

## บทที่ 2

### วิธีการวิจัย

#### 1. วัสดุและอุปกรณ์

##### 1.1 อุปกรณ์เก็บตัวอย่าง ตรวจวัดและวิเคราะห์คุณภาพน้ำ

- กระบอกเก็บตัวอย่างน้ำ แบบ Ruttner's flushed sampler
- เครื่องมือวัดความโปร่งแสง (secchi disc)
- เครื่องมือวัดอุณหภูมิ (thermometer)
- เครื่องมือวัดความเป็นกรด-ด่าง (pH meter 323)
- เครื่องมือวัดค่าการนำไฟฟ้า (conductivity meter WTW LF 323)
- สเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (spectrophotometer)
- เครื่องดูดสูญญากาศ (suction pump)
- เครื่องแก้ว เช่น บีกเกอร์ (beaker), ฟลาสก์ (flask), ปิเปต (pipete),

บิวเรต (buret), ขวด BOD ขนาด 300 มิลลิลิตร, ขวดปรับปริมาตร (volumetric flask) ขนาด 100 มิลลิลิตร, ขนาด 250 มิลลิลิตร, ขนาด 500 มิลลิลิตร เป็นต้น

- ขวด polyethylene ขนาด 1000 มิลลิลิตร
- ถังน้ำแข็ง
- สารเคมีสำหรับวิเคราะห์ปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำ ปริมาณความต้องการของออกซิเจนทางชีวเคมี ปริมาณไนเตรท ปริมาณไนไตรท์ ปริมาณแอมโมเนีย และปริมาณฟอสฟอรัส (ภาคผนวก ก)

##### 1.2 อุปกรณ์เก็บและจำแนกตัวอย่างแพลงก์ตอนพืช

- กระจุกแพลงก์ตอน (plankton net) ขนาดตา 20 ไมโครมิเตอร์
- ขวดพลาสติกขนาด 250 มิลลิลิตร
- เครื่องนับจำนวน (counter)
- สไลด์นับจำนวน (Sedgwick-Rafter (S-R) counting cell)
- สไลด์และแผ่นแก้วปิดสไลด์
- นํ้ายาฟอร์มอลิน (formalin)
- กล้องจุลทรรศน์แบบเลนส์ประกอบ (compound microscope)

## 2. วิธีการดำเนินการวิจัย

### 2.1 กำหนดจุดเก็บตัวอย่าง

ได้กำหนดจุดเก็บตัวอย่าง 5 จุด (ภาพประกอบ 1) โดยเลือกจากบริเวณที่มีสภาพของพื้นที่แตกต่างกันดังนี้ (ภาพประกอบ 2)

จุดที่ 1 บริเวณใกล้แหล่งชุมชน เนื่องจากเป็นบริเวณที่ได้รับน้ำทิ้งจากแหล่งชุมชน

จุดที่ 2 บริเวณรอยต่อกับคลองยวน เป็นบริเวณที่ใกล้แหล่งการเกษตร การทำนาข้าว และป่าเสม็ด

จุดที่ 3 บริเวณปากคลองนางเรียม เป็นบริเวณที่เชื่อมต่อกับทะเลหลวง

จุดที่ 4 บริเวณใกล้พрудวนครึ่ง เป็นบริเวณที่ได้รับน้ำจากป่าพุ

จุดที่ 5 กลางทะเลน้อย เป็นบริเวณที่อยู่ห่างไกลจากแหล่งปนเปื้อนต่าง ๆ

### 2.2 ระยะเวลาในการเก็บตัวอย่าง

ทำการเก็บตัวอย่างทุก 2 เดือน ตั้งแต่เดือนธันวาคม 2543 ถึงเดือนตุลาคม 2544 รวมการเก็บตัวอย่างทั้งหมด 6 ครั้ง แต่ละจุดเก็บตัวอย่างจุดละ 3 ซ้ำ โดยอาศัยเครื่องมือ GPS (geographic global positioning system)

### 2.3 การเก็บตัวอย่าง

#### 2.3.1 การเก็บตัวอย่างแพลงก์ตอนพืช

เก็บตัวอย่างแพลงก์ตอนพืชที่ระดับผิวน้ำ (ความลึกประมาณ 30 เซนติเมตร) โดยใช้กระบอกเก็บน้ำแบบ Ruttner's flushed sampler เก็บน้ำปริมาตร 10 ลิตร นำมากรองโดยใช้ถุงแพลงก์ตอนขนาดตา 20 ไมโครมิเตอร์ เก็บตัวอย่างที่ได้ใส่ขวดพลาสติกขนาดความจุ 25 มิลลิลิตร ดองตัวอย่างด้วยน้ำยาฟอร์มาลินให้มีความเข้มข้นประมาณ 4% แบ่งตัวอย่างเป็น 2 ขวด เพื่อนำตัวอย่างไปวิเคราะห์ชนิดและปริมาณในห้องปฏิบัติการ

ภาพประกอบ 1 แผนที่บริเวณทะเลน้อย

ภาพประกอบ 2 จุดเก็บตัวอย่างบริเวณทะเลน้อย

### 2.3.2 การเก็บตัวอย่างน้ำ

เก็บตัวอย่างน้ำจากระดับผิวน้ำด้วยระบบยกเก็บน้ำแบบ Ruttner's flushed sampler เก็บใส่ขวด polyethylene ขนาด 1 ลิตร แล้วแช่ในถังน้ำแข็ง เพื่อนำไปวิเคราะห์หาปริมาณความ ต้องการออกซิเจนทางชีวเคมี ปริมาณไนโตรเจน ปริมาณไนเตรท ปริมาณฟอสฟอรัส และปริมาณ แอมโมเนีย โดยตัวอย่างน้ำที่จะนำมาวิเคราะห์ปริมาณแอมโมเนีย ต้องรักษาตัวอย่างน้ำด้วยการ เติมนกรดกำมะถันเข้มข้น (conc H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) 2-3 หยด และปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำเก็บใส่ใน ขวดบีโอดีรักษาตัวอย่างน้ำด้วยการเติมแมงกานีสซัลเฟต 1 มิลลิลิตร และอัลคาไลด์ไฮโดรเจนไซด์ 1 มิลลิลิตร เพื่อนำไปวิเคราะห์คุณภาพน้ำทางเคมีในห้องปฏิบัติการโดยวิธีการตาม APHA AWWA and WPCF (1995) นอกจากนี้ได้มีการศึกษาปัจจัยสภาพแวดล้อมทางกายภาพและเคมีบาง ประการ ในระหว่างการเก็บตัวอย่างน้ำ ได้แก่

- ความลึกและความโปร่งแสงของน้ำ วัดโดยใช้ secchi disc
- อุณหภูมิ โดยใช้เทอร์โมมิเตอร์
- ความเป็นกรด-ด่างของน้ำ โดยใช้ pH meter 323
- วัดค่าการนำไฟฟ้า โดยใช้ conductivity meter WTW LF 323

## 2.4 การวิเคราะห์ตัวอย่าง

### 2.4.1 การวิเคราะห์ชนิดและปริมาณของแพลงก์ตอนพืช

2.4.1.1 การวิเคราะห์ชนิดของแพลงก์ตอนพืช โดยนำตัวอย่างแพลงก์ตอนพืช มาใส่ในสไลด์ปิดด้วยแผ่นแก้วปิดสไลด์ หลังจากนั้นนำไปจำแนกชนิดภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลัง ขยาย 400-1000 เท่า ทำซ้ำตัวอย่างละ 3 ครั้ง

2.4.1.2 การวิเคราะห์ปริมาณ นำตัวอย่างน้ำมาเขย่าให้เข้ากันแล้วดูน้ำตัว อย่างมา 1 มิลลิลิตร ใส่ใน Sedgwick-Rafter (S-R) counting cell นำไปนับจำนวนสกุลาภายใต้ กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 100 เท่า

หนังสือที่ใช้ในการวิเคราะห์ชนิดและปริมาณของแพลงก์ตอนพืชส่วนใหญ่ ได้แก่หนังสือ ของ Desikachary (1959), Hannah and Elizabeth (1988), Prescott (1962), Whitford and Schumacher (1973) และ Komárek (1999)

2.4.2 การวิเคราะห์ตัวอย่างน้ำ (ภาคผนวก ก) ตามวิธีการของ APHA AWWA and WPCF (1995)

2.4.2.1 ปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำ โดยวิธีเฮไลด์โมดิฟิเคชันของไอโอโดเมตริก (Azide Modification of Iodometric Method)

2.4.2.2 ปริมาณความต้องการของออกซิเจนทางชีวเคมี (Biochemical Oxygen Demand, BOD) โดยวิธีเฮไลด์โมดิฟิเคชันของไอโอโดเมตริก (Azide Modification of Iodometric Method)

2.4.2.3 ปริมาณไนเตรท โดยใช้วิธี Cadmium reduction method

2.4.2.4 ปริมาณไนไตรท์ โดยใช้วิธี Colorimetric Method

2.4.2.5 ปริมาณแอมโมเนีย โดยใช้วิธี Phenate Method

2.4.2.6 ปริมาณฟอสฟอรัส (ออร์โธฟอสเฟต) (Orthophosphate) โดยใช้วิธี Ascorbic acid method

## 2.5 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

2.5.1 วิเคราะห์สหสัมพันธ์ระหว่างแพลงก์ตอนพืชกับปัจจัยสิ่งแวดล้อมทางกายภาพและทางเคมีด้วย Correlation Analysis โดยใช้โปรแกรม SPSS 9.0 for Windows

2.5.2 วิเคราะห์ความคล้ายคลึงระหว่างจุดเก็บตัวอย่างและฤดูกาล โดยใช้สกูลและปริมาณของแพลงก์ตอนพืช และข้อมูลปัจจัยสิ่งแวดล้อมทั้งทางกายภาพและทางเคมีด้วย Cluster Analysis โดยใช้โปรแกรม SPSS 9.0 for Windows และ Detrended Correspondence Analysis (DCA) โดยใช้โปรแกรม PCORD แล้วนำข้อมูลที่ได้ไปใช้เพื่อประเมินสถานภาพของคุณภาพน้ำบริเวณทะเลน้อย