บทที่ 3
วิธีดำเนินการวิจัย

อุปกรณ์

1. ถุงกรองแพลงก์ตอนขนาดตากรอง 20 ไมโครเมตร
2. อุปกรณ์สำหรับเก็บตัวอย่างน้ำ เช่น กระบอกเก็บน้ำ และขวดเก็บตัวอย่างน้ำ
3. ชุดอุปกรณ์กรองน้ำสุญญากาศ
4. เครื่องวัดคุณภาพน้ำภาคสนาม
5. อุปกรณ์วัดความโปร่งแสงของน้ำ (secchi disc)
6. กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูง (compound microscope)
7. สไลด์นับแพลงก์ตอน (Sedgewick rafter counting chamber)
8. เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (spectrophotometer)

วิธีดำเนินการวิจัย

1. พื้นที่ศึกษาและจุดเก็บตัวอย่าง

กำหนดจุดเก็บตัวอย่างครอบคลุมพื้นที่โครงการแก้มลิงบึงบ้านขอมอันเนื่องมาจากพระราชดำริ จังหวัดจันทบุรี โดยเก็บตัวอย่างจำนวน 4 จุด คือ จุดที่ 1-4 และสระน้ำบ้านสงวน ซึ่งเป็นแหล่งน้ำใกล้เคียง จำนวน 2 จุด คือ จุดที่ 5 และ 6 (ตารางที่ 3.1, ภาพที่ 3.1) ในช่วงฤดูร้อน (เดือนกุมภาพันธ์ 2560) และฤดูฝน (เดือนสิงหาคม 2560)

ตารางที่ 3.1 จุดเก็บตัวอย่างแพลงก์ตอนพืชในบริเวณบึงบ้านขอม (จุดที่ 1-4) และสระน้ำบ้านสงวน (จุดที่ 5-6)

สถานีเก็บตัวอย่าง	พิกัด	
	ละติจูด	ลองติจูด
จุดที่ 1 (Station 1 : ST1)	12°38'59.04" N	102°6'45.03" E
จุดที่ 2 (Station 2 : ST2)	12°38'52.80" N	102°6'53.92" E
จุดที่ 3 (Station 3 : ST3)	12°38'40.83" N	102°7'04.75" E
จุดที่ 4 (Station 4 : ST4)	12°38'37.17" N	102°6'51.32" E
จุดที่ 5 (Station 7 : ST7)	12°38'08.12" N	102°7'19.81" E
จุดที่ 6 (Station 6 : ST6)	12°38'21.71" N	102°7'06.43" E

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี

ภาพที่ 3.1 แผนที่แสดงจุดเก็บตัวอย่าง ในโครงการแก้มลิงบึงบ้านขอมอันเนื่องมาจากพระราชดำริ จังหวัด จันทบุรี จำนวน 6 จุด

ที่มา : ปรับปรุงจาก http://www.thaigoogleearth.com

2. ศึกษาชนิดของแพลงก์ตอนพืช

2.1 เก็บตัวอย่างแพลงก์ตอนพืช ดำเนินการเก็บตัวอย่างตามจุดเก็บตัวอย่างที่กำหนดไว้ (ตารางที่ 3.1 ภาพที่ 3.1) โดยทำการเก็บตัวอย่างน้ำด้วยถังพลาสติกที่ระดับความลึก 50 เซนติเมตร ปริมาตร 30 ลิตร กรองผ่านถุงแพลงก์ตอนขนาดช่องตา 20 ไมครอน นำตัวอย่างแพลงก์ตอนที่ได้ใส่ขวดเก็บตัวอย่างที่มีฝาปิดอย่างดี รักษาสภาพตัวอย่างแพลงก์ตอนด้วยน้ำยาฟอร์มาลิน ความเข้มข้นร้อยละ 4 แต่ละสถานีทำ 3 ซ้ำ ตัวอย่างที่ได้จะถูกนำมาจำแนกชนิดและนับจำนวนภายใต้กล้อง-จุลทรรศน์กำลังขยายสูง ณ ห้องปฏิบัติการ อาคารวิจัยและปฏิบัติการเพาะพันธุ์สัตว์น้ำ มหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณีต่อไป

2.2 ศึกษาชนิดของแพลงก์ตอนพืช โดยวิเคราะห์หาชนิดของแพลงก์ตอนพืชภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูง ใช้เอกสารอ้างอิงในการวิเคราะห์ชนิดแพลงก์ตอนพืชของลัดดา วงศ์รัตน์ (2544), Prescott (1981) และ Smith (1950)

2.3 นับจำนวนแพลงก์ตอนพืช โดยวัดปริมาตรตัวอย่างแพลงก์ตอนในขวดเก็บตัวอย่างโดยใช้กระบอกตวงเพื่อให้ทราบปริมาตรที่ถูกต้อง จากนั้นสุ่มตัวอย่างใส่ลงในสไลด์นับแพลงก์ตอนและนับจำนวนแพลงก์ตอนพืชแต่ละชนิดภายใต้กล้องจุลทรรศน์ คำนวณปริมาณแพลงก์ตอนจากสูตร

ปริมาณแพลงก์ตอนพืช (หน่วย/ลิตร) = ab/c

โดยที่ a = ปริมาตรน้ำในขวดเก็บตัวอย่างแพลงก์ตอน
b = ค่าเฉลี่ยของแพลงก์ตอนที่นับได้ต่อ 1 ลูกบาศก์เซนติเมตร
c = ปริมาตรน้ำก่อนผ่านถุงแพลงก์ตอน

ใช้ หน่วย/ลิตร เนื่องจากแพลงก์ตอนพืชมีการอยู่รวมกันหลายรูปแบบ เช่น อยู่รวมกันเป็นกลุ่มเซลล์หรือเป็นเส้นสาย ซึ่งยากต่อการนับแยกเป็นจำนวนเซลล์เดี่ยว ๆ

3. การวิเคราะห์ตัวอย่างน้ำ

การวิเคราะห์ตัวอย่างน้ำแบ่งออกเป็น 2 ส่วน ได้แก่ การเก็บข้อมูลภาคสนาม และการเก็บตัวอย่างน้ำเพื่อนำมาวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ ดังนี้ (ตารางที่ 3.2)

3.1 การเก็บข้อมูลคุณภาพน้ำภาคสนาม ณ จุดเก็บตัวอย่าง ได้แก่ อุณหภูมิ (temperature), ความพีเอช (pH), การนำไฟฟ้า (conductivity), ของแข็งละลายน้ำรวม (TDS) และความเค็ม (salinity) ด้วยเครื่องมือวิเคราะห์น้ำภาคสนาม และวัดความโปร่งแสงของน้ำ โดยใช้ secchi disk

3.2 เก็บตัวอย่างน้ำเพื่อนำมาวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ โดยใช้กระบอกเก็บตัวอย่างเก็บตัวอย่างน้ำที่ระดับความลึก 30-50 เซนติเมตร ใส่ขวดเก็บตัวอย่าง รักษาสภาพของตัวอย่างน้ำ

ด้วยน้ำแข็ง เพื่อนำไปวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ ได้แก่ ปริมาณออกซิเจนละลาย (DO : dissolved oxygen) บีโอดี (BOD : biochemical oxygen demand) สภาพด่าง (alkalinity) ไนเตรท-ไนโตรเจน (nitrate) ออร์โธฟอสเฟต (phosphate) ปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ (chlorophyll a) ตามวิธีการของไมตรี ดวงสวัสดิ์ และจารุวรรณ สมสิริ (2528) และ standard method for examination of water and wastewater (APHA, 1992) (ตารางที่ 3.2)

ตารางที่ 3.2 วิธีการวิเคราะห์คุณภาพน้ำบางประการ

พารามิเตอร์	วิธีการ
อุณหภูมิ, พีเอช, ความนำไฟฟ้า, ปริมาณของแข็งละลายน้ำ, ความเค็ม	เครื่องวัดคุณภาพน้ำภาคสนาม YSI 556
ความโปร่งแสง	secchi disk
ปริมาณออกซิเจนละลายน้ำ	azide modification of the Winkler method
บีโอดี	5 days incubation and azide modification of the Winkler method
สภาพด่างของน้ำ	phenophthalein methyl orange indicator method
ความกระด้างของน้ำ	EDTA titrimetric method
ไนเตรท-ไนโตรเจน	cadmium reduction method
แอมโมเนีย-ไนโตรเจน	indophenol method / phenate Method
ออร์โธฟอสเฟต	ascorbic acid method
คลอโรฟิลล์ เอ	spectrophotometric method

การวิเคราะห์ข้อมูล

1. การวิเคราะห์ร้อยละขององค์ประกอบชนิด ปริมาณ แพลงก์ตอนพืช
2. การวิเคราะห์ค่าดัชนีความหลากหลาย (diversity index)

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี

นำข้อมูลจากการศึกษาชนิดและปริมาณของแพลงก์ตอนพืช มาคำนวณหาค่าดัชนีความหลากหลายของสิ่งมีชีวิตต่อหนึ่งหน่วยพื้นที่ โดยใช้ Shannon-Wiener's diversity index (Shannon and Weaver, 1949) จากสูตร

$$H' = -\sum_{i=1}^{S} (Pi)(\ln Pi)$$

โดยที่ Pi = สัดส่วนระหว่าง จำนวนหน่วยของแพลงก์ตอนพืชแต่ละชนิด (ni) ต่อจำนวนแพลงก์ตอนพืชทั้งหมด (N) ในแต่ละสถานี

S = จำนวนชนิดหรือสกุลของแพลงก์ตอนทั้งหมดในแต่ละสถานี

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี