บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 วัสดุและอุปกรณ์ที่ใช้ในการศึกษา

3.1.1 วัสดุและอุปกรณ์สำหรับเก็บตัวอย่างแพลงก์ตอนพืช

1. ถุงลากแพลงก์ตอนขนาดตา 20 ไมโครเมตร
2. ฟอร์มาลิน
3. ขวดใส่ตัวอย่าง

3.1.2 วัสดุและอุปกรณ์สำหรับจำแนกแพลงก์ตอนพืช

1. Sedgewick-Rafter Counting slide ปริมาตร 1 มิลลิลิตร
2. กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูงชนิดสองตา (Compound microscope)
3. แผ่นสไลด์
4. กระจกปิดสไลด์
5. เครื่องนับแบบกด

3.1.3 วัสดุและอุปกรณ์สำหรับวัดความเข้มแสง

1. เครื่องวัดความเข้มแสงแบบ quantum radiometer ยี่ห้อ LI-COR
2. เครื่องวัดความเข้มแสงแบบมี data logger ยี่ห้อ Hobo
3. เทปวัดระยะ

3.1.4 วัสดุและอุปกรณ์สำหรับเก็บและบ่มตัวอย่างน้ำ

1. เครื่องมือเก็บตัวอย่างน้ำแบบ Van Dorn
2. ขวดบีโอดี ขนาด 300 มิลลิลิตร
3. ภาชนะบ่มตัวอย่างน้ำลักษณะเป็นกระบะสี่เหลี่ยม แสงสามารถส่องผ่านได้
4. ถุงผ้าสีดำสำหรับกรองแสง
5. เทอร์โมมิเตอร์
6. อลูมิเนียมฟอยล์

3.1.5 วัสดุและอุปกรณ์สำหรับวิเคราะห์คุณภาพน้ำ

1. เครื่องวัดคุณภาพน้ำหลายตัวแปร ยี่ห้อ YSI รุ่น 6600
2. เครื่อง Spectrophotometer ยี่ห้อ UNICAM รุ่น Helios Beta
3. เครื่องปั่นเหวี่ยง (Centrifuge) ยี่ห้อ SIGMA รุ่น 3K18

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

4. เครื่องชั่ง 2 ตำแหน่ง ยี่ห้อ DENVER INSTRUMENT รุ่น MXX-612
5. เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง ยี่ห้อ DENVER INSTRUMENT รุ่น TB-214
6. ดิจิตอลบิวเรต ยี่ห้อ Titrette
7. ปั๊มสูญญากาศ (Vacuum pump)
8. ไมโครปิเปต ขนาด 1 มิลลิลิตร
9. ชุดเครื่องแก้วสำหรับกรองน้ำ
10. บีกเกอร์ ขนาด 100 มิลลิลิตร
11. กระบอกตวง ขนาด 100 มิลลิลิตร
12. ขวดรูปชมพู่ ขนาด 250 มิลลิลิตร
13. หลอดทดลอง ขนาด 15 มิลลิลิตร
14. แท่งแก้วคนสาร
15. กระดาษกรองชนิด GF/F

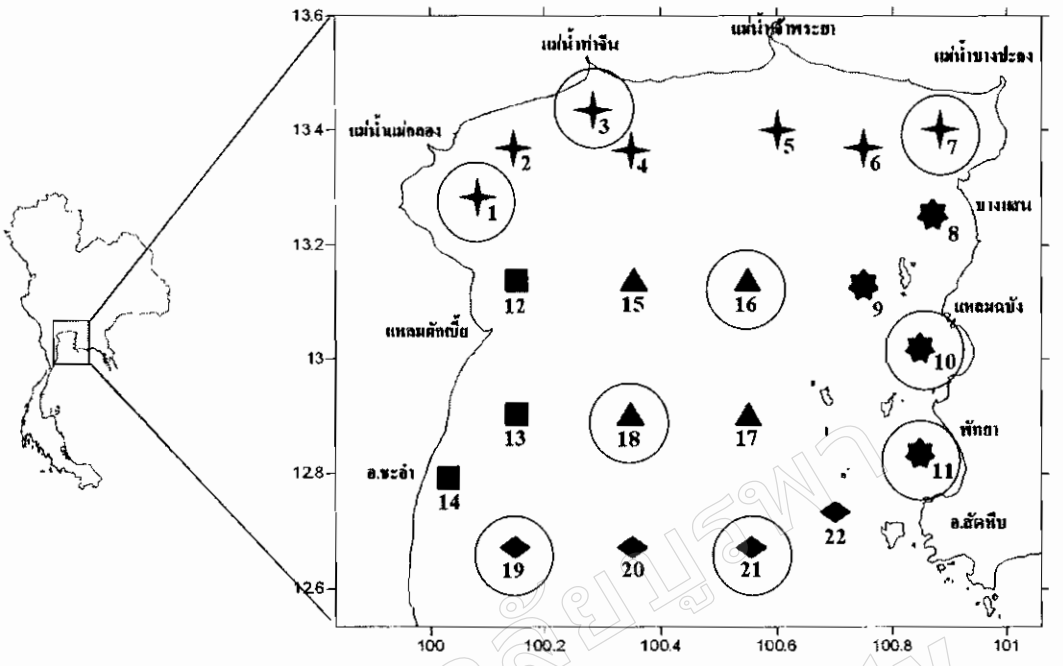
3.1.6 สารเคมี

1. แมงกานัสซัลเฟต (Manganous sulfate solution)
2. อัลคาไลน์-ไอโอไดด์-เอไซด์ (Alkali-iodide-azide reagent)
3. น้ำแป้ง (Starch)
4. กรดซัลฟูริคเข้มข้น (Sulfuric acid conc.)
5. สารที่ใช้ไตเตรท คือ Standard sodium thiosulfate titrant (0.015 N)
6. อะซีโตน ความเข้มข้น 90 เปอร์เซนต์ (90% Acetone)
7. กรดเกลือ ความเข้มข้น 6 นอร์มัล (6 N Hydrochloric acid)

3.2 พื้นที่ศึกษา

ดำเนินการศึกษาบริเวณอ่าวไทยตอนใน จำนวนสถานีเก็บตัวอย่าง 22 สถานี ดังภาพที่ 3-1

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University



ภาพที่ 3-1 สถานีเก็บตัวอย่าง 22 สถานีบริเวณอ่าวไทยตอนในและจุดเก็บตัวอย่างบริเวณปากแม่น้ำ (✦), ชายฝั่งตะวันตก (■), ชายฝั่งตะวันออก (✸), กลางอ่าว (▲) และปากอ่าว (◆) บริเวณวงกลม (○) คือ สถานีที่ศึกษาผลผลิตขั้นต้น

3.3 ช่วงเวลาเก็บตัวอย่าง

ทำการศึกษาในแต่ละฤดู โดยเก็บตัวอย่างทั้งหมด 3 ครั้ง ได้แก่ ครั้งที่ 1 ระหว่างวันที่ 14-18 มีนาคม 2552 ครั้งที่ 2 ระหว่างวันที่ 30 สิงหาคม - 3 กันยายน 2552 และครั้งที่ 3 ระหว่างวันที่ 18-22 พฤศจิกายน 2552 โดยในครั้งที่ 1 และ 2 สามารถเก็บตัวอย่างได้ครบทุกสถานี ส่วนในครั้งที่ 3 กลุ่มสถานีปากอ่าว (◆) ไม่สามารถเก็บตัวอย่างได้ เนื่องจากในวันที่เก็บตัวอย่างมีคลื่นลมแรง

3.4 การเก็บตัวอย่าง

3.4.1 การศึกษาองค์ประกอบชนิดของแพลงก์ตอนพืช

เก็บตัวอย่างแพลงก์ตอนพืชในแนวดิ่งโดยใช้ถุงลากขนาดตา 20 ไมโครเมตร ถ่วงด้วยตะกั่วเพื่อให้เก็บตัวอย่างในแนวดิ่งมากที่สุด เก็บตัวอย่างแพลงก์ตอนพืชลงในขวดพลาสติกขนาด 250 มิลลิลิตร เติมสารละลายฟอร์มาลินให้ได้ความเข้มข้นสุดท้ายประมาณ 4 % บันทึกข้อมูล สถานีที่เก็บ ระดับความลึก และวันที่เก็บตัวอย่าง นำไปวิเคราะห์ตัวอย่างที่ห้องปฏิบัติการ โดยใช้ Sedwick-Rafter counting slide ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ หนังสือที่ใช้ในการจำแนก ได้แก่ หนังสือของ ลัดดา วงศ์รัตน์ (2542) Sims (1996) Tomas (1997) Yamaji (1984)

3.4.2 การศึกษาผลผลิตขั้นต้นของแพลงก์ตอนพืช

ในการศึกษาผลผลิตขั้นต้นโดยวิธี Light and Dark bottle method (Ishimaru & Fujira, 1985) ซึ่งมีขั้นตอนในการศึกษาดังนี้

1. การเก็บข้อมูลความเข้มแสง

1. การวัดความเข้มแสงในรอบวัน ใช้เครื่องวัดความเข้มแสงแบบอัตโนมัติบันทึกเวลาตั้งแต่ดวงอาทิตย์ขึ้นจนดวงอาทิตย์ตก โดยบันทึกความเข้มแสงทุก ๆ 10 นาที

2. การวัดความเข้มแสงของน้ำในแต่ละระดับความลึก

วัดความเข้มแสงโดยถือว่าที่ระดับผิวหน้าน้ำทะเลมีความเข้มแสงคิดเป็น 100 เปอร์เซนต์ บันทึกความลึก จากนั้นวัดค่าความเข้มแสงที่คิดเป็น 50, 25, 10, 5 และ 1 เปอร์เซนต์ของความเข้มแสงที่ระดับผิวหน้าน้ำทะเล บันทึกความลึกของแต่ละระดับความเข้มแสง จากนั้นทำการเก็บน้ำที่ผิวหน้าน้ำทะเลที่ความเข้มแสงคิดเป็น 100 เปอร์เซนต์ และเก็บน้ำที่ระดับความลึกที่มีค่าความเข้มแสง 50, 25, 10, 5 และ 1 เปอร์เซนต์ ตามลำดับ (Ishimaru & Fujira, 1985)

2. การเก็บตัวอย่างน้ำ

เก็บตัวอย่างน้ำตามระดับความลึกที่วัดได้ ใส่ขวดบีโอดีขนาด 300 มิลลิลิตร โดยแบ่งเป็น 3 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มขวดที่ต้องการทราบปริมาณออกซิเจนละลายน้ำก่อนเริ่มการทดลอง กลุ่มขวดมืด และกลุ่มขวดสว่าง โดยหลังจากใส่น้ำตัวอย่างลงขวดเรียบร้อยแล้ว ในกลุ่มขวดที่ต้องการทราบปริมาณออกซิเจนละลายน้ำก่อนเริ่มการทดลอง เติมสารเคมีเพื่อจับปริมาณออกซิเจนละลายน้ำ เขย่าเพื่อให้เกิดปฏิกิริยาเคมีสมบูรณ์ วางพักไว้เพื่อใช้หาปริมาณออกซิเจนละลายน้ำก่อนเริ่มต้นการทดลอง ส่วนในกลุ่มขวดมืดหุ้มด้วยอลูมิเนียมฟอยล์อย่างน้อย 2 ชั้นหรือจนแน่ใจว่าแสงไม่สามารถส่องเข้าไปได้ และในกลุ่มขวดสว่างหุ้มด้วยถุงผ้าที่ทดสอบแล้วว่าแสงส่องผ่านแล้วมีความเข้มแสงคิดเป็น 50, 25, 10, 5 และ 1 เปอร์เซนต์ โดยหุ้มขวดตามความเข้มแสงในแต่ละความลึกที่เก็บตัวอย่างน้ำ นำขวดมืดและขวดสว่างไปใส่ในภาชนะบ่มที่แสงแดดสามารถส่องผ่านได้ บ่มขวดตัวอย่างในน้ำทะเลเพื่อควบคุมอุณหภูมิโดยสูบน้ำทะเลให้ไหลผ่านภาชนะบ่มตลอดเวลา เป็นเวลา 4-6 ชั่วโมง บันทึกระยะเวลาที่ใช้บ่มขวดตัวอย่างเพื่อใช้ประกอบการคำนวณหาค่าผลผลิตขั้นต้น (Ishimaru & Fujira, 1985)

3.4.3 การวิเคราะห์ตัวอย่างน้ำ

1. การหาปริมาณออกซิเจนละลายน้ำ

นำขวดมืดและขวดสว่างที่บ่มเรียบร้อยแล้ว เติมสารเคมีเช่นเดียวกับขวดเริ่มต้น เพื่อจับออกซิเจนที่ละลายน้ำจนครบทุกขวด เขย่าเพื่อให้ปฏิกิริยาอย่างสมบูรณ์ จะเกิดตะกอนขึ้น เขย่าจนเกิดตะกอนประมาณ 2 ใน 3 ของปริมาตรขวด หลังจากนั้นทิ้งให้ตะกอนตกลงมาประมาณหนึ่ง

ในสามของขวด ละลายตะกอนด้วยกรดซัลฟูริคเข้มข้นปริมาตร 1 มิลลิลิตร เขย่าจนตะกอนละลายจนหมด นำไปหาปริมาณออกซิเจนละลายน้ำด้วยวิธี Wikler method (Strickland & Parson, 1972)

2. การหาปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ

เก็บตัวอย่างน้ำด้วยเครื่องมือเก็บตัวอย่างน้ำ ณ ระดับความลึกเดียวกับที่ใช้หาค่าผลผลิตขั้นต้น ตวงน้ำด้วยกระบอกตวงปริมาตร 250 มิลลิลิตร นำไปกรองผ่านกระดาษกรอง GF/F ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 25 มิลลิเมตร ด้วยเครื่องกรองน้ำแบบสูญญากาศและห่อด้วยอลูมิเนียมฟอยล์ขนาด 5x5 เซนติเมตร ใส่ถุงพลาสติก บันทึกจุดเก็บตัวอย่างและวันที่ เก็บรักษาตัวอย่างที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส จนกว่าจะวิเคราะห์ตัวอย่าง วิเคราะห์หาปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ (ไมโครกรัม/ลิตร) ด้วยวิธี Spectrophotometric method (Strickland & Parson,1972) โดยใช้สูตร

$$\text{Chlorophyll a } (\mu g/l) = \frac{26.7(665_o - 665_a) \times V}{V \times l}$$

เมื่อ 665_o = ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวช่วงคลื่น 665 นาโนเมตร ก่อนการเติมกรดเกลือ

665_a = ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวช่วงคลื่น 665 นาโนเมตร หลังการเติมกรดเกลือ

V = ปริมาตรของน้ำกรอง (ลิตร)

v = ปริมาตรของอะซีโตนที่ใช้ (มิลลิลิตร)

l = ขนาดของ cuvette ที่ใช้ (เซนติเมตร)

นำค่าความเข้มแสงในรอบวัน ค่าออกซิเจนละลายน้ำ ค่าคลอโรฟิลล์ เอ และช่วงเวลาดวงอาทิตย์ขึ้นและตก มาคำนวณหาผลผลิตขั้นต้นรวมในหน่วยกรัมคาร์บอนต่อตารางเมตรต่อวัน ($gC/m^2/d$)

3.5 การวิเคราะห์ข้อมูล

3.5.1 วิเคราะห์ความแตกต่างของปัจจัยสิ่งแวดล้อมระหว่างกลุ่มสถานีและฤดูกาล โดยวิเคราะห์ความแปรปรวนข้อมูลทางเดียว (One way-ANOVA)

3.5.2 วิเคราะห์ค่าดัชนีความหลากหลายของแพลงก์ตอนพืช เป็นค่าที่ใช้บอกถึงความหลากหลายของแพลงก์ตอนพืช โดยนำข้อมูลชนิดและปริมาณของแพลงก์ตอนพืชมาคำนวณหาค่าดัชนีความหลากหลายตามวิธีของ Shanon-Wiener's index (Shanon-Weaver, 1949) ซึ่งมีสูตรการคำนวณดังนี้

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

เมื่อ H' = ดัชนีความหลากหลายของแพลงก์ตอนพืช

S = จำนวนชนิดของแพลงก์ตอนพืช

N = จำนวนแพลงก์ตอนพืชทั้งหมด

Pi = จำนวนแพลงก์ตอนพืชแต่ละชนิด

3.5.3 วิเคราะห์ค่าดัชนีความสม่ำเสมอหรือดัชนีการกระจาย (evenness index: E) เป็นค่าที่แสดงถึงลักษณะการแพร่กระจายของแพลงก์ตอนพืชในแต่ละสถานี โดยใช้ Evenness Index (Hurlbert, 1971) ซึ่งมีสูตรการคำนวณดังนี้

$$E = H' / \ln S$$

เมื่อ E = ดัชนีการกระจาย

H' = ดัชนีความหลากหลายของแพลงก์ตอนพืช

S = จำนวนชนิดของแพลงก์ตอนพืชในสถานีนั้น

3.5.4 วิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างความชุกชุมของแพลงก์ตอนพืชทั้งหมดกับปัจจัยสิ่งแวดล้อมทางกายภาพและผลผลิตขั้นต้น โดยการหาค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์แบบเพียร์สัน (Pearson Correlation Coefficient)

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University