ในการนับจำนวนใช้วิธีนับทั้งหมด (whole count) ทำการวาดรูปและถ่ายรูปแพลงก์ตอนสัตว์ที่พบทุก สปีชีส์ และจัดจำแนก (scale) ของแพลงก์ตอนสัตว์แต่ละชนิดไว้ด้วย

3.3.1.3 สาหร่ายขนาดใหญ่

เก็บตัวอย่างสาหร่ายขนาดใหญ่ที่สามารถมองเห็นด้วยตาเปล่า ที่มีลักษณะเป็นเส้นสาย ก้อนเมือก พุ่มและคราบ โดยใช้อุปกรณ์เก็บที่เหมาะสมดึงทัลลัสโดยพยายามให้ติดส่วนที่เป็นโฮสด์ฟาสต์ (hold fast) ออกมาด้วย ศึกษาปริมาณความหนาแน่นและความหลากหลายของสาหร่ายขนาดใหญ่ หลังจากนั้นเก็บรักษาตัวอย่างด้วยน้ำยา Formalin 4% หรือ Glutaraldehyde 2% และจัดจำแนก (scale) ของสาหร่ายขนาดใหญ่แต่ละชนิด

3.3.1.4 ไดอะตอมพื้นท้องน้ำ

การเก็บตัวอย่างไดอะตอมพื้นท้องน้ำ ให้ใช้วิธีสุ่มเก็บจาก substrate แบบต่าง ๆ เพื่อเป็นตัวแทนของแต่ละจุดเก็บตัวอย่าง โดยใช้ cutout area quadrate ขนาด 3 เซนติเมตร X 3 เซนติเมตร ทาบลงบนก้อนหินบริเวณที่จะเก็บไดอะตอม แปรงคราบสีน้ำตาลบนก้อนหินในบริเวณของ quadrate ที่เลือกไว้แล้วเทส่วนของคราบสีน้ำตาลที่แปรงแล้วลงในกล่องพลาสติก ชะด้วยน้ำในแหล่งน้ำนั้นจนคราบสีน้ำตาลไหลลงในภาชนะที่รองรับหมด เมื่อกลับไปยังห้องปฏิบัติการ ให้ทำความสะอาด ฟรัสตูลของไดอะตอมโดยการใช้กรดแก่ทำลายออร์กาแนลส์ต่าง ๆ ในเซลล์ เพื่อให้เหลือแต่ฟรัสตูลซึ่งใช้ในการวินิจฉัยจีนัสและสปีชีส์ของไดอะตอม การวินิจฉัยสปีชีส์ของไดอะตอม ใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยา ทั้งลักษณะ รูปร่างของเซลล์ ฟรัสตูล และองค์ประกอบอื่น ๆ โดยศึกษาจากกล้องจุลทรรศน์เลนส์ประกอบ และกล้องจุลทรรศน์แบบอิเลคตรอน

3.4 การวิเคราะห์ข้อมูล

3.4.1 วิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณ คุณภาพน้ำ ร่วมกับปัจจัยอื่นๆ เช่น ชนิดและปริมาณของสิ่งมีชีวิตกับการเปลี่ยนแปลงคุณภาพน้ำและความอุดมสมบูรณ์ของแหล่งน้ำ รวมถึงความต้องการการใช้น้ำ

3.4.2 วิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างคุณภาพน้ำทางกายภาพ และเคมี กับชนิดและปริมาณของสิ่งมีชีวิต วิเคราะห์ความสัมพันธ์ของกลุ่มตัวแทนสิ่งมีชีวิตและคุณภาพน้ำโดยการทดสอบทางสถิติแบบสหสัมพันธ์แบบหลายตัวแปร (multivariate analysis) ได้แก่การวิเคราะห์การจัดกลุ่ม (cluster analysis) โดยใช้โปรแกรม MVSP ซึ่งสามารถนำเอาผลลัพธ์ที่ได้ไปสร้างแบบแผน

ของปัจจัยที่มีผลต่อการจัดการคุณภาพน้ำและปริมาณน้ำที่เหมาะสมที่สุดของชุมชนและมีศักยภาพในการใช้เป็นแบบแผนมาจัดระดับความสัมพันธ์กับคุณภาพน้ำตามเกณฑ์มาตรฐานชั้นน้ำต่างๆ เช่น มาตรฐานน้ำจืดผิวดินของประเทศไทย