

### บทที่ 3

#### วิธีดำเนินการวิจัย

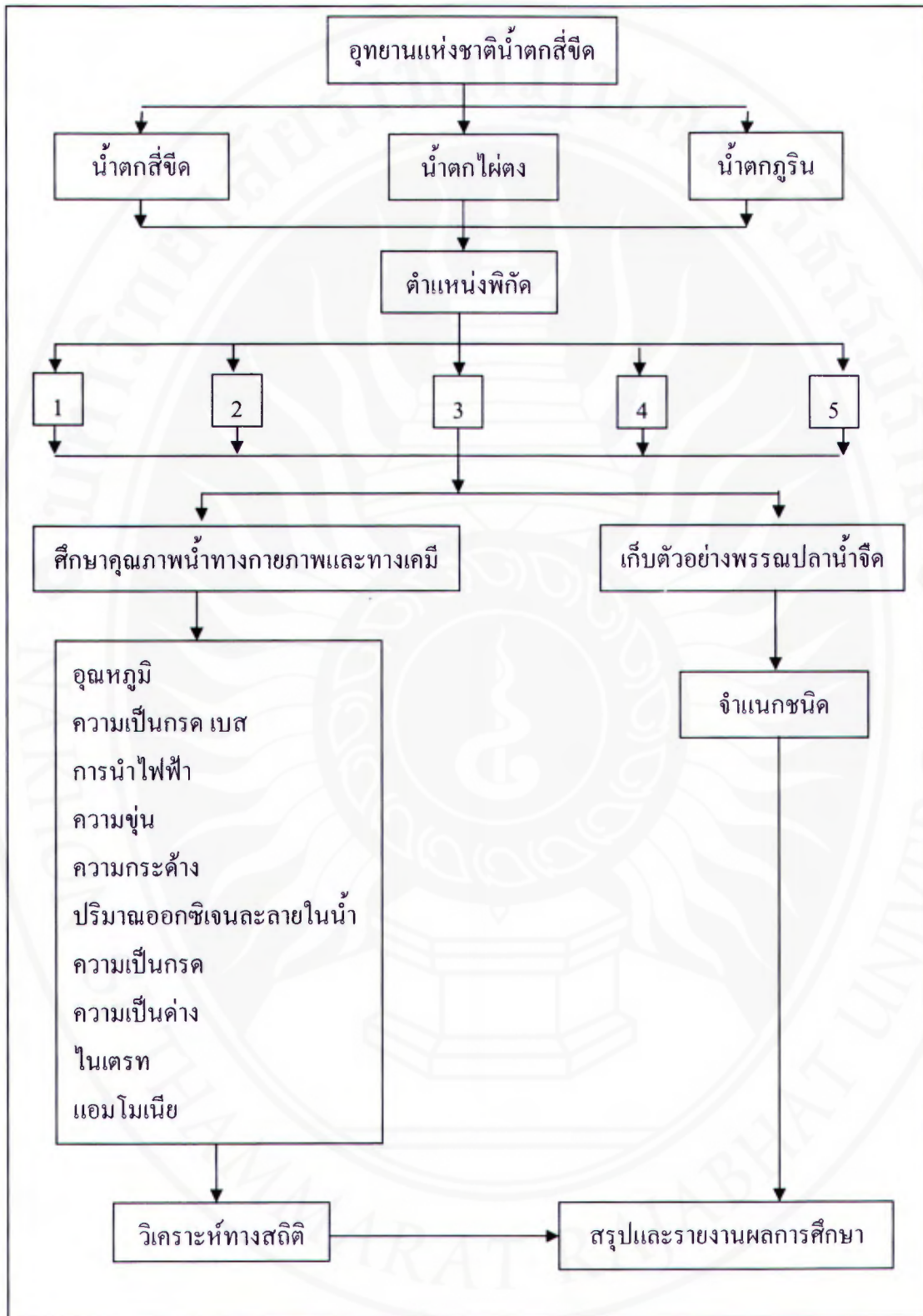
การศึกษาคุณภาพน้ำและชนิดปลาน้ำจืดบริเวณอุทยานแห่งชาติน้ำตกสี่ขีด จังหวัดนครศรีธรรมราชเป็นการวิจัยเชิงสำรวจ เพื่อศึกษาคุณภาพน้ำและชนิดปลาน้ำจืดที่พบบริเวณอุทยานแห่งชาติน้ำตกสี่ขีด ผู้วิจัยได้กำหนดวิธีดำเนินการวิจัย ไว้ดังนี้

#### ประชากรและกลุ่มตัวอย่าง

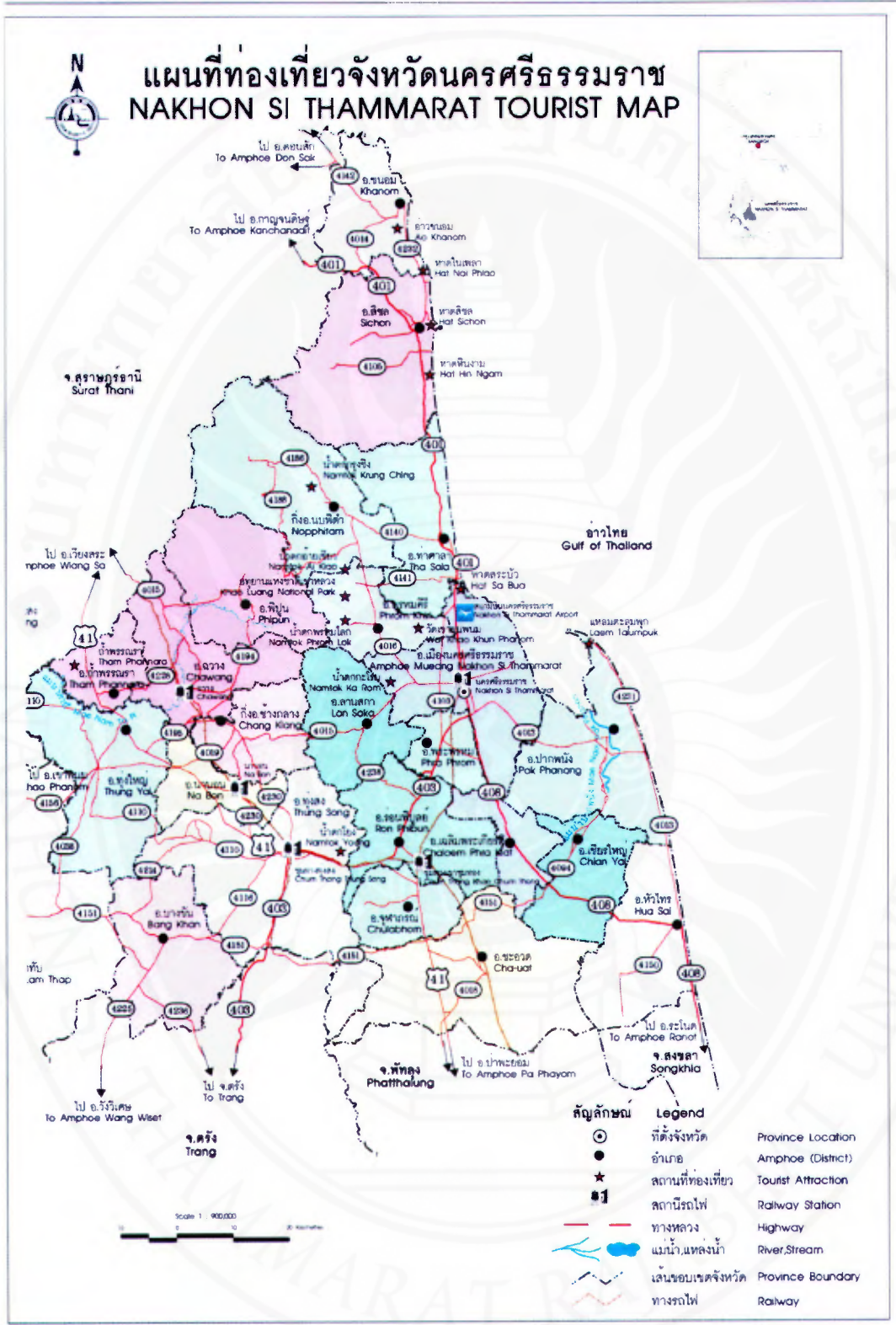
ประชากรและกลุ่มตัวอย่างที่ทำการศึกษารั้งนี้ เป็นตัวอย่างน้ำและชนิดพรรณปลาน้ำจืดในอุทยานแห่งชาติน้ำตกสี่ขีด จังหวัดนครศรีธรรมราช โดยทำการสำรวจเก็บตัวอย่าง จำนวน 3 สถานี คือ น้ำตกสี่ขีด น้ำตกไผ่ตง และน้ำตกภูริน ระหว่าง เดือนกุมภาพันธ์ พ.ศ. 2553 ถึง เดือนพฤศจิกายน พ.ศ. 2553 แบ่งเป็น 2 ฤดูกาล คือ ฤดูร้อน (กุมภาพันธ์ – เมษายน) และ ฤดูฝน (กันยายน – พฤศจิกายน)

#### การวางแผนดำเนินการ

การวางแผนดำเนินการมีขั้นตอนดังแสดงในภาพที่ 4 มีรายละเอียดดังนี้ ศึกษาแผนที่จังหวัดนครศรีธรรมราชดังแสดงในภาพที่ 5 และเส้นทางไปอุทยานแห่งชาติน้ำตกสี่ขีดจังหวัดนครศรีธรรมราช และกำหนดสถานีเก็บตัวอย่าง จำนวน 3 สถานี คือ สถานีที่ 1 น้ำตกสี่ขีด หมู่ 2 ตำบลสี่ขีด อำเภอสีชล จังหวัดนครศรีธรรมราช ดังแสดงในภาพที่ 6 สถานีที่ 2 น้ำตกไผ่ตง หมู่ 3 ตำบลเขาน้อย อำเภอสีชล จังหวัดนครศรีธรรมราช ดังแสดงในภาพที่ 7 สถานีที่ 3 น้ำตกภูริน หมู่ 5 ตำบลคลองสระ อำเภอกาญจนดิษฐ์ จังหวัดสุราษฎร์ธานี ดังแสดงในภาพที่ 8 วัดตำแหน่งพิกัดโดยใช้เครื่องมือจับพิกัด (Global Positioning system GPS) ยี่ห้อ Garmin รุ่น 60CS ของแต่ละสถานีๆ ละ 5 จุด เก็บตัวตัวอย่างน้ำแต่ละจุด จำนวน 3 ซ้ำ นำไปวิเคราะห์คุณภาพน้ำห้องปฏิบัติการทางเคมี ศูนย์วิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช และเก็บตัวอย่างพรรณปลาน้ำจืดเพื่อจำแนกชนิดพรรณปลา

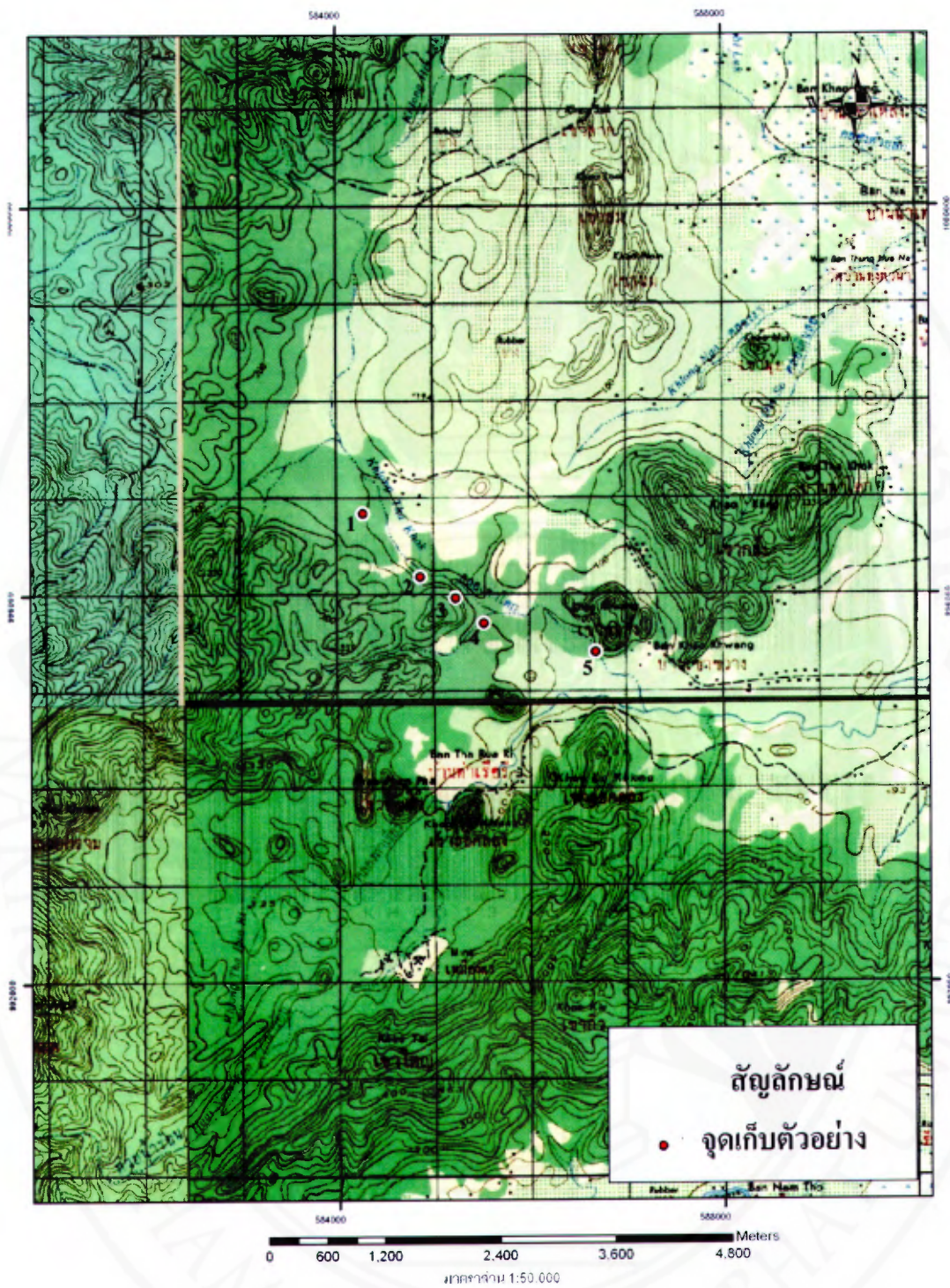


ภาพที่ 4 ขั้นตอนการดำเนินการ



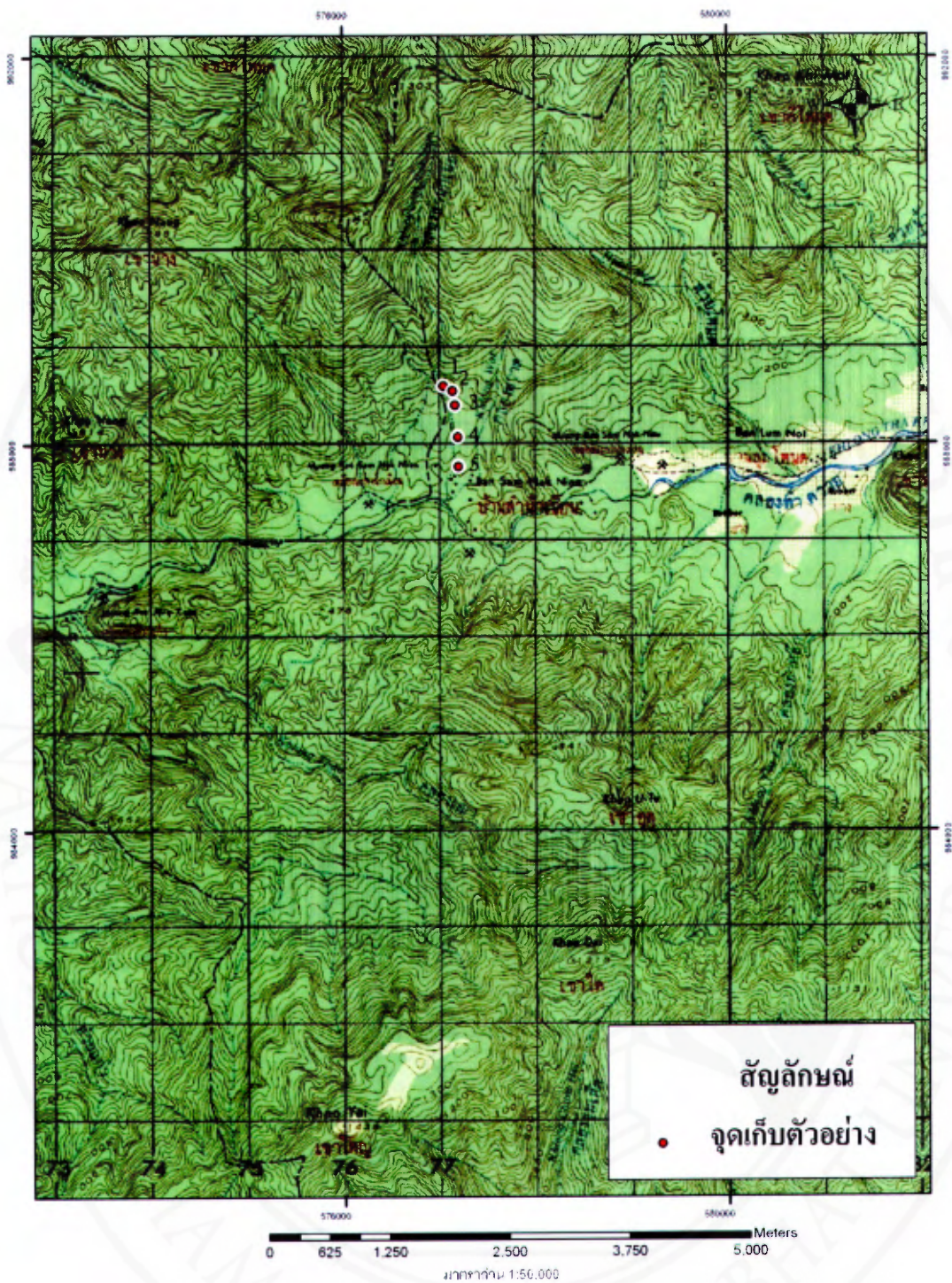
ภาพที่ 5 แผนที่ท่องเที่ยวจังหวัดนครศรีธรรมราช  
ที่มา : (กรมอุทยานแห่งชาติ สัตว์ป่าและพันธุ์พืช, 2550)





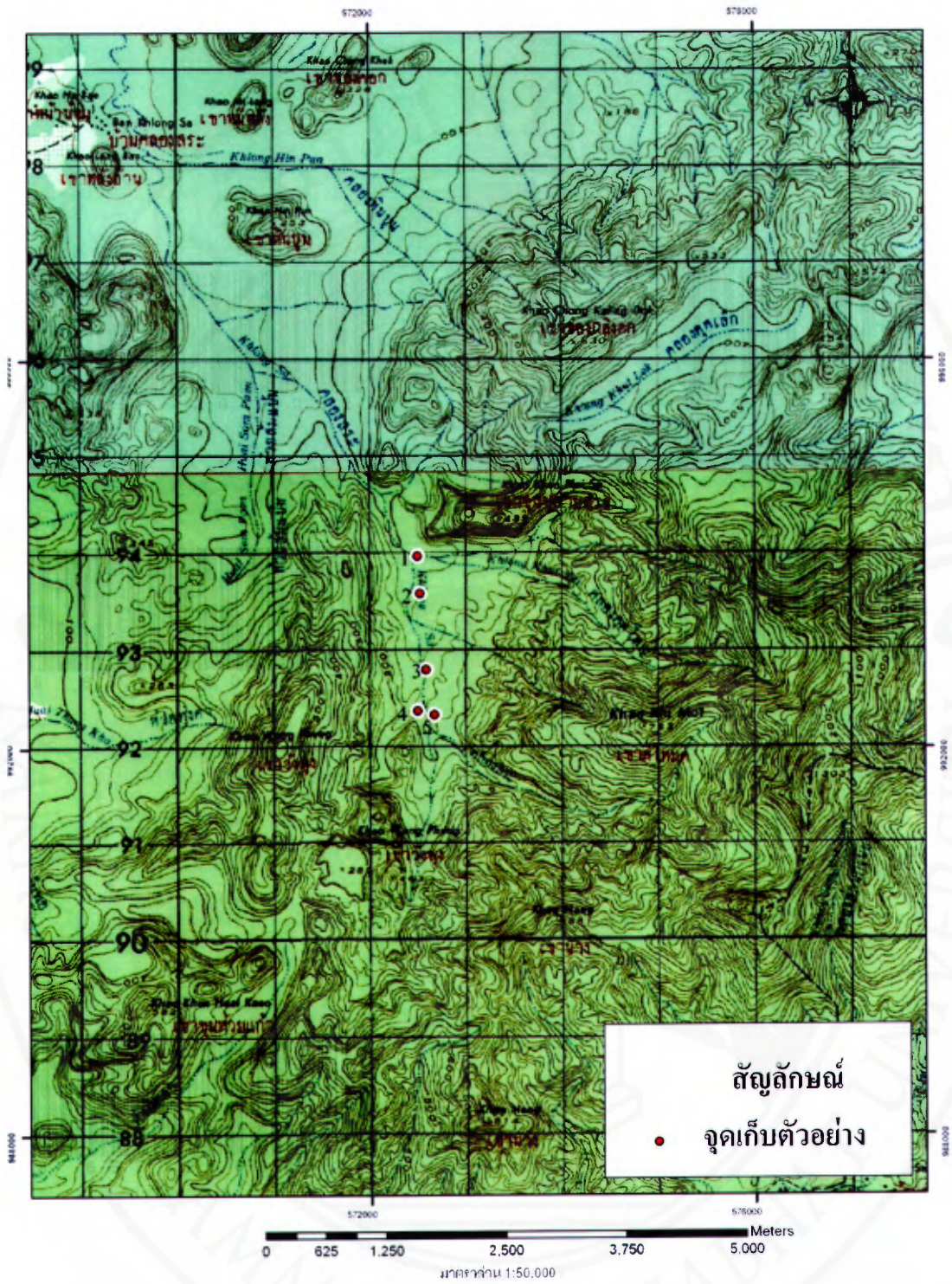
ภาพที่ 6 แผนที่เก็บตัวอย่างสถานีน้ำตกสี่ขีด





ภาพที่ 7 แผนที่เก็บตัวอย่างสถานีน้ำตกไผ่ตง





ภาพที่ 8 แผนที่เก็บตัวอย่างสถานีน้ำตกภูริน



## ศึกษาคุณภาพน้ำและชนิดของปลาน้ำจืดบริเวณอุทยานแห่งชาติน้ำตกสี่ขีด

ศึกษาคุณภาพน้ำและชนิดของปลาน้ำจืดบริเวณอุทยานแห่งชาติน้ำตกสี่ขีด ทำการศึกษา เก็บรวบรวมข้อมูลระหว่างเดือน กุมภาพันธ์ พ.ศ. 2553 - พฤศจิกายน 2553 โดยแบ่งเป็น 2 ฤดูกาล คือ ฤดูร้อน (กุมภาพันธ์ - เมษายน) และ ฤดูฝน (กันยายน - พฤศจิกายน)

### ศึกษาคุณภาพน้ำบริเวณอุทยานแห่งชาติน้ำตกสี่ขีด

ศึกษาคุณภาพน้ำโดยทำการเก็บตัวอย่างน้ำบริเวณอุทยานแห่งชาติน้ำตกสี่ขีด จังหวัด นครศรีธรรมราช ทั้ง 3 สถานี คือ น้ำตกสี่ขีด น้ำตกไผ่ตง และน้ำตกภูริน (ภาพที่ 3) เวลา 09.00 น. เก็บตัวอย่างน้ำ สถานีละ 5 จุด 3 ซ้ำ โดยการสุ่ม และทำการเก็บตัวอย่างน้ำใน 2 ฤดูกาล คือ ฤดูร้อน (กุมภาพันธ์ - เมษายน) และฤดูฝน (เดือนกันยายน - พฤศจิกายน) แล้วนำตัวอย่างน้ำมาวิเคราะห์ คุณภาพน้ำทางกายภาพและทางเคมี โดยมีวิธีดำเนินการ ดังนี้

#### เครื่องมือวิเคราะห์คุณภาพน้ำทางกายภาพ

1. เทอร์โมมิเตอร์
2. เครื่องมือวัดความเป็นกรด-ด่าง (pH – meter) ยี่ห้อ Orion Model
3. เครื่องมือวัด การนำไฟฟ้า ยี่ห้อ WTW รุ่น LF 3000
4. เครื่องมือวัดความขุ่น ยี่ห้อ HACH รุ่น 2100 N

#### สารเคมี

1. สารละลายบัฟเฟอร์มาตรฐานพีเอช 4, 7 และ 10
2. กรดไฮโดรคลอริก (HCl)
3. แมงกานีสซัลเฟตโมโนไฮเดรต ( $MnSO_4 \cdot H_2O$ )
4. โซเดียมไอโอไดด์ (NaI)
5. น้ำแป้ง (soluble starch)
6. ซัลฟานิลาไมด์ (sulfanilamide)
7. โซเดียมไทโอซัลเฟต (standard sodium thiosulfate)
8. โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH)
9. โพแทสเซียมไดโครเมต ( $K_2 Cr_2 O_7$ )
10. โพแทสเซียมไอโอไดด์ (KI)
11. กรดซัลฟูริก ( $H_2SO_4$ )
12. ฟีนอล์ฟทาลีน
13. โซเดียมคาร์บอเนต ( $Na_2CO_3$ )
14. แอมโมเนียมคลอไรด์ ( $NH_4Cl$ )

15. แอม โมเนีย ไฮดรอกไซด์ ( $\text{NH}_4\text{OH}$ )
16. alkali-iodide-azide
17. เมอร์คิวรีคลอไรด์ ( $\text{HgCl}_2$ )
18. กรดไนตริก ( $\text{HNO}_3$ )
19. แคลเมียม
20. erichrome black T indicator
21. สารละลาย methyl orange indicator
23. สารละลายเนฟทิลเอทีลิน ไดเอมีน ไดไฮโดรคลอไรด์ (N-(1-naphthyl)-ethylenediamine dihydrochloride solution)

### วิธีดำเนินการวิเคราะห์คุณภาพน้ำทางกายภาพและทางเคมี

**อุณหภูมิ** โดยใช้เทอร์โมมิเตอร์ จุ่มลงไปในพื้นที่ระดับความลึกประมาณ 20 เซนติเมตร อ่านค่าและบันทึกผล

**ความเป็นกรด-ด่าง (pH)** โดยใช้ pH meter มีวิธีดำเนินการตามขั้นตอนดังนี้ ทดสอบระบบการทำงานของเครื่องวัดความเป็นกรด-เบสด้วยสารละลายบัฟเฟอร์มาตรฐาน พีเอช 4.0 และ 7.0 วัดความเป็นกรด-ด่างตัวอย่างน้ำที่อุณหภูมิห้อง อ่านค่าและบันทึกผล

**การนำไฟฟ้า** โดยใช้เครื่องมือวัดการนำไฟฟ้า มีวิธีดำเนินการตามขั้นตอนดังนี้ ทดสอบระบบการทำงานของเครื่องมือวัดการนำไฟฟ้า ด้วยสารละลายมาตรฐาน โพแทสเซียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0.01 โมลต่อลิตร ที่มีค่าการนำไฟฟ้า 1,413 ไมโครซีเมนต์ต่อเซนติเมตร ที่อุณหภูมิ  $25 \pm 1$  องศาเซลเซียส วัดการนำไฟฟ้าตัวอย่างน้ำ อ่านค่าและบันทึกผล

**ความขุ่น** โดยใช้เครื่องมือวัดความขุ่น มีขั้นตอนดังนี้ ทดสอบระบบการทำงานของเครื่องมือวัดความขุ่น ด้วยสารละลายมาตรฐานความขุ่น 0.61, 10, 100 และ 1,000 NTU รินตัวอย่างน้ำจำนวน 30 มิลลิลิตร ใส่หลอดวัดตัวอย่าง (sample cell) ปิดฝาหลอด วัดความขุ่นตัวอย่างน้ำ อ่านค่าและบันทึกผล

**ความกระด้างของน้ำ** โดยวิธีการไตเตรท (Titration) ซึ่งทำการไตเตรทโดยการตวงตัวอย่างน้ำปริมาตร 100 มิลลิลิตร ใส่ในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร เติมสารละลายบัฟเฟอร์ 2 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน หยดสารละลายอินดิเคเตอร์ 2-3 หยด เขย่าให้เข้ากัน แล้วนำไปไตเตรทด้วยสารละลายมาตรฐาน EDTA ถึงจุดยุติ โดยสารละลายเปลี่ยนสีจากสีม่วงแดงเป็นน้ำเงิน บันทึกผลและคำนวณหาความกระด้างของน้ำ จากสูตร

$$\text{ความกระด้างของน้ำ} = \frac{A \times B \times 1000}{V} \quad (\text{mg/l as CaCO}_3)$$



เมื่อ A = มิลลิกรัมของ  $\text{CaCO}_3$  ที่ทำปฏิกิริยาพอดีกับ EDTA 1 มิลลิลิตร

B = ปริมาตร EDTA ที่ใช้ไตเตรท (มิลลิลิตร)

V = ปริมาตรตัวอย่างที่ใช้ (มิลลิลิตร)

**ปริมาณออกซิเจนละลายในน้ำ** โดยใช้วิธีของวิงก์เลอร์ (Azide modification Winkler method) โดยนำตัวอย่างน้ำใส่ในขวดบีโอดีเต็ม  $\text{MnSO}_4$  ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงในขวดบีโอดีแล้วเติม alkali-iodide-azide 1 มิลลิลิตร ลงในขวดบีโอดี โดยค่อยๆ สอดปิเปตลงไปใต้ผิวน้ำ ปิดจุกแก้วแล้วเขย่ากลับไปกลับมาประมาณ 20 ครั้ง เมื่อเกิดตะกอนเบา เขย่าจนตะกอนเบาขึ้นเกิดขึ้นประมาณ 2/3 ของปริมาตรขวด แล้วปล่อยให้ตะกอนเบาขึ้นตกตะกอน หลังจากนั้นเติมกรดซัลฟูริกเข้มข้น 2 มิลลิลิตร แล้วปิดจุกเขย่าเบาๆ จนกระทั่งตะกอนเบาหายไปในตัวอย่างน้ำที่จะวิเคราะห์จากขวดบีโอดี ออกมาปริมาตร 201 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 500 มิลลิลิตรนำไปไตเตรทด้วย สารละลายมาตรฐานโซเดียมไธโอซัลเฟตจนเป็นสีเหลืองอ่อน เติมสารละลายน้ำแข็ง 1 มิลลิลิตร ซึ่งจะเกิดการเปลี่ยนสีไปเป็นสีน้ำเงิน แล้วไตเตรทต่อจนกระทั่งสีน้ำเงินหายไป จดบันทึกปริมาณของสารละลายมาตรฐานโซเดียมไธโอซัลเฟตที่ใช้ในการไตเตรทจนถึงจุดยุติบันทึกผล ซึ่งปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำในน้ำจะมีค่าเท่ากับปริมาณของสารละลายมาตรฐานโซเดียมไธโอซัลเฟต มีหน่วยเป็นมิลลิกรัมต่อลิตร

**ความเป็นกรด** โดยใช้วิธีการไตเตรท (Titration) ซึ่งทำการไตเตรทโดยการตวงตัวอย่างน้ำมา 100 มิลลิลิตร หยดสารละลายเมทิลออเรนจ์อินดิเคเตอร์ 4-8 หยด แล้วนำไปไตเตรทด้วยสารละลายมาตรฐานโซเดียมไฮดรอกไซด์ จุดยุติสีเหลือง หลังจากนั้น ตวงตัวอย่างน้ำ 100 มิลลิลิตร หยดสารละลายฟีนอล์ฟทาลีนอินดิเคเตอร์ 2-4 หยด หลังจากนั้นจึงนำไปไตเตรทด้วยสารละลายมาตรฐานโซเดียมไฮดรอกไซด์ จนถึงจุดยุติสีชมพูอ่อน แล้วนำไปคำนวณค่า จากสูตร

$$\text{ความเป็นกรดเมทิลออเรนจ์} = \frac{A \times N \times 50 \times 1000}{V} \quad (\text{mg/l as CaCO}_3)$$

$$\text{ความเป็นกรดรวม} = \frac{B \times N \times 50 \times 1000}{V} \quad (\text{mg/l as CaCO}_3)$$

เมื่อ A = ปริมาตร NaOH ที่ใช้ไตเตรทถึงจุดสิ้นสุดปฏิกิริยาเมทิลออเรนจ์ (มิลลิลิตร)

B = ปริมาตร NaOH ที่ใช้ไตเตรทถึงจุดสิ้นสุดปฏิกิริยาฟีนอล์ฟทาลีน (มิลลิลิตร)

V = ปริมาตรตัวอย่างที่ใช้ (มิลลิลิตร)

N = ปริมาตร Normality ของ NaOH

**ความเป็นด่าง** โดยใช้วิธีการไตเตรท (Titration) ซึ่งทำการไตเตรทโดยทำการตวงตัวอย่างน้ำ 100 มิลลิลิตร หยดสารละลายฟีนอล์ฟทาลีน 2-4 หยด แล้วนำไปไตเตรทด้วยสารละลายมาตรฐานซัลฟูริก จนถึงจุดยุติใสไม่มีสี หลังจากนั้นหยดสารละลายเมทธิลออเรนจ์ 4-8 หยด นำไปไตเตรทด้วยสารละลายมาตรฐานซัลฟูริก จนถึงจุดยุติสีส้ม จดบันทึกแล้วนำไปคำนวณค่า จากสูตร

$$\text{ความเป็นด่างฟีนอล์ฟทาลีน} = \frac{A \times N \times 50 \times 1000}{V} \quad (\text{mg/l as CaCO}_3)$$

$$\text{ความเป็นด่างรวม} = \frac{B \times N \times 50 \times 1000}{V} \quad (\text{mg/l as CaCO}_3)$$

เมื่อ A = ปริมาตร  $\text{H}_2\text{SO}_4$  ที่ใช้ไตเตรทถึงจุดสิ้นสุดปฏิกิริยาฟีนอล์ฟทาลีน (มิลลิลิตร)

B = ปริมาตร  $\text{H}_2\text{SO}_4$  ที่ใช้ไตเตรทถึงจุดสิ้นสุดปฏิกิริยาเมทธิลออเรนจ์ (มิลลิลิตร)

V = ปริมาตรตัวอย่างที่ใช้ (มิลลิลิตร)

N = ปริมาตร Normality ของ  $\text{H}_2\text{SO}_4$

**ไนเตรท** โดยใช้วิธีรีดิวซ์ไนเตรทด้วยแคดเมียม (cadmium reduction method) โดยตวงน้ำตัวอย่าง 90 มิลลิลิตร ใส่ขวดรูปชมพู่ขนาด 125 มิลลิลิตร แล้วเติมแอมโมเนียมคลอไรด์เข้มข้น 2 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน เทลงในคอลัมน์ที่เคลือบแคดเมียมด้วยปรอท ปล่อยให้ไหลในอัตรา 5-8 มิลลิลิตรต่อนาที ใช้กระบอกตวงขนาด 50 มิลลิลิตรรองรับน้ำตัวอย่างที่ผ่านคอลัมน์ออกมาถึงน้ำตัวอย่าง 25 – 30 มิลลิลิตรแรกที่ผ่านคอลัมน์ เก็บน้ำตัวอย่างที่ผ่านคอลัมน์ 50 มิลลิลิตรไปวิเคราะห์ หลังจากผ่านคอลัมน์ 15 นาที นำตัวอย่างน้ำที่ผ่านคอลัมน์ 50 มิลลิลิตร เติมสารซัลฟานิลาไมด์ (Sulfaniilamide) 1 มิลลิลิตร ผสมแล้วทิ้งไว้ประมาณ 2-8 นาที แล้วจึงเติมสารละลายเนฟทิลเอทีลิน ไดเอมีนไดไฮโดรคลอไรด์ (N-(1-naphthyl)-ethylenediamine dihydrochloride solution) จำนวน 1 มิลลิลิตร ผสมทิ้งไว้ 1 ชั่วโมง วัดค่าดูดกลืนแสงด้วยเครื่องอะตอมมิกแอบซอร์พชันสเปกโตรมิเตอร์ ที่ความยาวคลื่น 543 นาโนเมตร แล้วนำค่าที่ได้ไปทำกราฟมาตรฐาน และไปคำนวณหาปริมาณไนเตรท จากสูตร

$$\text{ปริมาณไนเตรท (มิลลิกรัมต่อลิตร)} = \frac{A \times B}{C}$$

เมื่อ A = ความเข้มข้นของสารละลายที่กราฟอ่านได้ (มิลลิกรัมต่อลิตร)

B = ปริมาตรของสารละลายตัวอย่าง (มิลลิลิตร)

C = ปริมาตรของตัวอย่างน้ำ (มิลลิลิตร)



**แอมโมเนีย** ใช้วิธี อินโดฟีนอลบลู (Indophenol blue method) โดยตวงตัวอย่างน้ำ 100 มิลลิลิตร ใส่ขวดรูปชมพู่ที่มีฝาปิด เติมแมกนีเซียมซัลเฟต 1 มิลลิลิตร เติมฟีนอล (phenol reagent) 1.5 มิลลิลิตร และสารละลายไฮโปคลอไรต์ (hypochlorite reagent) 1.5 มิลลิลิตร แล้วผสมให้เข้ากัน ปิดฝาทิ้งไว้ประมาณ 6 ชั่วโมง แล้วนำเฉพาะส่วนที่เป็นของเหลวใสด้านบน ไปวัดค่าดูดกลืนแสงด้วยเครื่องวัดอะตอมมิคแอบซอร์พชันสเปกโตรมิเตอร์ ที่ความยาวคลื่น 630 นาโนเมตร นำค่าที่ได้ไปทำกราฟมาตรฐาน และคำนวณหาปริมาณแอมโมเนีย จากสูตร

$$\text{ปริมาณแอมโมเนีย (มิลลิกรัมต่อลิตร)} = \frac{A \times B}{C}$$

เมื่อ A = ความเข้มข้นของสารละลายที่กราฟอ่านได้ (มิลลิกรัมต่อลิตร)

B = ปริมาตรของสารละลายตัวอย่าง (มิลลิลิตร)

C = ปริมาตรของตัวอย่างน้ำ (มิลลิลิตร)

#### เก็บตัวอย่างพรรณป่าน้ำจืด

เก็บตัวอย่างพรรณป่าน้ำจืดบริเวณอุทยานแห่งชาติน้ำตกสี่ขีด จังหวัดนครศรีธรรมราช 3 สถานี คือ สถานีน้ำตกสี่ขีด สถานีน้ำตกไผ่ตง และสถานีน้ำตกภูริน มีรายละเอียด ดังต่อไปนี้

#### เครื่องมือ

1. เครื่องมือประมงพื้นบ้าน เช่น สวิง อวน และไซ
2. กะละมัง ถังพลาสติก
3. ตู้อบลู
4. ไม้บรรทัด
5. กล้องโฟม
6. เครื่องชั่ง
7. กล้องถ่ายรูป
8. ขวดเก็บตัวอย่าง
9. แผ่นพลาสติก
10. สมุดบันทึก
11. อุปกรณ์เครื่องเขียน

#### สารเคมี

สารละลายฟอร์มาลินเข้มข้นร้อยละ 10

### วิธีดำเนินการ

เก็บตัวอย่างพรรณปลาน้ำจืดบริเวณอุทยานแห่งชาติน้ำตกสี่ขีด จังหวัดนครศรีธรรมราช 3 สถานี คือ น้ำตกสี่ขีด น้ำตกไผ่ตง และน้ำตกภูริน โดยเก็บตัวอย่างพรรณปลาน้ำจืดในแต่ละสถานี นำตัวอย่างปลาที่ได้ไปชั่งน้ำหนักและวัดความยาว ถ่ายภาพปลา จดบันทึกข้อมูล จำแนกชนิด ปล่อยกขึ้นสู่แหล่งน้ำ ส่วนตัวอย่างปลาชนิดใดที่ยังไม่สามารถจำแนกชนิดได้ในขณะนั้น เก็บตัวอย่างปลาในขวดเก็บตัวอย่าง ที่บรรจุสารละลายฟอร์มาลิน 10 เปอร์เซ็นต์ นำมาตรวจสอบโดยผู้เชี่ยวชาญต่อไป การจำแนกทางอนุกรมวิธานได้รับการแนะนำและยืนยันจากผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ธีรวุฒิ เลิศสุทธิชวาล มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย วิทยาเขตนครศรีธรรมราช และผู้ช่วยศาสตราจารย์ สุริยะ จันทรแก้ว มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช

### การวิเคราะห์ข้อมูล

การศึกษาครั้งนี้ มีการวิเคราะห์ข้อมูล ดังนี้

1. คุณภาพน้ำวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการทางเคมี ศูนย์วิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช นำค่าคุณภาพน้ำที่ได้จากการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการมาวิเคราะห์ข้อมูลด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป SPSS version 11.5 วิเคราะห์ค่าเฉลี่ยคุณภาพน้ำระหว่างฤดูร้อนและฤดูฝนของแต่ละสถานี โดยใช้ t-test และวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance, ANOVA) เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยคุณภาพน้ำระหว่างสถานีน้ำตกสี่ขีด สถานีน้ำตกไผ่ตง และสถานีน้ำตกภูริน ในฤดูร้อนและฤดูฝน
2. จำแนกสกุลและชนิดของปลา เป็นชื่อวิทยาศาสตร์และชื่อท้องถิ่นภาษาไทยโดยใช้หนังสือของ Smith, Robert (1989) Kottelat and Whitten (1993), Sherstha (1994), Kottelat (1990, 2001), Rainboth (1996), ชวลิต วิทยานนท์ (2544) และคนอื่นๆ จดบันทึกข้อมูล