บทที่ 2

วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการ

2.1 วัสดุและอุปกรณ์

2.1.1 วัสดุอุปกรณ์เก็บตัวอย่าง และวิเคราะห์เบนทิคไดอะตอม

- ท่อพีวีซีที่มีพื้นที่หน้าตัด 9 ตร.ซม.
- แผ่นพลาสติกแข็ง
- แผ่นพลาสติกบาง ใส
- แปรงสีฟัน
- ขวดพลาสติกสำหรับใส่ตัวอย่าง
- น้ำยาฟอร์มาลิน
- หลอดแก้วทนไฟ
- hot plate
- กรดไนตริกเข้มข้น
- สารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์เข้มข้น 30%
- Naphrax
- สไลด์และแผ่นปิดสไลด์
- เครื่องหมุนเหวี่ยงของ KOKUSAN รุ่น H103N
- กล้องจุลทรรศน์ชนิดเลนส์ประกอบ รุ่น OLYMPUS CH30

2.1.2 วัสดุอุปกรณ์เก็บตัวอย่าง และวิเคราะห์คุณภาพน้ำ

- ขวดโพลิเอทิลีนขนาด 1 ลิตร
- สายวัด
- เชือก
- นาฬิกาจับเวลา
- แผ่นกรอง (Whatman GF/C)
- เครื่องแก้วสำหรับวิเคราะห์คุณภาพน้ำ (ภาคผนวก ก ที่ 1)
- สารเคมีสำหรับวิเคราะห์คุณภาพน้ำ (ภาคผนวก ก ที่ 2)

- รีดักชั่นคอลัมน์
- เครื่องวัดความเป็นกรด-เบส รุ่น pHScan3+
- เครื่องวัดการนำไฟฟ้า multiprobe meter รุ่น YSI 30/10 FT
- เครื่องมือวัดอุณหภูมิน้ำแบบดิจิตอล รุ่น ID1090
- Hot plate
- สเปกโตรโฟโตมิเตอร์ model 7800 ของบริษัท JASCO ประเทศญี่ปุ่น
- เครื่องหมุนเหวี่ยงของ KOKUSAN รุ่น H103N
- ตู้อบ ของ WTC binder
- โถดูดความชื้น
- เครื่องชั่ง ของ sartØrius รุ่น BP210S
- ถังน้ำแข็ง

2.2 วิธีการ

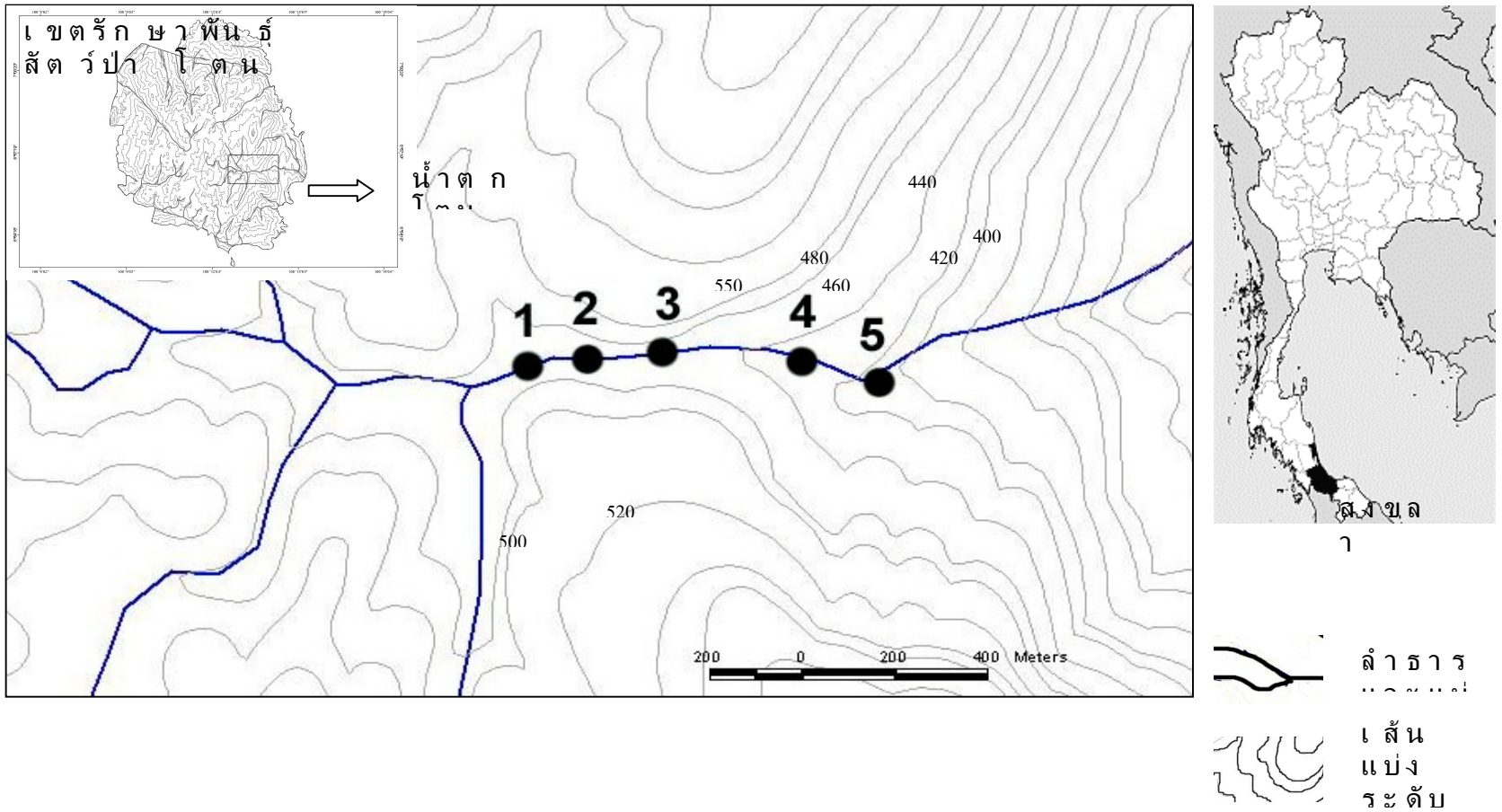
2.2.1 สถานที่ศึกษา

น้ำตกโตนงาช้าง ตั้งอยู่ในบริเวณเขตรักษาพันธุ์สัตว์ป่าโตนงาช้าง จังหวัดสงขลา (รูปที่ 5) อยู่ในพื้นที่ ต.ทุ่งตำเสา อ.หาดใหญ่ จ.สงขลา ห่างจากอำเภอหาดใหญ่ 26 กิโลเมตร เริ่มจากหาดใหญ่ไปทางถนนเพชรเกษม ถึงกิโลเมตรที่ 13 บ้านหูแร่ มีเส้นทางเข้าน้ำตกโตนงาช้างเป็นระยะทาง 13 กิโลเมตร น้ำตกโตนงาช้างประกอบด้วยน้ำตกทั้งหมด 7 ชั้น ดังนี้

- ชั้นที่ 1 น้ำตกโตนบ้า เป็นที่ตั้งของสำนักงานเขตรักษาพันธุ์สัตว์ป่า
- ชั้นที่ 2 น้ำตกโตนปลิว ระยะทาง 200 เมตรจากสำนักงานเขตรักษาพันธุ์สัตว์ป่า
- ชั้นที่ 3 น้ำตกโตนงาช้าง ระยะทาง 450 เมตรจากสำนักงานเขตรักษาพันธุ์สัตว์ป่า
- ชั้นที่ 4 น้ำตกโตนดำ ระยะทาง 700 เมตรจากสำนักงานเขตรักษาพันธุ์สัตว์ป่า
- ชั้นที่ 5 น้ำตกโตนน้ำปล่อย ระยะทาง 1,050 เมตรจากสำนักงานเขตรักษาพันธุ์สัตว์ ป่า
- ชั้นที่ 6 น้ำตกโตนฤาษีคอยบ่อ ระยะทาง 1,300 เมตรจากสำนักงานเขตรักษาพันธุ์สัตว์ป่า
- ชั้นที่ 7 น้ำตกโตนเสม็ดชุน ระยะทาง 1,550 เมตรจากสำนักงานเขตรักษาพันธุ์สัตว์ป่า

เดิมเขตรักษาพันธุ์สัตว์ป่าโตนงาช้างเคยเป็นพื้นที่ที่ถูกปิดกั้นเนื่องจากการผันผวนทางการเมือง เกิดการต่อสู้ระหว่างลัทธิจนไม่สามารถเข้าสู่พื้นที่ได้เป็นเวลานาน จนกระทั่งปี

พ.ศ.2519 กรมป่าไม้โดยกองอนุรักษ์สัตว์ป่า ได้จัดส่งเจ้าหน้าที่เข้ามาสำรวจ พิจารณาแล้วเห็นว่า ป่าโตนงาช้างเป็นป่าผืนใหญ่ที่มีความอุดมสมบูรณ์ เป็นที่อยู่อาศัยของสัตว์ป่า และเป็นแหล่งต้นน้ำลำธารที่สำคัญหลายสาย ดังนั้นเพื่อควบคุมดูแลสภาพธรรมชาติและสิ่งแวดล้อมของป่าโตนงาช้าง ได้มีการตราพระราชกฤษฎีกาประกาศเป็นเขตรักษาพันธุ์สัตว์ป่าโตนงาช้าง เมื่อวันที่ 2 กรกฎาคม พ.ศ. 2521 เขตรักษาพันธุ์สัตว์ป่าโตนงาช้าง มีพื้นที่ 182 ตร.กม. หรือประมาณ 113, 750 ไร่ ครอบคลุมพื้นที่ อำเภอรัตภูมิ อำเภอหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา และ อำเภอควนกาหลง จังหวัดสตูล มีลักษณะภูมิประเทศเป็นเทือกเขาสลับซับซ้อนของเทือกเขาบรรทัด จากลักษณะภูมิประเทศที่สลับซับซ้อนและลดหลั่นของพื้นที่ทำให้เกิดน้ำตก ที่มีความสวยงามและเป็นที่รู้จักทั่วไป เช่น น้ำตกโตนงาช้าง น้ำตกโตนปลิว น้ำตกบริพัตร เป็นต้น สภาพภูมิอากาศในบริเวณนี้ มีลักษณะอากาศแบบคาบสมุทร ได้รับอิทธิพลของลมมรสุมตะวันตกเฉียงใต้ และลมมรสุมตะวันออกเฉียงเหนือพัดผ่าน ทำให้มีฤดูกาลชัดเจน 2 ฤดูกาลคือ ฤดูฝน ซึ่งอยู่ในช่วงเดือนพฤษภาคมถึงเดือนธันวาคม โดยเฉพาะในเดือนตุลาคมถึงเดือนธันวาคม จะเป็นช่วงที่ฝนตกชุกที่สุด และฤดูร้อน เริ่มตั้งแต่เดือน มกราคม ถึงเดือนเมษายน (กรมป่าไม้, มปป.) ในปัจจุบันน้ำตกโตนงาช้างเป็นสถานที่ท่องเที่ยวที่มีชื่อเสียงของจังหวัดสงขลา



รูปที่ 5 แผนที่แสดงจุดเก็บตัวอย่างและตำแหน่งที่ตั้งของน้ำตกโตนงาช้าง เขตรักษาพันธุ์สัตว์ป่าโตนงาช้าง จังหวัดสงขลา

ที่มา: กรมแผนที่ทหาร

ผลิต : สถานวิจัยสารสนเทศภูมิศาสตร์ ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม

2.2.2 กำหนดจุดเก็บตัวอย่าง

ในการศึกษาครั้งนี้ ได้กำหนดจุดเก็บตัวอย่างจำนวน 5 สถานีดังนี้ (รูปที่ 6)

สถานีที่ 1 ที่พิกัด 6^0 56.737′ N, 100^0 13.778′ E มีความสูงจากระดับน้ำทะเลปานกลาง 453 เมตร อยู่ในบริเวณชั้นที่ 5 น้ำตกโตนน้ำปล่อย โดยพื้นท้องน้ำประกอบด้วย ก้อนหิน กรวด และทราย มีความกว้างของลำธารประมาณ 10 – 12 เมตร (รูปที่ 7ก)

สถานีที่ 2 ที่พิกัด 6^0 56.773′ N, 100^0 13.778′ E มีความสูงจากระดับน้ำทะเลปานกลาง 448 เมตร อยู่ในบริเวณชั้นที่ 5 น้ำตกโตนน้ำปล่อย พื้นท้องน้ำประกอบด้วยทราย และตะกอนจากซากพืช ลักษณะเป็นแอ่งน้ำค่อนข้างลึก มีความกว้างของลำธารประมาณ 10-15 เมตร (รูปที่ 7ข)

สถานีที่ 3 ที่พิกัด 6^0 56.719′ N, 100^0 13.629′ E มีความสูงจากระดับน้ำทะเลปานกลาง 453 เมตร อยู่ในบริเวณชั้นที่ 4 น้ำตกโตนดำ พื้นท้องน้ำประกอบด้วยแผ่นหิน และก้อนหินขนาดใหญ่ สลับกับแอ่งทรายแคบๆ มีความกว้างของลำธารประมาณ 5- 10 เมตร (รูปที่ 7ค)

สถานีที่ 4 ที่พิกัด 6^0 56.826′ N, 100^0 13.968′ E มีความสูงจากระดับน้ำทะเลปานกลาง 129 เมตร อยู่ในบริเวณชั้นที่ 2 น้ำตกโตนปลิว พื้นท้องน้ำประกอบด้วย ก้อนหิน กรวด และทราย มีความกว้างของลำธารประมาณ 5-10 เมตร (รูปที่ 7ง)

สถานีที่ 5 ที่พิกัด 6^0 56.906′ N, 100^0 14.30′ E มีความสูงจากระดับน้ำทะเลปานกลาง 33 เมตร อยู่ในบริเวณชั้นที่ 1 น้ำตกโตนบ้า พื้นท้องน้ำประกอบด้วย ก้อนหิน กรวด และทราย มีความกว้างของลำธารประมาณ 10-15 เมตร (รูปที่ 7จ)

ในสถานีที่ 1, 2 และ 3 นั้น เป็นบริเวณที่เข้าถึงได้ยากเนื่องจากระยะทางที่ไกลและค่อนข้างลาดชัน ทำให้มีการรบกวนจากนักท่องเที่ยวน้อย ส่วนสถานีที่ 4 และ 5 นั้นตั้งอยู่ใกล้บริเวณสำนักงานเขตรักษาพันธุ์สัตว์ป่า เข้าถึงได้ง่าย โดยเฉพาะในสถานีที่ 5 มีถนนและสะพานตัดผ่าน จึงทำให้บริเวณนี้เป็นบริเวณที่นักท่องเที่ยวนิยมมาเล่นน้ำ มีการปนเปื้อนของสบู่และยาสระผมลงสู่แหล่งน้ำ รวมทั้งมีการเหยียบย่ำพื้นทรายมากกว่าสถานีที่ 1, 2 และ 3

ก. สถานีที่ 1

ข. สถานีที่ 2

ค. สถานีที่ 3

ง. สถานีที่ 4

จ. สถานีที่ 5

รูปที่ 6 จุดเก็บตัวอย่างบริเวณน้ำตกโตนงาช้าง

2.2.3 ระยะเวลาในการเก็บตัวอย่าง เก็บตัวอย่างน้ำและเบนทิคไดอะตอม ระหว่างเดือน เมษายน 2547 ถึง เดือน กุมภาพันธ์ 2548 เก็บตัวอย่างทุก 2 เดือน รวมทั้งสิ้น 6 ครั้ง

2.2.4 การเก็บตัวอย่าง

1. การเก็บตัวอย่างเบนทิคไดอะตอม

เก็บตัวอย่างเบนทิคไดอะตอมที่ขึ้นบนหินโดยเลือกเก็บก้อนหินขนาดพอที่จะหยิบขึ้นมาได้ ในแต่ละสถานีจำนวน 9 ก้อน ใช้แผ่นพลาสติกซึ่งเจาะช่องขนาด 9 ตารางเซนติเมตร วางทาบบนก้อนหินและใช้แปรงสีฟัน แปรงตัวอย่างไดอะตอม ฉีดล้างตัวอย่างไดอะตอมที่ติดบนแปรงใส่ขวดเก็บตัวอย่าง ซึ่งเป็นวิธีการที่ดัดแปลงมาจาก Rott *et al.* (1997) ส่วนเบนทิคไดอะตอมที่ขึ้นบนทราย เก็บตัวอย่างด้วยวิธีที่ดัดแปลงจาก Romani and Sabater (2001) ด้วยการใช้ท่อพลาสติกที่มีพื้นที่หน้าตัด 9 ตร.ซม. ปักบนพื้นทรายลึก 1-2 ซม. สอดแผ่นพลาสติกแข็งลงไปด้านล่างของท่อ นำทรายใส่ขวดเก็บตัวอย่าง เก็บตัวอย่างสถานีละ 9 ซ้ำ เก็บรักษาตัวอย่างโดยปรับความเข้มข้นสุดท้ายของตัวอย่างให้มีความเข้มข้นของฟอร์มาลิน 3%

2. การเก็บตัวอย่างน้ำ

เก็บตัวอย่างน้ำจากระดับผิวน้ำสถานีละ 1 ลิตรจำนวน 3 ซ้ำ โดยใช้ขวดโพลิเอทิลีนแล้วแช่ในถังน้ำแข็ง นำไปวิเคราะห์ปริมาณไนเตรท ไนไตรท์ แอมโมเนีย ฟอสเฟตที่ละลายน้ำ ซิลิเกต ปริมาณของแข็งแขวนลอย (total suspended solid - TSS) และปริมาณออกซิเจนที่แบคทีเรียใช้ไปในเวลา 5 วัน (biochemical oxygen demand - BOD_5) ในห้องปฏิบัติการ ส่วนการเก็บตัวอย่างน้ำเพื่อวิเคราะห์ปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำ (dissolved oxygen - DO) ใช้ขวดบีโอดีความจุ 300 มล. เติมสารละลายแมงกานีสซัลเฟต และสารละลายอัลคาไลน์ไอโอไดด์ อย่างละ 1 มล. ตามลำดับ ปิดจุกขวด คว่ำขวดขึ้นลง และนำไปวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ ขณะเก็บตัวอย่างน้ำในทุกสถานีวัดความเป็นกรด-เบสของน้ำโดยใช้เครื่องวัดความเป็นกรด-เบส รุ่น pHScan3+ วัดค่าการนำไฟฟ้าโดยใช้เครื่อง multiprobe meter รุ่น YSI 30/10 FT วัดอุณหภูมิน้ำโดยเครื่องมือวัดอุณหภูมิน้ำแบบดิจิตอล รุ่น ID1090 วัดความลึกของน้ำโดยใช้ไม้และสายวัด วัดความเร็วกระแสน้ำโดยใช้แท่งพลาสติกตันเส้นผ่าศูนย์กลาง 1.5 ซม. ยาว 15 ซม. น้ำหนักประมาณ 200 กรัม ผูกเชือกความยาว 3 เมตร ปล่อยเชือกให้แท่งพลาสติกลอยไปตามกระแสน้ำจนหมดความยาวเชือก จับเวลาตั้งแต่เริ่มปล่อยเชือกจนหมดความยาวเชือก ทำซ้ำ 5 ครั้งและนำมาหาค่าเฉลี่ย ซึ่งเป็นวิธีการที่ดัดแปลงมาจาก Hauer and Lamberti (1996)

2.3 การวิเคราะห์ตัวอย่าง

2.3.1 การวิเคราะห์ตัวอย่างไดอะตอม

วิเคราะห์ตัวอย่างเบนทิคไดอะตอมโดยนำตัวอย่างมาปั่นเพื่อแยกตะกอนหนักและอนุภาคที่ปะปนออก โดยนำไปปั่นที่ความเร็ว 2500 – 3000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที ดูดเอาส่วนสีน้ำตาลที่อยู่ระหว่างตะกอนหนักและส่วนใสด้านบนออกมา นำไปผ่านกระบวนการกำจัดสารอินทรีย์โดยนำไปต้มกับกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 15-20 นาที หลังจากนั้นเติมไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์เข้มข้น 30% เป็นเวลา 15 นาที นำตัวอย่างที่ผ่านการกำจัดสารอินทรีย์ออกแล้ว มาล้างด้วยน้ำกลั่นโดยนำไปปั่นที่ความเร็ว 2500 – 3000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที ทำซ้ำหลายๆครั้งจนกว่าความเป็นกรดหมดไป (Rott *et al.,* 1997) นำตัวอย่างไดอะตอมที่ผ่านการทำความสะอาดแล้ว นำไปเตรียมเป็นสไลด์ถาวร โดยใช้ Naphrax เป็น mounting media จำแนกชนิดไดอะตอม ตามหลักการจำแนกของ Kammer and Lang-Bertalot (1986, 1988, 1991a, 1991b) และ Barter and Carter (1996) เป็นต้น นับจำนวนเบนทิคไดอะตอมในแต่ละชนิด โดยนับไดอะตอมจำนวน 300 - 600 เซลล์ และนำมาคำนวณให้อยู่ในรูปของ relative abundance

2.3.2 การวิเคราะห์ตัวอย่างน้ำ ตามวิธีการของ APHA, AWWA and WEF, (1998) และ APHA., AWWA and WPCF (1980) (ภาคผนวก ก ที่ 3)

ปริมาณสารแขวนลอยในน้ำ (total suspended solid)

ปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำ (dissolved oxygen) โดย Winkler method (iodometric titration method)

ปริมาณออกซิเจนที่แบคทีเรียใช้ไปในเวลา 5 วัน (biochemical oxygen demand – BOD_5) โดย winkler method หาค่า DO เริ่มต้น (DO_0) และ นำค่า DO_5 ซึ่งเป็นปริมาณออกซิเจนจากตัวอย่างน้ำที่เก็บไว้ในตู้ควบคุมอุณหภูมิ 20^0c เป็นเวลา 5 วันมาหักลบ

ฟอสฟอรัส (phosphorus) โดยการวิเคราะห์หาปริมาณฟอสเฟตที่ละลายน้ำ (dissolved orthophosphate) ด้วย ascorbic acid method

ไนโตรเจน (nitrogen) โดยทำการวัด ไนไตรท์ (NO_2) ด้วย colorimetric method วิเคราะห์ปริมาณ ไนเตรท (NO_3) ด้วยการนำน้ำตัวอย่างไปผ่าน cadmiun reduction column และ นำมาวิเคราะห์ด้วย colorimetric method และวัดปริมาณแอมโมเนีย (NH_3) ด้วย phenate method

ซิลิเกต (SiO_3) วัดปริมาณซิลิเกตด้วย molybdosilicate method

2.4 การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

วิเคราะห์หาความชุกชุมของเบนทิคไดอะตอม ด้วยวิธี principal component analysis (PCA) และวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างเบนทิคไดอะตอมกับปัจจัยทางกายภาพและเคมีของน้ำ ด้วยวิธี canonical correspondence analysis (CCA)โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป Multivariate Statistical Package (MVSP) version 3.0 ของ Kovach Computing Service เปรียบเทียบจำนวนชนิดของเบนทิคไดอะตอมในวัสดุยึดเกาะที่เป็นหินและทราย ในแต่ละสถานี และ เดือนที่เก็บตัวอย่าง ด้วยวิธี analysis of variance (ANOVA) และเปรียบเทียบค่าปัจจัยทางด้านกายภาพและเคมี ในแต่ละสถานี และเดือนที่เก็บตัวอย่าง โดยวิธี multivariate analysis of variance (MANOVA) โดยใช้โปรแกรม SPSS version 11.5